**DONNÉES HISTOPHYSIOLOGIQUES
SUR LE DÉVELOPPEMENT POST-EMBRYONNAIRE
D'UN INSECTE TRICHOPTÈRE
(*PHRYGANEA VARIA* FAB.)**

par Denise LHONORÉ^{1*}.

Par l'application conjointe des techniques de la cytochimie et de l'analyse par spectographie des rayons X, la présence de divers cations (Ca, Mg, Mn, Zn et Fe) a été décelée dans de nombreux organes de *P. varia*. Ces éléments peuvent être liés à des MPSA (glandes salivaires), associés à des pigments (œil, hypoderme) ou constituer des concrétions de phosphates (mésentéron, tissu adipeux, tubes de Malpighi). La distribution et l'abondance des métaux ainsi que l'évolution des teneurs en produits de réserves ont été envisagées au cours du développement post-embryonnaire et comparées aux données obtenues dans divers ordres d'Insectes terrestres. La vie en milieu aquatique a pour conséquences une absence d'accumulation de potassium et de déchets puriques. Il semble que la formation de sels minéraux soit nécessaire à certains échanges ioniques chez cet Insecte qui n'a pas à résoudre de problème de l'économie de l'eau pendant une grande partie de sa vie.

**Histophysiological data on the postembryonic development
of a caddis fly (*Phryganea varia* Fab.)**

The simultaneous use of cytochemical techniques and X-ray spectrography reveals the presence of diverse cations (Ca, Mg, Mn, Zn, and Fe) in various organs of *P. varia*. These elements may be linked to MPSA in salivary ducts, they are associated with pigments in the eye or hypodermis and form phosphate concretions in the Malpighian tubules, the midgut and adipose tissue. The distribution and abundance of metals as well as the development of storage products have been studied during the whole of the postembryonic development. Our results are compared with data in other orders of terrestrial insects. Life in an aquatic environment produces an absence of accumulations of potassium and purine wastes. The formation of mineral salts seems necessary for some ionic exchanges in this Insect which has no problem of water economy for the greater part of its life.

INTRODUCTION

Contrairement à d'autres ordres d'Insectes, les Trichoptères n'ont donné lieu qu'à des recherches histophysiological peu

1. Laboratoire d'Histophysologie des Insectes, Université de Paris VI, 12, rue Cuvier, F-75005 Paris.

* Recherches effectuées dans le cadre de la R.C.P., n° 162, du C.N.R.S. Avec la collaboration technique de M^{mes} A. Anglo et C. Marcaillou.

nombreuses et fragmentaires. La nature des inclusions paraplasmiques de la plupart des organes, et leur évolution au cours du cycle de développement, restent inconnues. Seuls les produits de l'excrétion azotée et les mécanismes physiologiques de l'excrétion d'ions diffusibles ont fait l'objet de recherches approfondies (Razet, 1961; Boné et Koch, 1942; Sutcliffe, 1960, 1961 a et b, 1963; Beaujot, Naoumoff et Jeuniaux, 1970; Nüske et Wichard, 1971).

Par la diversité de leur habitat, les Trichoptères constituent cependant un matériel favorable à la recherche des relations entre les facteurs du milieu et certains aspects de la physiologie des Insectes. Sur le plan méthodologique, la caractérisation des composés organiques ou minéraux inclus dans les organes s'avère désormais satisfaisante par l'application conjointe des techniques cytochimiques traditionnelles et de la méthode d'analyse par spectrographie des rayons X (Galle, 1965; Ballan-Dufrançais et Martoja, 1971). L'espèce *Phryganea varia* a été retenue comme premier exemple de cette étude.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Des larves et des nymphes vivant dans les eaux stagnantes, des mares et des étangs, ainsi que des adultes récoltés à proximité, ont été fixés au liquide de Carnoy, puis coupés à $7\ \mu$ après inclusion à la paraffine. Les colorations et réactions histochimiques ont été effectuées selon les indications du manuel de R. et M. Martoja (1967).

— Pour les colorations topographiques : Hémalun-picroindigocarmin, Trichrome en un temps (Gabe et Martoja-Pierson), coloration de Mann-Dominici et Azan de Heidenhain.

— Pour la recherche des glucides : méthode à l'APS, avec contrôle à la ptyaline pour le glycogène, coloration au bleu alcian à pH 3 et 0,5, méthode à l'hydrate de fer colloïdal et réaction métachromatique au bleu de toluidine.

— Pour la recherche des protéines : méthode à l'alloxane-Schiff, tétrazoréaction et méthode au DDD.

— Pour les acides nucléiques : réaction de Feulgen-Rossenbeck et coloration au vert de méthyle-pyronine, avec contrôle par l'hydrolyse chlorhydrique.

— Les lipides n'ont pas été recherchés par des méthodes de fixations ou de colorations spécifiques; leur présence a été estimée par l'abondance des vacuoles de dissolution dues aux agents chimiques utilisés dans la préparation des échantillons.

— La détection histochimique des éléments minéraux et des déchets puriques a été effectuée sur des coupes témoins et sur des

coupes soumises à un traitement déminéralisant (eau nitrique, alcool nitrique) ou à un solvant des urates (hydrate de pipérazine). Les déchets puriques ont été recherchés par la réaction argentafine au complexe d'argentométhénamine (Gomori) et la réduction du ferri cyanure ferrique (Schmorl). Les anions ont été mis en évidence par les réactions de substitution à l'argent (Von Kossa) et au cobalt (Stoelzner). La méthode microchimique de Bunting a été appliquée pour la détection des carbonates. La caractérisation du fer ionique a été conduite selon les méthodes au bleu de Turnbull (Tirmann-Schmeltzer) et au bleu de Prusse (Perls).

L'analyse par spectrographie des rayons X a été effectuée à la microsonde de Castaing (Caméca Ms 46), avec une tension d'accélération des électrons de 15 Kv, un courant échantillon de 40 nA, un diamètre de sonde de 1 μ environ et trois cristaux de spectrographe : quartz pour Zn; K.A.P. pour P, Mg, Na et Si; P.E.T. pour Ca, Cl, K, Fe et Mn. Les coupes ont été préalablement collées sur un support de terphane carboné, et déparaffinées (voir Galle, 1965; Ballan-Dufrançais et Martoja, 1971).

RÉSULTATS

Stades larvaires.

L'hypoderme est un épithélium simple de 4 à 7 μ d'épaisseur. La cuticule qui le recouvre est plus ou moins épaisse selon qu'il s'agit des tergites thoraciques ou abdominaux. Une abondante pigmentation noire masque le contenu cellulaire. La richesse en calcium est proportionnelle à la quantité de pigments et il n'existe pas de concrétions visibles au microscope photonique; au niveau des trachéobranches, l'épithélium, bien que moins pigmenté, présente les mêmes caractères. Dans tous les cas, la teneur en calcium de la cuticule est équivalente à celle de l'hypoderme sous-jacent.

Les yeux, composés de six stemmates chacun, sont très pigmentés et contiennent de grandes quantités de calcium, ainsi que du zinc et du phosphore (Tableau I).

Les tubes de Malpighi, au nombre de six, débouchent séparément à la limite du mésentéron et du proctodeum. Le segment proximal, qui représente environ le huitième de la longueur d'un tube, est blanc et lisse; le reste du tube est de couleur brune et présente un aspect boursoufflé. A tous les niveaux la paroi est formée d'une seule couche de cellules excrétrices, de 20 à 25 μ de hauteur, de structure classique. Leur cytoplasme contient des composés APS

positifs, des particules de glycogène, des mucopolysaccharides acides (MPSA) et des grains de pigments. Un deuxième type cellulaire se rencontre dans la partie distale : ce sont des cellules plates de 4 à 6 μ dont la bordure en brosse est très réduite, et le cytoplasme riche en glycogène et en MPSA. Chez les larves âgées, la teneur en MPSA s'accroît dans les deux catégories cellulaires; la quantité de pigments suit la même évolution, mais dans les seules cellules excrétrices. En l'absence de cristaux décelables en microscopie photonique, le cytoplasme des cellules excrétrices contient du calcium, du magnésium et un peu de phosphore (Tableau I).

TABLEAU 1. — Teneur en éléments minéraux des divers organes au cours du développement post-embryonnaire.

Organes	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe	P	Cl
STADES LARVAIRES							
Hypoderme pigmenté	20	tr.	0	0	0	tr.	30
Œil	300	0	0	50	0	30	tr.
Tubes de Malpighi	50 à 400*	20	0	0	0	tr.	30
Adipocytes	50	0	0	0	0	0	0
C. péricardiales	tr.	0	0	0	0	tr.	30
Mésentéron	30 à 750*	30*	2 500*	250*	150*	450*	30*
Gl. salivaires	30 à 100*	20	0	0	0	0	50
STADE NYMPHAL							
Hypoderme pigmenté	50	0	0	0	0	50	30
Œil	350	0	0	tr.	0	150	25
Tubes de Malpighi	900	30	0	0	0	650	0
Adipocytes	300	0	0	0	0	30	20
C. péricardiales	60	0	0	0	0	tr.	0
Mésentéron	tr.	0	0	0	0	0	0
Gl. salivaires	20	0	0	0	0	0	0
STADE IMAGINAL							
Hypoderme pigmenté	80	0	0	0	0	tr.	0
Œil	400	0	0	tr.	0	150	tr.
Tubes de Malpighi	600	60	0	0	0	400	60
Adipocytes	tr.	0	0	0	0	0	0
C. péricardiales	60	0	0	0	0	tr.	20
Mésentéron	0	0	0	0	0	0	0
Oocytes	50	30	0	0	0	0	40
Voies génitales	30	20	0	40	0	tr.	0

Les valeurs sont exprimées en nombre de chocs par seconde par élément et par organe; elles ne sont comparables que pour un même élément. * : mesures effectuées sur des larves au dernier stade, dans le cas du mésentéron elles correspondent à la zone de plus forte concentration; tr. : traces (nombre de chocs inférieur à 10/seconde).

Échantillons de référence (métaux purs ou sels) analysés dans les mêmes conditions techniques : Ca (os compact), 4 000 chocs/sec.; Fe, 7 000 chocs/sec.; Mg, 5 000 chocs/sec.; Mn, 5 000 chocs/sec.; Zn, 1 000 chocs/sec. Ces valeurs

sont données à titre purement indicatif; les comparaisons entre les concentrations, en un même élément, d'un échantillon de référence et d'un même volume de tissu devraient faire intervenir un facteur de correction, les macromolécules organiques absorbant une partie du rayonnement X émis par l'élément.

Le tissu adipeux se présente sous forme de bandelettes longitudinales, de couleur verte chez l'animal vivant. Les bandelettes superficielles enveloppent les trachées, quelques lobes longent le tégument. Les autres, plus profonds, entourent les tubes de Malpighi, les glandes salivaires et le tube digestif. Il n'existe qu'un type cellulaire représenté par des adipocytes de grande taille (40 à 50 μ). Leur cytoplasme est très riche en glycogène; des globules protéiques sont dispersés autour des vacuoles lipidiques. Seuls les lobes périphériques contiennent quelques grains de MPSA (Tableau II). Bien que ne renfermant pas de cristaux visibles, quelques adipocytes profonds contiennent un peu de calcium; les réactions de substitution métallique ne permettent pas toutefois de distinguer ces adipocytes de leurs voisins. Chez la larve âgée, la différence entre les deux catégories de corps gras s'accroît : à ce stade les inclusions protéiques et les MPSA deviennent très abondants dans les lobes profonds.

TABLEAU II. — Évolution des inclusions du tissu adipeux au cours du développement post-embryonnaire.

	Larves jeunes		Larves âgées		Nymphes		Imagos	
	L. S.	L. P.	L. S.	L. P.	L. S.	L. P.	L. S.	L. P.
Pigments	—	—	—	—	—	—	—	—
Concrétions	—	—	—	—	—	+	—	—
Calcium	—	+	—	+	—	+++	—	—
Glycogène	+++	+++	+	+	—	+	—	+
MPSA	+	±	++	+++	+	(+)	—	++
ARN	+	+	+	+	+	±	+	+
Protéines								
- Alloxane-Schiff	—	—	+	+	+	+	++	—
- D.D.D.	+	+	+	+++	++	+++	++	—
- Tétrazoréaction	—	—	++	++	+++	++	—	+
Lipides	++	+	+	+	±	±	++	+++ (δ)

L. S. : lobes superficiels; L. P. : lobes profonds; +++ : très abondant; ++ : abondant; + : peu abondant; — : absent.

Les cellules péricardiales, peu nombreuses au cours des premiers stades, se multiplient à l'approche de la nymphose. Chez les larves âgées, leur accroissement de volume est remarquable, quelques-unes se détachent du septum dorsal pour venir s'accoler à la face

interne des lobes adipeux superficiels. Leur forme est variable, le plus souvent globuleuse, parfois allongée. Ces cellules ont des petits noyaux polymorphes, un cytoplasme homogène et granuleux; elles contiennent quelques grains de pigments bruns, des MPSA et de nombreux globules protéiques, et renferment un peu de calcium et de phosphore (Tableau I).

Le tube digestif est rectiligne. Le stomodeum est composé d'un œsophage et d'un jabot renflés en une seule poche, dont l'épithélium est très plat et dépourvu d'éléments minéraux. Il n'y a pas de cæca à sa jonction avec le mésentéron. Ce dernier est long et formé d'un épithélium prismatique simple, comprenant une seule catégorie de cellules hautes (50 à 75 μ) et étroites. Les îlots de cellules de régénération sont très nombreux et régulièrement espacés. Le bol alimentaire est séparé de l'épithélium par une membrane péritrophique plissée. La zone apicale vacuolisée de ces cellules renferme des MPSA et du glycogène plus abondant dans un court segment situé à proximité de la valvule stomodéale, ainsi que de faibles quantités de calcium dès les premiers stades, mais sans concrétions visibles. Juste avant la métamorphose, l'accumu-

FIG. 1. — Répartition des constituants du mésentéron de la larve âgée. St. : stomodeum; Me. : mésentéron; Pr. : proctodeum. Sous le schéma sont représentés les gradients pour les principaux composés contenus dans la paroi : P1 : protéines à groupements sulfhydrilés; P2 : protéines à groupements NH₂ terminaux; MPSA : mucopolysaccharides acides; Gl. : glycogène; Ca, Mn, Fe, Zn et Mg : cations des concrétions minérales; E. : extrusions cytoplasmiques contenant ces composés dans les mêmes proportions que la paroi.

lation des éléments minéraux s'accroît brusquement (Tableau I). Tout l'épithélium de la *moitié antérieure* du mésentéron se charge de cristaux de 3 à 4 μ de diamètre, réagissant aux réactions de substitution métallique, et composés de calcium, de magnésium, de manganèse, de fer ferrique, de phosphore et de chlore, mais dans lesquels les carbonates semblent manquer. A l'exception du magnésium, les cations, de même que les MPSA apicaux et les globules protéiques, sont répartis selon un gradient antéro-postérieur décroissant (*fig. 1*). Des cristaux sont expulsés dans la lumière, par le jeu d'extrusions cytoplasmiques qui éliminent également des granules de MPSA, des globules de protéines et quelquefois un noyau pycnotique. Dans la *moitié postérieure* du mésentéron, les MPSA, les globules protéiques et le glycogène redeviennent plus abondants. La paroi et la lumière du proctodeum ne renferment ni pigments, ni concrétions.

Les cellules des glandes salivaires, à noyaux polymorphes, ont un cytoplasme très dense, riche en ARN, chargé de grains de MPSA et de globules protéiques. Leur sécrétion, qui envahit toute la lumière, est essentiellement composée de MPSA et de protéines. Cellules et sécrétion réagissent aux réactions de substitution métallique. Leur teneur en calcium, en magnésium et en chlore subit un accroissement important à la fin de la vie larvaire (Tableau I).

Stade nymphal.

Chez les jeunes nymphes venant de fermer leur fourreau, l'hypoderme présente les mêmes caractères qu'aux stades larvaires. Les granules pigmentés sont toujours nombreux; au calcium, plus abondant que chez les larves, s'ajoute du phosphore minéral (Tableau I).

Les yeux très pigmentés, contiennent du calcium, du phosphore et un peu de zinc mais sans concrétions (Tableau I).

Aux pigments des tubes de Matpighi sont adjoints des cristaux, localisés surtout dans le cytoplasme des segments distaux des tubes postérieurs. Ils sont essentiellement constitués de phosphore, de calcium et de magnésium (Tableau I). Les cellules plates, identiques à celles des larves, ne contiennent ni pigments ni cristaux.

Le tissu adipeux, beaucoup plus développé que chez la larve, emplit tout l'hémocoèle et cerne les organes en cours de remaniements. Les adipocytes restent jointifs et aucun aspect de dégénérescence ne paraît les affecter. La nature des inclusions paraplasmiques est modifiée. Très riches en ARN et en globules protéiques, les cellules présentent peu d'inclusions lipidiques, et les particules de glycogène sont devenues très rares et dispersées. Les MPSA

sont surtout localisés dans les lobes superficiels, mais aussi dans quelques adipocytes profonds, près du mésentéron antérieur, contenant des sphérocristaux composés de phosphore et de calcium (Tableau I).

Les cellules péricardiales, dispersées dans tout le corps, sont très riches en pigments réducteurs et en calcium, le phosphore y est peu abondant (Tableau I).

Le mésentéron, qui a diminué de longueur, est formé de cellules prismatiques plus basses que chez la larve (25 à 30 μ), dont le cytoplasme est très vacuolisé. Cet épithélium ne contient plus de concrétions. La lumière intestinale renferme le dernier épithélium larvaire qui a conservé ses inclusions minérales.

Les glandes salivaires n'ont pas encore subi de transformations cytologiques apparentes, chez la jeune nymphe. La quantité de calcium et de MPSA est plus réduite que pendant le stade prénymphal (Tableau I).

Stade imaginal.

Les yeux composés, contiennent du calcium, du phosphore et un peu de zinc (Tableau I).

La section d'un tube de Malpighi est plus petite que chez la larve, la lumière est réduite, et les cellules excrétrices ont environ 15 à 20 μ de hauteur. Leur cytoplasme contient quelques grains de MPSA, des glycoprotéines situés au pôle basal de la cellule, des pigments et de nombreux cristaux composés de phosphore, de chlore, de calcium et de magnésium.

Le tissu adipeux occupe à ce stade un volume restreint; les bandelettes superficielles sont très espacées et les lobes profonds accolés à l'appareil génital. Les adipocytes, de petite taille (20 à 25 μ), au cytoplasme riche en inclusions lipidiques, contiennent des globules protéiques et des grains de MPSA, alors que les particules de glycogène sont rares. Les concrétions manquent et seul un peu de calcium est décelable.

Les cellules péricardiales (ou néphrocytes), maintenant situées à la périphérie du corps gras, sont très pigmentées. Elles contiennent des globules protéiques et quelques grains de MPSA; dépourvues de concrétions, elles renferment toujours du calcium (Tableau I).

Le mésentéron est très court à ce stade. La lame basale est très plissée et l'épithélium épouse en partie ces replis. Il est formé de deux types cellulaires : les cellules prismatiques hautes de 25 à 30 μ , les plus nombreuses, et les cellules calciformes pourvues d'une volumineuse dépression apicale. Le cytoplasme des cellules prismatiques contient quelques globules protéiques, des grains de

MPSA et des particules de glycogène. D'autre part, quelques grains de MPSA, provenant des cellules caliciformes, sont accolés au rhabdiorium, dans la lumière de l'organe. Quel que soit le type cellulaire, il n'existe ni pigment, ni concrétions.

Les glandes salivaires, dont l'extension est alors limitée à la partie antérieure du thorax, n'élaborent plus de soie et ne contiennent plus de cations.

L'appareil génital est le siège d'accumulations minérales. Chez la femelle, les oocytes et l'épithélium pigmenté de l'oviducte commun sont riches en calcium. Chez le mâle, l'épithélium des vésicules séminales et du canal déférent sécrète des MPSA et accumule du calcium et du zinc (Tableau I).

DISCUSSION

Nature chimique des accumulations de métaux et variations quantitatives.

En ce qui concerne les phénomènes d'accumulation de métaux, si importants chez les Insectes (Martoja, 1971 b), il convient de remarquer que les cations stockés dans les organes de *Phryganea varia* sont assez peu nombreux : calcium, magnésium, manganèse, fer et zinc. Le sodium et surtout le potassium, très fréquents dans divers ordres d'Insectes, ne s'y rencontrent jamais. Les combinaisons chimiques dans lesquelles ces cations se trouvent engagés sont également peu variées : les déchets puriques cristallisés et les carbonates manquent; les sels minéraux sont essentiellement représentés par des phosphates; un certain nombre de cations peuvent également être associés à des macromolécules organiques comme les pigments. Compte tenu des techniques utilisées, il n'est pas possible d'attribuer la présence du chlore à l'existence d'un composé chimique précis : les chlorures et les chlorhydrates, très solubles dans l'alcool, ne devraient pas être conservés lors de la déshydratation des pièces. L'association de cations et de pigments, réalisés dans divers organes (œil, hypoderme) ne peut être rapportée avec certitude, du fait de l'absence d'anions CO_3 PO_4 , à une minéralisation (Orthoptères, Ballan-Dufrançais et Martoja, 1971; Thysanoures, Odonates, Martoja, 1971 a; Cercopides, Martoja, 1972; Diptères, Martoja et Seureau, 1972). Le métal qui figure dans ces associations est essentiellement le calcium, éventuellement accompagné de magnésium et de zinc. Des mélanges de nombreux cations sont réalisés au niveau du mésentéron dont les concrétions n'atteignent toutefois par la complexité chimique de celle d'autres Insectes : Aptérygotes, Homoptères, Plannipennes et Hyménoptères

(Ballan-Dufrançais, Jeantet et Martoja, 1971). Dans certains organes (tubes de Malpighi, tissu adipeux), la formation des concrétions est précédée d'une importante élaboration de MPSA; cette modalité de dépôt des éléments minéraux a été observée, surtout à l'échelle ultrastructurale, dans les tubes de Malpighi des Orthoptères Gryllo-talpides (J. Lhonore, 1972), dans le mésentéron des Homoptères (Gouranton, 1968) et des Hyménoptères (Jeantet, 1971) et dans les utricules des Dictyoptères (Balan-Dufrançais, 1970). Dans d'autres cas l'analyse spectrographique révèle la présence de cations, sans que des concrétions soient visibles au microscope photonique; en l'absence de données ultrastructurales, il est impossible de préciser si ces éléments sont des constituants de structures organiques du type lysosome, ou s'ils appartiennent à des concrétions dont la taille est inférieure à $0,2 \mu$: on sait en effet que le pouvoir de résolution de la microsonde de Castaing est supérieur à celui du microscope photonique (Galle, 1965).

La distribution et l'abondance des métaux varient au cours du développement post-embryonnaire. Le stockage du calcium s'accroît dans tous les tissus au cours de la vie larvaire (fig. 2), notamment dans le mésentéron et les tubes de Malpighi. La concentration atteint son maximum chez la nymphe puis, à de rares exceptions près (hypoderme), décroît considérablement chez

FIG. 2. — Évolution de la teneur en calcium dans divers organes au cours du développement post-embryonnaire. En ordonnées : nombres de coups/secondes; en abscisses : divers stades. I : jeunes larves; L : larves âgées; N : nymphe; I : imago. À gauche figurent les organes dont la teneur subit un accroissement important avant ou pendant la nymphose; à droite figurent ceux dont la teneur varie peu tout au long de la vie de l'Insecte. Més. : mésentéron; G.s. : glandes salivaires; T.M. : tubes de Malpighi; T.a. : tissu adipeux; Hyp. : hypoderme; C.p. : cellules péricardiales; O : œil.

l'imago. Le magnésium subit également un léger accroissement dès la prénymphose. Le manganèse, le fer et le zinc sont accumulés pendant toute la vie larvaire et excrétés à la métamorphose; seul le zinc sera accumulé de nouveau chez l'imago.

Relation entre les stades du développement et les caractères histologiques.

Tout au long de la vie larvaire, l'hypoderme accumule régulièrement du calcium et des pigments; c'est seulement pendant la nymphose que ces derniers sont associés à des phosphates de calcium, comme c'est le cas pour le tégument des Thysanoures (Martoja, 1971 a), de certains Orthoptères (Ballan-Dufrançais et Martoja, 1971), des Homoptères (Martoja, 1972) et des Diptères (Martoja et Seureau, 1972). L'abondance des pigments oppose cet hyperdome à celui des larves d'Odonates qui en est dépourvu (Martoja, 1971 a). Après la métamorphose, le calcium et les pigments subsistent, tandis que le phosphore disparaît du tissu imaginal. Dans les yeux, se produit également un accroissement de la teneur en calcium.

C'est à partir de la nymphose que les cellules excrétrices des tubes de Malpighi contiennent des concrétions intracytoplasmiques. Contrairement aux Orthoptères Acridiens, ces concrétions sont indépendantes des granules de pigments; d'autre part, elles sont moins riches en cations (Ca, Mg; *fig. 3*) que celles des Orthoptères Gryllides (Ballan-Dufrançais et Martoja, 1971) et Gryllotalpides (J. Lhonoré, 1972), des Homoptères (Martoja, 1972) et des Diptères (Martoja et Seureau, 1972). Dispersées parmi ces cellules excrétrices, les cellules plates se rapprochent, par leur taille et leur morphologie, des cellules étoilées (stellate cells) des Diptères (Berridge et Oschman, 1969; Wessing et Eichelberg, 1972) alors que la nature chimique de leurs inclusions permet de les comparer également aux mucocytes des Odonates (Gagnepain, 1956), les Chéleutoptères et les Orthoptères Acridiens (Martoja, 1956, 1959) et Gryllotalpides (J. Lhonoré, 1972). On sait qu'à la métamorphose, les remaniements qui affectent l'appareil excréteur sont très variables dans les divers ordres d'holométaboles (Wigglesworth, 1965); dans le cas des Trichoptères, les tubes de la jeune nymphe ne présentent aucun aspect d'histolyse; l'accumulation minérale se poursuit sans extrusion des concrétions dans la lumière. Les cellules subissent peu de modifications et l'épithélium n'est pas totalement renouvelé.

Les transformations du tissu adipeux sont plus importantes. La différence entre les deux catégories de lobes est essentiellement morphologique aux premiers stades larvaires; dès la prénymphose

FIG. 3. — Évolution de la teneur en cations et en phosphore des tubes de Malpighi au cours du développement post-embryonnaire. En ordonnées : nombres de chocs/seconde, de 0 à 1 000 pour Ca et P, de 0 à 100 pour Mg. En abscisses : divers stades. I : jeunes larves; L : larves âgées; N : nymphe; I : imago.

s'ajoutent des particularités cytologiques, puis un dimorphisme sexuel imaginal. Ces spécialisations anatomiques du tissu adipeux sont très fréquentes chez les Insectes, mais elles se manifestent différemment selon les ordres : Berlèse (1901), Pérez (1902), Pardi (1938-39), de Boissezon (1930 a), Martoja et Lauverjat (1965), Gharagozlou (1965), Alford (1969), Jeantet (1969), et Strambi (1971). A l'échelle histologique, le tissu adipeux de *Phryganea* n'est constitué que d'adipocytes, capables d'accumuler des cristaux de phosphates de calcium sans intervention de cellules spécialisées (cellules à concrétions). Comme chez les Odonates (Martoja 1971 a), ces concrétions sont dépourvues de déchets puriques et la localisation des phosphates reste à préciser à l'échelle ultrastructurale. Les autres inclusions paraplasmiques du tissu évoluent également tout au long du développement post-embryonnaire (Tableau II); des données précises ont été fournies sur ces phénomènes dans de nombreux ordres d'Insectes. Le stockage du glycogène dans les lobes larvaires, bien connu chez les Diptères (Evans, 1967) et les Hyménoptères (Jeantet, 1969), est remarquable chez *Phryganea*; ce composé disparaît très rapidement à la prénymphose, comme c'est le cas pour certains Coléoptères (Pardi, 1939; Labour, 1970; Strambi,

1971), et il n'en subsiste que quelques traces dans les adipocytes profonds situés à proximité de l'ovaire. Au contraire, les MPSA, d'abord peu abondants et localisés dans les lobes superficiels du tissu larvaire, envahissent tout le tissu prénymphal avant de subir une décroissance importante au cours de la nymphose. A ce stade, il n'en persistera que quelques grains dans certains lobes superficiels ou dans les îlots d'adipocytes contenant des concrétions. Après la métamorphose, seuls les adipocytes situés à proximité des ovaires ou des glandes annexes contiennent un peu de MPSA. Cette accumulation très intense de MPSA précédant la nymphose et qui, pour ce tissu, ne semble pas avoir été signalée chez d'autres Insectes, pourrait correspondre à une phase préliminaire de minéralisation. Inversement, la protéogénèse réduite chez la larve, apparaît à la prénymphose pour atteindre son maximum chez la nymphe. L'accumulation des protéines est donc tardive comme chez les Diptères (Butterworth et al., 1965), divers Coléoptères (Nair et al., 1964, 1968; Strambi, 1971), et certains Lépidoptères (Locke et Collins, 1968). A l'émergence, ces inclusions protéiques ont régressé et il n'en subsiste que dans quelques adipocytes superficiels. Enfin, les lipides abondants dans le tissu larvaire, disparaissent chez la prénympe et la nymphe, comme chez les Coléoptères (Labour, 1970; Strambi, 1971) et les Hyménoptères (Pardi, 1939; Jeantet, 1969). Ils s'accumulent de nouveau au stade imaginal, en particulier chez le mâle, comme c'est le cas pour les Lépidoptères (Hufnagel, 1918) et les Hyménoptères (Schmieder, 1928; Bishop, 1958).

L'approche de la nymphose est également marquée par une prolifération remarquable des cellules péricardiales, suivie d'une accumulation de protéines, de pigments, de calcium et de MPSA. Leur capacité de stocker les grosses molécules est déjà connue chez divers Insectes (voir Wigglesworth, 1970). Dans le cas de *Phryganea varia*, leur prolifération et leur dispersion, l'accumulation de macromolécules et d'éléments minéraux, incitent à penser qu'elles participent activement à l'excrétion au moment de la nymphose, par un stockage de déchets métaboliques.

Le mésenteron subit de profondes transformations au cours du développement post-embryonnaire. L'absence des cellules caliciformes dans l'épithélium larvaire, l'oppose à celui des larves d'Ephéméroptères, de Plécoptères (Wigglesworth, 1965), des larves libres d'autres familles de Trichoptères (Gibbs, 1965) et de certaines larves de Lépidoptères (Wigglesworth, 1965; Plantevin et Nardon, 1969). Il est néanmoins possible d'y observer une abondante sécrétion qui ira en s'accroissant à la prénymphose. Il est probable que les extrusions aient été amplifiées par les méthodes de fixation, comme le montrent Brunnings et Priester (1971) à propos des

Diptères. Toutefois, les extrusions en forme de boules cytoplasmiques ne peuvent être entièrement rapportées à des artéfacts de fixation; elles intéressent un grand nombre de composés dont le glycogène, les MPSA, les protéines et les concrétions minérales. Une division de cet organe en deux ou trois segments a été signalée chez les Diptères et les Lépidoptères (voir Wigglesworth, 1965). Dans le cas de *Phryganea*, la répartition de ces composés permet de reconnaître deux segments; mais, de plus, les estimations semi-quantitatives démontrent l'existence de gradients de concentration dans chacun de ces segments. C'est dans le segment postérieur que le glycogène a été mis en évidence, comme chez la plupart de ces Insectes à l'exception de *Chironomus* (Pierson, 1956). Les MPSA et les protéines sulfhydrilées, distribués selon deux gradients inverses, n'ont pas la même signification dans les deux segments. Dans le segment antérieur, les MPSA sont liés à la présence de concrétions minérales, comme c'est le cas dans l'intestin moyen des Cercopides (Gouranton, 1968) et des Hyménoptères Formicides (Jeantet, 1971), tandis que le segment postérieur est le siège de sécrétions polysaccharidiques et protéiques à l'exclusion d'éléments minéraux. La composition des concrétions qui atteint ici son maximum de complexité (fig. 4) révèle, en outre, la présence de fer. Cet élément décelé dans les cellules de l'intestin moyen de nombreux Insectes (Wigglesworth, 1943; Waterhouse et Stay, 1955; Pierson, 1956; Gouranton, 1968; Balland-Dufrançais, Jeantet et Martoja, 1971; Martoja, 1972) a déjà été signalé sous forme ferrique dans celles des Cercopides (Gouranton, 1968). Cette sécrétion accrue marque la fin de l'activité de l'épithélium larvaire. Dès la nymphose, il y a formation d'un nouvel épithélium où sont alors associées les cellules cylindriques et les cellules caliciformes (Mortimer, 1965).

Dans les glandes salivaires, la teneur en calcium s'accroît avant la fermeture du fourreau nymphal. La signification de cette accumulation dans un organe sécrétant de la soie, pourrait être rapportée à la présence des phosphates. Le calcium ainsi décelé participerait à la capture des ions phosphates libérés par les réactions enzymatiques (Bradfield, 1951).

À l'émergence, la chute de la teneur en cations dans la plupart des organes, est compensée par une accumulation dans l'appareil génital. Les sels de calcium et de zinc localisés dans l'épithélium des voies génitales rappellent les formes de stockage de phosphates dans la paroi du testicule de *Calliphora* (Martoja et Seureau, 1972). Au niveau des oocytes, le calcium pourrait constituer des microcristaux. Seules des données ultrastructurales permettraient de préciser la nature de ce stockage et de déterminer s'il est en relation avec le dépôt des réserves vitellines (*Petrobius*, Cantacu-

FIG. 4. — Évolution de la teneur en cations et en phosphore de l'épithélium du mésentéron au cours du développement post-embryonnaire. En ordonnées : nombres de chocs/seconde. En abscisses : divers stades. I : jeunes larves; L : larves âgées; N : nymphe; I : imago.

zène et Martoja, 1972). Les glandes annexes ne joueraient un rôle que dans la sécrétion des glycoprotéines et des mucopolysaccharides sans intervention d'éléments minéraux; ceci les oppose donc aux glandes annexes des Hyménoptères Formicides où des éléments minéraux coexistent avec des sécrétions protéiques (Jeantet, 1972).

Influence du milieu aquatique sur l'accumulation purique et minérale.

Il est bien établi que l'excrétion azotée revêt des modalités diverses chez les Insectes (Razet, 1961), certains composés de la

chaîne uricolytique étant excrétés, dans les espèces aquatiques, sous forme soluble. Cette influence du milieu aquatique est confirmée chez les Trichoptères Phryganides qui ne stockent ou n'éliminent aucun déchet purique sous forme cristalline. En ce qui concerne le métabolisme minéral, il convenait d'envisager également une influence du milieu aquatique, et de rechercher notamment si la régulation de l'équilibre minéral de l'organisme met en jeu une simple excrétion d'ions sous forme diffusible. Les résultats obtenus montrent que l'influence du milieu n'est évidente, dans cette espèce, que pour les deux cations qui, chez les formes terrestres, constituent les sels de l'acide urique, c'est-à-dire le sodium et le potassium; ces deux métaux ne sont jamais accumulés chez les Phryganes, et leur élimination est donc réalisée sous forme soluble. Les autres cations reconnus jusqu'ici dans les espèces terrestres peuvent s'accumuler sous forme de sels minéraux dans divers organes de phryganes, pour y constituer des concrétions très importantes quant à leur nombre et à la quantité des sels qu'elles contiennent. Il convient aussi d'insister sur la richesse exceptionnelle en cations de l'épithélium intestinal, qui pourrait constituer une barrière sélective (Ballan-Dufrançaïs, Jeantet et Martoja, 1971), et sur la présence des concrétions de phosphates dans la paroi des tubes de Malpighi qui ne sont pourtant le siège d'aucune extrusion de cristaux; ces cristallisations dans l'appareil excréteur, chez un Insecte qui n'a pas à résoudre un problème d'économie de l'eau, pourrait être l'expression morphologique d'un phénomène physiologique propre à tous les Insectes et qui mettrait à profit la formation de sels insolubles pour influencer les échanges ioniques. En ce qui concerne les anions, il est simplement possible, compte tenu de l'imprécision inhérente à la technique utilisée, de montrer la place importante dévolue, comme chez les espèces terrestres, aux phosphates dans la constitution des concrétions.

Les modifications de répartition des accumulations minérales qui accompagnent l'entrée en nymphose ne sont pas particulières aux trichoptères, mais caractérisent plutôt la plupart des Holométaboles. Il est probable qu'à ce stade, les modifications du métabolisme minéral sont en relation avec celles de la composition de l'hémolymph. Les acides aminés libres entrent pour une part importante dans l'osmorégulation (Sutcliffe, 1963); leur mobilisation à la nymphose provoque un déséquilibre dans la répartition des éléments diffusibles et la teneur en cations diffusibles s'accroît considérablement dans l'hémolymph avant la nymphose (Boné et Koch, 1942; Beaujot, Naoumoff et Jeantet, 1970). Ces variations des teneurs en éléments, accompagnées d'une modification de perméabilité des tissus, contribueraient ainsi à déterminer la nature

et la distribution des concrétions minérales qui caractérisent l'entrée en nymphose.

Le passage à la vie aérienne est précédé d'une élimination importante de sels minéraux. L'alimentation devenant insignifiante, les éléments minéraux retrouvés chez les jeunes imagos proviennent essentiellement d'une redistribution de ceux qui n'ont pas été excrétés à la métamorphose.

TRAVAUX CITÉS

- ALFORD (D. V.). 1969. — Studies on the fat body of adult Bumble bee. *J. apic. Res.*, 8, 37-48.
- BALLAN-DUFRANÇAIS (C.). 1970. — Données cytophysiologiques sur un organe excréteur particulier d'un Insecte, *Blatella germanica* L. (Dictyoptère). *Z. Zellforsch. Mikr. Anat.*, 109, 336-355.
- BALLAN-DUFRANÇAIS (C.), MARTOJA (R.). 1971. — Analyse chimique d'inclusions minérales par spectrographie des rayons X et par cytochimie. Application à quelques organes d'Insectes Orthoptères. *J. Micros.*, 11, 219-248.
- BALLAN-DUFRANÇAIS (C.), JEANTET (A. Y.), MARTOJA (R.). 1971. — Composition ionique et signification physiologique des accumulations minérales de l'intestin moyen des Insectes. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 273, 173-176.
- BEAUJOT (J.), NAOUMOFF (M.), JEUNIAUX (Ch.). 1970. — Les cations inorganiques de l'hémolymph larvaire des Insectes Trichoptères. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, 78, 111-118.
- BERLÈSE (A.). 1901. — Osservazioni su fenomeni che avvengono durante la nimfosi degli Insetti metabolici. Parte : Tessuto adiposo (Trofociti). *Riv. Pat. veget.*, 9, 177-324.
- BERRIDGE (M. J.), OSCHMAN (J. L.). 1969. — A structural basis for fluid secretion by malpighian tubules. *Tissue and Cell*, 1, 247-272.
- BISCHOP (G. H.). 1958. — Nuclear and cytoplasmic changes in fat body cells of the queen bee larva during metamorphosis. *J. exp. Zool.*, 137, 501-516.
- BOISSEZON (P. de). 1930 a. — Contribution à l'étude de la biologie et de l'histo-physiologie de *Culex pipiens* L. *Arch. Zool. exp. gén.*, 70, 281-431.
- BOISSEZON (P. de). 1930 b. — Les réserves du corps gras de *Culex pipiens* et leur rôle dans la maturation des œufs. *C. R. Soc. Biol.*, 103, 1232-1233.
- BONÉ (G.), KOCH (H. J.). 1942. — Rôle des tubes de Malpighi et du rectum dans la régulation ionique chez les Trichoptères. *Ann. Soc. roy. Zool. Belg.*, 73, 73-87.
- BRADFIELD (J. R. G.). 1951. — Phosphatases and nucleic acids in silk glands : cytochemical aspects of fibrillar protein secretion. *Quart. J. microsc. Sci.*, 92, 87-112.
- BRUNNINGS (E. A.), PRIESTER (P. de). 1971. — Effect of mode of fixation on formation of extrusions in the midgut epithelium of *Calliphora*. *Cytobiol.*, 4, 487-491.

- BUTTERWORTH (F. M.), BODENSTEIN (D.), KING (R. C.). 1965. — Adipose tissue of *Drosophila melanogaster*. I. An experimental study of larval fat body. *J. exp. Zool.*, 158, 141-154.
- CANTACUZÈNE (A.-M.), MARTOJA (R.). 1972. — Origine des enclaves vitel-
lines de l'oocyte d'un Insecte Thysanoure, *Petrobius maritimus*.
C. R. Acad. Sc. Paris, 274, 1723-1726.
- EVANS (J. J. T.). 1967. — Development and ultrastructure of the fat body
cells and oenocytes of the Queensland fruit fly, *Dacus tryoni*
Frogg. *Z. Zellforsch. Mikr. Anat.*, 81, 49-61.
- GAGNEPAIN (J.). 1956. — Données cytologiques et histochimiques sur les
tubes de Malpighi des Odonates. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 81, 395-410.
- GALLE (P.). 1965. — Analyse chimique ponctuelle des inclusions intra-
cellulaires par spectrographie des rayons X. Application à l'étude
des cellules rénales. *L'expansion*, Paris.
- GCHARAGOZLOU (I. D.). 1965. — Évolution et rôle du tissu adipeux au
cours du développement post-embryonnaire de *Callotermes flavi-
collis* (Fab.). *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 7, 675-742.
- GIBBS (D. G.). 1965. — Goblet cells in the midgut epithelium of some
trichopterous larvae. *Proc. R. ent. Soc. Lond. (A)*, 40, 81-82.
- GOURANTON (J.). 1968. — Composition, structure et mode de formation
des concrétions minérales dans l'intestin moyen des Homoptères
Cercopides. *J. Cell. biol.*, 37, 316-328.
- HUFNAGEL (A.). 1918. — Recherches histologiques sur la métamorphose
d'un Lépidoptère (*Hyponomeuta padella* L.). *Arch. Zool. exp. gén.*,
57, 47-202.
- JEANTET (A. Y.). 1969. — Recherches histophysiologiques sur le dévelop-
pement post-embryonnaire et le cycle annuel de *Formica* (Hymé-
noptères). I. Évolution des constituants du tissu adipeux des Rei-
nes de *Formica polyctena* Foerst. au cours du développement post-
embryonnaire. *In. Soc.*, 16, 87-102.
- JEANTET (A. Y.). 1971. — Idem. II. Particularités histochimiques et ultra-
structurales de l'intestin moyen de *Formica polyctena*. *Z. Zell-
forsch. Mikr. Anat.*, 116, 405-424.
- JEANTET (A. Y.). 1972. — Idem. III. Données cytophysiologiques sur les
glandes annexes mâles de *Formica polyctena* Foerst. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 12^e série, 14, 285-303.
- LABOUR (G.). 1970. — Étude histologique et histochimique du corps
adipeux au cours du développement post-embryonnaire du Dory-
phore. *Arch. Anat. micr.*, 59, 235-252.
- LHONORÉ (J.). 1972. — Application conjointe de méthodes morphologi-
ques, cytochimiques et d'analyse par spectrographie des rayons X
à l'étude de l'appareil excréteur d'un Insecte (*Gryllotalpa gryllo-
talpa* Latr.). Thèse, Paris.
- LOCKE (M.), COLLINS (J. V.). 1968. — Protein uptake into multivesicular
bodies and storage granules in the fat body of an Insect. *J. Cell. Biol.*, 36, 453-483.
- LOOF (A. de), LAGASSE (A.). 1970. — Juvenile hormone and the ultra-
structural properties of the fat body of the adult Colorado Beetle,
Leptinotarsa decemlineata Say. *Z. Zellforsch. mikr. Anat.*, 106,
439-450.
- MARTOJA (R.). 1956. — Sur l'existence d'une sécrétion muqueuse dans
les tubes de Malpighi de quelques Orthoptères et d'un Phasmop-
tère. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 81, 172.

- MARTOJA (R.). 1959. — Données cytologiques et histochimiques sur les tubes de Malpighi et leurs sécrétions muqueuses, chez *Locusta migratoria* R. et F. (Orthoptères Acridiens). *Acta Histochem.*, 6, 185-217.
- MARTOJA (R.), LAUVERJAT (S.). 1965. — Caractères histochimiques et dimorphisme sexuel du corps gras chez les Insectes Orthoptères. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 84, 339-383.
- MARTOJA (R.), MARTOJA (M.). 1967. — *Initiation aux techniques de l'histologie animale*. Masson, Paris.
- MARTOJA (R.). 1971 a. — Données préliminaires sur les accumulations de sels minéraux et de déchets du catabolisme dans quelques organes d'Arthropodes. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 273, 368-371.
- MARTOJA (R.). 1971 b. — Des Insectes et des métaux. *La Recherche*, 18, 1074-1075.
- MARTOJA (R.). 1972. — Données histophysiologiques sur l'excrétion chez les larves de Cercopides (Insectes, Homoptères). *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 12^e série, 14, 41-48.
- MARTOJA (R.), SEURAU (C.). 1972. — Répartition des accumulations de métaux et de déchets puriques chez *Calliphora erythrocephala* (Diptère, Brachycère). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 274, 1534-1537.
- MORTIMER (T. J.). 1965. — The alimentary canals of some adults Lepidoptera and Trichoptera. *Trans. R. ent. Soc. Lond.*, 117, 67-94.
- NAIR (K. S. S.), GEORGE (J. C.). 1964. — A histological and histochemical study of the larval fat body of *Anthenus vorax* Waterhouse (Dermestidae, Coleoptera). *J. Insect. Physiol.*, 10, 509-517.
- NAIR (K. S. S.), KARNAVAR (G. K.), GEORGE (J. C.). 1966. — The microscopic structure of the so-called albuminoïd granules in the larval fat body of a beetle, *Oryctes rhinoceros*. *J. anim. Morph. Physiol.*, 13, 204-205.
- NÜSKE (H.), WICHARD (W.). 1971. — Fine structure and histochemical demonstration of sodium and chloride in *Philopotamus montanus*. *Cytobiol.*, 4, 480-486.
- PARDI (L.). 1938. — Origine e comportamento del glicogeno nei corpi grassi di *Pollistes gallicus* L. (Hymenoptera, Vespidae). *Arch. ital. Anat. Embr.*, 40, 281-300.
- PARDI (L.). 1939. — I corpi grassi degli Insetti. *Redia*, 25, 87-288.
- PÉREZ (Ch.). 1902. — Contribution à l'étude de la métamorphose. *Bull. Soc. Fr. Belg.*, 37, 195-247.
- PIERSON (M.). 1956. — Contribution à l'histologie de l'appareil digestif de *Chironomus plumosus* L. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 11^e série, 18, 107-122.
- PLANTEVIN (G.), NARDON (P.). 1970. — Histologie et activité sécrétoire de l'intestin moyen des larves de *Pieris brassicae* et *Galleria mellonella*. Évolution au cours de la mue larvaire et de la nymphose chez *Galleria mellonella*. *Ann. Zool. Écol. anim.*, 2, 25-50.
- RAZET (P.). 1961. — Recherches sur l'uricolyse chez les Insectes. Thèse, Imprimeries Bretonnes, Rennes.
- SCHMIEDER (R. G.). 1928. — Observations on the fat body in Hymenoptera. *J. Morph.*, 45, 121-185.
- STRAMBI (C.). 1971. — Recherches sur les Coléoptères Catopidae cavernicoles (Bathysciinae et Chovelinae). Histologie de l'appareil digestif et du tissu adipeux. Thèse, Marseille.

- SUTCLIFFE (D. W.). 1960. — Observations on the salinity tolerance and habits of a eurhyaline caddis larva, *Limnephilus affinis* Curtis (Trichoptera : Limnephilidae). *Proc. R. ent. Soc. Lond. (A)*, 35, 156-162.
- SUTCLIFFE (D. W.). 1961 a. — Studies on salt water balance in caddis larvae (Trichoptera) : I. Osmotic and ionic regulation of body fluids in *Limnephilus affinis* Curtis. *J. exp. Biol.*, 38, 501-519.
- SUTCLIFFE (D. W.). 1961 b. — Idem. II. Osmotic and ionic regulation of body fluids in *Limnephilus stigma* Curtis and *Anabolia nervosa* Leach. *J. exp. Biol.*, 38, 521-530.
- SUTCLIFFE (D. W.). 1963. — The chemical composition of haemolymph in Insects and some other Arthropods, in relation to their phylogeny. *Comp. Biochem. Physiol.*, 9, 121-135.
- WATERHOUSE (D. F.), STAY (B.). 1955. — Functional differentiation in the midgut epithelium of blowfly larvae as revealed by histochemical tests. *Aust. J. Biol. Sci.*, Melbourne, 8, 253-277.
- WESSING (A.), EICHELBERG (D.). 1972. — Elektronenmikroskopische Untersuchungen an des Nierentubuli (Malpighische Gefäße) von *Drosophila melanogaster*. IV. Die lokalisation von Natrium und Chloridionen. *Z. Zellforsch. mikr. Anat.*, 131, 269-286.
- WIGGLESWORTH (V. B.). 1942. — The storage of the protein, fat, glycogen and uric acid in the fat body and other tissues of mosquito larvae. *J. exp. Biol.*, 19, 56-77.
- WIGGLESWORTH (V. B.). 1965. — *The principles of Insect Physiology*. Methuen, London.
- WIGGLESWORTH (V. B.). 1970. — The pericardial cells of Insects analogue of the reticuloendothelial system. *J. Reticuloendothelial Soc.*, 7, 208-216.