

# LES VARIATIONS DES CONSTANTES BIOLOGIQUES DE NEPHILA MADAGASCARIENSIS VINSON, 1863, AU COURS DES DIFFÉRENTES ÉTAPES DE LA REPRODUCTION (1)

Par Mme Lala Henriette RAKOTOVAO

Service de Botanique  
Etablissement d'Enseignement Supérieur des Sciences  
Université de Madagascar

## Résumé :

Chez la femelle adulte de *Nephila madagascariensis*, outre les modifications morphologiques des ovaires, et du poids corporel, il se produit des variations métaboliques pendant la reproduction. L'organisme maternel contribue à la formation des œufs en leur transmettant des substances qu'il synthétise (protéines) ou qu'il absorbe par l'alimentation (caroténoïdes-cholestérol). L'influence du système neuroendocrine sur la reproduction des Araignées est discutée: les effets sont semblables à ceux des *corpora allata* des Insectes.

## Abstract :

In adult female of *Nephila madagascariensis*, besides changes of ovarian morphology and body weight, metabolic variations occurred during reproduction. The female body contributed to egg formation by synthesising some components (proteins) or by food absorption (carotenoïds, cholesterol). The influence of spider neuroendocrine system on reproduction was discussed: it seemed having the same effects as insect *corpora allata*.

---

(1) Extrait d'une thèse de doctorat ès sciences, Paris VII et Tananarive, 1975.

Les études faites au cours de la reproduction des Araignées portent plus particulièrement sur les modifications morphologiques des ovaires [1] [2], la détermination des composants contenus dans les produits sexuels [3] [4], l'origine et la formation du vitellus lipidique dans les ovocytes [5-8]. La vitellogenèse a été suivie par des études ultrastructurales au microscope électronique [9] [1] [10]. La physiologie et la biochimie du développement sexuel et la reproduction chez les Arachnides n'ont pas suscité autant d'intérêt que chez les autres Arthropodes (Insectes-Crustacés) [11-13]. Notre étude apporte des précisions sur les modifications morphologiques et histologiques, ainsi que sur les variations des constantes biochimiques qui ont lieu au cours de la reproduction chez la femelle adulte d'une Araignée, *Nephila madagascariensis* Vinson, 1863.

## I. LE CYCLE DE REPRODUCTION CHEZ *NEPHILA MADAGASCARIENSIS*

### I.1. Le cycle de reproduction

Chez les femelles ayant atteint la phase adulte, l'accouplement a lieu par insertion successive des organes copulateurs mâles dans l'épigyne [14-16], l'appariement ne dure que 30 secondes à 5 minutes, précédé d'une parade pré-nuptiale du mâle [14-16] et stimulé par une phéromone sexuelle de contact [17-20]. Les spermatozoïdes sont mis en réserve dans les réceptacles séminaux ou spermathèques et libérés par fractions pour la fécondation des œufs mûrs lors de leur passage dans les oviductes.

Les pontes sont fractionnées à raison de 2 à 6 pendant la vie de la femelle [14-21]. La première ponte a généralement lieu 20 jours après l'accouplement [21] et observations personnelles, 5 à 6 jours si la température est de 20° et la nourriture abondante [14]; les pontes suivantes se produisent tous les mois, sauf si la température est basse. La période de ponte se situe de septembre à avril.

Les œufs agglutinés par un ciment blanc provenant des conduits génitaux maternels et entourés d'un cocon jaune ou blanc, sont des œufs télolécithes, de forme sphérique à 1,5 mm de diamètre et pesant 1 mg environ. Leur nombre est variable suivant l'état de nutrition de l'animal : au total, 4 075 à 7 324 [14] [21] et observations personnelles ; à chaque ponte, 694 à 1 081 œufs.

### I.2. Critères de détermination de la phase adulte :

L'arrêt du cycle des mues pourrait être utilisée comme critère pour différencier la phase adulte des derniers stades nymphaux ; en fait, certaines femelles présentent des mues post-nuptiales, la femelle étant fécondable à partir de la neuvième mue [21] et observations personnelles.

— Les femelles immatures de *Nephila madagascariensis* ont des manchons de soies aux tibias, qui disparaissent chez les imagos [14] [21]. La trichobothrixtaxie ou répartition des trichobothries (soies sensorielles) des appendices est différente chez les nymphes et les adultes: leur nombre sur les tibias des premières pattes se stabilise au moment de l'apparition de la maturité sexuelle [22].

— Des modifications de coloration du dos de l'abdomen ont été notées chez les femelles adultes de *Nephila madagascariensis* [15] [21].

— Les rapports  $\frac{\text{Longueur du fémur}}{\text{Longueur du céphalothorax}}$  et  $\frac{\text{Longueur du métatarse}}{\text{Longueur du céphalothorax}}$  sont respectivement de 1,37 à 1,38 et 2,03 chez *Nephila madagascariensis* femelle adulte [21].

Nous avons préféré utiliser, pour notre part, l'ensemble des critères suivants:

a. *Le poids*: nous avons considéré les Araignées pesant de 0,9 à 1,5 g comme des femelles de 1 gramme (Poids moyen: PM = 1,2 g); celles pesant de 1,5 à 2,5 g (PM = 2,2 g) comme des femelles de 2 grammes; celles pesant 2,5 à 3,5 g comme des femelles de 3 grammes; celles de 4,5 à 5,5 g comme des femelles de 6 grammes. Les nymphes ne pesant jamais plus de 1 gramme, la différenciation du stade adulte n'est nécessaire que pour les femelles de 1 gramme.

b. *La taille*: nous n'avons pas mesuré la longueur de l'abdomen ni celle du céphalothorax; nous avons tenu compte de la longueur des articles des pattes. Le fémur de la quatrième patte mesure seize à vingt millimètres, celui de la première patte, dix-sept à dix-neuf millimètres. Le rapport Longueur du fémur IV/Longueur du fémur I est de 0,94 pour les femelles adultes de deux grammes et de 1 à 1,5 mm pour les femelles de 3 grammes. Nous considérons une femelle comme adulte quand le rapport est supérieur à 0,94.

c. *L'état des ovaires après dissection*

### 1.3. Modifications morphologiques de l'appareil reproducteur:

#### *Nomenclature des stades imaginaux*

Les ovaires sont constitués par deux sacs en forme de tubes, situés de chaque côté de la ligne médiane du corps et formés peu avant l'éclosion entre le deuxième et le cinquième segment opisthosomatique [23]. **D'après leur aspect morphologique, nous avons déterminé trois grands « stades » des ovaires**; il s'agit d'états différents et successifs des ovaires correspondant à des moments déterminés de la reproduction, et non de stades séparés par des mues comme il est dit dans la nomenclature de M. VACHON [24].

(a) Le *stade 0* correspond aux femelles non fécondées dont les deux ovaires bien séparés présentent une coloration blanchâtre; au microscope, on voit à leur intérieur des ovules sphériques sans coloration particulière, de diamètre inférieur à  $150\ \mu$ .

Ayant fait nos récoltes dans la nature, nous n'avons pas pu différencier les femelles non fécondées de celles qui viennent de pondre. Sauf dans quelques cas où il reste un oeuf non pondu au voisinage des ovaires et dans le cas où nous avons obtenu les pontes en élevage, nous avons assimilé les femelles non fécondées et les femelles après une ponte.

(b) Le *stade I* correspond à des femelles fécondées dont les œufs sont nettement visibles, de diamètre compris entre  $150$  et  $300\ \mu$ . Ces œufs sont consistants et bien individualisés. Au microscope on voit que le cytoplasme est envahi par une vacuole fortement colorée. La coloration des œufs varie du beige en rose, puis à l'orange et en rouge, ce qui nous a amené à subdiviser ce stade en 2 sous-stades : I beige-rose et I orange-rouge, les différences de coloration étant difficilement appréciables.

(2) Le *stade II* correspond aux femelles dont les œufs de coloration grenat et de diamètre supérieur à  $300\ \mu$ , sont confluents, séparés par un ciment blanc. Suivant le poids de l'animal, nous avons subdivisé ce stade en sous-stades 2, 3, 4, 5 et 6.

#### 1.4. Modifications histologiques

##### *Correspondance entre stades imaginaux de Nephila madagascariensis et phases de l'ovogenèse*

Aucune étude de la formation des œufs jusqu'à leur maturation n'a encore été faite chez *Nephila madagascariensis*. Les études histologiques que nous avons effectuées personnellement nous permettent d'observer que la subdivision en stade 0, I et II basée sur l'aspect morphologique des ovaires correspond aux phases successives des ovocytes.

##### (1) Techniques

Nous avons utilisé des ovaires entiers ou une partie des œufs quand ceux-ci sont développés; dans le deuxième cas, pour maintenir les œufs compacts, nous avons réfrigéré l'abdomen pendant une heure environ avant de procéder à la dissection. Les pièces sont fixées dans du liquide de Bouin et incluses dans la paraffine. Les coupes sont colorées par la méthode de Mallory, par l'hémalum-éosine associé à l'orangé G ou le trichrome de Masson.

## (2) Résultats et interprétations

Sur des coupes histologiques d'ovaires au stade 0, on observe des ovogonies et des ovocytes en début de croissance : la taille de leur noyau est important par rapport à celle du cytoplasme (Rapport nucléoplasmatique 0,55) Les ovocytes font saillie dans la cavité générale et se trouvent donc en position externe par rapport au lumen des sacs ovariens ; chaque ovocyte est maintenu à la paroi par un groupe de cellules formant un pédicule [3] massif et compact et est entouré par la membrane péritonéale, certains ont un gros noyau avec un seul nucléole bien visible, réfringent, intensément colorable et des chromosomes piumeux ; d'autres présentent une vésicule germinative à nombreux nucléoles : cette vésicule peut être rompue et on voit alors un fuseau achromatique. Un noyau vitellin est visible dans le cytoplasme. Le stade 0 correspondrait à la préméiose.

Dans les ovaires de stade I, les ovocytes de tailles différentes présentent un cytoplasme pigmenté, plus abondant qu'au stade 0 par rapport au noyau ; mais la proportion du cytoplasme étant encore faible, ce stade correspond à la phase de petit accroissement (Rapport nucléo-plasmatique : 0,43). Certains ovocytes portent encore un pédicule qui les relie à la paroi des ovaires. A la fin du stade I, on voit des granulations de vitellus primaire dans le cytoplasme de l'ovocyte. Ce stade correspond à la prévitellogénèse qui suit la préméiose : le stade I débute vers le dixième jour du cycle, si les conditions sont favorables, vers le vingt-huitième jour si elles sont défavorables.

Aux stades 2 et 3, se produit la phase dite de grand accroissement du cytoplasme ovocytaire ou encore la phase de vitellogenèse ; on voit en effet de grandes plaquettes de vitellus secondaire à l'intérieur des œufs. Les stades 4 et 5 correspondraient à la phase de maturation des ovules qui ont atteint leurs dimensions finales.

C'est vraisemblablement au cours du stade II que les ovules s'entourent de membranes qu'ils sécrètent eux-mêmes ou qui sont sécrétés par les ovaires.

Bien que nous n'ayons pas suivi l'évolution des ovaires, nous pouvons suggérer que les derniers stades correspondent à la phase d'inclusion des ovules, spécifique des Araignées qui a lieu 48 heures avant la ponte : les ovules, de grande taille, en position externe sont intégrés dans les ovaires ; pendant leur dépôt dans les ovaires et les oviductes, a lieu la libération des spermatozoïdes par les spermathèques. Puis, se produit la phase d'élimination des ovules.

E. TRACIUC [3] a décrit les modifications qui se produisent dans les ovaires entre deux pontes, chez une Lycosidae, *Pardosa lugubris* : les parois des ovaires, dilatées avant la ponte, se rétractent et prennent leur

dimension initiale, certains ovocytes sont arrêtés dans leur développement, d'autres dégénèrent. Puis, les différentes étapes de l'ovogenèse (croissance, vitellogenèse, maturation) recommencent comme il a été décrit jusqu'à la ponte suivante; les ovaires présentent donc une activité cyclique.

## II. VARIATIONS DES CONSTANTES BIOLOGIQUES AU COURS DU CYCLE DE REPRODUCTION

### II.1. Modifications pondérales au cours de la reproduction

#### II.1.1. Matériel biologique

Outre les récoltes mensuelles, nous avons été amenés à faire des élevages pour pouvoir suivre l'évolution de l'état des femelles entre deux pontes et pour noter le nombre de pontes.

Les Araignées sont placées dans des cages individuelles en bois et en grillage, suffisamment larges pour leur permettre de construire leur toile (50 × 30 × 30 cm). Les cages sont laissées à l'extérieur pour que les conditions d'humidité et de température soient les mêmes que dans le milieu naturel. Comme nourriture, nous avons donné en alternance tous les deux jours, des criquets vivants ainsi qu'il a été déjà fait [14] [21] [25] et un mélange de lait concentré et d'œuf; un coton imbibé de ce mélange lait-œuf est maintenu par un fil près de sa toile pour permettre à l'Araignée de venir le sucer. Il n'est pas utile de faire vibrer la toile.

#### II.1.2. Variations du poids corporel:

Généralement les femelles présentant des ovaires de stade I pèsent entre 0,8 et 2 grammes, celles du stade II entre 2 et 6 grammes. Cette augmentation du poids corporel se traduit par un accroissement du volume et du poids de l'abdomen: celui-ci présente 67 p. 100 du poids total chez les femelles pesant 1 gramme; cette proportion augmente à 80 puis 83 p. 100 avant la ponte.

#### II.1.3. Variations du poids des organes

Le poids des tissus de *Nephila madagascariensis* varie peu du stade 0 au stade 3, augmente au stade 4 (0,7 g) et demeure élevé jusqu'à la ponte.

Le poids frais des œufs varie peu du stade 0 au stade 2, augmente nettement du stade 3 jusqu'à la ponte (2,6 g): le rapport gonadosomatique est de 1,5 au stade 0, de 3,9 au stade I et de 30 au stade II.

#### II.1.4. Relation entre le poids du corps et l'état des ovaires

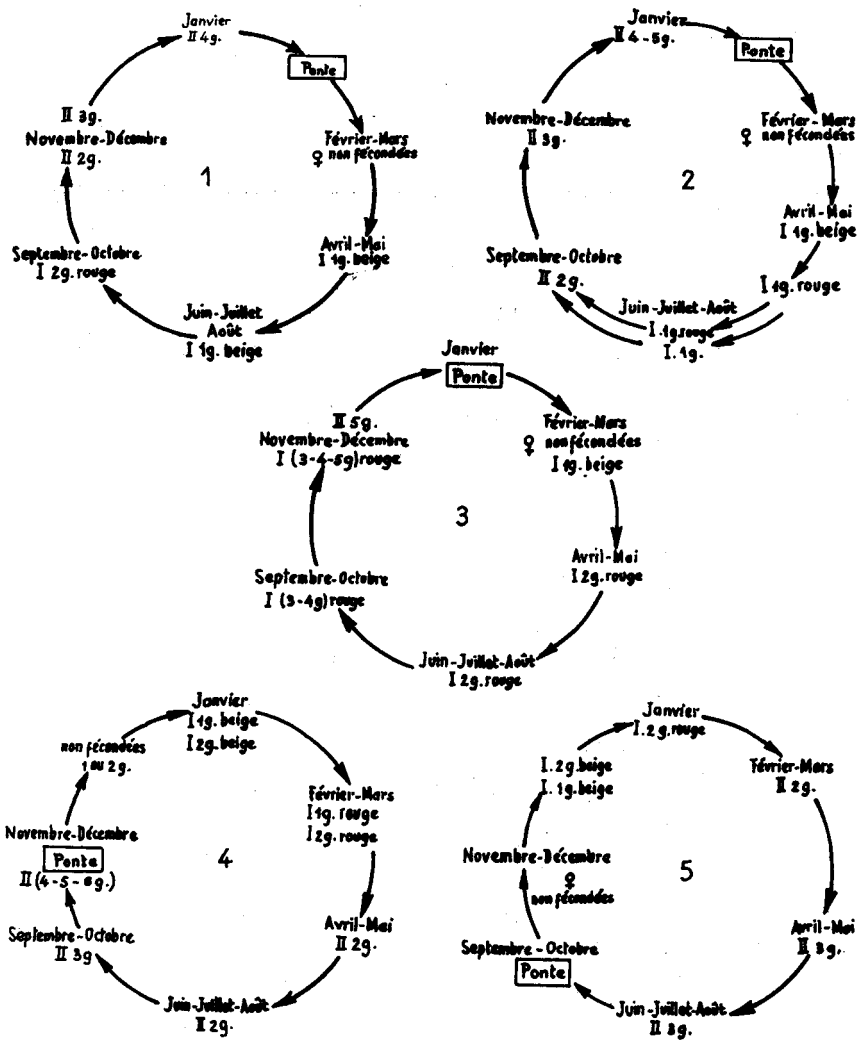
Il faut spécifier la date de récolte pour avoir une idée approximative du stade auquel se trouve une Araignée de poids donné. En analysant les résultats obtenus de mars 1972 à février 1973, on peut noter :

- que les femelles pesant 1 gramme appartiennent aux premiers stades des ovaires (0, I beige-rose et I orange-rose) sauf en hiver où certaines femelles (5 p. 100 du nombre total d'animaux) passent l'hiver au stade II ;
- que les femelles de 2 grammes appartiennent surtout aux stades 0 et I, sauf en avril-mai et pendant la saison froide (75 p. 100 du nombre total d'animaux) ;
- que les femelles pesant de 3 grammes à 6 grammes appartiennent au stade II, sauf pendant les mois chauds et humides (novembre-décembre) ou même des femelles de stade I, voire de stade 0 peuvent peser plus de 3 grammes.

D'après les résultats obtenus et suivant les proportions d'animaux de même stade et de même poids au cours de l'année, nous avons essayé de schématiser les types de *cycle annuel* de la femelle adulte de *Nephila madagascariensis* dans la figure 1.

Il s'agit d'une Araignée annuelle, à un cycle par an [26], la vie imaginaire dure environ 8 à 9 mois, dont 3 mois de vie ralentie ; pendant la saison froide, en juin-juillet-août, il se produit une forte mortalité et les individus qui survivent assurent la perpétuation de l'espèce. Les femelles peuvent passer l'hiver au stade I beige et pèsent alors 1 gramme ; celles de stade I rouge pèsent 1 ou 2 grammes ; parmi les femelles de stade II qui survivent, 10 p. 100 pèsent 1 gramme, 65 à 90 p. 100 pèsent 2 grammes, 8 p. 100 pèsent 3 grammes.

Les premières pontes ont lieu au moment où la température se réchauffe, en septembre et octobre, quel que soit le poids de la femelle, mais nous pensons qu'elles surviennent surtout chez les quelques individus pesant 3 grammes dont le cycle est de type 5. Dans les autres types de cycles annuels, les femelles augmentent de poids quel que soit le stade au début de la saison chaude et humide. Les pontes étant étalées de novembre à mars, le cycle n'est pas fixe : c'est ce qui explique la présence simultanée d'individus adultes de différents stades, à un moment donné de l'année. Curieusement, la période de ponte est sensiblement la même que celle de *Nephila clavata*, à l'île d'Okinawa [27], soit de décembre au début mars avec un maximum en janvier pour *Nephila clavata*, de novembre à mars avec un maximum en décembre-janvier pour *Nephila madagascariensis* (ce qui correspond au cycle du type n° 4 de la figure 1).



Schémas de types de cycle annuel de *Nephila madagascariensis*

Vinson, 1863.

Nous avons cherché à savoir si ces variations pondérales qui ont lieu au cours de la reproduction sont liées à des modifications métaboliques, non seulement au niveau des autres organes (tissus, glandes séricigènes) et de l'hémolymphe pour nous faire une idée du métabolisme dans les ovaires et de leurs relations avec l'organisme maternel au cours du cycle de reproduction.



## **11.2. Variations de différents paramètres biochimiques au cours de la reproduction**

### **11.2.1. Techniques analytiques**

— L'ARN total est dosé par la technique de G. SCHMIT et S.-J. TANHAUSER [28] modifié.

— Les protéines sont séparées par fractionnement électrophorétique sur bande d'acétate de cellulose, avec un ensemble PhoroSjide Millipore; la quantité d'échantillon (hémolymphe ou homogénat d'organe centrifugé et additionné d'un égal volume de saccharose à 40 p. 100 [29]) à déposer est de 0,3  $\mu$ l. Le développement en milieu tampon véronal (pH: 8,6 force ionique: 0,075) dure 20 minutes. Les protéines sont révélées par le réactif au Ponceau S, les glycoprotéines par le réactif PAS, les lipoprotéines par oxydation par peroxyde de baryum et SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> concentré puis par le réactif de Schiff.

— Les acides aminés sont analysés au Technicon sur 0,25 à 0,5 ml d'hémolymphe déprotéinisée par 1 millilitre d'acide sulfosalicylique 3 p. 100.

— Les pigments des œufs sont extraits par l'acétone à 80 p. 100, puis additionnés d'éther et d'eau distillée; un spectre en lumière ultraviolette est fait sur la phase aqueuse. Après évaporation à sec, un spectre en lumière visible est effectué sur la phase organique; les pigments sont ensuite séparés par chromatographie sur couche mince (5 g de gel de silice, 6,2 g de Ca (OH)<sub>2</sub>, 30 millilitres d'eau distillée). Solvant de développement: éther de pétrole — benzène (1/1) avec 1 p. 100 de méthanol.

### **11.2.2. L'eau**

#### **11.2.2.1. Le volume de l'hémolymphe**

Le volume de l'hémolymphe varie jusqu'au stade 3, puis augmente jusqu'à 250 à 300  $\mu$ l aux derniers stades avant la ponte et diminue après une ponte.

#### **11.2.2.2. La teneur en eau des organes de l'abdomen**

##### **a. Les tissus:**

Les variations de teneur en eau ne sont pas significatives au stade I et au début du stade II; alors que le poids des tissus est en augmentation, une nette diminution de la teneur en eau est observée au stade 4 (48 p. 100) suivie d'une augmentation aux stades 5 et 6 (58 et 76 p. 100).

L'augmentation de la quantité d'eau dans les tissus et dans l'hémolymphe aux stades qui précèdent une ponte et la diminution après une ponte, signifieraient que l'eau est mise en réserve et utilisée ultérieurement pour les mécanismes de la ponte.

#### b. Les œufs :

Les ovaires des femelles de stade 0 sont chargés en eau (90 p. 100). Après diminution au stade I beige (72 p. 100), la teneur en eau des œufs ne varie presque pas jusqu'à la ponte ; seule une légère augmentation a lieu aux stades 4 et 5 ; cette augmentation se produit à un moment où l'humidité externe est élevée et où il y a diminution de la teneur en eau au niveau des tissus. Les œufs pondus ne contiennent plus qu'une faible quantité d'eau, soit 15 p. 100 en moyenne.

Alors que les œufs ne cessent d'augmenter de poids et de volume, leur taux hydrique varie peu ; l'hydratation dans les derniers stades de la vitellogenèse [30] [31] n'est pas très nette chez *Nephila madagascariensis*, les synthèses qui ont lieu au niveau des œufs nécessitant un apport important d'eau.

### II.3. Les lipides

#### II.3.1. Les lipides de l'hémolymphe

Les variations des lipides de l'hémolymphe au cours de la reproduction sont plutôt faibles ; néanmoins, on peut considérer que la quantité de lipides circulants est plus élevée au stade II (4,78 p. 100 millilitres d'hémolymphe en moyenne) qu'au stade I (3,4 pour 100 millilitres).

Aux premiers stades, la lipémie est faible, de même que le taux de glycérides de l'hémolymphe ; l'augmentation de la teneur en lipides au stade 3 est due aux acides gras et aux glycérides ; néanmoins, à aucun stade, nous n'avons observé de lactescence à l'intérieur de l'hémolymphe.

Les variations du cholestérol et du phosphore lipidique de l'hémolymphe n'ont pas pu être interprétées en raison des variations trop importantes à l'intérieur d'un même stade.

#### II.3.2. Les lipides des organes

##### (1) — Les lipides totaux.

Les variations observées dans les tissus durant le cycle de reproduction ne sont pas significatives.

Dans les œufs, la teneur en lipides totaux est élevée au stade I beige ; (30,58 grammes pour 100 de poids sec), elle diminue au stade I rouge (18,53 g) et demeure faible jusqu'au stade 3 ; l'augmentation qui a lieu aux stades 4 et 5, à la fin de l'ovogenèse est significative.

(2) — *Le cholestérol total*

Dans les tissus, une augmentation significative ( $0,05 < p < 0,1$ ) a lieu au stade I rouge et se maintient aux stades 2 et 3. La diminution observée aux stades 4 et 5 n'est pas significative.

Dans les œufs, le taux de cholestérol total diminue progressivement au stade 0 jusqu'à la ponte, mais la diminution n'est nette qu'après le stade I ( $0,02 < p < 0,01$ ). L'augmentation qui a lieu après la ponte est significative ( $0,05 < p < 0,02$ ).

(3) — *Le phosphore lipidique*

Les variations observées dans les tissus et les œufs ne sont pas significatives au cours des différentes étapes de la reproduction ; L.-I. GILBERT (1967) [34] a fait la même observation chez *Leucophaea maderae*. Contrairement à ce qui a été décrit par cet auteur pour le corps gras, les variations des taux de lipides tissulaires ne sont pas nettes. Dans les œufs, il y a utilisation des graisses à la fin du stade I et au début du stade II (stades 2 et 3) ; l'accumulation des lipides qui a lieu avant la ponte permet l'utilisation ultérieure de ces constituants par l'embryon, toujours selon le même auteur.

## II.4. Les glucides

### II.4.1. Les glucides de l'hémolymphe

Les variations importantes des taux de glucose et de tréhalose de l'hémolymphe seraient un indice d'une déficience des mécanismes intervenant dans la régulation de ces deux constituants.

### II.4.2. Le glycogène des organes

— *Les tissus :*

Le glycogène tissulaire est élevé au stade 0 (730 mg pour 100 grammes de poids sec) ; il se produit une diminution au stade I beige (574, 14 mg), suivie d'une légère augmentation au stade I rouge, soit 702,33 mg. Cette teneur demeure élevée aux stades 2 et 3, puis diminue nettement ( $0,05 < p < 0,02$ ) aux stades 4 et 5.

Après la ponte, le taux de glycogène dans les tissus ne retrouve pas tout de suite sa valeur initiale : elle est de 330 mg après une ponte alors que chez les femelles de stade 0 au début du cycle, elle est de 697, 29 mg. La différence est significative.

La courbe des variations du glycogène présente une allure sensiblement biphasique comme chez un Insecte *Leucophaea maderae* [33].

— *Les œufs :*

La teneur en glycogène est faible aux premiers stades (I beige et I rouge) : elle est en moyenne de 207,5 mg pour 100 grammes de poids sec. Une diminution de cette teneur en glycogène a lieu du stade 2 au stade 5 : la diminution au stade 4 n'est pas significative.

**Après la ponte, le glycogène diminue dans les œufs : le taux est de 700 mg au lieu de 650 mg au stade 5.**

Il semble que le glycogène des tissus soit utilisé pour la formation du glycogène des œufs à la fin de leur maturation. Outre le taux élevé de ce constituant, nous avons déjà observé une diminution de la teneur en eau dans les œufs et une augmentation des lipides totaux, aux stades 4 et 5. L'augmentation rapide du poids des œufs avant la ponte est donc due à la fois à celle des réserves glucidiques et lipidiques.

## II.5. Les protides

### II.5.1. Les acides aminés libres de l'hémolymphe

La teneur en acides aminés totaux de l'hémolymphe augmente au stade I et au stade II : 1 592 à 3 295 nanomoles pour un premier lot d'animaux, 5 530 à 7 428 nanomoles pour un deuxième lot. La différence entre les valeurs obtenues pour les deux lots est due vraisemblablement au fait que les prélèvements ont été faits à des dates différentes.

Nous avons suivi des variations de chaque acide aminé chez les femelles de stade I et celle de stade II, les résultats étant exprimés en pourcentage de concentration totale.

Il se produit une légère diminution de glycocolle (26,2 à 20,4 p. 100 dans le premier lot et 25 à 22,3 p. 100 dans le deuxième lot) ainsi que l'alanine (8,6 à 6,9 p. 100 dans le premier lot ; 7,5 à 7,1 p. 100 dans le deuxième lot) chez les femelles de stade II.

Une diminution marquée est enregistrée pour l'acide cystéique (8,1 à 4,1 p. 100) et la proline (8,6 à 4,5 p. 100).

L'acide aspartique augmente du stade I au stade II de même que la sérine et l'acide glutamique.

Les autres acides aminés sont en faible quantité, mais en augmentation ; c'est le cas notamment des acides aminés basiques.

La méthionine, à très faible concentration, ne semble pas intervenir au cours de la formation des œufs, comme cela a été suggéré chez les Insectes [34].

Une telle analyse des acides aminés libres de l'hémolymphe sans utilisation d'éléments marqués ne permet pas de tirer de conclusions sur leur rôle possible dans les changements physiologiques notamment ceux qui ont lieu au cours de la reproduction. Tout ce que nous pouvons dire, c'est que ces acides aminés de l'hémolymphe constituent des éléments pouvant servir à la synthèse de protéines par les tissus, les glandes séricigènes et les œufs chez la femelle adulte.

## **II.5.2. Les protéines**

### **II.5.2.1.(1) Les protéines totales (a) — L'hémolymphe (Fig. 2 a et b)**

Les résultats que nous avons obtenus en 1971 [35] et en 1972 [36] ne paraissant pas tout à fait concordants, les précisions suivantes doivent être ajoutées concernant la nomenclature des stades utilisés en 1971.

Dans le stade 0, nous n'avons tenu compte que des femelles qui présentent des ovaires incolores et dans lesquels il n'est pas encore possible de distinguer les œufs à l'œil nu.

**Les stades 1-2 g et II 2 g sont à rapprocher.**

Le stade I est subdivisé en I rose beige, et I rouge, en tenant compte de la taille et de la coloration des œufs.

Après une ponte, il est nécessaire de suivre l'évolution des œufs à différentes périodes.

Compte tenu de ces précisions et des variations saisonnières de la protéinémie, nous avons pu tirer les conclusions suivantes : la teneur en protéines de l'hémolymphe est faible chez les femelles non fécondées (stade 0), s'élève au stade I, diminue aux stades 2 et 3, augmente à nouveau au stade 4 et baisse légèrement juste avant la ponte (stades 5 et 6). Ces variations se rapprochent de celles observées au cours de la reproduction chez les insectes [37-39], mais la différence est que chez *Nephila madagascariensis*, il y a augmentation au stade 4, suivie d'une diminution avant une ponte.

Le premier jour après une ponte, les ovaires sont incolores et les œufs ne sont pas distincts : la protéinémie est faible (4,5 g pour 100 millilitres). Au quatrième jour, les œufs bien qu'encore incolores sont bien séparés ; la

pigmentation, rose ou beige, apparaît au dixième ou douzième jour : le taux de protéines est en légère augmentation, mais demeure encore faible. Entre le dix-huitième et vingtième jour, les œufs deviennent rouges, le taux de protéines de l'hémolymphe augmente nettement de 5,2 g pour 100 millilitres à 9,25-10,24 g pour 100 millilitres. Ces résultats ont été obtenus en décembre, c'est-à-dire, au cours de la période de reproduction où le cycle dure environ

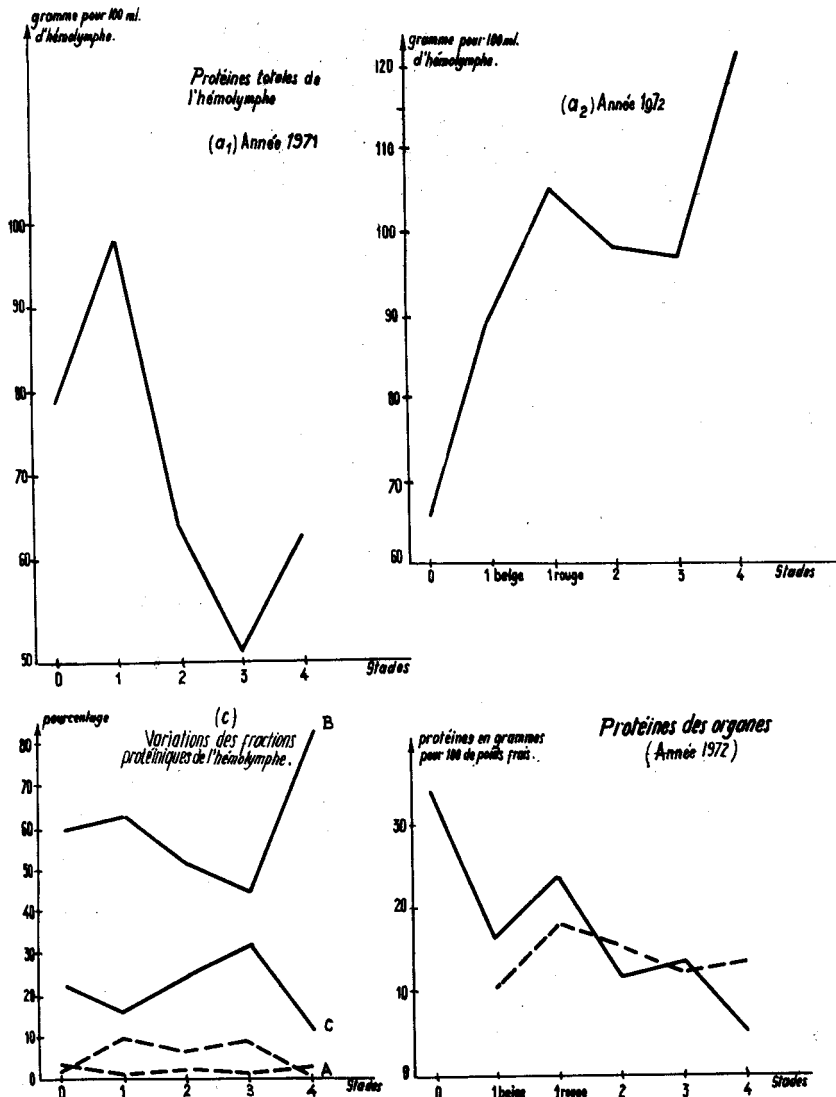


Fig. 2. — Variations des protéines de l'hémolymphe et des organes au cours des différentes étapes de la reproduction chez *Nephila madagascariensis*

30 jours. Une nourriture quantitativement insuffisante, une forte humidité atmosphérique prolongent la période de formation des œufs [31], et influent sur le rythme des pontes : c'est ainsi qu'en janvier, où l'humidité élevée se prolonge, les œufs sont encore au stade I beige au bout de 28 jours et le taux de protéines sanguines est faible.

Bien que nous n'ayons pas pu suivre entièrement les variations de la protéinémie entre deux pontes, il semble que ces changements soient cycliques, comme cela se produit chez les Insectes au cours de la vitellogénèse [38] [40].

(b) — *Les organes de l'abdomen* (Fig 2, d)

— *Les tissus* : Le taux le plus élevé en protéines totales est observé chez les femelles non fécondées (34 grammes pour 100 grammes de poids frais) ; sauf une légère hausse au stade I rouge, une diminution progressive a lieu jusqu'à la ponte (6,8 p. 100 du poids frais).

— *Les œufs* : on observe une légère augmentation ( $p > 0,05$ ) entre les stades I beige et I rouge ; une nouvelle hausse a lieu entre les stades 3 et 4.

— Au début du cycle (stade 0), la protéinémie est faible, la teneur en protéines des tissus élevée ; puis au stade I beige, la concentration en protéines de l'hémolymphe augmente, cependant que celle des tissus diminue. Ces faits nous font suggérer que des protéines tissulaires sont déversées dans le sang. Au stade I rouge, la teneur en protéines est élevée à la fois dans les tissus et dans les œufs ainsi que dans l'hémolymphe : ce stade correspondrait à la formation de protéines dans les tissus, qui sont ensuite incorporées dans les œufs après transport par l'hémolymphe.

Vers la fin du cycle, la concentration en protéines augmente de nouveau dans l'hémolymphe et les œufs, alors que celle des tissus diminue.

Des modifications de teneur en protéines de l'hémolymphe et des organes sont en relation avec des changements de coloration comme cela a été décrit chez d'autres Arthropodes [41].

Alors que les femelles ne sont pas encore en phase d'activité, les ovaires et l'hémolymphe sont incolores et le taux de protéines est faible ; au stade I, il se produit une augmentation de la pigmentation : beige, rose, orange ou rouge vif dans les œufs — rose ou orangé dans l'hémolymphe ; cette pigmentation coïncide avec l'augmentation de la protéinémie. La coloration disparaît au niveau de l'hémolymphe, au stade II : seule persiste une coloration gris bleu quand les œufs acquièrent leur coloration grenat finale. Les pigments des œufs sont donc prélevés dans l'hémolymphe et liés à des protéines : l'accumulation de pigments est une manifestation de l'accumulation de protéines sanguines.

— En comparant l'évolution des taux de protéines et d'acide ribonucléique total dans les œufs, nous avons noté que les taux d'acide ribonucléique et des protéines sont élevés au début du cycle, diminuent au stade 2. Vers la fin du cycle (stades 3 et 4), il y a baisse du taux d'acide ribonucléique alors que celui des protéines s'élève. Cette augmentation se fait donc sans qu'il y ait synthèse : ce qui confirme que certaines protéines transportées par l'hémolymphe sont incorporées dans les œufs. Les tissus sont le siège d'une intense activité synthétique chez les femelles non fécondées, les taux de RNA et de protéines étant élevés ; au stade suivant, la teneur en RNA demeure élevée alors que celle des protéines présente une diminution nette : c'est à ce moment-là qu'a lieu un premier passage des protéines dans l'hémolymphe. Une synthèse a de nouveau lieu au stade I rouge et le taux diminue progressivement mais demeure élevé jusqu'au stade 3, où il n'y a plus synthèse ; il y a donc passage de certaines de ces protéines dans l'hémolymphe et incorporation dans les œufs à la fin du cycle.

(2) — *Les variations des fractions protéiniques de l'hémolymphe*

(a) — *Variations qualitatives* (Fig. 3)

Après séparation électrophorétique sur acétate de cellulose et coloration avec le réactif au Ponceau S, on observe les fractions A, B, C, D : la fraction D ne se déplace pas ; la fraction A anionique se déplace à une distance de 0,3 cm par rapport au point de départ et les fractions C et D se déplacent vers la cathode à des distances respectives de 0,2 et 0,5 cm.

Des fractions anioniques supplémentaires à déplacement plus rapide que celui de A (0,8 cm, 1 cm et 1,8 cm par rapport au point de départ) sont observées au stade I, mais leur teneur est faible.

Des fractions protéiniques cationiques à déplacement lent (0,2 ; 0,3 ; 0,4 et 0,5 cm par rapport à la ligne de départ) sont observées aux stades I rouge et 2. Ces fractions lentes supplémentaires correspondent à des sous-fractions, au nombre de deux ou trois, que nous avons décrites [35] au niveau de la fraction C aux stades I rouge et 2 : ainsi que le montre le profil des électrophorégrammes d'hémolymphe de *Nephila madagascariensis*, ces sous-fractions fusionnent aux stades précédant une ponte.

Des fractions protéiniques cationiques à déplacement rapide apparaissent aux derniers stades, mais outre leur faible teneur, elles ne sont pas constantes.

(b) — *Variations quantitatives* (Fig. 2 c)

La fraction A est faible (3 p. 100 en moyenne) et les variations en sont difficiles à apprécier.



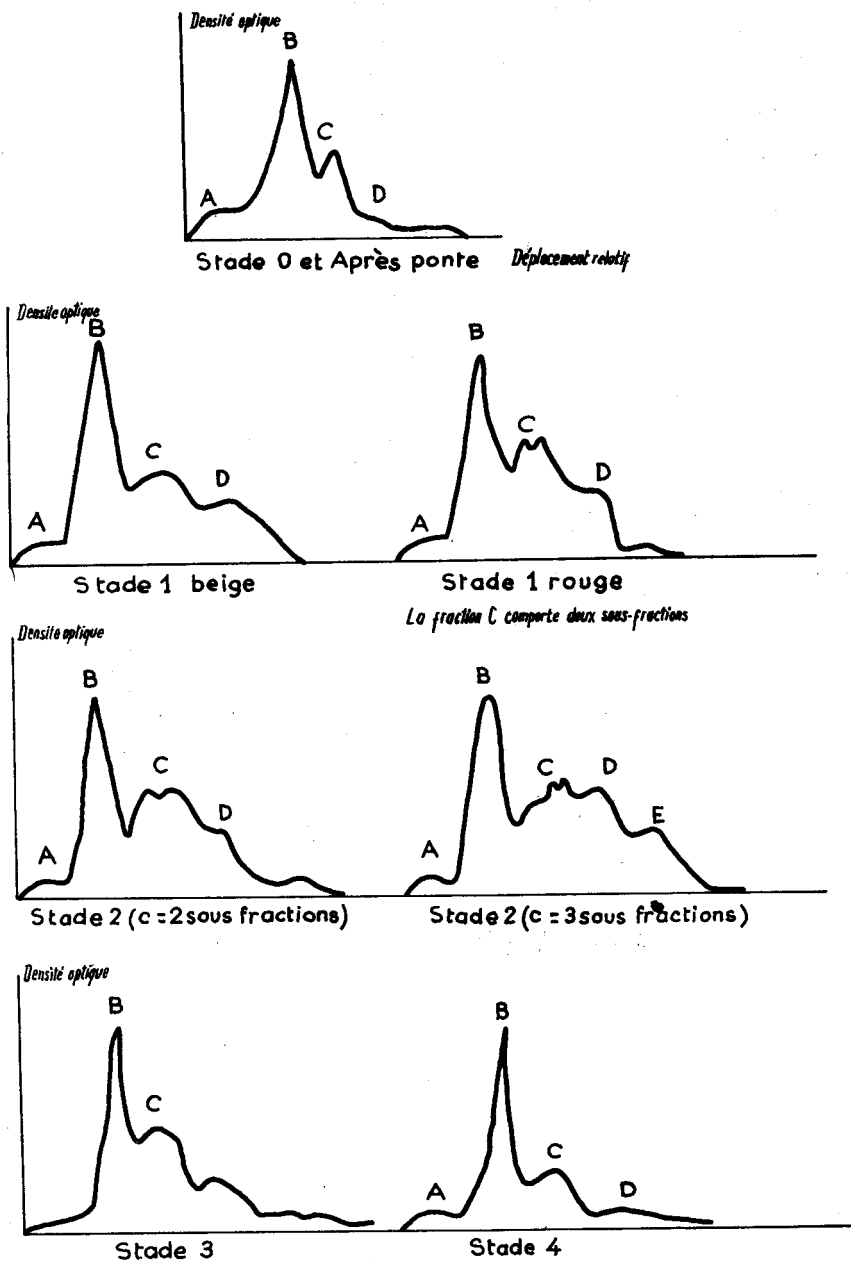


Fig. 3. — Profil électrophorétique de l'hémolymphe de *Nephila madagascariensis* femelle adulte à différents stades (la fraction B correspond au dépôt).

La fraction B, la plus importante du point de vue de la concentration (60 p. 100 en moyenne), présente des variations parallèles à celles des protéines totales de l'hémolymphe : sa teneur diminue aux stades 2 et 3, augmente au stade 4.

La fraction C (20 p. 100 en moyenne) augmente légèrement aux stades 2 et 3 à cause de l'apparition des sous-fractions au stade 2 et diminue avant la ponte.

La fraction D (8 p. 100 en moyenne) est relativement importante aux stades 1, 2 et 3, diminue peu avant la ponte au stade 4 (2 p. 100) et n'augmente qu'après une ponte. Ces variations montrent qu'au moins une de ces fractions est liée à la reproduction.

(3) — *Comparaison des déplacements des fractions protéiniques et des pigments dans l'hémolymphe et les organes (Fig. 4)*

Nous n'avons considéré que les déplacements des fractions obtenues par séparation électrophorétique sur acétate de cellulose et visibles à la loupe. Les pigments ne sont pas nettement visibles sur les colonnes de gel d'acrylamide.

Nous avons comparé les déplacements des fractions protéiniques révélées par le Ponceau S et les colorations spécifiques avec ceux des pigments localisés sur les électrophorégrammes avant révélation, tant dans l'hémolymphe que dans les tissus et les œufs.

Nous avons observé que certaines fractions protéiniques de l'hémolymphe sont des glycoprotéines ou des lipoglycoprotéines ; dans ce dernier cas, la réaction au PAS caractéristique des glycoprotéines est plus importante que celle des lipoprotéines, ainsi qu'il a été observé chez les insectes [42].

Ces associations glycoprotéiques ou lipoprotéiques ont même mobilité électrophorétique que des pigments : il pourrait s'agir de complexes chromoprotéiques.

— Des protéines pigmentées de l'hémolymphe se retrouvent dans les œufs mais à des stades différents : c'est le cas des fractions B, C, D de l'hémolymphe, la première de coloration gris bleu, les deux autres jaunes, visibles au stade I rouge qui se retrouvent dans les œufs aux stades 2, 3, 4.

Une glycoprotéine anionique à déplacement rapide (1,3 cm par rapport au point de départ), visible dans l'hémolymphe au stade I beige, colorée en gris existe dans les œufs sous forme incolore au stade I beige et liée à un pigment rose saumon du stade I rouge jusqu'à la ponte ; au même

emplacement existe un pigment jaune libre dans les tissus, à tous les stades. Cette protéine ne serait donc plus liée au pigment dans l'œuf, devenant de ce fait plus hydrosoluble et se déplaçant plus rapidement que le complexe chromoprotéique.

(4) — Essai de caractérisation de la fraction colorées des chromoprotéines des œufs

L'acétone pure se révèle incapable d'extraire les pigments, alors que cela devient possible après addition d'eau. L'extrait de l'acétone 80 p. 100 est de coloration jaune orangé et contient donc un complexe chromoprotéique, le pigment étant fortement lié à la protéine et faisant partie intégrante de l'œuf [42].

La phase aqueuse non diluée présente une légère coloration rose due à un pigment dont le maximum d'absorption se trouve à 380 nm. Un pic d'absorption à 280 nm indique la présence d'une forte quantité de matériel protéique.

La phase organique est plus complexe : 4 à 5 pigments ont été dénombrés après séparation chromatographique, de Rf : 0,09-0,16-0,27-0,38 et 0,64.

Déplacement en cm. Stades		Pôle + ← → Pôle -																									
		Fraction A 0,3						Fraction B 0,2			Fraction C 0,2			Fraction D 0,5			0,7			0,8		1		1,2			
		G	L	P	G	L	P	G	L	P	G	L	P	G	L	P	G	L	P	G	L	P	G	L	P	G	L
0	H	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
1 beige	H	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	OE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
1 beige	H	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	OE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2	H	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	OE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
3	H	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	OE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
4	H	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	OE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Après la ponte	H	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Fig. 4. — Représentation des déplacements des fractions glycolipoprotéiniques et des pigments séparés par électrophorèse sur acétate de cellulose dans l'hémolymphe (H), les tissus (T) et les œufs (OE) de *Nephila madagascariensis* femelle adulte (G = glycoprotéines ; L = lipoprotéine ; P = pigments).

Ce dernier de couleur jaune orangé, existant à tous les stades, possède des absorptions maximales de 460 à 480 nm dans l'acétone pure et à 445 et 470 nm dans l'hexane. Il s'agit vraisemblablement d'un caroténoïde.

Le rapport entre les densités optiques à 280 et à 460 nm est de 0,07. La quantité de carotène est de 1,54 g pour 100 grammes de poids frais, celle des protéines de 11,71 g de poids frais.

Nous n'avons pas obtenu de spectres d'absorption convenables des autres pigments jaunes clair existant aux stades 0, 1 et 2, jaune et rose saumon visibles aux stades 3 et 4. Il s'agit probablement d'autres caroténoïdes ou xanthophylles [43]. Nous n'avons pas retrouvé la coloration gris bleu après séparation chromatographique, alors qu'elle est nettement visible après électrophorèse des œufs.

### II.5.3. Discussion sur les variations des constituants protidiques

Chez *Nephila madagascariensis*, des modifications de concentration des acides aminés et des protéines ont lieu dans l'hémolymphe pendant la formation des œufs. Ceux-ci contiennent un vitellus abondant et ne sont pas entourés de cellules folliculaires ; il n'a pas été établi que les cellules du pédicule, qui relie l'ovocyte à la paroi du sac ovarien, sont des cellules nourricières. L'hémolymphe fournirait directement aux ovocytes, d'une part des acides aminés pour les synthèses protéiniques intraocytaires, d'autre part des protéines préformées comme cela se produit chez les insectes [44]. Il est vraisemblable que dans ce dernier cas les protéines sont synthétisées dans les tissus, comme cela a été rapporté pour le corps gras chez les insectes [43-46], libérées dans l'hémolymphe et incorporées dans les ovocytes en développement. Le processus de l'incorporation des protéines a été décrit chez les insectes [44], chez des *Ixodeidea* [47] et plus récemment chez une Araignée, *Plexippus paykulli* [10] : cette incorporation se fait par pinocytose au niveau des microvillosités qui se trouvent à la surface de l'œuf ; le contenu des vésicules pinocytotiques est transféré dans les sphères vitellines.

La quantité de protéines des œufs est faible en début d'ovogenèse ; on peut penser que le taux de matériel extracellulaire absorbé est moindre qu'aux stades ultérieurs. Le début d'incorporation de protéines par les œufs peut s'expliquer [44] par une augmentation de la perméabilité de l'épithélium folliculaire quand il existe ou par la production d'absorbants des protéines de l'hémolymphe sur la surface des ovocytes.

La faible teneur en acides aminés de l'hémolymphe au stade I se produit alors que le taux de protéines augmente dans l'hémolymphe ; à ce stade, les teneurs en protéines et en RNA sont élevées dans les œufs : il y aurait une synthèse intraocyttaire de protéines. Les acides aminés au contraire

s'accumulent dans l'hémolymphé aux stades 2 et 3, alors que les teneurs en protéines y diminuent nettement ; dans les tissus, se produit une légère baisse du taux de protéines. Aucune variation de poids n'étant observée dans les œufs, l'hémolymphé et les tissus étant le siège d'une protéolyse, non seulement il n'y a pas d'incorporation de protéines extérieures, mais en outre il n'y a pas de synthèse intraovocytaire aux stades 2 et 3.

Une incorporation des protéines a lieu à la fin du cycle ; les protéines de l'hémolymphé ainsi incorporées par les œufs sont liées à des pigments non hydrosolubles : il s'agit d'associations lipoglycocaroténeprotéiniques ou glycochromoprotéiniques comparables à celles décrites chez les Insectes [48] et chez les Crustacés [49]. Chez *Nephila madagascariensis*, ces protéines transporteuses de caroténoïdes correspondent à des fractions de faible mobilité électrophorétique, comme les fractions B, C, D.

Il y a probablement transport d'autres pigments par les protéines de l'hémolymphé ; ainsi, au stade 1 rouge, des pigments rose, rouge ou jaune de l'hémolymphé liés à des protéines sont incorporés dans les œufs à partir des stades 1 rouge et 2. Certaines fractions protéiniques des œufs présentent à ces stades une intense activité peroxydasique. Pour donner une idée de l'importance de ces complexes protéiniques à la fin de l'ovogenèse, nous ferons observer qu'aux stades 3 et 4, cinq fractions protéiniques des œufs sur les sept existantes sont des chromoglycoprotéines.

Les caroténoïdes et les autres pigments liés aux protéines de l'hémolymphé et des organes sont des dérivés isopréniques de couleur jaune, orange ou rouge, suivant qu'il existe ou non un noyau fermé et suivant le degré d'insaturation. Chez *Pieris brassicae* [50], la teneur en  $\beta$  carotène est de 52 p. 100 par rapport aux caroténoïdes totaux, et la teneur en une xanthophylle, la lutéine de 45 p. 100. Nous n'avons pu identifier que le  $\beta$  carotène en abondante quantité dans les œufs de *Nephila madagascariensis*. Ces pigments seraient associés à des protéines par des forces de Van der Waals et des liaisons T-T [51]. Les principales protéines de l'hémolymphé de *Nephila madagascariensis* qui se retrouvent dans les œufs, le sont à des concentrations différentes : c'est notamment le cas des fractions glycoprotéiniques B et C, ainsi que de la fraction D. Nous avons vu, en outre, qu'aux stades 1 rouge et 2, la fraction C se subdivise en sous-fractions qui se retrouvent dans les œufs.

Nous n'avons pas pu savoir s'il existe une ou des protéines vitellines spécifiques de la femelle, correspondant à la vitellogénine des Insectes, fraction protéinique dont l'accumulation préférentielle a été décrite dans le sang de la femelle de *Hyalophora cecropia* et dans les ovaires jusqu'à la

ponte au fur et à mesure que le vitellus se dépose. En outre, il y aurait lieu de suivre chez *Nephila* le devenir de la fraction protéinique C de l'hémolymphe, au cours de la saison froide où il y a un arrêt du développement des œufs.

### III. DISCUSSION GÉNÉRALE SUR DES VARIATIONS DES CONSTANTES BIOCHIMIQUES AU COURS DES DIFFÉRENTES ÉTAPES DU CYCLE DE REPRODUCTION

Ainsi donc, en même temps que les ovaires augmentent de poids et de volume, des variations des constituants biochimiques ont lieu au cours de la reproduction de *Nephila madagascariensis* : il se produit de deux à huit cycles au cours de la vie adulte.

*Si les conditions sont favorables* (température et humidité relative élevées, nourriture abondante), le cycle se fait de façon continue.

Chez les femelles non fécondées et au début d'un cycle, les constituants tissulaires sont à des taux élevés, les ovocytes seraient le siège d'une intense activité, si l'on tient compte de leurs teneurs faible en lipides, élevée en eau et la concentration élevée en ARN elle-même liée à la configuration plumeuse des chromosomes.

Aux stades correspondants à la prévitellogenèse (stade I beige et rouge), ce qui prédomine, ce sont les teneurs élevées en protéines dans l'hémolymphe, les tissus et les œufs ; il se produit une incorporation par les œufs de complexes glyco ou lipoprotéiniques formés dans les tissus et transportés par l'hémolymphe.

Puis en début de vitellogenèse aux stades 2 et 3, une accumulation de glycogène dans les tissus et les œufs se produit alors que les taux de lipides et de protéines y sont faibles.

A la fin de la vitellogenèse, et avant la ponte (stades 4, 5, et 6), tous les constituants diminuent dans les tissus, tandis que les œufs accumulent glycogène, lipides et protéines ; tout se passe comme si les constituants de l'organisme maternel étaient mobilisés pour la ponte, pour la formation du vitellus : en effet, les œufs fabriquent ou accumulent tout ce qui sera nécessaire à l'embryon pour lui permettre d'atteindre le stade où il sera en mesure de se nourrir de façon autonome [52]. Il se produit de nouveau une incorporation par les œufs de complexes de nature glyco ou glycolipoprotéinique. En même temps, l'augmentation du volume de l'hémolymphe et de la teneur en eau entraîne une distension de l'abdomen et une augmentation du poids corporel.

Après la ponte, les constituants tissulaires augmentent de nouveau chez la femelle ; le volume de l'hémolymphe diminue, de même que le taux des constituants organiques en circulation.

Si au cours du cycle, *les conditions ne sont plus favorables* (saison froide), les œufs demeurent soit à un stade qui précède la vitellogenèse (stade I beige ou rouge), soit au début du dépôt de vitellus (stade 2).

Dans les tissus, quel que soit le stade, des réserves de lipides et de glycogène sont accumulées dans les tissus pendant tout l'hiver; l'augmentation du taux des protéines tissulaires à la fin de l'hiver semble due à celle du taux d'ARN nucléaire et cytoplasmique comme dans le corps gras des insectes à la fin de la diapause [46].

Dans les œufs, il y a utilisation de glucides, puis de lipides et de protéines pendant les premiers mois de l'hiver et accumulation de ces trois constituants à la fin de l'hiver. Ces remaniements permettant aux œufs de poursuivre le cycle ovogénétique dès le retour des conditions favorables. Le taux de cholestérol particulièrement élevé pendant l'hiver dans les tissus et les œufs, diminuent par la suite; ce constituant semble jouer un rôle dans la reprise de l'activité des ovaires.

Une forte humidité peut retarder la vitellogenèse [53].

Les variations ainsi observées au cours de l'ovogenèse, au niveau des œufs, seraient dues à des synthèses intraovocytaires soit à la participation de l'organisme maternel à la formation du vitellus

#### *Synthèses intraovocytaires*

L'ovocyte synthétiserait des substances non vitellines à partir de matériaux qu'il puise dans l'hémolymphe ou qui se trouvent à son intérieur et qu'il transforme.

— Le glycogène: ce constituant serait synthétisé à partir du tréhalose libéré par le glycogène tissulaire ou à partir des lipides ou des acides aminés glucoformateurs.

— Les différents types de RNA: RNA de transfert, RNA messenger, RNA ribosomal seraient formés à l'intérieur de l'ovocyte lui-même; toutefois, ils ne seraient utilisés que pour la synthèse des protéines endogènes non vitellines, dites «de maintenance» qui assurent les processus métaboliques fondamentaux (glycolyse, cycle de Krebs, etc...) et de RNA ribosomiaux, lesquels seraient transmis à l'embryon pour la synthèse de ses propres protéines à l'extérieur de l'organisme maternel [52].

— Les constituants lipidiques: l'ovocyte synthétiserait également des constituants lipidiques au début de la prévitellogenèse et peu avant la ponte.

Ces synthèses intraovocytaires semblent cependant minimes par rapport à l'incorporation de constituants exogènes.

### Participation de l'organisme maternel à la formation des œufs

L'ovocyte serait le lieu d'assemblage de substances complexes synthétisées dans les tissus de l'organisme maternel [44] et transportées par l'hémolymphe ; il s'agit en particulier de glycoprotéines ou glycolipoprotéines transporteuses de pigments dont des caroténoïdes.

Quand les réserves tissulaires sont épuisées, la femelle absorbe d'une part des aliments constitués par des substances énergétiques, d'autre part des éléments nutritifs essentiels dont elle ne peut pas faire la synthèse.

Les araignées se nourrissant d'insectes ou d'autres Arthropodes dans la nature, cette alimentation est donc formée de glucides et de lipides, mais surtout de protéines, qui sont métabolisées et utilisées pour l'élaboration de leurs tissus et organes. Une nourriture abondante entraîne une accélération du rythme des pontes.

Parmi les constituants qui semblent ne pas être synthétisés par l'araignée et qui joueraient pourtant un rôle dans la reproduction, deux peuvent être cités : les caroténoïdes et le cholestérol.

Le rôle des caroténoïdes liés à des protéines vitellines n'est pas encore nettement précisé. Dans les œufs de Mollusques [51], ces pigments serviraient à stabiliser la configuration moléculaire de la protéine qui leur est liée : il s'agirait alors d'un mécanisme permettant l'incorporation sélective des protéines sanguines à la surface de l'ovaire. Pour notre part, nous pensons que les caroténoïdes jouent un rôle physiologique et biochimique : en effet, il a été observé [54] que la déficience en carotène dans l'alimentation de *Schistocerca* adulte entraîne un retard de croissance, un délai dans le cycle des mues, la formation d'insectes petits, légers et moins actifs, l'absence de coloration jaune ou orange des larves, une mélanisation réduite.

Le carotène serait-il dissocié de la protéine à laquelle ce pigment est lié pour être transformé en deux molécules de vitamine A comme cela a été suggéré chez *Pieris brassicae* [49]? Le rôle de la vitamine A n'est pas entièrement connu, mais on sait [55] qu'outre son rôle dans la vision, la croissance, le développement, elle intervient dans la reproduction. Le mécanisme d'action est encore hypothétique ; la vitamine A interviendrait en tant que donneur d'électrons dans les réactions biochimiques et aurait une action sur les membranes biologiques ainsi qu'une action directe sur la synthèse des glycoprotéines en transportant le mannose et en facilitant son incorporation. La répartition de la vitamine A dans les tissus d'Araignées a été étudiée [56] surtout du point de vue du rôle de cette vitamine dans la vision. En ce qui concerne le cholestérol, sa teneur élevée dans les œufs en début du cycle pourrait signifier que le rôle de ce constituant est, comme chez les Insectes, de stimuler le développement ovarien et de permettre la production d'œufs viables [57-58]. En effet,



chez certains Insectes, les stérols sont mis en réserves dans les tissus larvaires jusqu'au stade adulte et déposés dans les ovocytes en développement. En outre, chez ces Insectes, l'éclosion des œufs ne se fait pas normalement quand la concentration en stérol est réduite de 50 à 75 p. 100 par rapport à son taux normal [59]. Le cholestérol, seul stérol identifié, jouerait-il le même rôle chez les Araignées ?

Le rôle de la nutrition est-il uniquement de nature métabolique ? Ou bien y a-t-il interférences entre nutrition et mécanismes humoraux comme chez les Insectes [60-61] ? En d'autres termes, y aurait-il intervention de facteurs intrinsèques qui seraient sous l'influence de mécanismes nerveux et hormonaux ?

Les variations du métabolisme au cours de la reproduction de *Nephila madagascariensis* pourraient être interprétées à la lumière de quelques observations effectuées chez les Araignées ainsi que des mécanismes qui interviennent chez les Insectes. Ces variations seraient non seulement sous l'influence de facteurs extrinsèques (variations de température et d'humidité, alimentation), mais également de facteurs intrinsèques : il a été ainsi observé chez les Araignées un parallélisme entre neurosécrétion et activité reproductrice [62-63], les cellules neurosécrétrices de leur cerveau étant actives au moment de l'accouplement et de la ponte ainsi que chez les femelles chargées d'œufs.

Il semble que l'accouplement détermine chez les Araignées le début de l'accroissement des ovocytes où les teneurs en cholestérol, en glycogène et en acides nucléiques sont élevées et où il se produit un début d'incorporation de protéines, cet accouplement se fait sous l'effet d'une phéromone [19-20] dont la sécrétion cesse par voie réflexe après distension des spermathèques ; il n'a pas encore été démontré si cette phéromone est libérée par une glande exocrine comme chez les Insectes [64] si cette sécrétion est produite sous l'effet d'une hormone issue des premiers organes de Schneider, analogues des *corpora allata* quant à leur genèse [63].

C'est pendant la phase de grand accroissement des ovocytes correspondant à la vitellogenèse, que les variations du métabolisme sont caractéristiques : l'accroissement de la lipémie et de l'eau, la diminution des protéines dans l'organisme entier, l'augmentation du glycogène des œufs et la diminution du glycogène tissulaire rappellent les modifications qui ont lieu chez les Insectes sous l'effet des *corpora allata* [65-66].

Avant la ponte, au moment où les œufs ont atteint leur volume final, les variations du métabolisme qui ont lieu ressemblent à celles dues à l'inhibition des *corpora allata* par la présence d'œufs mûrs ; il se produit en effet une augmentation des protéines, une élévation de la teneur en lipides de l'hémolymphe et des œufs ; la teneur en glycogène est élevée

dans les œufs, faible dans les tissus. L'augmentation du taux de protéines est due principalement à l'incorporation de complexes caroténoprotéiniques préformés dans les tissus et transportés dans l'hémolymphe.

Lorsque la ponte a lieu, sans doute sous l'effet d'une hormone de ponte, provenant du cerveau comme chez les Insectes [64], l'inhibition est levée et tous les constituants voient leur teneur diminuer, tant dans les tissus que dans les œufs et l'hémolymphe.

Il semble donc que l'hormone qui agit au cours du cycle de reproduction chez les Araignées se rapproche par ses effets de l'hormone juvénile des insectes, celle-ci étant sécrétée par les *corpora allata*. Il y aurait lieu de préciser si cette hormone est de nature terpénique comme l'hormone juvénile, si elle est sécrétée par les organes de Schneider sous l'effet de la neurosécrétion et s'il existe bien un rapport entre l'activité génitale et celle des premiers organes de Schneider. Des expérimentations pour une étude endocrinologique plus poussée restent à faire, de même qu'une étude des systèmes régulateurs au niveau cellulaire voire au niveau moléculaire, pour mieux appréhender le mécanisme d'intervention des hormones sur le métabolisme des Araignées femelles adultes.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. OSAKI (H.). — Election microscope studies on the oocyte differentiation and vitellogenesis in the liphistiid spider. *Annot. Zool. Jap.*, 44, 4, 1971, pp. 185-209.
2. TRACIUC (E.). — Données morphologiques concernant les modifications des ovaires durant le cycle sexuel chez *Pardosa Lugubris* (Lycosidae, Aranae). *Zool. Jb. Anat.*, 89, 1972, pp. 232-245.
3. GABE (M.). — Données histochimiques sur la répartition des glucides chez les Aranéides dipneumones. *Ann. Histochem. Fr.*, 4, 3, 1959, pp. 155-164.
4. EDSTROM (J.-E.). — Composition of rubonucleic acid in different parts of spider oocytes. *J. Biol. Phys. Res., USA*, 8, 1, 1960, pp. 147-151.
5. ANDRÉ (J.) et ROUILLER (C.). — The ultrastructure of the vitelline body in the oocyte of the spider, *Tegenaria parietina* *J. Biophys. Biochim. Cytol.*, 3, 6, 1957, pp. 977-984.
6. NATH (V.), GUPTA (B.-L.) et MANOCHA (S.-L.). — Histochemical and morphological studies of the lipids in oogenesis III the spider, *Plexipus paykulli*, with special reference to yolk nucleus. *La cellule*, LIX, 3, 1959, pp. 388-410.

7. BRYLINA (A.). — Etudes cytologiques et histologiques des oocytes de quelques Araignées du genre **Clubiona** au cours de la diapause hivernale. *Folia morphol. Pologne*, 22, 1963, pp. 115-125.
8. SAREEN (M.-L.). — Cytochemical studies on the female germ cells of **Lycosa chaperi** Simon (Araneae-Lycosidae). *Res. Bull. Panjab. Univ.*, 15, 1964, p. 269 (cité par H. OSAKI, 1972) [10].
9. SOTELO (J.-R.) et TRUJILLO-CENOZ (O.). — Electron microscope study of the vitelline body of some spider oocytes. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 3, 1957, pp. 301-310.
10. OSAKI (H.). — Electron microscope studies on developing oocytes of the spider **Plexippus paykulli**. *Annot. Zool. Jap.*, 45, 4, 1972, pp. 187-200.
11. ADIYODI (K.-G.) et ADIYODI (R.-G.). — Comparative Physiology of reproduction in Arthropods, dans O. LOWENSTEIN. *Adv. in Comp. Physiol. and Biochem.*, Acad. Press., 1974, pp. 37-117.
12. CHARNIAUX-COTTON (H.). — Introduction à l'ovogenèse chez les Invertébrés, dans Colloque sur l'ovogenèse et la folliculogenèse — Nougilly, déc. 1972. *Ann. Biol. An. Biochim. Biophys.*, 13, 1973, pp. 13-19.
13. CHARNIAUX-COTTON (H.). — Description et contrôle de l'ovogenèse chez les Crustacés supérieurs. — *idem*, pp. 21-30.
14. BONNET (P.). — Les Araignées exotiques en Europe, Elevage à Toulouse de la grande Araignée fileuse de Madagascar et considérations sur l'Aranéiculture. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1<sup>re</sup> partie : 54, 1929, pp. 501-523.
15. GERHARDT (U.). — Biologische Beobachtungen an **Nephila madagascariensis** Vins. *Sitz-ber. Ges. Naturf. Freu.*, Berlin, 8-10, 1930, pp. 358-360.
16. CHAREZIEUX (B.). — Contribution à l'étude du comportement sexuel de l'Argiopide **Nephila madagascariensis** observé dans son pays d'origine. *Bull. Soc. Zool., Fr.*, 86, 1961, pp. 372-379.
17. DUMAIS (J.), PERRON (J.-M.) et DONDALE (C.-D.). — Eléments du comportement sexuel chez **Pardosa Xerampelina Kayserling** (Araneidae Lycosidae). *Can. J. Zool.*, 51, 2, 1973, pp. 265-271.
18. ROVNER (J.-S.). — An analysis of display in the lycosid spider **Lycosa rabida** Walkenaer. *Anim. Behav.*, 16, 1968, pp. 358-369. (Cité par DUMAIS J. et coll., 1973) [22].
19. HEDGEKAR (B.-M.) et DONDALE (C.-D.). — The contact sex pheromone of **Pardosa lapidicina** Emerton (Araneidae, Lycosidae). *Can. J. Zool.*, 51, 3, 1973, pp. 400-401.

20. BLANKE (R.). — *Nachweis von Pheromonen bei Netzspinnen Naturwiss.*, 10, 1973, p. 481.
21. CANARD (A.). — *Contribution à la connaissance de la taxonomie, du cycle de Développement et de la croissance de la Nephila de Madagascar (Araneidae: Argiopidae)*. Thèse de Doctorat de Spécialité, Paris, 1973.
22. EMERIT (M.). — Observations sur la trichobothriotaxie des Néphiles (Araneae, Araneidae, Nephilinae). *Bull. Mus. Nat. Hist.*, 183, 260, 1974, pp. 1613-1626.
23. LEGENDRE (R.). — Morphologie et développement des Chélicérates, Embryologie, Développement et Anatomie. *Fortsch. Zool.*, 17, 1965, pp. 239-271.
24. VACHON (M.). — Contribution à l'étude du développement postembryonnaire des Araignées. Première note: Généralités et nomenclature des stades. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 82, 1957, pp. 337-354.
25. CAMBOUE (P.). — Une grande Araignée de Madagascar. *Naturaliste*, Paris, 15, 153, 1893, pp. 163-165.
26. JUBERTHIE (C.). — Sur les cycles biologiques des Araignées *Bull. Soc. Hist. Nat. de Toulouse*, 8, 3-4, 1954, pp. 299-318.
27. SHIMOJANA (M.). — Studies on the genus *Nephila* in Okinawa island I. Studies on the life cycle of *Nephila clavata*. *Biol. Mag. Okinawa*, 7, 1971, pp. 1-18.
28. SCHMIDT (G.) et TANHAUSER (S.-J.). — A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissues. *Biochem. J.*, 161, 1945, pp. 83-89.
29. SAHOTA (T.-S.). — Haemolymph and ovarian proteins in the bark beetle *Dendroctonus pseudotsugae* in relation to ovarian development. *Can. J. Zool.*, 48, 1970, pp. 307-312.
30. TELFER (W.-H.) et ANDERSON (L.-M.). — Functional transformations accompanying the initiation of a terminal growth phase in the *Cecropia* moth oocyte. *Devel. Biol.*, 17, 1968, pp. 512-535.
31. VERRETT (J.-M.) et MILLS (R.-R.). — Water balance during vitellogenesis by the American cockroach: hydration of the oocytes. *J. Insect. Physiol.*, 21, 1974, pp. 1061-1064.
32. GILBERT (L.-I.). — Changes in lipid content during the reproductive cycle on *Leucophaea maderae* and effects of the juvenile hormone on lipid metabolism in vitro. *Comp. Biochem. Physiol.*, 21, 1967, pp. 237-257.

33. WIENS (A.-W.) et GILBERT (L.-I.). — Regulation of carbohydrate mobilization and utilization in **Leucophaea maderae**. *J. Insect. Physiol.*, 13, 1967, pp. 779-794.
34. CHEN (P.-S.), HANIMANN (F.) et BRIEGEL (H.). — Frei Amino sauren und Derivate in Eiern von **Drosophila**, **Culex** und **Phormia**. *Rev. Suisse Zool.*, 74, 1967, pp. 570-589 (cité par CHEN P.-S.).
35. RAKOTOVAO (L.-H.) et RAHANDRAHA (T.). — Etude des variations des protéines de l'hémolymphe chez **Nephila madagascariensis** Vinson, 1863, femelle adulte (Araneae, Argopidae). *C.R. Acad. Sc., Paris*, 274, D, 1972, pp. 1715-1718.
36. RAKOTOVAO (L.-H.). — Evolution des protéines au cours de la vitellogenèse chez **Nephila madagascariensis**. *C.R. Acad. Sc., Paris*, D, 280, 1972, pp. 323-326.
37. TELFER (W.-H.). — The selective accumulation of blood protein by the oocytes of saturniid moths. *Biol. Bull. Wood: Hole*, 338, 1960, p. 351.
38. HILL (L.). — Neurosecretory control of haemolymph protein concentration during ovarian development in the desert locust. *J. Insect. Physiol.*, 8, 1962, pp. 609-610.
39. SLAMA (K.). — Hormonal control of haemolymph protein concentration in the adults of **Pyrrhocoris apterus** L. (Hemiptera). *J. Insect. Physiol.*, 10, 1964, pp. 774-782.
40. NIELSEN (D.-J.) et MILLS (R.-R.). — Changes in electrophoretic properties of haemolymph and terminal oocyte proteins during vitellogenesis in the American-Cockroach. *J. Insect. Physiol.*, 14, 1968, pp. 163-170.
41. CECCALDI (H.-J.). — Transport des pigments caroténoïdes dans l'hémolymphe de **Carcinus maenas** Linné. *C.R. Soc. Biol.*, 161, 1967, pp. 1105-1110.
42. ADIYODI (K.-G.). — The nature of haemolymph protein on relation to the ovarian cycle in the viviparous cockroach, **Nauphoeta cinerea**. *J. Insect. Physiol.*, 13, 1967, pp. 1189-1195.
43. GOODWIN (T.-W.). — *Comparative Biochemistry*. Ed. M. Florkin et H.-S. MASSON, Acad. Press., IV, B, 1964, pp. 643-675.
44. TELFER (W.-H.). — The mechanism and control of yolk formation *Ann. Rev. Ent.*, 10, 1965, pp. 161-184.
45. CHEN (P.-S.). — *Biochemical Aspects of Insects Development* (Monographs in Developmental Biology). Ed. S. Karger, 1971, 230 p.
46. PRICE (G.-M.). — Protein and nucleic acid metabolism in insect fat body. *Biological Reviews* 48, 3, 1973, pp. 333-375.

47. JENNI (L.). — Cité par ADIYODI (K.-G.) et ADIYODI (R.-G.) [12].
48. WHITMORE (E.) et GILBERT (L.). — Haemolymph proteins and lipoproteins in Lepidoptera. A comparative electrophoretic study *Comp. Biochem. and Phys.*, A, **47**, 1B, 1974, pp. 63-78.
49. FELTWELL (J.-S.-E.) et VALADON (L.-G.-R.). — Carotenoïds of **Pieris brassicae** and of its food plant. *J. Insect. Physiol.*, **18**, 1972, pp. 2203-2215.
50. ZAGALSKY (P.-F.). — *The association of carotenoïds with protein in certain invertebrates*. Ph. D. Thesis, University of London (cité par CECCALDI H.-J., 1967 [41]).
51. CHESSMANN (D.-F.). — Ovorubin, a chromoprotein from the eggs of the gastropod mollusc **Pomana canaliculata**. *Proc. Roy. Soc. B.*, **149**, 1958, pp. 571-587. Cité par D.-L. FOX dans *The physiology of Mollusca* Ed. K.-M. WILBUR and YONGE C.-M., Acad. Press, pp. 249-274.
52. BRACHET (J.). — *Introduction à l'embryologie moléculaire*. Ed. Masson, Paris, 1975, pp.
53. VERRETT (J.-M.) et MILLS (R.-R.). — Water during vitellogenesis by the American cockroach: translocation of water during the cycle. *J. Insect. Physiol.*, **19**, 1973, pp. 1889-1901.
54. DADD (R.-H.). — Observations on the effects of caroten on the growth and pigmentation of Locust. *Bull. Ent. Res.*, **52**, 1961, pp. 71-73., dans CHAPMAN (R.-F.), *The Insects*, 1969, pp. 63-81.
55. WASSERMAN (R.-M.) et CORRADINO (R.-A.). — Metabolic role of vitamine A and D. *Ann. Rev. Biochem.*, **40**, 1971, pp. 501-532.
56. BRIGGS (M.-H.). — The presence of vitamine A and its aldehyde in the tissue of spiders. *Life Science*, **1**, 1962, pp. 223-224.
57. ROBBINS (W.-E.) et SHORTINO (T.-J.). — Effect of cholesterol in the larval diet on ovarian development in adult housefly *Nature*, Lond., **194**, 1962, pp. 502-503.
58. ORR (C.-W.-M.). — The influence of nutritional and hormonal factors on eggs development in the blowfly **Phormia regina** (Meig.) *Insect. Physiol.*, **10**, 1964, pp. 53-64.
59. MONROE (R.-E.), HOPKINS (T.-L.) et VALDER (S.-A.). — Metabolism and utilization of cholesterol <sup>14</sup>C for growth and reproduction of aseptically reared housefly, **Musca domestica** L. *J. Insect. Physiol.*, **13**, 1967, pp. 219-233.
60. JOLY (P.). — Corrélations existant entre la nutrition et les fonctions endocrines chez les Insectes. *Ann. Biol.*, **5**, **3-4**, 1966, pp. 173-192.

61. LAVERDURE (A.-M.). — L'évolution de l'ovaire chez la femelle adulte de *Tenebrio molitor*: La vitellogenèse. *J. Insect. Physiol.*, 18, 1972, pp. 1369-1385.
62. KUHNE (H.). — Die neurosekretorischen Zellen und der retrocerebrale neuroendocrine Komplex Von Spinnen (Araneae Labidognatha) unter Berücksichtigung eigiger histologisch erkennbaren Veränderungen während der post embryonalen Lebenslaufes. *Zool. Jahrb. (Anat.)*, 77, 1959, pp. 527-660.
63. LEGENDRE (R.). — Contribution à l'étude du système nerveux des Aranéides, *Ann. Sc. Nat., Zool.*, 12, 1959, pp. 339-473.
64. JOLY (P.). — Les hormones des Insectes. *La Recherche*, 3, 21, 1972 pp. 213-220.
65. NOVAK (V.-J.-A.). — *Insect Hormones*. Ed. Methuen, 1966, 478 p.
66. WIGGLESWORTH (V.-B.). *Insect Hormones*. Ed. R. CLARK. LTD, Edinburgh, 1970, 159 p.