ÉTUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE A BALAYAGE DES ORGANES SENSORIELS DE *CULICOIDES NUBECULOSUS* (DIPTÈRE : CÉRATOPOGONIDÉ)

N. MESSADDEQ*, M. FABRE**, M. KREMER*

(Collaboration technique : R. BURY** et E. LIENHART*)

RÉSUMÉ. La détection des phéromones sexuelles de la femelle par le mâle de *Culicoides nubeculosus* se fait par des chimiorécepteurs localisés sur les antennes et les pattes prothoraciques.

Une étude systématique au microscope électronique à balayage des organes sensoriels observés sur les antennes, les palpes et les pattes prothoraciques de cette espèce a montré la présence et la structure des organes suivants :

Sur les antennes, outre les sensilles chaetica et ampullacea, connues pour leur signification mécanoréceptrice on observe :

- 1 — Sensilles cœloconiques : petites dépressions entourées de microtriches.
- 2 — Sensilles basiconiques : en forme de doigts de gants.
- 3 — Sensilles trichoïdes : soies longues ou courtes avec un petit renflement à leur base.

Sur les palpes :

Fossette sensorielle du 3^e article avec un nombre de soies en massues, réduit chez le mâle et élevé chez la femelle.

Sur les pattes prothoraciques :

- 1 — Soies très longues cannelées avec 3 bractées à leur base (tibia + tarse).
- 2 — Soies moyennes en forme de sabre avec 2 bractées à la base, uniquement sur les tarses.
- 3 — Soies courtes et fines, groupées sur l'extrémité distale du 4^e article du tarse.
- 4 — Soies cannelées avec une structure en chevrons observées sur le 2^e et le 3^e article du tarse.
- 5 — Soies très épaisses observées uniquement sur le 1^{er} article du tarse.

La plus grande abondance de soies de types 1 et 2 sur les pattes du mâle de *Culicoides nubeculosus* permet de supposer qu'elles jouent un rôle dans la détection de la phéromone de contact.

Mots-clés : Diptère. Culicoides. Antennes. Palpes. Pattes prothoraciques. Sensilles. M. E. B.

* Institut de Parasitologie et Pathologie Tropicale de la Faculté de Médecine, 3, rue Koeberlé, F 67000 Strasbourg.

** Service Central de Microscopie Électronique de la Faculté de Médecine, 4, rue Kirschleger, F 67085 Strasbourg Cedex.

Accepté le 25 novembre 1988.

Scanning electron microscopy study of the sense organs in *Culicoides nubeculosus* (Diptera: Ceratopogonidae).

SUMMARY. The detection of the female sex pheromone by the male of *Culicoides nubeculosus* is assumed by chemoreceptors localized on the antennae and the prothoracic legs.

A systematic S. E. M. study of the sensillae in both sexes, has been performed on the antennae, the palpi and the prothoracic legs, and revealed the existence of the following:

On the antennae: It was observed, beyond sensilla chaetica and ampullacea, known as mecano-receptor ones.

- 1 — *Sensilla coeloconica*: small ditch surrounded, with microtrichia.
- 2 — *Sensilla basiconica*: digit shaped.
- 3 — *Sensilla trichoidea*: long or short bristles with a small bulging at their base.

On the palpi:

The third segment sensorial ditch is composed of some massied setae (few in the male, many in the female).

On the fore legs:

- 1 — Very long striated setae, with three bractea at their base on the tibia and tarsi.
- 2 — Medium sized setae, sabre shaped, with two bracted short hairs, situated only on the tarsi.
- 3 — Short and slender setae, grouped on the distal end of the fourth tarsal article.
- 4 — Striated setae, chevron shaped, seen only on the second and third article of the tarsi.
- 5 — Very thick bristles, only localized on the first segment on the tarsi.

The higher number of type 1 and 2 setae on the legs of the male, allows to suppose that they are implicated in the detection of the contact pheromone.

Key-words: Diptera. *Culicoides*. Antennae. Palpi. Prothoracic legs. Sensillae. S. E. M.

Introduction

Les phéromones représentent chez les insectes un moyen de communication intraspécifique essentiel, plus important, semble-t-il, que les communications auditives ou visuelles (Shory, 1973). Ainsi les femelles de diptères émettent des messages chimiques (phéromones sexuelles) qui déclenchent chez le mâle la parade sexuelle. Étudiant les Cératopogonidés et en particulier le genre *Culicoides*, M. Kremer et M. T. Ismail, 1979, ont démontré que la femelle de *Culicoides nubeculosus* émet une phéromone dont le rôle essentiel est de stimuler chez le mâle le comportement copulatoire.

En neutralisant de façon élective les différents organes (antennes, palpes et les pattes) du mâle, nous avons établi (N. Messaddeq, J. Waller et M. Kremer, 1987) que seules les antennes et les pattes prothoraciques présentaient une sensibilité à la phéromone. C'est la raison pour laquelle nous avons entrepris à l'aide du microscope électronique à balayage une étude systématique détaillée des organes

sensoriels portés par les divers segments des antennes et des pattes prothoraciques des mâles et des femelles de *Culicoides nubeculosus*. Nous avons complété cette étude par l'observation des organes sensoriels des palpes.

L'étude morphologique à fort grossissement de ces organes sensoriels doit contribuer à déterminer lesquels d'entre eux jouent un rôle dans la chimio-réception.

Matériel et méthodes

Des adultes de différents âges (12 h, 24 h, 48 h et 72 h) mâles et femelles sont endormis à l'air froid puis placés sur un porte-objet métallique sous une loupe binoculaire dans une colle conductrice au carbone (Leit-C nach Göcke), posés dorsalement, ventralement ou latéralement. Les pattes sont allongées et leur extrémité partiellement incluse dans la colle. Pour permettre chez les mâles l'observation des articles courts des antennes, celles-ci sont soigneusement débarrassées de leurs poils ; les objets sont métallisés à l'or (dans un pulvérisateur cathodique type SCD 040, Balzers) et examinés à l'aide de microscopes électroniques à balayage (Philips 501 B et Cambridge 360).

Résultats

LES ANTENNES

Le dimorphisme sexuel des antennes des *Culicoides nubeculosus* est bien connu. Il apparaît toutefois que les antennes des 2 sexes portent les mêmes types de structures sensorielles (*Pl. I, fig. A, B et C*).

Il existe en effet chez le mâle et la femelle 3 types de soies supposées chimio-sensorielles :

a — *Sensilles caeloconiques* : elles sont toujours localisées sur les articles courts. Chez le mâle, on les observe isolées sur les articles 3, 8 et 9, et groupées par 3 sur l'article 10 (*Pl. II-B, fig. A*). Chez la femelle, il y en a une seule sur l'article 3 alors qu'elles sont disposées par paire sur les articles 8, 9 et 10.

Ces sensilles se présentent comme de petites fossettes sensorielles (F. S. Blanton et W. W. Wirth, 1979) dont le rebord porte 6 à 8 microtriches inclinées vers le centre de la fossette d'où s'élève une expansion de 3-4 μm de long environ (*Pl. II-B, fig. B et C*). La base de cette structure est parfaitement lisse alors que la moitié apicale est constituée de 8 à 10 microvillosités plaquées sur un axe central amorphe (*Pl. II-B, fig. D*).

b — *Sensilles basiconiques* : qui extérieurement se présentent sous forme de petits cônes ou de doigts de gants. Elles sont localisées uniquement sur les segments longs (*Pl. II, fig. B, C, D*).

Le corps des sensilles basiconiques d'une longueur de 5 à 6 μm apparaît constitué extérieurement par une dizaine de lamelles se terminant en pointe au sommet

PLANCHE I

Fig. A. — Vue générale de *Culicoides nubeculosus* mâle avec les trois parties examinées : antenne, patte, la flèche indique l'emplacement du palpe.

Fig. B. — Vue générale du flagelle antennaire mâle. Un faisceau de poils masque les 10 articles courts, seuls les 3 articles longs sont dégagés.

Fig. C. — Détail des 3 derniers segments de l'antenne mâle. On y voit les sensilles basiconiques (flèche) et les trichoïdes longs et courts.

PLANCHE II-A
Antenne de *Culicoides nubeculosus* mâle.

- A. Visualisation des articles après « épilation ». Grande sensille trichoïde (flèche), petite (double flèche).
- B. C. et D. Sensille basiconica observée sur un segment distal sous deux angles différents.
- B. Noter la présence d'une couronne de microtriches autour de la dépression périphérique. Le corps de la sensille est marqué par une douzaine de sillons longitudinaux.
- C. Au fort grossissement, on voit apparaître des pores très fins le long des sillons (flèche).
- D. Sous cet angle, la dépression basale apparaît très discrète ; on constate en outre que les sillons longitudinaux parcourent toute la longueur de la soie.

PLANCHE II-B
Segments courts des antennes mâles et femelles.
« Sensilles cœloconiques ».

- A. Antenne mâle. Articles 8, 9 et 10. Noter la disposition des sensilles cœloconiques (flèches).
 B. Antenne femelle. Deux sensilles cœloconiques sur le 8^e article. Les microtriches périphériques se recourbent vers le centre. La fossette est beaucoup plus marquée que pour les sensilles basiconiques.
 C. Antenne mâle. Sensille du 9^e article. Noter la présence de microvillosités dans la moitié supérieure de la soie. La petite sphère à la base de la soie est artefactuelle.
 D. Antenne femelle. Noter les sillons plus profonds que pour les sensilles basiconiques (*Pl. II-A, fig. C*). Ils se perdent à l'apex de la soie dont la base est entièrement lisse.

de la sensille. Entre ces lamelles, le long des sillons longitudinaux, on observe de nombreuses dépressions alignées qui pourraient correspondre à des pores.

c — *Sensilles trichoïdes* : on peut distinguer 2 types de soies en fonction de leur longueur : les plus longues mesurent en moyenne 43 μm , les plus courtes 25 μm . On les observe aussi bien sur les segments longs que sur les segments courts (*Pl. II, fig. A*), ces soies ne présentent pas de structures particulières à part des striations longitudinales qu'on a pu observer au fort grossissement.

LES PALPES

Notre attention a porté essentiellement sur la fossette sensorielle du 3^e article du palpe des 2 sexes (*Pl. III, fig. A et B*). Cette fossette comprend des soies en forme de massue dont le nombre varie selon le sexe. La femelle en possède de 12 à 17, le mâle de 3 à 7. Les soies présentent à leur base une dépression circulaire. L'ensemble de la fossette est entourée de microtriches (*Pl. III, fig. C, D, E et F*).

LES PATTES PROTHORACIQUES

Les photographies que nous avons obtenues en microscopie électronique à balayage révèlent très clairement cinq types de soies sur le tibia et les 5 articles du tarse des 2 sexes :

Type 1. Soies très longues cannelées avec une structure en escalier. Elles présentent une base arrondie associée à 3 bractées alignées perpendiculairement à l'axe du segment et disposées en situation proximale par rapport à la base de la soie ; leur pointe est très effilée. Le corps présente plusieurs cannelures qui convergent, formant des crêtes à la surface de la cuticule de la soie. Ces soies sont plus abondantes chez le mâle que chez la femelle. Elles existent sur les tibias et les tarses (*Pl. IV et V*).

Type 2. Soies de taille moyenne en forme de sabre, leur implantation se fait dans une expansion bivalve du tégument de l'insecte présentant la forme approximative d'une tulipe. Il existe toujours 2 bractées à leur base. Le corps de ces soies est marqué par 2 cannelures sur chaque face. Leur pointe est émoussée. Les soies sont plus abondantes chez le mâle que chez la femelle. On ne les observe que sur les tarses (*Pl. VI, fig. A et B*).

Type 3. Soies courtes et plus fines, groupées. Leur base est entourée d'un bourrelet, il existe le plus souvent à leur voisinage une seule bractée, l'extrémité de ces soies est recourbée et se termine en spatule. Ces soies sont très nombreuses dans les 2 sexes à l'extrémité distale du 4^e article du tarse (*Pl. VI, fig. C et D*).

Type 4. Soies cannelées présentant tout le long de leur corps de nombreuses structures en chevrons dont l'extrémité distale est caractérisée par un petit pore observable seulement sur une vue « plongeante » sur cette structure (*Pl. VII, fig. C*). Deux bractées sont constantes au départ du bourrelet situé à leur base. Elles sont localisées sur la face ventrale du 2^e et 3^e article du tarse avec une disposition alignée (2 par 2). Elles existent chez les 2 sexes (*Pl. VII, fig. A et B*).

PLANCHE III

Palpe de *Culicoides nubeculosus* (mâle et femelle).

Fig. A, C et E. : Palpe mâle. Fig. B, D et F : Palpe femelle.

Fig A et B. — Vue d'ensemble. Les flèches indiquent la position de la fossette sensorielle.

Fig. C et D. — Les fossettes sensorielles, chez le mâle on note 5 expansions en massue (C), chez la femelle on n'en observe plus de 10 (D).

Fig. E et F. — La vue au fort grossissement ne met pas en évidence de différences structurales entre les 2 sexes, les soies présentent une collerette à leur base, elles sont lisses avec une extrémité en forme de spatule, la fossette est entourée de nombreuses microtriches.

PLANCHE IV
Tibia de la première patte.

(Au même grossissement : Fig. A. — Tibia mâle. Fig. B. — Tibia femelle).

Présence de longues soies cannelées (type 1), plus nombreuses chez le mâle que chez la femelle. L'équidistance de leur base d'implantation sur une même ligne est de l'ordre de $22,7\ \mu\text{m}$ chez le mâle et de $57,3\ \mu\text{m}$ chez la femelle.

PLANCHE V
Soie cannelée (type 1) d'un tibia mâle.

Fig. A. — Extrémité distale, noter l'aspect en escalier d'une crête.

Fig. B. — Corps de la soie.

Fig. C. — Base de la soie cannelée. Noter le fourreau dans lequel pénètre la soie et les 3 microtriches à sa base.

PLANCHE VI

Soies du tarse mâle. Face dorsale du 4^e article du tarse.

Fig. A et B. — Soies en forme de sabre (type 2) (même aspect chez le mâle et la femelle).

Fig. C et D. — Bouquet de soies fines à l'extrémité du 4^e article du tarse (type 3), noter sur cette image la présence des soies en forme de sabre (type 2) (flèche).

PLANCHE VII

Fig. A. — Face ventrale du 3^e article du tarse mâle. Soies (de type 4) alignées régulièrement.

Fig. B. et C. — Mêmes soies qu'en A, noter dans les cannelures la présence de structures en chevrons et sur les crêtes qui les séparent, l'existence de petits pores régulièrement disposés. Aspect identique dans les deux sexes.

Fig. D. — Soies courtes (de type 5) observées sur la face latéro-ventrale du 1^{er} article du tarse. Aspect identique dans les 2 sexes.

Type 5. Soies épaisses, fortement cannelées, recourbées vers la surface de la cuticule, présentant un bourrelet arrondi à leur base avec 2 bractées. L'extrémité est très pointue. Ces soies sont localisées uniquement sur la partie latéro-ventrale du 1^{er} article du tarse. Leur nombre est identique dans les 2 sexes (*Pl. VII, fig. D*).

Discussion

Diether a postulé que les récepteurs appropriés à la chimioréception ont en commun un caractère significatif qui est la présence des pores permettant aux molécules excitatrices d'accéder aux terminaisons nerveuses situées à l'intérieur des sensilles (*in* C. T. Grabowski et V. G. Dethier, 1954).

LES ANTENNES

Dans la littérature, les sensilles basiconiques et cœloconiques sont considérées comme des sensilles olfactives, elles présentent de nombreux pores (Slifer, 1961 et Coeckh, 1962) répartis sur toute leur longueur. De telles observations ont été réalisées chez de nombreux diptères et en particulier dans le genre *Drosophila* à l'aide de la technique d'imprégnation au nitrate d'argent (Slifer, 1960). Pour les sensilles trichoïdes, leur rôle olfactif a été démontré chez deux lépidoptères : *Bombyx mori* et *Antharea pernyi* (Steinbrecht et coll., 1971, Boeckh et coll., 1965).

Chez le Culicoïdes, les photographies obtenues en M. E. B. à fort grossissement ($\times 20\,000$) semblent montrer la présence de ces pores minuscules disposés tout le long des sensilles basiconiques. Il reste à prouver :

1 — par des techniques de microscopie électronique à transmission que les points alignés :

a — correspondent bien à des pores,

b — que les pores sont en rapport avec des terminaisons nerveuses ;

2 — par des études électrophysiologiques (électroantennogramme), qu'elles sont chimiosensorielles.

Pour les sensilles cœloconiques, de tels pores n'ont pas été observés. Il existe toutefois de profonds sillons continus entre les microvillosités qui garnissent l'extrémité de la soie.

LES PALPES

Il est vrai que les palpes ne semblent jouer aucun rôle dans la détection des phéromones sexuelles (N. Messaddeq, J. Waller et M. Kremer, 1987). Si leur observation a été présentée dans ce travail, c'est en raison de la nette différence sexuelle du nombre de sensilles localisées dans leur fossette sensorielle. Il est possible que cette différence soit en rapport avec le type d'alimentation très différent entre l'un et l'autre sexe.

Chez la femelle, où le nombre de ces sensilles est élevé, les informations qu'elles détectent jouent peut-être un rôle dans le choix des victimes à piquer.

LES PATTES PROTHORACIQUES

Chez la plupart des diptères, la cible de la phéromone de contact a été localisée aux pattes antérieures. Chez *Musca domestica* et *Glossina morsitans*, l'organe responsable de la réception de la phéromone sexuelle est le « Tibial sense organ » décrit par Schlein et Galum, 1981, situé à la base proximale des tibias. Cet organe a été observé aussi chez *Drosophila melanogaster* avec la présence d'autres soies chimioréceptrices : des soies avec bractée à la base et d'autres sans bractée (Nayak et Singh, 1983) sur les tibias et les tarses.

Chez l'espèce *Culicoides nubeculosus*, nos expériences ont montré que la cible de la phéromone chez le mâle est localisée aussi sur les pattes prothoraciques. Des observations analogues, basées sur l'étude cinématographique de l'accouplement des *Culicoides melleus* ont été effectuées par Linley en 1983. Le « Tibial sense organ » n'a pas été observé chez le *Culicoides*, on ne remarque aucun dimorphisme sexuel au niveau des pattes des 2 sexes sauf le nombre des soies de types 1 et 2 qui sont plus abondantes chez le mâle que chez la femelle.

Afin de mieux comprendre l'organisation et la signification de ces sensilles, des techniques d'imprégnations au nitrate d'argent selon Slifer, 1960, sont en cours sur *Culicoides nubeculosus* ainsi que des études électrophysiologiques.

RÉFÉRENCES

- BOECKH J. : Electrophysiologische Untersuchungen an einzelnen Geruchs-receptoren auf den Antennen des Tötengräbers (*Necrophorus*, Coleoptera). *Zeits. Vergl. Physiol.*, 1962, 39, 76-83.
- BLANTON F. S., WIRTH W. W. : The sandflies (*Culicoides*) of Florida (*Diptera: Ceratopogonidae*). *Arthropods of Florida and Neighbouring Land Areas*, Florida Dpmt of Agriculture and Consumer Services Ed., 1979, 10, 29-33.
- BOECKH J. : Inhibition and excitation of single insect olfactory receptors and their role as a primary sensory code. Olfaction and taste, II, *Proc. of the 2nd Int. Symp., Tokyo, 65, Pergamon*, 1965.
- GRABOWSKI C. T., DETHIER V. G. : The structure of the tarsal chemoreceptors of the bowfly *Phormia regina* Meigen. *J. Morph.*, 1954, 91, 1-20.
- KREMER M., ISMAIL M. T. : Comportement sexuel de *Culicoides nubeculosus*. Mise en évidence d'une phéromone et étude de ses effets. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1979, 54, 247-260.
- LINLEY J. R. : Bodily stimulus gradient and precopulatory orientation in the midge *C. melleus*. *Physiol. Ent.*, 1983, 8, 403-412.
- MESSADDEQ N., WALLER J., KREMER M. : Site d'action chez les mâles de la phéromone sexuelle émise par les femelles de *C. nubeculosus*. Poster (S. G. T. P. Jahrestagung Bad. Rag AZ). Compte rendu de la Schweiz. Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie, 1987, p. 17.
- NAYAK J. V., SINGH S. N. : Sensilla on the tarsal segments and mouth parts of adult *Drosophila melanogaster*. *Int. J. Insect. Morph. and Embryol.*, 1983, 12, 273-291.
- SHORY : Behavioral responses to insect pheromones. *Ann. Rev. Ent.*, 1973, 8, 349-379.
- SCHLEIN Y., GALUM R., BEN ELIAHU M. N. : Receptors of sex pheromone and abscisins in *Musca domestica* and *Glossina morsitans*. *J. Chem. Ecol.*, 1981, 7, 291-295.
- SLIFER E. H. : Permeable sense organs on the antenna of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* (Linnaeus). *Entomological News*, 1960, 71, 221-225.
- SLIFER E. H. : The fine structure of the sense organs on the antennal flagellum of the Honey Bee *Apis mellifera* (Linnaeus). *J. Morph.*, 1961, 109, 420-426.
- SLIFER E. H. : Sensory hairs with permeable tips on the tarsi of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Ann. Entom. Soc. Am.*, 1962, 55, 531-535.
- STEINBRECHT R. A., MULLER B. : On the stimulus conducting structures in insect olfactory receptors. *Z. Zellforsch.*, 1971, 117, 570-575.