

1974

IMPORTANCE RELATIVE DES STIMULATIONS DE L'ACCOUPLEMENT : PARADE, COPULATION ET INSEMINATION SUR LA PRODUCTION OVARIENNE DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*

RESUME

La stimulation globale que constitue l'accouplement pour une femelle de *Drosophila* peut être décomposée en plusieurs stimulus simples ayant chacun un effet sur la physiologie de la femelle et particulièrement sur sa fécondité.

L'utilisation de mâles castrés, de mâles génétiquement stériles et de mâles normaux permet de distinguer l'effet des stimulus suivants : parade nuptiale, coaptation des pièces génitales, sécrétion des glandes accessoires mâles, apport de spermatozoïdes.

La parade nuptiale à elle seule ne semble pas avoir d'influence sur l'ovogenèse. L'addition successive des autres stimulus provoque un accroissement par paliers de l'activité ovarienne.

L'action synergique des stimulus provoque d'autre part une diminution de la variabilité des résultats qui traduit l'approche d'un optimum physiologique.

SUMMARY

In the *Drosophila* female, the normal mating results in a global stimulation which increases its egg production. By using several kinds of males (castrated, genetically sterile and normal) it was possible to divide this global stimulation into the following elementary stimuli : courtship genitalia coaptation, paragonial fluid supply and sperm presence.

When acting alone, courtship does not seem to exercise any effect upon oögenesis. Addition of the other stimuli results in a progressive increase of the ovarian activity.

The synergic action of the efficient stimuli brings the oogenesis to different levels.

A reduction of the individual variability between the female is also observed as the egg production increases.

La stimulation de l'ovogenèse par l'accouplement chez les Insectes et particulièrement chez *Drosophila melanogaster* est connue et étudiée depuis longtemps et le critère de fécondité est certainement celui qui rend le mieux compte des effets de la copulation sur la physiologie de la femelle de Drosophile. On peut citer en particulier : David (1963), David et Merle (1966) Merle et David (1967 a, b) Boulétreau-Merle (1973), etc...

Puis les auteurs ont essayé d'identifier les différents stimulus reçus par la femelle. Le plus étudié est certainement le « sex peptide » produit par les paragonies du mâle qui fut découvert par Fox (1956) puis identifié par Chen et Diem (1961). Il a été utilisé soit par implantation des paragonies chez la femelle (Garcia-Bellido, 1964 ; Leahy, 1966 ; Merle, 1968), soit par injection du peptide lui-même (Leahy et Lowe, 1967 ; Chen et Buhler, 1970).

Des études comparables ont été faites chez *Musca domestica* : Riemann, Moen et Thorson (1967), Adams et Nelson (1968), Riemann et Thorson (1969) ; chez *Aedes aegypti* : Leahy et Craig (1965) puis Fuchs, Craig et Hiss (1968) et Fuchs, Craig et Despommier (1969) qui identifièrent la « matrone » et chez les Acridiens : Pickord, Ewen et Gillott (1969).

Moins nombreuses sont les études sur l'effet spécifique de la présence des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles : Manning (1962), Merle (1970).

Si les séquences et le mode d'action de la parade sont bien connus (Bastock et Manning, 1955 ; Bennet-Clarke et Ewing, 1967 ; Burnet, Connolly et Denis, 1971 ; Ewing, 1964 ; Ewing et Bennet-Clarke, 1968 ; Manning, 1967 ; Maynard-Smith, 1956 ; Mayr, 1950 ; Milani, 1951 ; Spieth, 1952, 1966, 1968), les effets de cette stimulation purement nerveuse sur l'ovogenèse et l'oviposition ont été peu étudiés de même que la stimulation mécanique de l'accrochage des pièces génitales et de l'intromission de l'édeage. Seul Kummer (1960) a tenté d'en observer les effets sur la ponte à l'occasion d'une étude de longévité.

C'est pourquoi il a paru intéressant de préciser ce problème et de séparer les différents types de stimulations en utilisant des mâles privés de leur appareil génital interne.

MATERIEL ET METHODES

La fécondité a été mesurée chez des femelles inséminées hétérozygotes F1 *vestigial-Champetières* élevées à 25° C, à l'obscurité, sur un milieu à base de levure de bière tuée

et de farine de maïs (DAVID, 1959). Ces femelles ont été isolées dès l'émergence puis maintenues dans les mêmes conditions dans des tubes de verre bouchés par du coton, pendant toute la durée des expériences. La nourriture constituée par du milieu normal coulé sur une lame de verre était changée tous les jours et les œufs déposés par la femelle sur le milieu étaient dénombrés. Toutes les femelles ont été disséquées en fin d'expérience, c'est-à-dire soit au bout de 8 jours, soit après 20 jours afin de déterminer le nombre d'œufs qu'elles gardaient en rétention dans les ovaires.

Chacun des types de stimulation apportés par le mâle par sa seule présence et par la copulation a pu être mis en évidence par l'utilisation de différentes sortes de mâles.

- des mâles normaux hétérozygotes *vestigial-Champetières*, frères des femelles étudiées.
- des mâles XO issus du croisement entre des femelles *vestigial* et des mâles à XY attachés. Ces mâles ont l'avantage de ne pas produire de spermatozoïdes par arrêt de la spermatogenèse au stade spermatide, mais leurs paragonies sont tout à fait fonctionnelles et la production du liquide séminal est sensiblement normale.
- des mâles hétérozygotes *vestigial-Champetières* privés de leur tractus génital interne. L'ablation a été faite sur des mâles âgés de 5 jours, c'est-à-dire en pleine possession de leur potentiel sexuel. Elle consistait à extirper, par une incision de la face ventrale de l'abdomen au niveau du 3^e segment abdominal, la totalité des testicules, des paragonies et du canal éjaculateur. Il ne restait donc à l'intérieur de l'abdomen que le bulbe éjaculateur et le pénis. Les pièces externes sclérifiées et leur musculature restaient, en principe, intactes.
- des mâles opérés mais chez lesquels l'opération avait provoqué une certaine ankylose de la partie postérieure de l'abdomen. Ceci se traduisait chez ces mâles par une obturation plus ou moins complète de la partie terminale externe du tractus génital par un mélange de sécrétions et de déjections qui immobilisaient complètement l'édeage. Avec ces mâles, l'étude n'a été poursuivie que huit jours.

Des femelles vierges isolées donnaient la valeur de base de la fécondité.

Des femelles vierges groupées par 2 ont permis de définir l'action de la présence d'un autre individu sur la vitellogenèse. Cette étude n'a aussi été effectuée que pendant les huit premiers jours.

RESULTATS

1 - Fécondité journalière

Les effets des diverses stimulations sont traduits par les courbes de fécondité journalière (figure 1).

La femelle vierge isolée, nourrie normalement, qui ne subit aucune stimulation extérieure, présente une fécondité qui reste assez faible. Nulle les deux premiers jours, elle s'accroît jusqu'au 9^e jour pour se stabiliser à 30-35 œufs par femelle.

Les femelles qui cohabitent avec des mâles sans appareil génital présentent une ponte plus abondante, cependant la forme générale de la courbe reste la même. Quelques œufs sont pondus le 2^e jour puis leur nombre s'accroît. La stabilisation de la ponte s'effectue dès le 5^e jour, à un niveau très nettement supérieur à celui des femelles vierges laissées seules. Dès le 3^e jour, les pontes obtenues sont statistiquement différentes.

Les femelles maintenues avec des mâles XO présentent une courbe de ponte beaucoup plus proche de celle des femelles inséminées. Non seulement le nombre d'œufs déposés est beaucoup plus important (en moyenne 90 œufs par jour et par femelle) mais ces femelles présentent

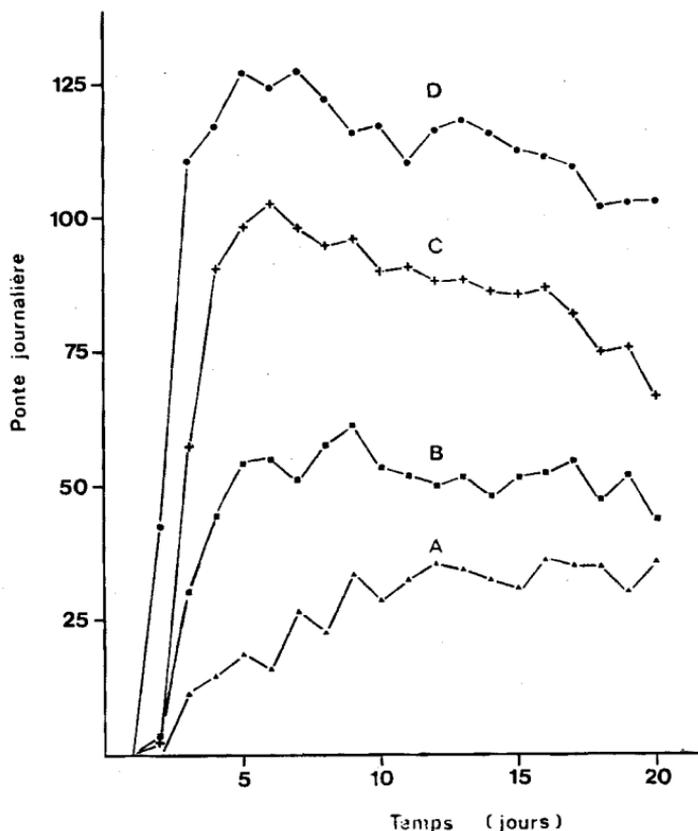


Fig. 1. — Fécondité journalière de femelles isolées mises en présence de différents types de mâles. A: femelles vierges; B: femelles avec mâles castrés; C: avec mâles stériles; D: avec mâles fertiles.

un maximum de ponte situé au début de la vie. La moyenne décroît ensuite régulièrement jusqu'à la fin de l'expérience.

Les femelles fécondées par des mâles normaux ont une ponte très abondante qui débute dès le 2^e jour et présente un maximum de 127 œufs par femelle le 5^e jour. On observe ensuite une décroissance assez régulière jusqu'au 20^e jour.

2 - Production des œufs au cours des 8 premiers jours de vie

Elle se traduit principalement par le total des œufs pondus pendant ce laps de temps, mais aussi par le nombre d'œufs en rétention dans le tractus génital femelle. Ce nombre, déterminé par dissection, donne une indication supplémentaire sur l'état physiologique de la femelle. Le fait que les observations portent sur 8 jours seulement n'est pas arbitraire; ceci correspond à la durée de la première vague de vitellogenèse chez la femelle vierge.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 1.

TABLEAU I

INFLUENCE DE DIVERS TYPES DE MALES SUR LE NOMBRE D'ŒUFS PONDUS EN 8 JOURS ET LE NOMBRE D'ŒUFS EN RETENTION

m, moyenne ; *C.V.*, coefficient de variation ; *n*, nombre de femelles ; *V*, variation du nombre d'œufs pondus par rapport aux femelles vierges isolées.

CONDITIONS EXPERIMENTALES	ŒUFS PONDUS		ŒUFS EN RETENTION		n	V
	m	C.V.	m	C.V.		
Femelles vierges par deux	114,60 ± 13,90	66,48	49,11 ± 3,67	40,92	30	× 0,78
Femelles vierges isolées	145,29 ± 12,83	56,55	42,60 ± 2,36	24,83	41	× 1,00
Mâles castrés (1)	177,76 ± 21,54	49,96	37,84 ± 3,37	36,69	17	× 1,22
Mâles castrés (2)	295,61 ± 19,50	33,64	31,05 ± 2,09	27,84	26	× 2,03
Mâles stériles XO	495,49 ± 15,64	22,54	25,96 ± 1,20	24,01	51	× 3,41
Mâles fertiles	712,48 ± 48,01	12,64	26,00 ± 1,69	32,59	25	× 4,90

(1) pièces génitales non fonctionnelles.

(2) pièces génitales fonctionnelles.

Outre les 4 cas correspondant à ceux de la figure 1, on trouve deux catégories supplémentaires de femelles : des femelles vierges maintenues par deux dont la production d'œufs est nettement inférieure à celle des femelles vierges isolées ; des femelles en présence de mâles opérés mais dont les pièces génitales externes ont été immobilisées au cours des 8 jours d'observation, à partir d'un âge qui n'est pas toujours le même pour les 17 mâles.

Si l'on prend comme référence la production ovarienne de la femelle vierge isolée, on peut calculer, pour chacun des groupes de stimulations représentés par chacun des types de mâles, un coefficient qui exprime l'activation subie par la femelle (V) au niveau de sa fécondité. Ce coefficient est d'autant plus élevé que la gamme des stimulations est plus complète. C'est ainsi que la fécondité de la femelle peut être augmentée de près de 5 fois par l'action du mâle normal.

Le coefficient de variation calculé sur le nombre d'œufs pondus décroît régulièrement lorsque la production des œufs augmente et que les divers stimulus entrent en jeu.

Le nombre des œufs en rétention dans les voies génitales femelles diminue lorsque les stimulations s'ajoutent.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Si l'on admet que les femelles vierges isolées présentent le type d'ovogenèse et d'ovulation de base d'une femelle soumise à un minimum de stimulations extérieures, chacune des autres catégories de femelles traduit l'effet de la présence et de l'additivité des diverses stimulations.

Les mâles castrés dont les pièces génitales externes sont bloquées sont toujours excités par la présence de la femelle mais les séquences de la parade, telles que les décrivent Bennet-Clarke et Ewing (1967) ou Spieth (1966, 1968) se limitent aux battements d'ailes et au léchage. C'est donc une stimulation purement nerveuse que reçoit la femelle. Elle n'a pas d'effet significatif sur le taux de production des œufs. La différence d'œufs formés et l'écart type élevé s'expliquent par le fait que les mâles ont été bloqués plus ou moins tardivement après leur opération et qu'ainsi, pendant les premiers jours certains ont pu avoir le comportement plus efficace des mâles non bloqués.

Les mâles opérés et qui gardent leurs pièces génitales externes mobiles poursuivent la parade et les tentatives d'accouplement plus loin que les précédents. Le déroulement des séquences peut aller jusqu'à l'accrochage et peut-être l'intromission. En plus de la parade, la femelle reçoit donc une stimulation mécanique au niveau de ses pièces génitales qui provoque une ovogenèse et une ponte beaucoup plus abondante que dans le cas précédent, contrairement à ce qu'avait observé Kummer en 1960 (en présence de certains mâles particulièrement actifs, le taux de ponte a pu atteindre 90 œufs par femelle et par jour). Il semble que

ces différences soient dues à la technique opératoire. L'ablation du tractus génital se faisait ici par une incision assez antérieure (3^e ou 4^e segment abdominal) alors que Kummer sectionnait seulement le canal éjaculateur en avant du bulbe. Cette section pratiquée dans la partie postérieure de l'abdomen a l'inconvénient de léser les muscles du bulbe éjaculateur et le réseau nerveux important de cette partie de l'abdomen. Les mâles utilisés par Kummer ressembleraient alors beaucoup plus aux mâles de la première catégorie chez qui l'opération provoque une certaine ankylose de la partie postérieure de l'animal qui se complique ensuite par l'immobilisation des pièces génitales.

Outre les stimulations nerveuse et mécanique, les mâles XO apportent aux femelles le stimulus chimique que constitue le liquide paragonial et plus particulièrement le sex peptide qu'il contient. La stimulation apportée par ces mâles a déjà été étudiée chez des femelles en inanition protéique (Merle, 1970). La production des œufs limitée par le milieu nutritif était de 80 % de celle des femelles inséminées par un mâle normal pour une durée de 20 jours alors que la production des femelles sur milieu normal n'est ici de que 75 % pour 20 jours et 69,5 % seulement si l'on ne considère que les 8 premiers jours d'expérience. Ce sex peptide si efficace a été trouvé par Fox (1956) dans les mâles de *Drosophile* puis situé dans les paragonies par Chen et Diem (1961), et purifié par Leahy et Lowe (1967). Utilisé en injection, sur des femelles vierges, il provoque une ponte abondante (Chen, Buhler, 1970), beaucoup moins cependant que la véritable copulation avec un mâle XO. Ceci tient peut-être à la quantité de sex-peptide reçu par la femelle mais aussi à l'effet des deux autres stimulations nerveuse et mécanique.

Le stimulus supplémentaire apporté par le mâle fertile est la présence de spermatozoïdes qu'il introduit dans les voies génitales femelles. L'action de ce stimulus à l'intérieur de la femelle est mal connu. Ce pourrait être la production par les spermatozoïdes eux-mêmes d'une substance chimique transportée ensuite par l'hémolymphe (Manning, 1962) ou bien seulement la présence et la mobilité des spermatozoïdes à l'intérieur des organes de stockage qui entraîneraient la stimulation de la femelle. Quel que soit son mode d'action, ce stimulus est relativement important.

Il est intéressant de noter que la présence d'un individu de même sexe a un effet défavorable sur la vitellogenèse et sur l'ovulation puisque le nombre moyen des œufs en rétention est légèrement plus élevé que chez la femelle vierge seule.

Le nombre d'œufs en rétention diminue à mesure que les stimulus des mâles s'ajoutent. Ce phénomène correspond à une accélération de la vitesse de production des œufs par l'ensemble des germarium, à une élimination plus fréquente des œufs mûrs dont le temps moyen de séjour dans les voies génitales femelles diminue ainsi qu'à une levée de plus en plus complète de l'inhibition de l'ovulation qui existe chez la femelle vierge.

Malgré ces résultats, on ne peut cependant pas mesurer de façon précise, l'effet propre à chacune des différentes stimulations car des problèmes se posent au sujet de leur fréquence et de la persistance de leur effet.

On sait que les femelles inséminées par un mâle normal refusent la copulation pendant 7 à 8 jours (Merle, 1970), délai après lequel la réceptivité sexuelle réapparaît. Il est donc probable que les femelles en présence de mâles normaux ne se sont accouplées que 2 ou 3 fois pendant la durée de l'expérience.

Il n'en est pas de même pour les femelles en présence de mâles XO chez lesquelles la réceptivité n'est que très faiblement inhibée : un accouplement est possible pratiquement tous les jours. La fréquence des stimulations est donc beaucoup plus élevée et la quantité de liquide paragonial transmise certainement plus importante.

Les tentatives d'accouplement des mâles castrés doivent être elles aussi, assez nombreuses, puisque la réceptivité sexuelle de la femelle reste inchangée, sans que l'on puisse cependant fixer un chiffre même approximatif.

La rémanence de chacune des stimulations est assez difficile à estimer. Il est probable qu'elle est inverse de leur fréquence, c'est-à-dire que l'effet de la coaptation des pièces génitales ou du transfert de liquide paragonial est assez peu durable alors que la stimulation par les spermatozoïdes doit avoir une persistance beaucoup plus grande.

De plus il ne serait pas exact de dire que l'augmentation du nombre d'œufs pondus ou formés est due au seul stimulus nouveau apporté par le mâle. Il est assez vraisemblable que chaque stimulation nouvelle vient agir en synergie avec les précédentes et que son effet en association est plus important que si elle agissait seule, sans que les autres l'aient précédée.

En fait chacun des différents types de mâles apporte un ou plusieurs types de stimulus qui, par leur répétition, leur rémanence et l'effet de synergie qu'ils doivent présenter créent pour la femelle un certain niveau d'activation que celle-ci transforme en un certain taux d'ovogenèse, ce dernier se traduisant par une production journalière d'œufs plus ou moins importante. Suivant l'efficacité des stimulus et leur possibilité de répétition, la femelle parvient plus ou moins rapidement à cette limite supérieure de fécondité propre à chaque groupe de stimulations. C'est pourquoi, les caractéristiques de ponte propres aux femelles vierges (blocage de l'ovulation, stabilisation tardive de la fécondité) s'estompent au fur et à mesure de l'addition des stimulus pour faire place aux caractéristiques de ponte des femelles inséminées (ponte rapide et importante avec un maximum au 4^e ou 5^e jour.)

Outre cette forte augmentation de la fécondité, l'accouplement agit sur la physiologie de la femelle comme un régulateur, ce qui se traduit dans l'expérience présente par une homogénéisation de plus en plus

poussée des performances des femelles. Les femelles vierges isolées se caractérisent par une variabilité très importante. Chacune d'elles réagit de façon spécifique et apparemment assez anarchique. La fécondité est un des critères qui traduit le mieux cette variabilité. Chacun des stimulus apportés par le mâle tend à réduire ces variations et leur groupement chez le mâle fertile normal permet d'obtenir une variabilité réduite des femelles inséminées qui, au départ, ont été choisies au hasard, dans le même lot de femelles vierges que les témoins restés vierges pendant 20 jours.

Chacun des stimulus nerveux, mécanique, chimique et celui propre aux spermatozoïdes s'ajoutent aux autres pour transformer la production de la première vague d'œufs de la femelle vierge en une production continue et importante qui nécessite la stimulation du cerveau et des glandes endocrines pour se maintenir (Bouletreau-Merle, 1973). Les différents stimulus arrivant par des voies différentes agissent en synergie sur les cellules neuro-sécrétrices du cerveau qui peuvent ainsi maintenir l'activité des glandes endocrines, lever l'inhibition de l'ovulation et permettre à la femelle d'atteindre un optimum physiologique qui expliquerait l'homogénéisation des résultats.

BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS (T.S.), NELSON (D.R.), 1963. — Bioassay of crude extracts for the factor that prevents second matings in female *Musca domestica*. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 61, 112-116.
- BASTOCK (M.), MANNING (A.), 1955. — The courtship of *Drosophila melanogaster*. *Behav.*, 8, 85-111.
- BENNET-CLARKE (H.C.), EWING (A.W.), 1967. — Stimuli provided by courtship of male *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 215, 669-671.
- BOULETREAU-MERLE (J.), 1973. — Fonctionnement ovarien comparé des femelles vierges et des femelles inséminées de *Drosophila melanogaster*. *Ann. Soc. Ent. Fr.*, 9, 161-191.
- BURNET (B.), CONNOLLY (K.), DENNIS (L.), 1971. — The function and processing of auditory information in the courtship behavior of *Drosophila melanogaster*. *Animal Behav.*, 19, 409-415.
- CHEN (P.S.), DIEM (C.), 1961. — A sex-specific ninhydrin-positive substance found in the paragonia of adult males of *Drosophila melanogaster*. *J. Insect. Physiol.*, 7, 289-298.
- CHEN (P.S.), BÜHLER (R.), 1970. — Paragonial substance (sex peptide) and other free ninhydrin-positive components in male and female adults of *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.*, 16, 615-627.
- DAVID (J.), 1959. — Etude quantitative du développement de la Drosophile en milieu axénique. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, 93, 472-505.
- DAVID (J.), 1963. — Influence de la fécondation de la femelle sur le nombre et la taille des œufs pondus. Etude chez *Drosophila melanogaster* Meig. *J. Insect Physiol.*, 9, 13-24.
- DAVID (J.), MERLE (J.), 1966. — Influence de la fécondation de la femelle de Drosophile sur sa physiologie. *Ann. Nutr. Alim.*, 20, 332-333.
- EWING (A.W.), 1964. — The influence of wing area on the courtship behaviour of *Drosophila melanogaster*. *Anim. Behav.*, 12, 316-320.
- EWING (A.W.), BENNET-CLARKE (H.C.), 1963. — The courtship songs of *Drosophila*. *Behaviour*, 31, 288-301.
- EWING (A.W.), MANNING (A.), 1963. — The effect of exogenous scent on the mating of *Drosophila melanogaster*. *Anim. Behav.*, 11, 596-598.
- FOX (A.S.), 1956. — Chromatographic difference between males and females in *Drosophila melanogaster* and role of X and Y chromosomes. *Physiol. Zool.*, 29, 288-298.

- FUCHS (M.S.), CRAIG (G.B.), HISS (E.A.), 1968. — The biochemical basis of female monogamy in mosquitoes. I. Extraction of the active principle from *Aedes aegypti*. *Life Sciences*, 7, 835-839.
- FUCHS (M.S.), CRAIG (G.B.), DESPOMMIER (D.D.), 1969. — The protein nature of the substance inducing female monogamy in *Aedes aegypti*. *J. Insect Physiol.*, 15, 701-709.
- GARCIA-BELLIDO (A.), 1964. — Das Sekret der Paragonien als Stimulus der Fekundität bei Weibchen von *Drosophila melanogaster*. *Z. Naturf.*, 19, 491-495.
- KUMMER (H.), 1960. — Experimentelle Untersuchungen zur Wirkung von Fortpflanzungsfaktoren auf die Lebensdauer von *Drosophila melanogaster* Weibchen. *Z. Vergl. Physiol.*, 43, 642-679.
- LEAHY (M.G.), 1966. — Egg deposition in *D. melanogaster* increased by transplant of male paragonia. *Drosophila Information Service*, 41, 145-146.
- LEAHY (M.G.), CRAIG (G.B.), 1965. — Accessory gland substances as a stimulant for oviposition in *Aedes aegypti* and *A. albopictus*. *Mosquito News*, 25, 448-452.
- LEAHY (M.G.), LOWE (M.L.), 1967. — Purification of the male factor increasing egg deposition in *D. melanogaster*. *Life Sciences*, 6, 151-156.
- MANNING (A.), 1962. — A sperm factor affecting the receptivity of *Drosophila melanogaster* females. *Nature*, 194, 252-253.
- MANNING (A.), 1967. — Antennae and sexual receptivity in *Drosophila melanogaster* females. *Sciences*, 153, 136-137.
- MAYNARD-SMITH (J.), 1956. — Fertility, mating behaviour and sexual selection in *Drosophila subobscura*. *Genetics*, 51, 261-279.
- MAYR (E.), 1950. — The role of antennae in the mating behavior of female *Drosophila*. *Evolution*, 4, 149-154.
- MERLE (J.), DAVID (J.), 1967. — Fonctionnement ovarien et ponte chez les femelles vierges et les femelles fécondées de *Drosophila melanogaster* soumises à une alimentation exclusivement glucidique. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 264, 2028-2030.
- MERLE (J.), DAVID (J.), 1967. — Ovulation et ponte provoquée par la copulation chez la *Drosophile*. Baisse du pourcentage d'éclosion des œufs en fonction de la durée de leur rétention. *C.R. Acad. Sci. Paris* 265, 2070-2073.
- MERLE (J.), 1968. — Fonctionnement ovarien et réceptivité sexuelle de *Drosophila melanogaster* après implantation de fragments de l'appareil génital mâle. *J. Insect Physiol.*, 14, 1159-1168.
- MERLE (J.), 1970. — Rôle des sécrétions génitales mâles dans la physiologie de la *Drosophile* femelle. Coll. intern. C.N.R.S. « L'influence des stimuli externes sur la gamétogenèse des Insectes », 311-330.
- MILANI (R.), 1951. — Osservazioni sul corteggiamento de *Drosophila subobscura*. *R.C. Ist. Lombardo*, 84.
- PICKFORD (R.), EWEN (A.B.), GILLOT (C.), 1969. — Male accessory gland substance an egg-laying stimulant in *Melanoplus sanguinipes* (F.) (Orthoptera : Acrididae). *Can. J. Zool.*, 47, 1199-1203.
- RIEMANN (J.G.), MOEN (D.J.), THORSON (B.J.), 1967. — Female monogamy and its control in houseflies. *J. Insect Physiol.*, 13, 407-418.
- RIEMANN (J.G.), THORSON (B.J.), 1969. — Effect of male accessory material on oviposition and mating by female house flies. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 62, 828-834.
- SPIETH (H.T.), 1952. — Mating behaviour within the genus *Drosophila* (Diptera) *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.*, 99, 395-474.
- SPIETH (H.T.), 1966. — *Drosophilid* mating behaviour : the behaviour of decapitied females. *Anim. Behav.*, 14, 226-235.
- SPIETH (H.T.), 1968. — Evolutionary implications of sexual behaviour in *Drosophila*. *Evolutionary Biol.*, 2, 157-193.