

50376
1965
59

50376
1965
59

FACULTE DES SCIENCES DE LILLE

DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES

(Sciences Naturelles)



Gérard ROUSSEAU

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'INHIBITION
DE LA MATURITE GENITALE ET DE L'EPITOQUIE
CHEZ NEREIS PELAGICA L. (ANNELIDE POLYCHETE)

Présenté en juin 1965
devant la commission d'examen

Jury d'examen

M. DURCHON,

Président

M. DEFRETIN,

Examineurs

M. SCHALLER,

SCD LILLE 1



D 030 272160 6

50376
4953
59

À RETOURNER LE

D I F

S

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L INHIBITION
DE LA MATURITE GENITALE ET DE L'EPITOQUE
CHEZ NEREIS PELAGICA L. (ANNELIDE POLYCHETE)

Présenté en juin 1965
devant la commission d'examen

Jury d'examen

M. DURCHON, Président
M. DEFRETIN,
M. SCHALLER, Examineurs

S O M M A I R E

INTRODUCTION	p. 1
MATERIEL ET TECHNIQUE	p. 5
CHAPITRE I - INHIBITION EXPERIMENTALE DE LA MATURITE GENITALE	p. 8
I - Protocoles expérimentaux	p. 8
II - Résultats	p. 9
III- Discussion	p. 17
CHAPITRE II - INHIBITION EXPERIMENTALE DE L'EPITOQUIE EN FONCTION DE L'ETAT GENITAL	p. 22
I - Résultats	p. 22
II- Discussion	p. 25
CHAPITRE III - EVOLUTION DE L'ACTIVITE DU CERVEAU EN FONCTION DU DEVELOPPEMENT OVOCYTAIRE	p. 30
I - Conditions expérimentales	p. 30
II - Résultats	p. 30
III- Discussion	p. 35
CONCLUSION GENERALE	p. 38
BIBLIOGRAPHIE	p. 40

I N T R O D U C T I O N

Certaines Annélides Polychètes présentent des modifications morphologiques au moment de leur reproduction.

Ces transformations somatiques sont corrélatives d'une variation de l'état physiologique de l'Annélide. Les différentes conditions susceptibles de présider à ce changement sont d'ordre hormonal. L'étude expérimentale entreprise chez les Néréidiens a permis à DURCHON (1952) de montrer l'existence d'un centre hormonal inhibiteur de l'épitoquie et de la maturité génitale. Des expériences de section d'Annélide, d'ablation de prostomium et de greffe ont permis d'une part de prouver cette action hormonale, d'autre part de localiser le centre inhibiteur.

HAUENSCHILD (1956) en opérant sur *Platynereis dumerilii* aboutit à des conclusions identiques.

Depuis, l'endocrinologie des Annélides Polychètes a donné lieu à de nombreux travaux. C'est ainsi que CHOQUET (1962) a montré que tout ovocyte d'un diamètre supérieur à 30μ chez *N. pelagica* croît en absence d'hormone inhibitrice. D'autres expériences viennent confirmer les résultats obtenus par DURCHON en 1952.

DURCHON et SCHALLER (1963) obtiennent in vitro chez *N. diversicolor* par exemple, une inhibition de la maturité génitale en associant un prostomium et un parapode.

Le rôle inhibiteur de l'hormone peut aussi être mis en évidence en pratiquant des greffes de cerveaux d'individus immatures sur des Nereis en cours de développement. DURCHON et CHOQUET (1961) obtiennent par cette méthode une inhibition complète de l'épitoquie chez *Perinereis cultrifera*.

Ces différents travaux montrent donc que la maturité génitale et l'épitoquie sont sous la dépendance d'une hormone inhibitrice localisée dans le prostomium.

Dès lors, on peut se demander si cette hormone préside au contrôle de l'évolution du soma et du germen pendant tout le développement de la Nereis. Les différents travaux semblent montrer que l'hormone contribue à maintenir un état physiologique. L'hormone peut-elle agir quel que soit le stade d'évolution ? Le pouvoir inhibiteur persiste-t-il lorsqu'un certain stade, c'est-à-dire lorsqu'un moment physiologique" est atteint, puis dépassé ?

Il nous fallait donc tenter de délimiter les possibilités d'action de l'hormone inhibitrice au cours du développement des Néréidiens.

Toutefois, la condition nécessaire à une influence hormonale du cerveau est l'état de la neuro-sécrétion aux différents moments de la vie de l'Annélide.

Différentes expériences de DURCHON (1952) montrent que des cerveaux prélevés sur des Nereis immatures inhibent la maturité génitale et l'épitoquie alors que des cerveaux d'heteronereis n'ont aucun rôle. DURCHON écrit notamment que "chez les Nereis présentant naturellement une épitoquie, la facteur inhibiteur empêche la transformation morphologique, anatomique et histologique en heteronereis. L'action de ce facteur dans les conditions naturelles persiste jusqu'à l'approche de la maturité génitale".

Le taux d'hormone inhibitrice diminuerait donc lorsqu'on se rapproche de la période de reproduction.

HAUENSCHILD (1956) sur *Flatynereis dumerilii* aboutit aux mêmes conclusions.

Par conséquent, il est établi que les cerveaux de Nereis immatures sont actifs alors que les heteronereis sont dépourvues d'hormone inhibitrice ; il est possible de "penser que la sécrétion encéphalique décroît naturellement et que ce phénomène est irréversible" (DURCHON, 1952).

Il s'agit de préciser cette diminution de la neuro-sécrétion de l'état immature jusque la période de reproduction. En effet, nous ne savons pas, à priori, si cette diminution du taux de l'hormone inhibitrice est régulière. Il serait intéressant de tester expérimentalement l'activité neuro-sécrétrice du cerveau en fonction de la taille des ovocytes.

Dans notre travail, nous avons d'abord recherché s'il était possible d'inhiber la croissance naturelle des ovocytes.

Pour cela, il était nécessaire de travailler sur des *N. pelagica* submatures, c'est-à-dire sur des individus dont les ovocytes sont en fin de croissance. Il est inutile d'opérer sur des *Nereis* dont les ovocytes ont un diamètre de 40 μ , 50 μ , 60 μ par exemple. En effet la croissance naturelle ne serait que peu discernable durant le laps de temps expérimental qui nous est imparti, et tout effet dû à l'expérience ne pourrait être constaté.

Le travail a donc été réalisé sur des *N. pelagica* à ovocytes de 100 μ à 160 μ .

L'inhibition de la maturité génitale est réalisée au moyen de greffes de prostomiums de *Nereis* immatures. Leurs cerveaux, pense-t-on, libèrent beaucoup d'hormone inhibitrice.

La greffe -ou les greffes renouvelées- de prostomiums ont pour but d'introduire -ou de maintenir- une certaine quantité d'hormone.

Parallèlement à cette étude relative à l'inhibition de la maturité génitale chez *N. pelagica*, nous nous sommes proposé d'observer sur les mêmes *Nereis* opérées, quelle était l'évolution des phénomènes relatifs à l'épitoquie.

Ces deux séries d'observations concernant la maturité génitale et l'épitoquie nous amèneront à formuler quelques remarques. Une deuxième série d'expériences a été entreprise pour préciser l'évolution des propriétés inhibitrices du cerveau chez *N. pelagica* en fonction du stade de développement, c'est-à-dire en fonction du diamètre

des ovocytes. (Cette précision s'impose dès maintenant car nous verrons lors de la discussion relative aux expériences si la taille des ovocytes est le seul critère à envisager).

Nous avons donc réalisé dans ce but des greffes de prostomiums de *N. pelagica* de différents stades sur des immatures privées de cerveau. Lorsque le porte-greffe devient hétéronéréidien, le cerveau greffé est dit inactif. Lorsque le porte-greffe reste tel qu'il était au début de l'expérience, le greffon est dit actif. Entre ces deux cas extrêmes, nous verrons que le greffon se montre plus ou moins efficace.

Les récoltes de *N. pelagica* ayant été effectuées de novembre à mars, il n'a pas été possible d'obtenir une gamme complète de *Nereis* (ovocytes de 40 à 200 μ). Les greffons correspondent essentiellement à des femelles dont les ovocytes avaient un diamètre compris entre 100 et 200 μ .

Les porte-greffes sont des immatures, en effet, ce sont eux qui se trouvent en plus grand nombre durant toute l'année.

MATERIEL ET TECHNIQUE

A - MATERIEL

Le travail a été réalisé sur une Annélide Polychète du groupe des néréidiens : *N. pelagica*, localisée dans les crampons de Laminaires.

C'est à Wimereux -Cap de la Crèche- que *N. pelagica* fut recueillie. Cinq récoltes furent effectuées de novembre à mars.

Détermination du sexe

Un fin tube de verre, effilé et coudé à la flamme, est introduit dans le coelome de la Nereis. La pression intra-coelomique provoque une montée du liquide coelomique dans l'extrémité de la pipette. Celui-ci, déposé sur la lame non recouverte d'une lamelle, est alors observé au microscope.

Le contenu coelomique comprend, outre les coelomocytes, les produits génitaux dont l'examen permet la détermination du sexe. Lorsque les individus sont de très petite taille, il est difficile de les ponctionner ; d'autre part, à ce stade les produits génitaux ne sont pas encore différenciés ; ces Nereis sont appelées Indéterminées. Pour notre travail, seules les Indéterminées et les femelles nous ont été utiles.

Les diamètres des ovocytes sont mesurés à l'aide d'une chambre claire. Une classification arbitraire est établie en fonction de la taille des ovocytes. Le diamètre des ovocytes de *N. pelagica* recueillies de novembre à mars variat de 110-120 à 200-210 μ .

B - TECHNIQUE

La technique expérimentale utilisée dans notre travail est relativement simple. On introduit des prostomiums de *N. pelagica* dans le coelome d'autres *N. pelagica*. Une incision devra donc être réalisée dorsalement et fermée ensuite par une agrafe.

1- Obtention des agrafes

L'extrémité d'un fil d'argent, de diamètre 70μ , passée à la flamme, fond et forme une petite boule. On sectionne à 8 mm environ ; une agrafe est ainsi réalisée. Il suffit alors de tailler en biseau l'extrémité opposée à la sphère pour que l'agrafe soit utilisable.

2- Technique opératoire

a- Anesthésie

N. pelagica est anesthésiée par immersion dans une solution de chlorure de magnésium à 77,7 g par litre dans l'eau distillée. Un quart d'heure environ est nécessaire pour obtenir l'anesthésie totale.

b- Prélèvement d'un prostomium :

Trois sections réalisées à l'aide des ciseaux de Paschef-Wolff suffisent :

- deux sections longitudinales entre le prostomium et les palpes
- une section transversale effectuée derrière les fosses nuchales, afin de ne pas détruire la partie postérieure des ganglions cérébroïdes.

Lorsque la *Nereis* est de grande taille, les deux sections longitudinales sont effectuées du côté interne des yeux. L'exclusion des yeux du prostomium ne détruit pas les ganglions cérébroïdes et permet d'obtenir un greffon de plus petite taille.

Les prostomiums ainsi isolés sont placés dans une salière contenant de l'eau de mer pendant que l'incision est pratiquée dorsalement sur l'individu destiné à recevoir l'implant.

Le cerveau est alors introduit avec soin dans le coelome et l'ouverture est fermée par apposition d'une agrafe.

CHAPITRE I

INHIBITION EXPERIMENTALE DE LA MATURITE GENITALE

I - PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

Trois séries d'expériences ont été entreprises simultanément.

Une première série, composée de *N. pelagica* choisies dans l'intervalle 100-160 μ . Elles ne subissent aucune opération. Ce sont les témoins.

Une deuxième série, composée de *Nereis* non décérébrées choisies dans le même intervalle, subissant une greffe de deux cerveaux d'indéterminées le premier jour de l'expérience. Par la suite, cette série expérimentale ne reçoit plus jamais de greffe.

Une troisième série, composée de *Nereis* choisies dans le même intervalle, non décérébrées elles-aussi, et recevant six greffes de deux prostomiums chacune, espacées de 10 à 15 jours. Ces dernières auront donc reçu un total de 12 greffons (prostomiums d'indéterminées) en l'espace de 2 mois et demi.

Pour chaque taille d'ovocyte, les séries comportent de 2 à 4 opérées (par exemple dans chaque série, il y aura 4 *N. pelagica* de 140 μ).

Ce nombre peut paraître faible. Toutefois, il faut noter que les récoltes de *N. pelagica* n'ont lieu qu'une fois par mois et que les greffes renouvelées demandent déjà à elles seules un très grand nombre de prostomiums d'indéterminées.

On comprend alors pourquoi opérer sur des séries comprenant plus de *Nereis* s'est avéré matériellement impossible.

Les observations ont été effectuées 3 semaines, 6-7 semaines et 10 semaines après le début de l'expérience.

A ces différents moments, les ponctions ont été réalisées sur les trois séries expérimentales.

II - RÉSULTATS ET REMARQUES

Les résultats seront exposés sous forme de tableaux.

A - Résultats

1- Evolution des témoins

Tableau I

(Nombre de (témoins	Taille des ovocytes des témoins		
	Début de l'expérience	3 semaines	6 semaines
(2	160 μ	170-180 μ	200-210 μ
(2	150	160-170	200-210
(2	140	160-170	200-210
(2	130	160-170	200-210
(2	120	160-170	190-200

2- Greffe unique de 2 prostoniums d'Indéterminées

Tableau II

(Nombre (d'opérées	Porte-greffes	Taille des ovocytes des porte-greffes aux temps suivants			
	Taille des ovocytes	Début de l'expérience	3 semaines	6-7 semaines	10 semaines
(2	170-160 μ	160-170-180 μ	190-200 μ	190-200 μ	190-200 μ
(2	150	160-170	190-200	190-200	190-200
(4	140	160-170	180-190	190-200	190-200
(4	130	160-170	170-180	190-200	190-200
(2	120	160-170	170-180	190-200	190-200

3- Greffes répétées de 2 prostomiums d'Indéterminées

Tableau III

(Porte-greffes)		Taille des ovocytes des porte-greffes)			
(Nombre	(Taille des	aux temps suivants			
(d'opérées	(ovocytes				
(	(Début de l'exp.	3 semaines	6-7 semaines	10 semaines	)
(	(	(	(	(	(
(2	(170-160 μ	(160-170 μ	(190-200 μ	(190-200 μ	)
(2	(150	(160-170	(190-200	(190-200	)
(4	(140	(160-170	(180-190-200	(190-200	)
(4	(130	(130-140-150	(140-150-160	(160	)
(2	(120	(130-140	(130-140	(130-140	)

Il est possible de faire apparaître à l'aide de graphiques comparatifs la différence de taille existant entre l'état initial des ovocytes au début de l'expérience et leur taille au moment des différentes ponctions (fig. 1 et 2).

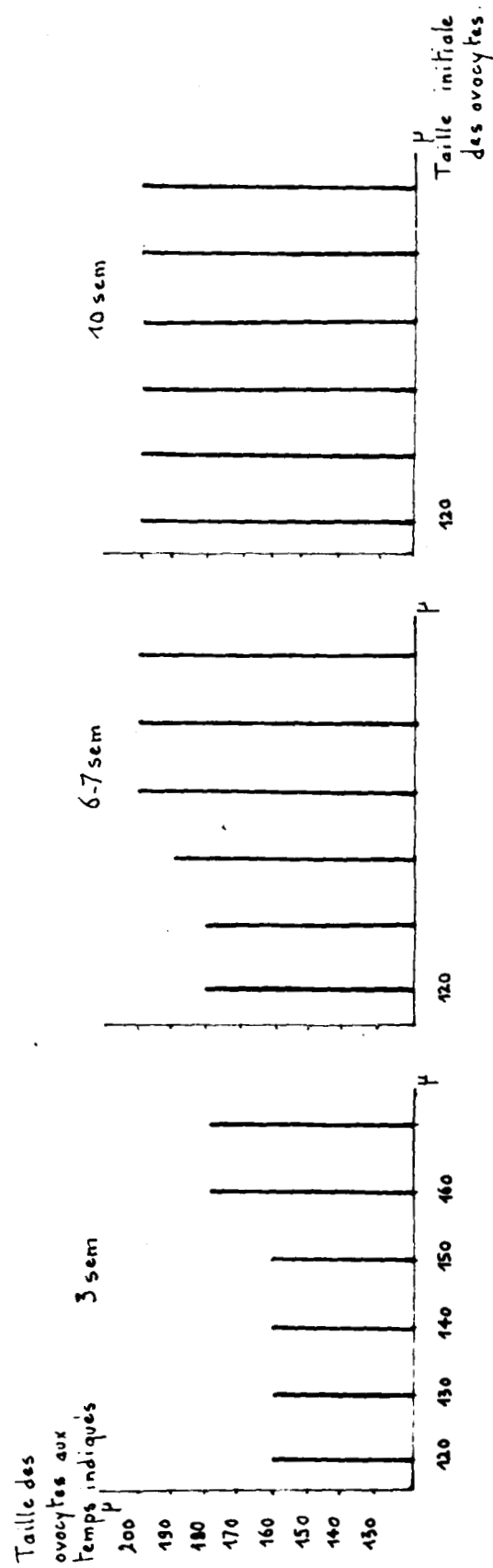


Fig. 1 - Inhibition de la maturité génitale chez *M. pelagica* en période de reproduction, en présence d'hormones inhibitrices. Dans ce cas, la greffe a été unique.

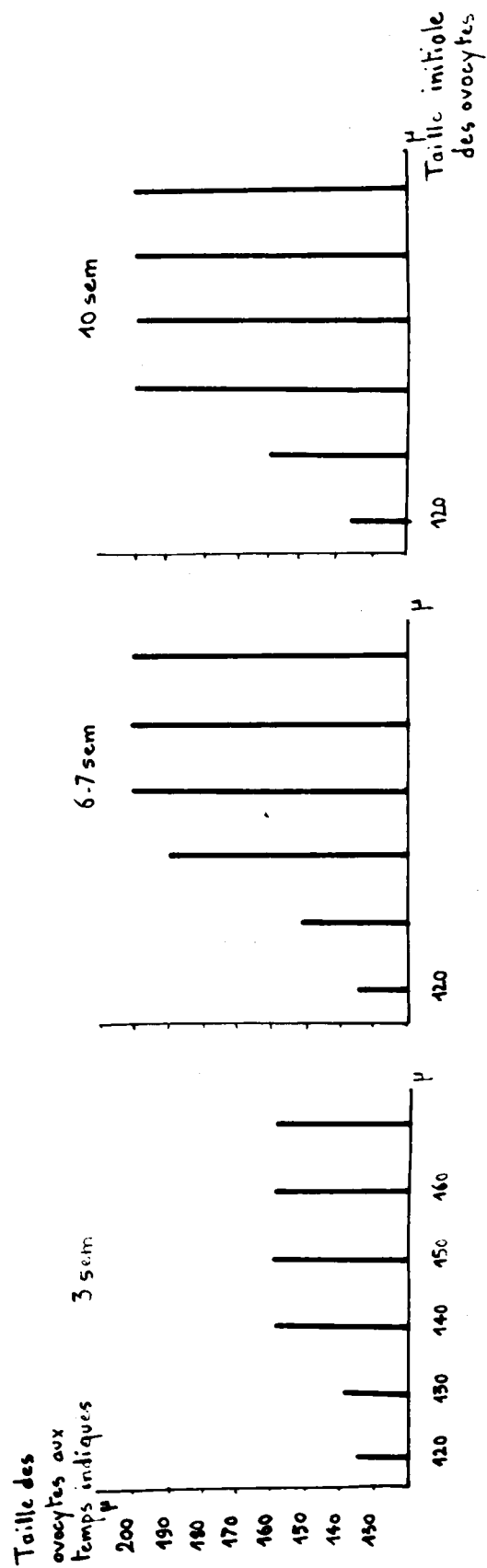


Fig. 2 - Inhibition de la maturité génitale chez *N. pelagica* en période de reproduction; en présence d'hormone inhibitrice. Dans ce cas, les greffes ont été renouvelées.

Les figures 3, 4 et 5 ne sont pas destinées à montrer cette différence de taille des ovocytes, mais le caractère dynamique du phénomène, la croissance elle-même, représentée par la pente de la droite.

B - Remarques

1- Croissance des témoins

Au laboratoire, les témoins de 120 à 160 μ ont atteint leur taille maxima au bout du même laps de temps.

Il faut toutefois remarquer que la croissance de ces témoins présente une particularité. En effet, cette croissance est :

- régulière, continue (droite sur la fig. 4) pour les Nereis de 120, 130 et 160 μ .
- moins régulière (léger ralentissement) pour celle de 140-150 μ . Ce faible ralentissement dans la croissance est peut-être dû à une différence de température (mer - laboratoire), à des conditions particulières de vie (jeûne).

2- Croissance ovocytaire pour une greffe unique

Les figures 3 et 4 permettent de faire une comparaison entre la croissance des témoins et celle des Nereis opérées.

a- examen des figures

- dans l'espace 0-3 semaines : les graphiques sont rigoureusement identiques
- dans l'espace 3-6 semaines : les ovocytes de 120-130 μ ont une croissance moins rapide puisqu'ils n'ont pas encore atteint leur taille maxima comme les témoins
- dans l'espace 6-10 semaines : la croissance des ovocytes de 120-130 μ s'est poursuivie et ceux-ci atteignent leur taille maxima. Cette croissance est cependant ralentie (3 à 4 semaines). Les autres Nereis évoluent en tous points de façon analogue aux témoins.

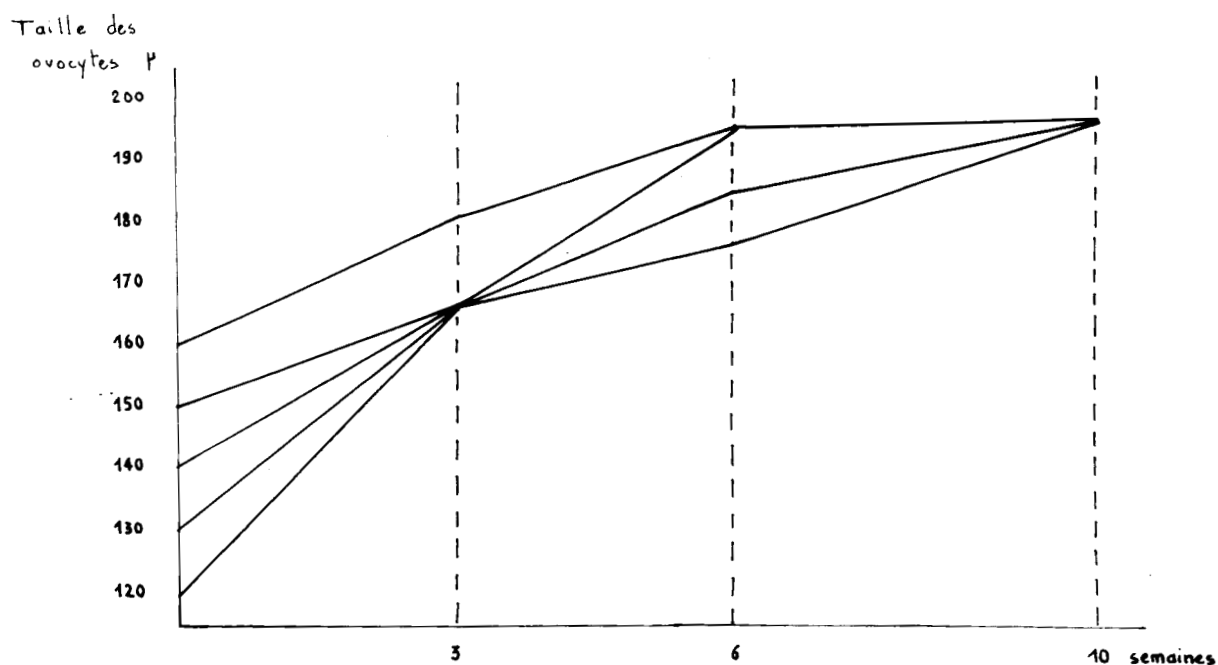


Fig. 3 - Croissance ovocytaire relative à une greffe unique de prostomium au terme de la 3e, 6e, 10e semaine.

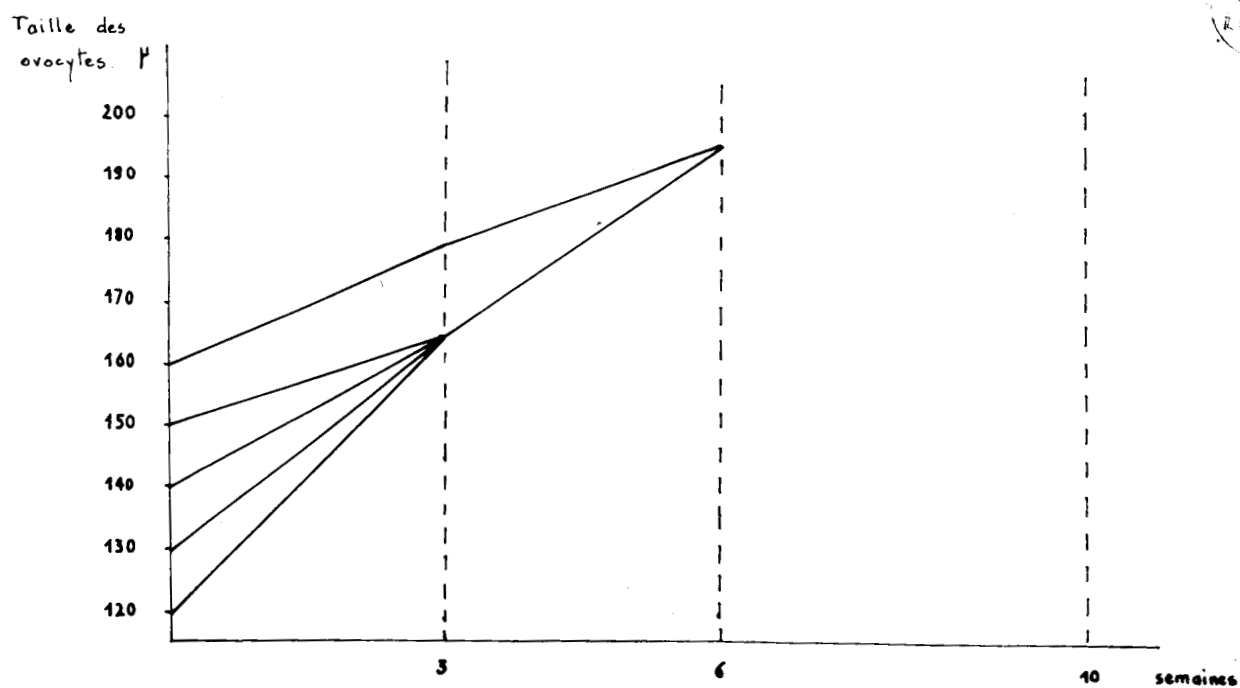


Fig. 4 - Croissance ovocytaire des témoins au terme de la 3e, 6e et 10e semaine.

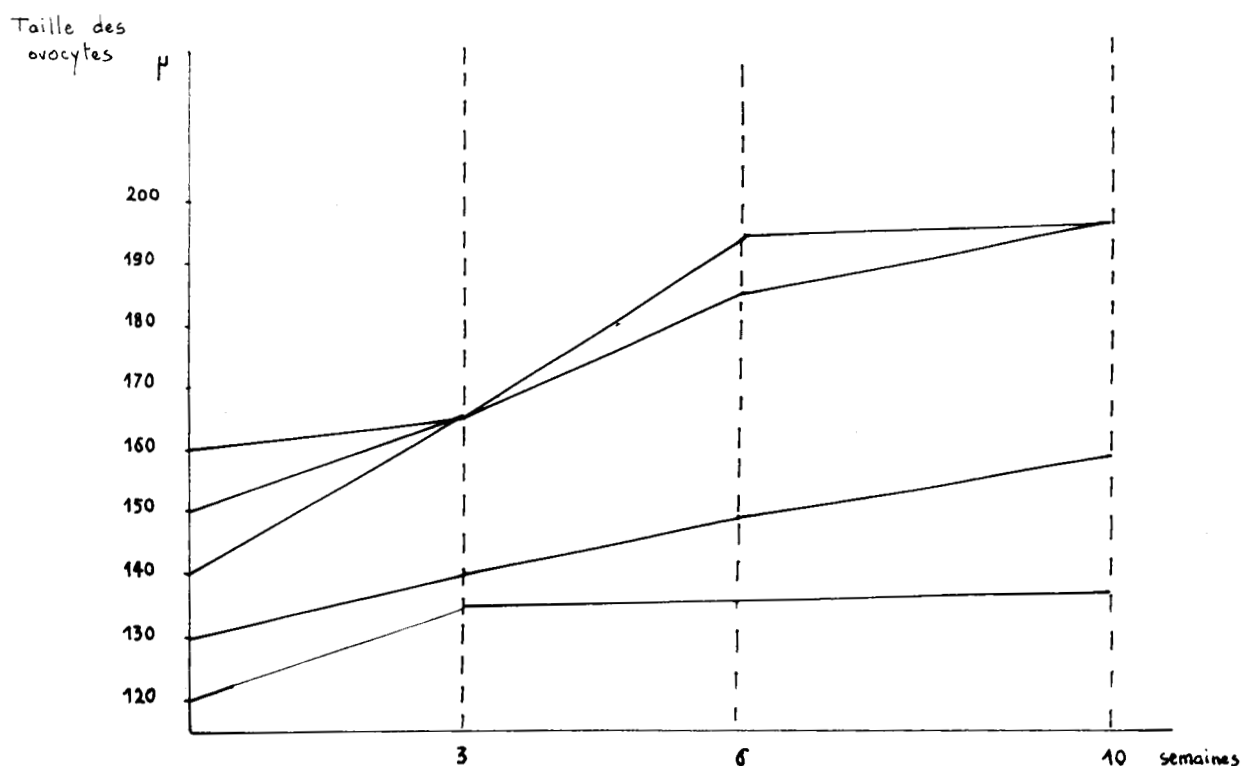


Fig. 5 - Croissance ovocytaire relative à des greffes renouvelées de prostomium au terme de la 3e, 6e et 10e semaine.

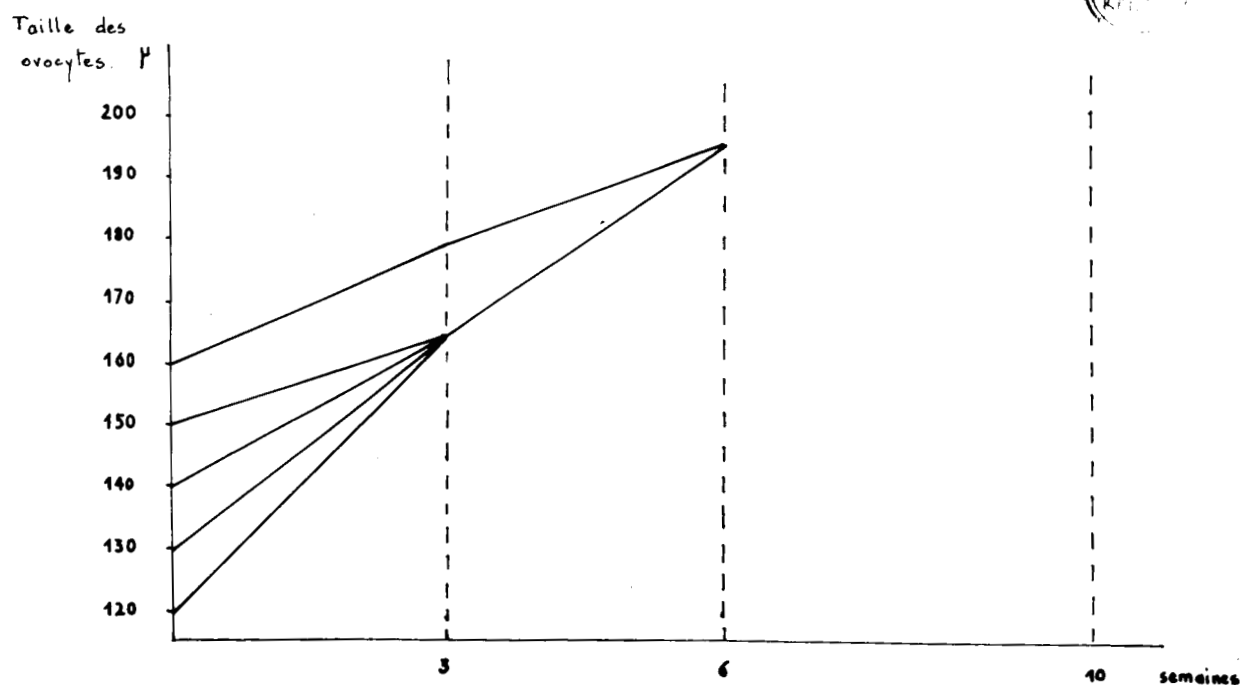


Fig. 4 - Croissance ovocytaire des témoins au terme de la 3e, 6e et 10e semaine.

b- Conclusion

La greffe unique n'a eu aucun effet à long terme (toutes les Nereis ont atteint leur taille maxima au bout de 10 semaines).

La greffe unique a eu toutefois un effet retardateur sur la croissance des ovocytes de 120-130 μ .

Ce retard n'atteint pas tous les ovocytes, mais seulement ceux de diamètre faible : 120-130 μ . La greffe unique semble avoir amené une trop faible quantité d'hormone inhibitrice, celle-ci n'entraînant alors qu'un effet faible, tardif et fugace.

3- Croissance ovocytaire dans le cas de greffes renouvelées

Les figures 4 et 5 présentent alors de notables différences

a- Examen des figures

- Comparaison faite dans l'espace 0-3 semaines entre les fig. 3, 4 et 5

Les ovocytes de 120 et 130 μ ont une croissance très ralentie ainsi d'ailleurs que ceux de 160 μ . Toutefois, on remarque que les cellules sexuelles de 140-150 μ ont une croissance identique à celle des témoins.

On constate donc un ralentissement très marqué de la croissance relative aux ovocytes de petite taille, moins marqué pour les ovocytes de plus grande taille.

- Comparaison faite dans l'espace 3-6 semaines entre les 2 séries d'opérées

On constate que la séparation en deux groupes, ébauchée précédemment, s'accroît malgré un nombre croissant de greffes.

Un premier groupe (120-130 μ) dont la croissance est très fortement ralentie, apparaît alors, ainsi qu'un deuxième groupe (140-150-160 μ) dont la croissance se révèle identique aux Nereis n'ayant subi qu'une seule greffe.

- Comparaison faite dans l'espace 6-10 semaines

Les ovocytes de 140-150-160 μ atteignent leur taille maxima tandis que ceux de 130-120 μ se maintiennent à leur stade primitif. Il faut remarquer que les ovocytes de 120 μ ne croissent plus depuis la 3e semaine.

b- Conclusions

- Les greffes renouvelées ont un effet à long terme sur les ovocytes de petite taille (120-130 μ)

- L'effet n'est que très faible (un faible retard de maturation) pour les ovocytes de grande taille (140-160 μ).

4- Comparaison des résultats relatifs à la greffe unique et aux greffes renouvelées

L'inhibition de la maturité génitale ne peut être étudiée qu'en réalisant de nombreuses greffes successives.

La greffe unique ne donne naissance à aucune inhibition alors que les greffes renouvelées dissocient deux groupes : une première série de Nereis (les plus âgées) non sensibles, une deuxième série (les plus jeunes) sensibles aux greffes renouvelées.

III - DISCUSSION

Le travail complet aurait dû être réalisé sur des Nereis de 80 à 200 μ . Durant cette période de l'année, les Nereis de 80-90-100 μ manquent et ce travail n'a pu être effectué.

Toutefois, étant donné les résultats obtenus, il est possible de penser que les Nereis de 80-90-100 μ auraient été l'objet d'une inhibition totale et durable.

La dissociation en deux groupes : l'un n'étant pas inhibé, l'autre ayant une croissance ovocytaire très ralentie, doit nous amener à penser que l'on se trouve en présence de deux stades d'évolution très différents.

La croissance des ovocytes est corrélative d'une diminution du taux de l'hormone inhibitrice. Lorsque le taux de l'hormone est maxima, les produits génitaux sont peu développés (et inversement).

Les résultats expérimentaux nous permettent donc de penser que les ovocytes de diamètre supérieur à $130\ \mu$, qui ne peuvent avoir leur croissance inhibée, correspondent à un état physiologique sur lequel il est impossible d'agir expérimentalement. Les ovocytes de $120-130\ \mu$ correspondent à un stade d'évolution où le contrôle expérimental de la croissance ovocytaire est possible dans une certaine mesure. On peut maintenir plus ou moins constant, le diamètre des ovocytes.

Cette hypothèse peut être matérialisée par un schéma (fig. 6) qui montre que maturité génitale et hormone inhibitrice sont soumises à un équilibre réciproque.

Lorsque l'ovocyte a atteint une taille supérieure à $130\ \mu$, l'influence de l'hormone inhibitrice devient probablement sans effet. L'inhibition s'exercerait surtout pour une taille correspondant à un diamètre inférieur à $120-130\ \mu$. Cette taille devrait correspondre à un état physiologique donné.

Ceci semble venir corroborer dans une certaine mesure les hypothèses que DURCHON et HAUENSCHILD avaient émises. En effet, les expériences réalisées par DURCHON en 1952 sur *P. cultrifera* -expériences relatives à des greffes de produits génitaux- tendraient à montrer que ceux-ci ont une action sur le facteur inhibiteur.

(HAUENSCHILD (1956) parle aussi d'une augmentation possible d'un facteur antagoniste fourni par les cellules sexuelles au moment de la reproduction).

Dès lors une question se pose immédiatement : A quoi correspondent les deux "moments d'évolution" que nous venons de délimiter ? Lorsque la croissance de l'ovocyte a atteint un certain degré,

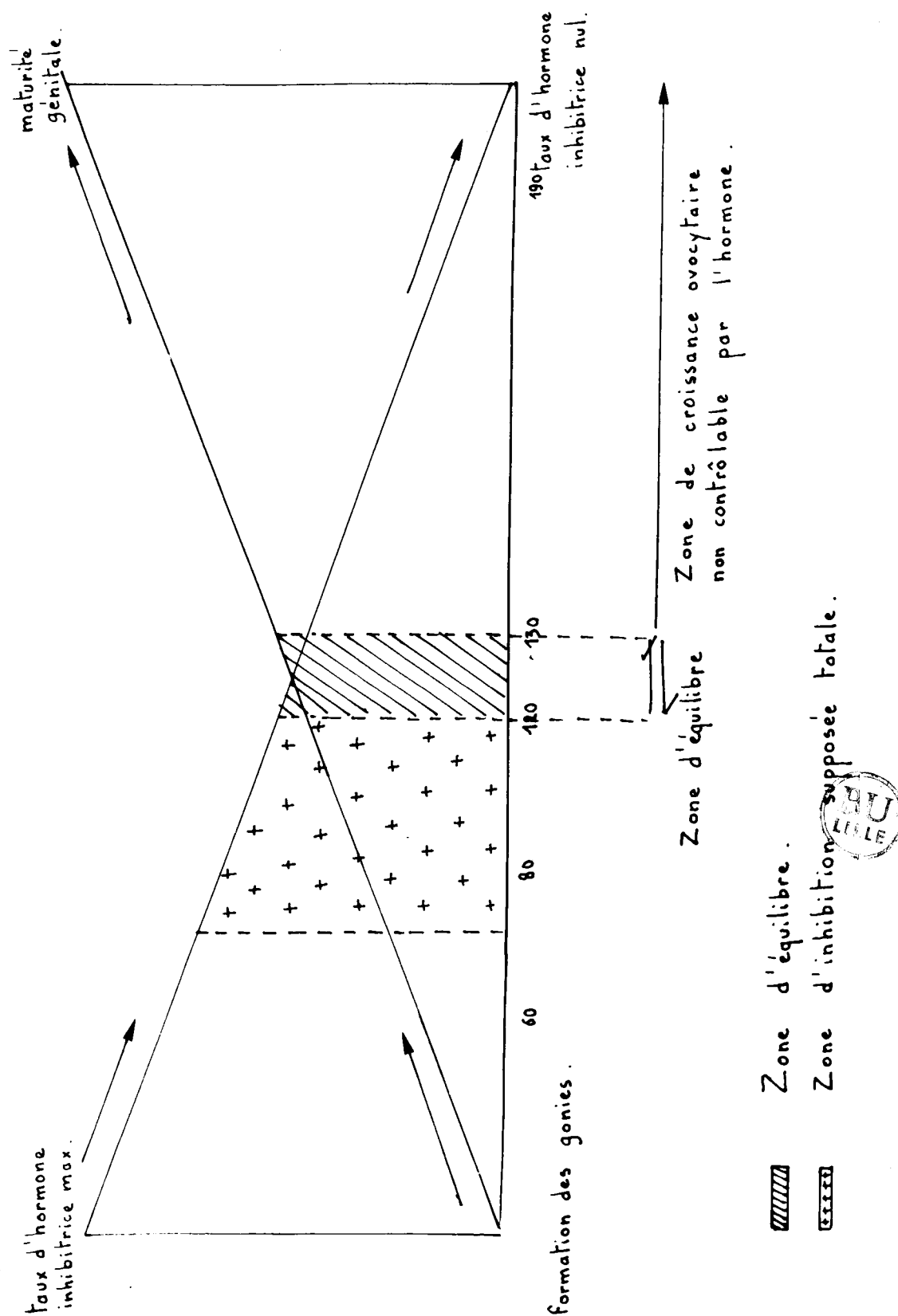


Fig. 6 - Schéma représentant l'équilibre réciproque entre maturité génitale et taux d'hormone inhibitrice.

l'hormone inhibitrice n'a-t-elle plus la possibilité d'agir ? L'hormone n'agit-elle pas sur un stade précis du développement de l'ovocyte, stade qui serait alors dépassé ? (dans la zone 140-150 μ par exemple).

Une deuxième possibilité s'offre également : l'hormone inhibitrice ne peut plus agir parce que les ovocytes exercent une action antagoniste -hypothèse formulée par DURCHON, puis HAUENSCHILD- la zone d'équilibre correspondrait à la zone où ce feed-back est en train de s'installer.

Il n'est pas possible, évidemment, de répondre à ces deux questions, toutefois quelques remarques peuvent être formulées. En effet, l'étude de l'ovogenèse naturelle montre l'existence de 5 phases. L'une de ces phases -la phase III- s'étendant de 80 à 130-140 μ semble particulièrement importante. C'est à ce stade qu'apparaissent les granules nucléaires d'A.R.N., que se produit le bourgeonnement de ces granules et qu'a lieu leur passage dans le cytoplasme. Cette phase semble correspondre à une phase de synthèse active. Il faut remarquer que la "zone d'équilibre" (fig. 6) dont nous parlons correspond sensiblement à cette phase III.

Le stade où la maturation de l'ovocyte n'est pas contrôlable expérimentalement correspond aux phases où la libération d'A.R.N. dans le cytoplasme est terminée.

Ceci n'est pas sans nous rappeler les hypothèses que WIGGLESWORTH formule au sujet du mode d'action de l'hormone juvénile des corps allates et de l'hormone de mue. Il pense en effet qu'un milieu hormonal ayant un taux critique d'ecdysone et une concentration spécifiques d'hormone juvénile agit sur des lots géniques différents de la cellule. Des A.R.N. messagers du type larvaire, nymphal ou adulte apparaissent alors dans la cellule. Ces deux phénomènes, quoique différents dans leurs détails, permettent de remarquer que chez les Arthropodes comme chez les Annélides, la mue ou métamorphose pour les uns, la maturité génitale pour les autres, sont corrélatives d'une libération d'A.R.N. messenger.

C H A P I T R E I I

INHIBITION EXPERIMENTALE DE L'ÉPITOQUIE EN FONCTION DE L'ÉTAT GENITAL

Parallèlement à l'étude relative à la maturité génitale, des observations concernant l'épitoquie et son évolution ont été faites sur les mêmes individus.

De ce fait, les trois séries expérimentales sont rigoureusement les mêmes que pour l'étude de la maturité génitale, mêmes Nereis, mêmes conditions expérimentales.

Indiquons donc immédiatement les résultats des observations.

I - RESULTATS ET REMARQUES

A - RESULTATS

1- Phénomènes d'épitoquie chez les témoins

Tableau IV

(Nombre de (témoins !	Taille des témoins (au début)	Phénomènes d'épitoquie ! au bout de 6-7 semaines)
(-----)	(-----)	(-----)
(2 !	160-170 μ	! heteronereis)
(2 !	150	! " ")
(2 !	140	! " ")
(2 !	130	! " ")
(2 !	120	! " ")

Chez les Arthropodes, WIGGLESWORTH fait intervenir une combinaison d'hormones agissant sur des lots géniques différents. Chez les Polychètes, il serait peut-être possible de penser à une action de l'hormone sur un stade de libération d'A.R.N.

En définitive, la zone d'équilibre correspondrait à une phase durant laquelle l'hormone inhibitrice agirait sur le bourgeonnement des granules nucléolaires, ou sur leur passage dans le cytoplasme. Celui-ci effectué, elle n'a plus d'action sur les granules, sur la cellule ovocytaire.

Peut-on penser aussi qu'après passage dans le cytoplasme des granules nucléolaires, une action inverse des ovocytes sur l'hormone est alors possible -telle que le conçoivent DURCHON et HAUENSCHILD- action que les expériences de DURCHON semblent argumenter de façon indéniable.

L'étude endocrinologique des Arthropodes et des Polychètes aura permis de remarquer l'étroite similitude d'action possible de l'hormone (au niveau d'une libération d'A.R.N.) chez ces Invertébrés.

2- Pour une greffe unique de 2 prostomiums

Tableau V

Nombre de Nereis opérées	Porte-greffe! taille des ovocytes début exp.	Phénomènes d'épitoquie			
		tps 0	3 sem.	6-7 semaines	10 semaines
2	170-160 μ	atoque	atoque	heteronereis	heteronereis
2	150	"	"	"	"
4	140	"	"	"	"
4	130	"	"	"	"
2	120	"	"	"	"

3- Greffes renouvelées

Tableau VI

Nombre d'opérés	Porte-greffe! taille des ovocytes début exp.	Evolution de l'hétéronéréidation en		
		3 semaines	6-7 semaines	10 semaines
2	160-170 μ	atoque	atoque	++ stade II++
		.. hétéro...		
2	150 μ	atoque	atoque	++ stade II++
		atoque	+ stade III +	hétéro...
3	140 μ	atoque	+ stade III +	hétéro...
		atoque	atoque	++ stade II++
		atoque	.. hétéro...	;.....
3	130 μ	atoque	atoque	atoque
		atoque	atoque	atoque
		atoque	atoque	atoque
2	120 μ	atoque	atoque	atoque
		atoque	atoque	atoque

+++ différents stades d'épitoquie (II, III) ... heteronereis

B- REMARQUES RELATIVES AUX TABLEAUX

Tous les témoins de 120 à 160 μ sont devenus hétéronéréidiens au bout du même laps de temps : 6-7 semaines.

1- Comparaison entre les témoins et les Nereis ayant subi une seule greffe

La greffe unique ne produit aucun effet sur l'épitoquie. Les Nereis opérées évoluent de façon identique aux témoins, elles deviennent heteronereis au bout du même temps, 6 ou 7 semaines.

Dès lors, on peut déjà dire que les phénomènes de l'épitoquie ne semblent pas sensibles à un faible apport hormonal.

2- Comparaison entre témoins et Nereis ayant subi des greffes renouvelées

On constate que 8 N. pelagica n'ont pas viré au bout de 6 à 7 semaines, 2 Nereis ont des caractères d'épitoquie peu marqués, 2 Nereis sont heteronereis.

Au bout de 10 semaines, 4 Nereis sur 12 sont hétéronéréidiens.

Il semble que les greffes renouvelées ont une action certaine sur l'inhibition de l'épitoquie.

L'inhibition est totale lorsqu'on s'adresse à des Nereis de 120-130 μ . Le pourcentage d'inhibition est moins fort pour des Nereis de 130 à 160 μ .

Nos observations semblent montrer que tout caractère hétéronéréidien en voie de développement ne peut être stoppé dans son développement. Par contre, toute Nereis (quel que soit son âge), ayant peu de caractères d'épitoquie, peut être maintenue dans cet état initial.

II - DISCUSSION

Des expériences d'homogreffes réalisées en 1960 par DURCHON ont montré qu'il était possible d'inhiber l'évolution de la transformation hétéronéréidienne en greffant des tronçons postérieurs de *N. pelagica* en voie d'hétéronéréidation sur des porte-greffes immatures. Ce blocage est complet et durable.

DURCHON et CHOQUET (1961) ont réalisé une inhibition de l'épitoque naturelle chez *Perinereis cultrifera* Grube.

Il faut remarquer toutefois que pour un protocole expérimental en tout point analogue au nôtre -12 à 16 cerveaux furent greffés à raison de 4 par mois-. DURCHON et CHOQUET inhibent dans 6 cas sur 11 l'épitoque chez des *Perinereis cultrifera* submatures.

Nos expériences réalisées sur *N. pelagica* semblent montrer au contraire que l'évolution de la transformation hétéronéréidienne ne peut être bloquée de façon définitive. Nous n'avons pu obtenir qu'une inhibition momentanée, c'est-à-dire un retard de l'apparition des caractères hétéronéréidiens.

Par conséquent, les résultats obtenus sur ces deux espèces de Néréidiens ne sont pas identiques : l'inhibition de l'épitoque étant plus facile à obtenir chez *Perinereis cultrifera* que chez *N. pelagica*. Une fois encore ceci nous montre l'interdiction absolue de vouloir généraliser des résultats obtenus sur une seule espèce.

Les résultats différents obtenus *in vivo* sur *N. pelagica* par rapport aux expériences d'homogreffes de DURCHON semblent plus facilement explicables.

Lorsqu'on réalise une expérience d'homogreffe, la source d'hormone inhibitrice est intacte, c'est-à-dire que le prostomium n'a pas subi de déconnexion nerveuse et aucune dévascularisation.

Lorsqu'on réalise une expérience de greffe de prostomium semblable à la nôtre, le cerveau a perdu ses connexions nerveuses, mais surtout ses connexions vasculaires. De plus, il se trouve introduit dans le milieu coelomique qui a peut-être quelque effet.

Dès lors, toute comparaison s'avèrerait intéressante et permettrait certainement de conclure à une similitude complète des résultats, si notre expérience comportait des greffes très nombreuses, très rapprochées et en grand nombre.

Etant donné que les observations relatives à la maturité génitale et à l'épitoquie ont été réalisées sur les mêmes Nereis et dans les mêmes conditions, la comparaison de ces deux phénomènes s'avère intéressante (fig. 7).

On constate que dans la zone 120-130 μ , les greffes renouvelées permettent une inhibition totale de l'épitoquie, alors que la maturité génitale (nous l'avons vu) subit un très net ralentissement. L'inhibition de la maturité génitale est toutefois moins nette. Dans la zone 140-160 μ , tous les ovocytes évoluent, leur croissance n'est pas contrôlable expérimentalement, l'inhibition n'est pas possible. L'épitoquie subit une inhibition variable suivant les cas.

Ces graphiques comparatifs nous montrent donc :

- qu'un apport important d'hormone inhibe la maturité génitale pour des Nereis de 120-130 μ , ne l'inhibe pas pour des diamètres supérieurs.

- que le même apport d'hormone, sur les mêmes Nereis, semble inhiber les phénomènes de l'épitoquie quelle que soit la taille des ovocytes.

En conclusion, il est possible d'envisager la maturité génitale et l'épitoquie comme deux phénomènes, dépendant de la même hormone inhibitrice, mais réagissant à des taux différents.

Les seuils réactifs du déclenchement des phénomènes seraient différents (celui de la maturité génitale étant plus bas que celui de l'épitoquie).

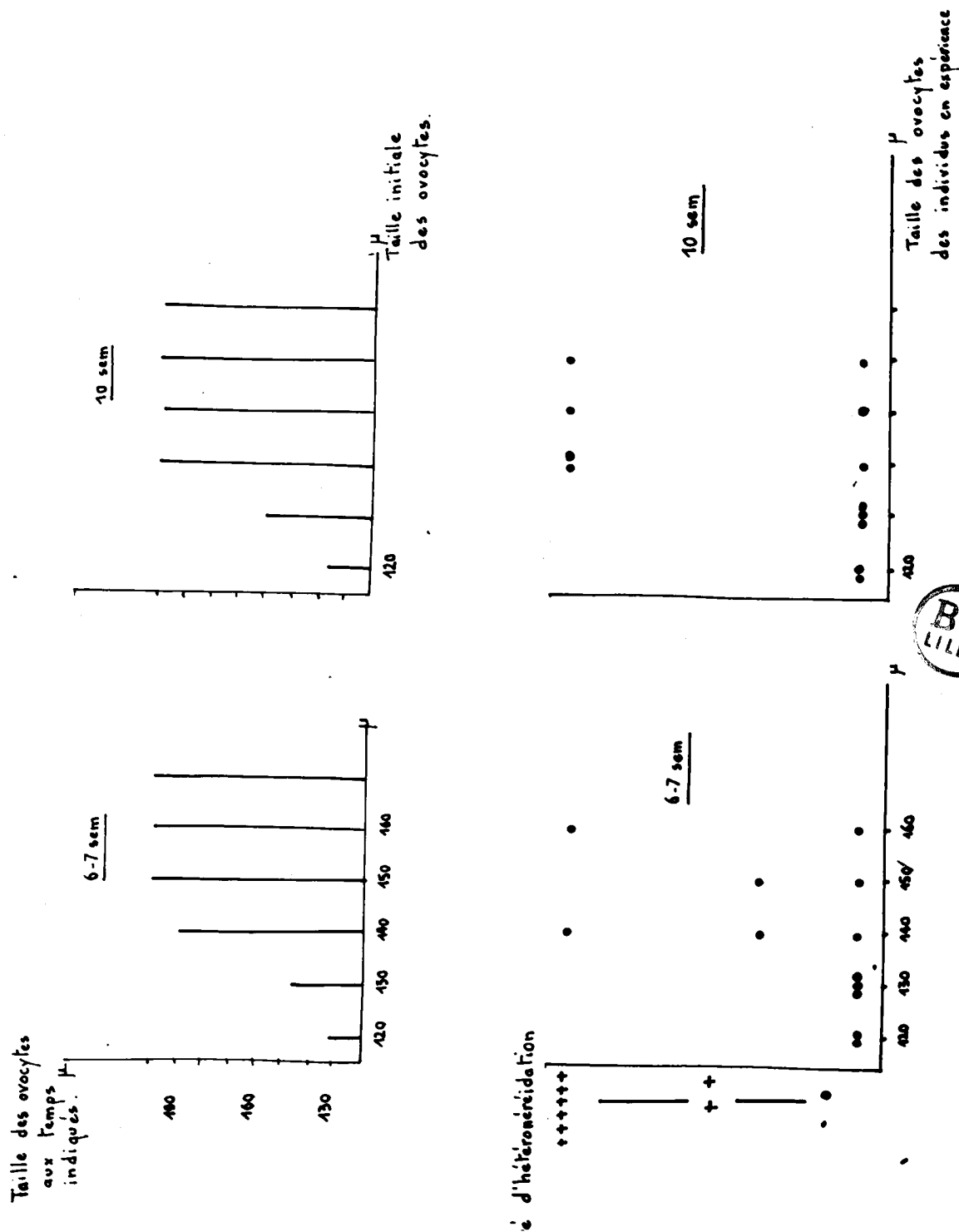


Fig. 7 - Graphiques relatifs à une étude comparée de l'inhibition de la maturité génitale et de l'épitoquie pour des greffes renouvelées

En haut : inhibition de la maturité génitale - en bas : degré d'hétéronéréidation

Un point représente un individu

Ceci peut expliquer aussi pourquoi, lors des récoltes, il n'est pas rare de trouver des *N. pelagica* femelles matures (reconnaissables à leurs produits génitaux bleutés), ne présentant que peu de caractères hétéronéréidiens.

La maturité génitale est un phénomène qui s'installe régulièrement, de façon continue au cours de la vie de la Nereis l'épitoque apparaît comme un phénomène brutal (ceci est traduit par la fig. 3).

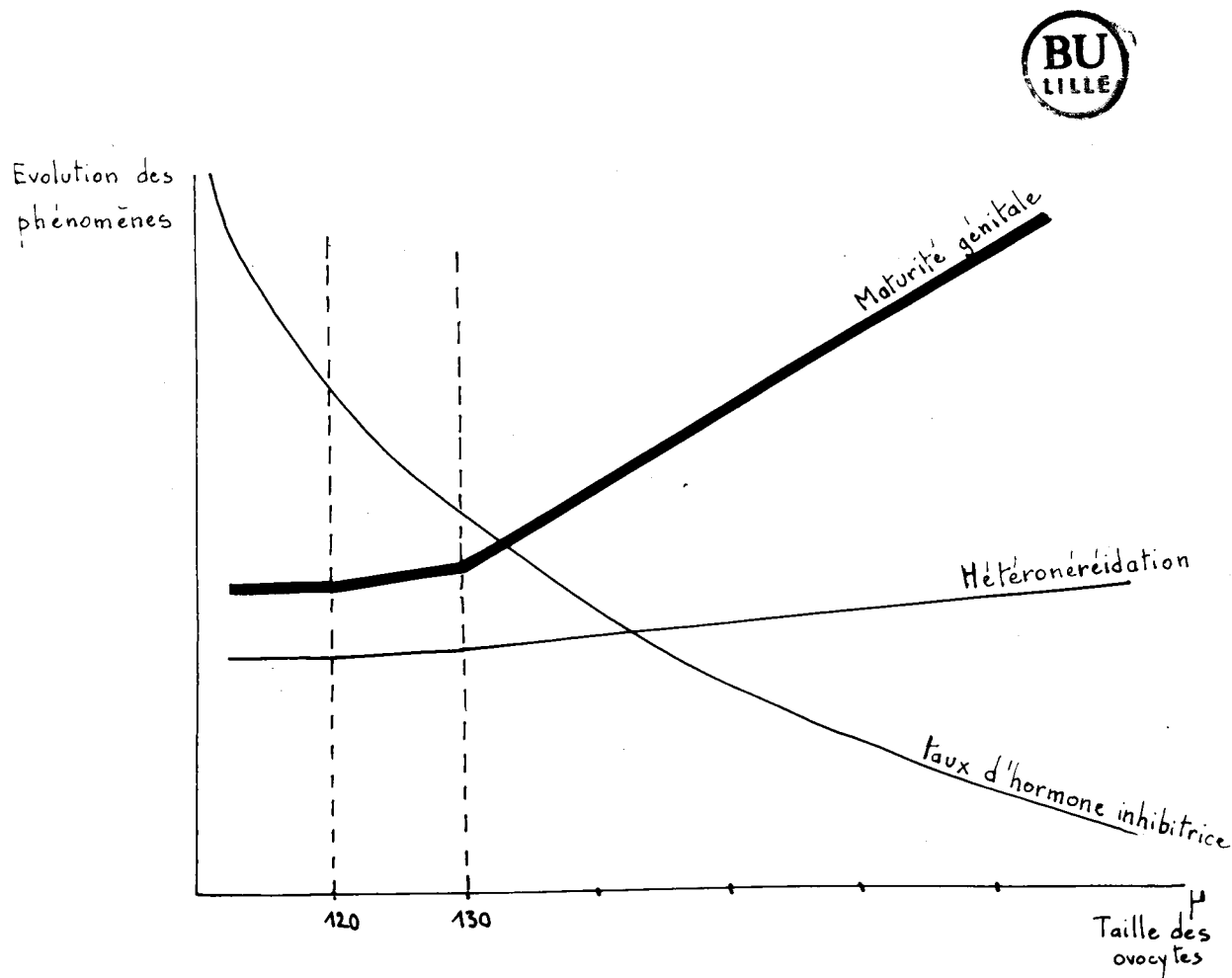


Fig. 3 - Schéma représentant l'évolution de la maturité génitale et de l'épitoque en fonction du taux d'hormone inhibitrice

Il faut noter aussi, qu'au cours de nos observations morphologiques des Nereis opérées, nous avons remarqué que tout le soma ne semblait pas répondre de la même façon à l'hormone inhibitrice. En effet, les yeux en particulier semblent être les premiers caractères somatiques répondant à une diminution du taux de l'hormone inhibitrice.

C H A P I T R E I I I

EVOLUTION DE L'ACTIVITE DU CERVEAU DE N. PELAGICA EN FONCTION DU DEVELOPPEMENT OVOCYTAIRE

Le but de cette expérience a été exposé précédemment. Rappelons toutefois qu'il s'agit de greffer sur des Indéterminées décérébrées des prostomiums de N. pelagica, prélevés à différents stades de leur croissance ovocytaire.

I - CONDITIONS EXPERIMENTALES

Les expériences comportent :

- une première série constituée de jeunes N. pelagica (Indéterminées), décérébrées. Ce sont les témoins.
- plusieurs séries comparables entre elles -chaque série étant constituée par des Indéterminées décérébrées-. Mais chacune reçoit des greffons différents. Les greffons sont des prostomiums de 120 à 200 μ .

Chaque série expérimentale a été réalisée sur un nombre variable de Nereis -au moins 25- lorsque cela était matériellement possible.

II - RESULTATS

1- Relatifs aux témoins

(	Nombre	!	Nombre	!	)
(	d'indéterminées	!	d'indéterminées	!	Transformation hétéronéridienne)
(	opérées	!	vivants	!	)
(	-----	!	-----	!	-----)
(		!		!	)
(	35	!	35	!	3 semaines après l'opération)
(		!		!	)

2- Relatifs aux différentes séries

Délai d'apparition des caractères hétéronéréidiens chez *N. pelagica*
 immature décérébrée, en fonction de greffes de prostomiums de *Nereis*
 en cours de développement.

Porte-greffe	Greffons Prostomiums	Nombre d'opérés	Nombre de survivants	Transformations hétéronéréidiennes obtenues en			Transf. faibles ou nulles	Nb d'Hetero. obtenus
				3 semaines	4 semaines	5-6 semaines	+ de 6 semaines	3 semaines
				♂	♀			
(Indéterminées décérébrées)	200-180 µ	28	13	5 de 200 µ	4	1		13 / 13
				4 de 180 µ	2	2		
				4 de 170 µ	1	3		
(Indéterminées décérébrées)	160-150 µ	23	13	4 de 160 µ	2	2	1 de 160 µ ♀	8 / 13
				4 de 150 µ	2	2	1 de 150 µ	
(Indéterminées décérébrées)	140-130 µ	20	12	1 de 140 µ	1		1 de 140 µ ♂	3 / 13
				2 de 130 µ	1	1	1 de 140 µ ♀	
							2 de 130 µ 4 de 130 µ 1 de 140 µ	
(Indéterminées décérébrées)	120-110 µ	12	10	4 de 140 µ	4		3 de 120 µ	5 / 10
				1 de 120 µ	1		2 de 110 µ	

Soit pour des greffons de 200-180 µ : 100 % d'heteronereis en 3 sem.

" 160-150 µ : 61 % " "

" 140-130 µ : 23 % " "

" 120 µ : 50 % " "

Ces résultats expérimentaux sont traduits par deux histogrammes (fig. 9 et 10).

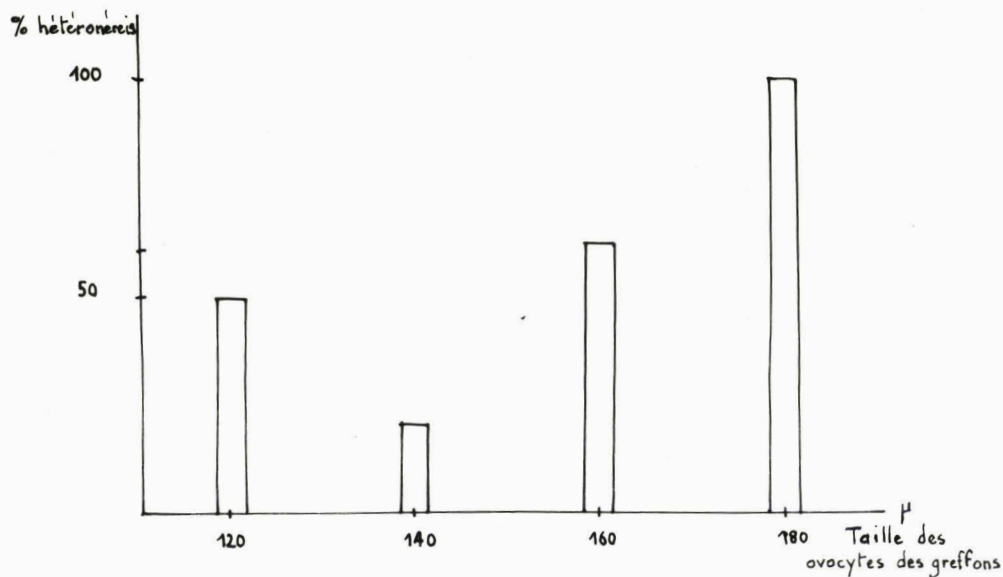


Fig. 9 - Histogramme des pourcentages d'Heteronereis (σ et φ) en relation avec le taux d'hormone inhibitrice.

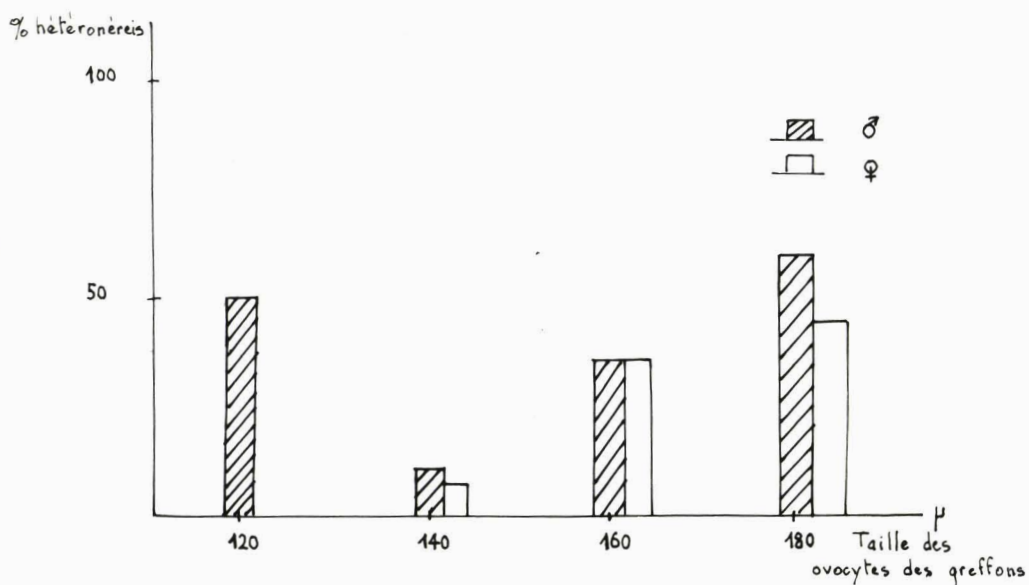


Fig. 10- Histogramme des pourcentages d'Heteronereis (σ ou φ) en relation avec le taux d'hormone inhibitrice.

L'étude du tableau récapitulatif des résultats expérimentaux et des histogrammes met en évidence les faits suivants :

- tous les porte-greffes ayant un greffon de 200-180 μ évoluent dans le même temps que les témoins.

- tous les porte-greffes dont le greffon provient de Nereis de plus en plus jeunes montrent des pourcentages de réaction de plus en plus faible

- on remarque toutefois que les porte-greffes dont le greffon est de 120-110 μ présentent un pourcentage de réaction plus grand.

Il apparaît donc nettement que des cerveaux de plus en plus âgés ont une activité de plus en plus faible (les cerveaux de 200-130 μ étant même complètement inactifs).

La fig. 11 montre que corrélativement à une greffe de cerveau de plus en plus jeune, le maintien de l'état initial présente une durée accrue.

On peut donc penser que plus le cerveau est âgé, plus la libération d'hormone est faible. Elle devient nulle chez des Nereis de 200-130 μ .

L'étude des tableaux et des histogrammes nous montre aussi que les *N. pelagica* mâles sont plus sensibles que les femelles, à une diminution du taux d'hormone inhibitrice. Les mâles semblent avoir un seuil de réaction plus bas que les femelles. Ceci est bien mis en évidence par la fig. 10 et permettrait peut-être d'expliquer pourquoi le pourcentage d'heteronereis obtenues avec des greffes de 120-110 μ est de l'ordre de 50 %. En effet, on remarque que tous les individus transformés sont des mâles.

Temps de
réaction

sem.

9

6

3

Témoins.

120

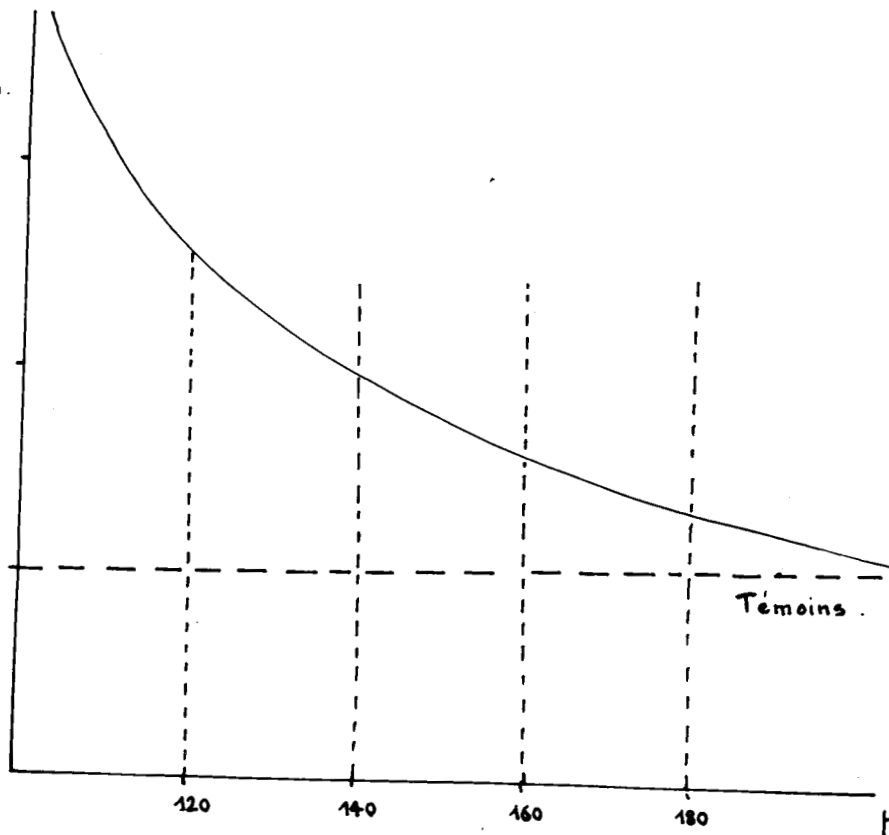
140

160

180

μ

Taille des ovocytes
des greffons.



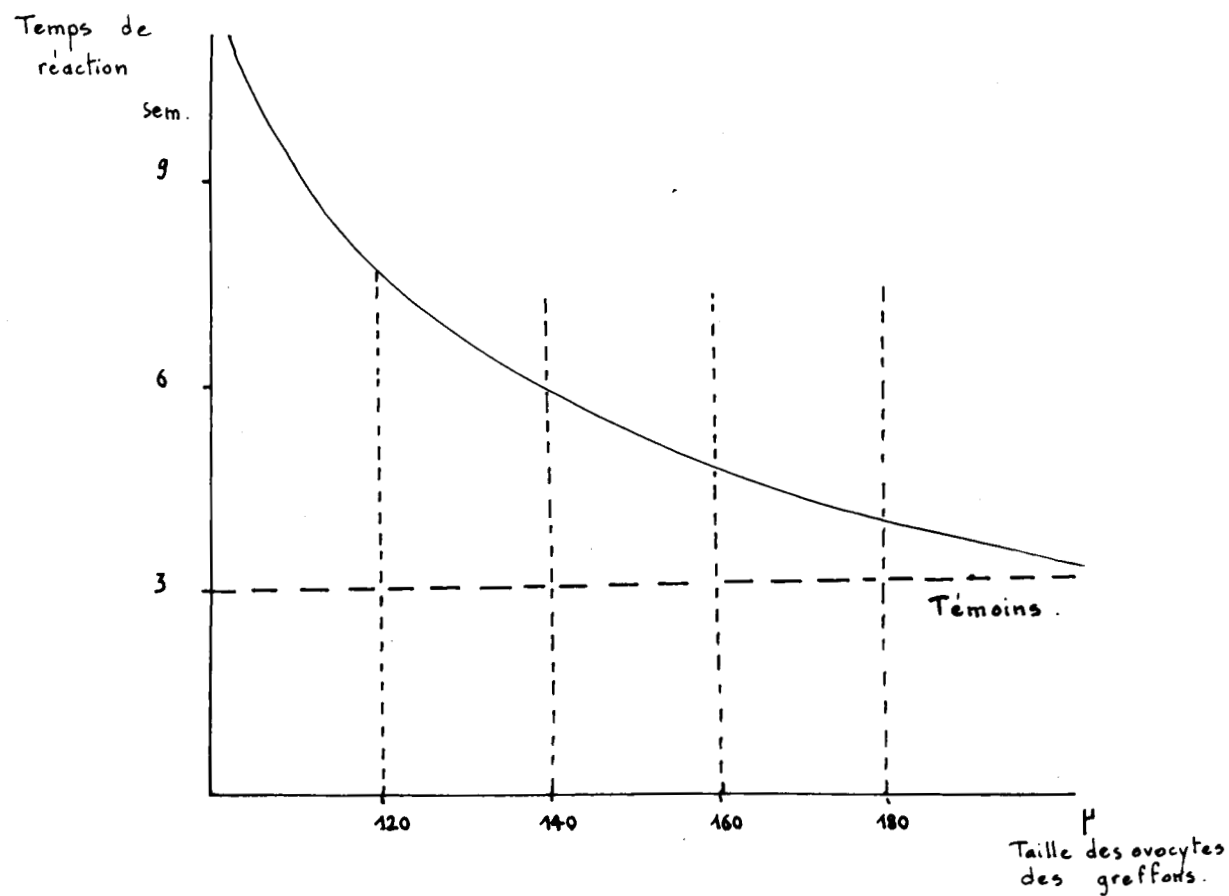


Fig. 11 - Délai de transformations hétéronéréidiennes de *N. pelagica* immatures en relation avec le taux d'hormone inhibitrice.

III - DISCUSSION

Le taux d'hormone inhibitrice semble décroître, corrélativement à la maturation génitale, pour devenir nul au moment de la reproduction.

Il était donc permis de penser que des cerveaux de 40 μ , 50 μ , 60 μ libèreraient beaucoup d'hormone inhibitrice, et que leur greffe provoquerait une inhibition totale de l'épitoque du porte-greffe.

Ces expériences réalisées en mars -période où l'on commençait à trouver en grand nombre des *N. pelagica* de cette taille- ont infirmé cette opinion. La moitié des porte-greffes a subi l'hétéronéridation.

On est donc amené à penser que la plupart des greffons étaient inactifs.

Comment expliquer ces résultats ?

- La greffe pouvait être inefficace, bien que le cerveau soit actif

- Le cerveau greffé n'est pas actif.

L'observation des coupes histologiques de cerveaux de 50-60 μ greffés depuis 3 semaines ne montre pas la présence d'une enveloppe de linome autour des greffons.

L'observation montre aussi que le cerveau ne présente pas de caractères de dégénérescence. Une coloration spécifique de la neurosécrétion à la fuchsine paralaldéhyde met en évidence des cellules neuro-sécrétrices peu colorées.

Ce caractère histologique des cellules neuro-sécrétrices témoigne de l'absence de neuro-sécrétion dans la cellule. Ceci pourrait être corrélatif d'une libération de l'hormone (l'expérience montre toutefois qu'il n'y a pas d'hormone dans le coelome du porte-greffe).

De ce fait, le cerveau de 50-60 μ devrait alors être considéré comme inactif, ce qui semble impossible puisque les individus de cette catégorie restent toujours atoniques.

Cependant, comme nous l'avons fait remarquer précédemment, les produits génitaux semblent plus sensibles que le soma à une baisse du taux d'hormone inhibitrice.

HAUENSCHILD (1955) a montré de façon remarquable que le moment de reproduction de *Platynereis dumerilii* dépendait entre autre du photopériodisme.

Cet auteur constate que le moment de reproduction est fonction du début de la période d'éclairement partiel (il le suit de 15 à 20 jours). Le raccourcissement relatif de la durée d'éclairement agirait par conséquent en accélérant la transformation hétéronéréidienne.

D'après HAUENSCHILD donc, la neuro-sécrétion serait soumise, en partie, à l'influence de la photopériode. Il n'est donc pas impossible que la période de reproduction naturelle corresponde d'une façon générale à un ralentissement de l'activité neuro-sécrétrice chez les individus n'ayant pas encore terminé leur croissance génitale, la diminution temporaire de l'activité neuro-sécrétrice serait corrélative d'une accélération momentanée de la maturation génitale. Or, les dernières expériences ont été réalisées au mois de mars et avril, période de reproduction, c'est-à-dire moment auquel la neuro-sécrétion présente son minimum d'activité.

Aussi serait-il peut-être plus correct de tester l'activité neuro-sécrétrice du cerveau de *N. pelagica* en fonction de la taille des ovocytes (classification tout arbitraire d'ailleurs), mais aussi en fonction de l'époque.

En effet, les *N. pelagica* très jeunes, de la nouvelle génération, pourraient subir l'influence du photopériodisme au même titre que les *Nereis* âgées.

Peut être alors serait-il possible de mettre en évidence une variation de la neuro-sécrétion chez *N. pelagica* en rapport avec la maturation génitale et la croissance du Polychète, mais aussi en fonction du cycle saisonnier.

C O N C L U S I O N

L'étude expérimentale relative à l'inhibition de la maturité génitale nous a permis de mettre en évidence l'existence d'un stade où l'évolution de l'ovocyte est expérimentalement contrôlable. La comparaison qu'il nous a été possible d'effectuer avec l'étude cytologique de l'ovogenèse naturelle permet de formuler quelques remarques. Celle-ci comporte en effet une phase de synthèse active, de bourgeonnements nucléolaires d'A.R.N. et éventuellement de passage dans le cytoplasme. Cette phase décrite dans l'étude cytologique correspond à un stade où la croissance de l'ovocyte peut être inhibée expérimentalement.

Il est alors permis de soupçonner une action possible de l'hormone inhibitrice à ce stade d'évolution de la cellule ovocytaire ou sur son déclenchement. Peut-être alors, à partir de ces comparaisons, serait-il possible d'envisager le mode d'action de l'hormone à l'échelle cellulaire.

L'étude expérimentale de la variation de la neuro-sécrétion chez *N. pelagica* aura eu le mérite d'élargir le problème et de nous montrer la rigueur avec laquelle il devait être envisagé.

En effet, cette variation corrélative d'un accroissement ovocytaire doit être aussi fonction du photopériodisme.

L'étude relative à la variation de la neuro-sécrétion chez *N. pelagica* au cours de son cycle doit donc être envisagée en soumettant des *N.* de taille différente à un photopériodisme variable.

En conclusion de ce travail, il nous paraît intéressant d'intégrer dans un schéma général (fig. 12) les relations existant entre maturité génitale, épitoque et facteur inhibiteur.

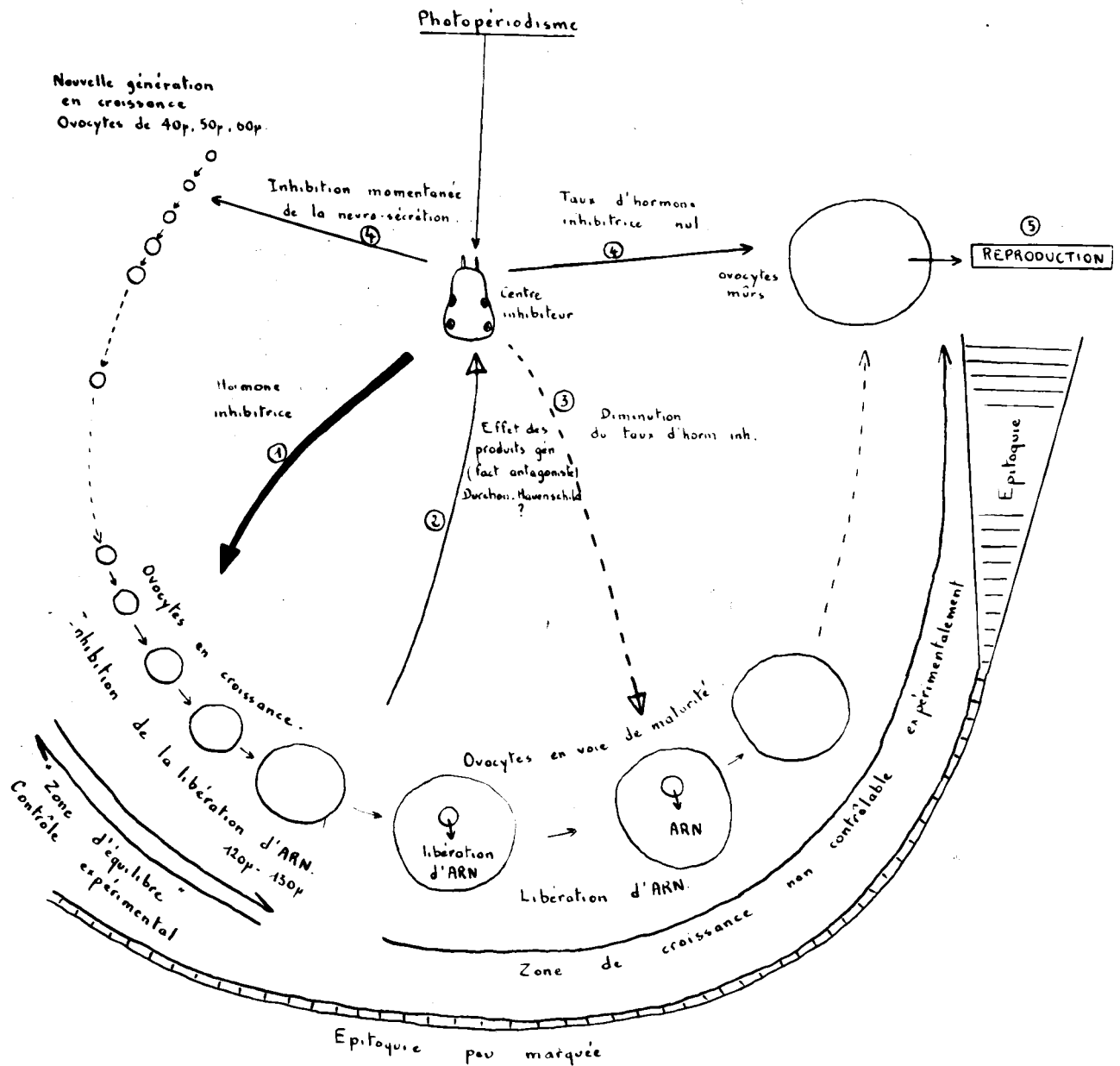


Fig. 12 - Interprétation des phénomènes régissant l'évolution de la maturité génitale et de l'épitoque chez *N. pelagica*.



Pour cela, nous ferons appel, comme nous l'avons fait durant tout ce travail, aux résultats obtenus par DURCHON et HAUENSCHILD et à la brève contribution que nous y avons apportée.

Les ganglions cérébroïdes des Polychètes libèrent une hormone inhibitrice (DURCHON, 1962) agissant sur la croissance des ovocytes. Cette hormone aurait peut-être un effet retardateur sur une libération d'A.R.N. messenger, point de départ semble-t-il d'une croissance accélérée des ovocytes. Deux hypothèses peuvent être avancées. D'après les résultats de DURCHON (1952) et HAUENSCHILD, il est possible que les produits génitaux libèrent au cours de leur croissance une substance qui agirait en ralentissant l'activité des cellules neuro-sécrétrices du cerveau. Mais la démonstration définitive reste à établir.

La deuxième hypothèse est basée sur l'influence du photopériodisme mis en évidence par HAUENSCHILD. Le fait que les transformations hétéronéréidiennes et la maturité génitale se déclenchent dans des conditions d'éclairement très précises, montre que l'activité neuro-sécrétrice est directement soumise à l'influence de la photopériode. En conséquence, il est à prévoir que la période de reproduction corresponde d'une façon générale à un ralentissement de l'inhibition hormonale qui se manifeste très probablement non seulement chez les reproducteurs mais également chez les individus plus jeunes.

A ce moment, ces derniers présentent vraisemblablement une accélération dans la croissance des produits génitaux sans subir de transformations hétéronéréidiennes, le soma étant comme nous l'avons vu moins sensible que le germe à une diminution du taux de l'hormone inhibitrice.

B I B L I O G R A P H I E

- DURCHON M. - Recherches expérimentales sur deux aspects de la reproduction chez les Annélides Polychètes : l'épitoquie et la stolonisation. (Ann. Sc. Nat. Zool., Bio. ani., 1952, 11e ser., vol.14, p. 119-206)
- DURCHON M. - Nouvelles recherches expérimentales sur l'épitoquie des Néréidiens. (Ann. Sc. Nat. Zool., Bio. ani., 11e ser., 1956 , vol. 13, p. 1-13)
- DURCHON M. - Rôle du cerveau dans la maturation génitale et le déclenchement de l'épitoquie chez les Néréidiens. (Ibid., 1956, vol. 13, 11e ser., p. 269-273)
- DURCHON M. - L'endocrinologie chez les Annélides Polychètes. (Bull. Soc. Zool., Fr., 1960, **85**, 275-301)
- DURCHON M. - Homogreffes chez les Néréidiens. (Annélides Polychètes). (C. R. Soc. Biol., 1960, 154, 2082-2084)
- DURCHON M. et CHOQUET M. - Inhibition de l'épitoquie naturelle chez *Perinereis cultrifera* Grube (Annélide Polychète). (C. R. Soc. Biol., 1961, 155, 504-506)
- DURCHON M. et SCHALLER F. - Application de la méthode de culture organotypique aux recherches endocrinologiques chez les Annélides Polychètes. (C. R. Acad. Sc., 1963, t 256, 5615-5617)

CHOQUET M. - Effet inhibiteur de l'hormone cérébrale sur l'évolution des cellules sexuelles chez *N. pelagica* L. (C. R. Soc. Biol., 1962, 156, n° 6, p. 1112)

HAUENSCHILD C. - Photoperiodizität als Ursache des von der Mondphase abhängigen Metamorphose Rhythmus bei den Polychaeten *Platynereis dumerilii*. (Zeitsch. für Naturfor., vol. 10 b, p. 653-662) 1955

HAUENSCHILD C. - Hormonale Hemmung der Geschlechtsreife und Metamorphose bei dem Polychaeten *Platynereis dumerilii*. (Ibid., 1956, vol. 11 b, p. 125-132)

HAUENSCHILD C. - Weitere Versuche zur Fraje des Juvenilhormone bei *Platynereis dumerilii*. (Ibid., 1956, vol. 11 b, p. 610-611)

HAUENSCHILD C. - Neue experimentelle Untersuchungen zum Problem der Lunarperiodizität. Photoperiodizität als Ursache des lunaren Schwärmrhythmus bei dem Polychaeten *Platynereis dumerilii*. (Naturwiss., 1956, vol. 16, p. 361-363)

WIGGLESWORTH - Les hormones des Insectes (Endeavour, 1965, vol. XXIV, n° 91, p. 21-26)

