50376
1965
99

50376
1965
99

FACULTE DES SCIENCES DE LILLE

D I P L O M E  D'E T U D E S  S U P E R I E U R E S

(Sciences Naturelles)

---

Jean-Claude H I S L E U R

# ETUDE DE LA MATURATION NATURELLE ET EXPERIMENTALE DES OVOCYTES DE NEREIS PELAGICA L.

(Annélide Polychète)

---

Présenté en juin 1965
devant la Commission d'examen

Jury d'examen
M. DURCHON, Président
M. VIVIER,
M. SCHALLER, Examinateurs

# S O M M A I R E


INTRODUCTION ..... p. 1

MATERIEL ET TECHNIQUES ..... p. 2

CHAPITRE I - MATURATION NATURELLE ..... p. 5

Description des cinq phases..... p. 5

Caractéristiques des cinq phases distinguées ..... p 21

Discussion et essai d'interprétation de ces phases p 22

CHAPITRE II - MATURATION EXPERIMENTALE ..... p 27

Description des modifications ..... p 27

Comparaison avec la maturation naturelle ..... p 38

Comparaison des ovocytes de la partie postérieure aux témoins ..... p 40

Discussion et essai d'interprétation ..... p 41

CONCLUSION ..... p 43

BIBLIOGRAPHIE ..... p 44

# INTRODUCTION

Chez les Néréidiens, l'influence de l'hormone cérébrale sur la maturation des gamètes femelles varie avec l'espèce. Chez Perinereis cultrifera Grübe, les ovocytes soustraits à l'inhibition cérébrale ne présentent aucune maturation précoce (DURCHON, 1952). Chez des individus femelles de Platynereis dumerilii Aud. et M. Edw. décérébrés, les ovocytes subissent un accroissement de taille et atteignent rapidement un diamètre égal à celui des ovules ayant subi une maturation naturelle (HAUENSCHILD, 1956). Chez Nereis diversicolor O. F. Müller, les ovocytes soustraits à l'action de l'hormone présentent une rapide augmentation de taille suivie de phénomènes de dégénérescence (DURCHON et DHAINAUT, 1964).

CHOQUET en 1962 a montré chez N. pelagica L. qu'après suppression du facteur inhibiteur cérébral les ovocytes acquièrent une taille identique à celle des ovocytes ayant subi une maturation naturelle, et sont fertiles. Mais il s'agit uniquement d'observations morphologiques. Il nous a paru intéressant de reprendre l'étude de ce problème par les méthodes cytologiques classiques.

D'autre part, à notre connaissance, aucun travail sur l'ovogénèse naturelle de N. pelagica n'a été publié. Nous avons donc été amené à étudier histologiquement les processus de la maturation naturelle, avant d'envisager les problèmes relatifs à la croissance expérimentale des ovocytes en l'absence d'hormone.

# MATERIEL ET TECHNIQUES

## I - LE MATERIEL

Les N. pelagica ont été récoltées à Wimereux (Cap de la Crèche). La maturation génitale de ces animaux a lieu en février-mars. Pour obtenir des animaux à différents stades de l'ovogenèse, nous avons effectué des récoltes du mois de septembre 1964 au mois de mars 1965.

Les N. pelagica recueillies sont isolées au laboratoire dans des bocaux contenant de l'eau de mer.

### La détermination du sexe

Aucun caractère externe ne permet de distinguer les deux sexes. Il nous faut donc prélever quelques gouttes de liquide coelomique à l'aide d'un tube de verre préalablement effilé et coudé à la flamme. Le liquide coelomique est déposé sur une lame et les cellules reproductrices sont recherchées au microscope. Les mâles sont ainsi séparés des femelles. Pour préciser l'état génital de ces femelles et les classer, nous avons choisi arbitrairement de mesurer le diamètre des ovocytes.

## II - TECHNIQUES

### . Pour l'étude de l'ovogénèse naturelle

Les animaux femelles dont l'état génital est connu, sont fixés aussitôt, en prélevant des fragments de trois à quatre millimètres.

### . Pour l'étude de la maturation expérimentale

Nous cherchons à déterminer dans quelle mesure le cerveau exerce une action sur l'évolution des gamètes femelles. Pour cela, nous coupons en deux tronçons des animaux dont le stade ovocytaire nous est connu. De cette façon, les ovocytes de la région postérieure sont soustraits à l'action de l'hormone cérébrale inhibitrice.

Les régions antérieure et postérieure ainsi obtenues sont chacune isolées dans de l'eau de mer et placées à une température de 12 à 15° C. La région antérieure servira de témoin à la région postérieure, et ces deux parties seront fixées simultanément après un nombre de jours choisi arbitrairement.

Fixation et coloration

Les fixateurs utilisés sont le Carnoy et le Helly (ou Zenker formol) suivi de postchromisation à froid pendant cinq jours.

Les coupes d'une épaisseur de 6 $\mu$ ont été colorées selon plusieurs méthodes :

après fixation au Carnoy :

- le Bleu de Toluidine tamponné (pH = 4,6) pour mettre en évidence les acides nucléiques et les mucopolysaccharides par le phénomène de métachromasie.

Nous avons fait le test de la ribonucléase (une heure à 37°) avec le Bleu de Toluidine.

- le Periodic Acid Schiff (PAS) avec coloration de fond au Vert lumière pour la mise en évidence des mucopolysaccharides.

Nous avons fait le test de l'amylase salivaire (une heure à 37°) pour détecter la présence de glycogène.

- le Schiff selon Bauer pour mettre en évidence les mucopolysaccharides.

- la réaction de Feulgen qui est spécifique des A.D.N.

- le Bleu de Bromophénol mercurique pour mettre en évidence les protéines.

après fixation au Helly suivie de postchromisation :

- la coloration de Volkonsky met en évidence les lipoprotéines cytoplasmiques et donne de bons résultats dans la coloration du nucléole.

- la coloration de Mann-Dominici colore en bleu les zones basophiles et en rouge les zones acidophiles.

Des fixations au formol neutre à 10 % ont été effectuées pour réaliser des coupes à congélation suivies de colorations au Rouge Soudan III, au Noir Soudan B, au Sulfate de Bleu de Nil pour mettre en évidence les lipides.

# CHAPITRE I

## MATURATION NATURELLE

En nous basant sur des critères cytologiques choisis arbitrairement, il nous a été possible de distinguer cinq phases de maturation.

### DESCRIPTION DES CINQ PHASES

Phase I : du stade ovogonie au stade 25 à 30 µ (Fig. 1, 2, 3)

le cytoplasme : Dans les ovogonies il est peu abondant et homogène, fortement basophile et riche en acide ribonucléique.

Le volume cytoplasmique croît avec le diamètre ovocytaire mais il reste homogène (Fig. 1 et 2).

le noyau : Le volume nucléaire est important dans les ovogonies.

Le nucléoplasme acidophile renferme dès les premiers stades un nucléole diffus. Il s'agit d'une masse nucléolaire riche en A.R.N. et fragmentée en 4 ou 5 granules. Ces granules nucléolaires sont dans une zone plus foncée du nucléoplasme qui apparaît nettement limitée comme s'il existait une membrane, ou sans limite nette comme une masse diffuse (Fig. 3). Parfois ils ont tendance à se localiser sous la membrane nucléaire (Fig. 2). Toutefois nous avons observé à 6 µ un nucléole unique.

Dans les ovogonies, des granules d'A.D.N. chromosomial intranucléoplasmiques, souvent disposés sous la membrane nucléaire, disparaissent vers 20 à 25 µ (fig. 1 et 2).

Phase II : du stade 25-30 µ à 70-80 µ (fig. 4, 5, 6)

le cytoplasme : Des vésicules incolores au bleu de toluidine et au Volkonsky apparaissent. Mais elles sont très soudanophiles, donc très riches en lipides. Nous les appellerons : "Vésicules lipidiques" (Fig. 4).

Peu après, vers 40 µ, apparaissent entre les vésicules précédentes des globules de taille inférieure aux vésicules acidophiles, lipoprotéiniques, incolores au bleu de toluidine mais colorés par le Volkonsky et le Bromophénol mercurique. Nous les appellerons : "Globules vitellins" (Fig. 3et 6).

Ces deux sortes d'inclusions sont limitées par un réseau d'A.R.N. Il est à remarquer que la réaction au Bromophénol est légèrement positive aussi entre les "vésicules lipidiques".

Parallèlement à l'accroissement de taille de l'ovocyte, les vésicules lipidiques et les globules lipoprotéiniques augmentent en nombre et en taille.

A 50-70 µ, le cytoplasme se présente sous forme d'un réseau d'A.R.N., continu limitant les petits globules vitellins et les grosses vésicules lipidiques (Fig. 6).

Une zone de substances basophiles périnucléaire apparaît vers 30 µ et subsiste pendant toute l'ovogenèse. La membrane ovocytaire devient sensiblement mucopolysaccharidique à partir de 50-60 µ.

le noyau : La membrane nucléaire basophile renferme un nucléoplasme acidophile où le nombre des granules nucléolaires augmente nettement à partir de 30 µ. Ces granules nucléolaires sont plus riches en A.R.N. que le réseau cytoplasmique. De taille inégale, ils se répartissent irrégulièrement dans le nucléoplasme (Fig. 6).

Il faut noter dans quelques cas l'existence de grains nucléolaires répartis régulièrement sous la membrane nucléaire (Fig. 5).

A partir de 60 µ les grains nucléolaires présentent une légère acidophilie.

Fig. 1 - Groupe d'ovogonies. Remarquez les grains d'ADN chromosomial situés sous la membrane nucléaire. (Bleu de toluidine).
gr : grains d'ADN - n : nucléole - N : noyau

LILLE

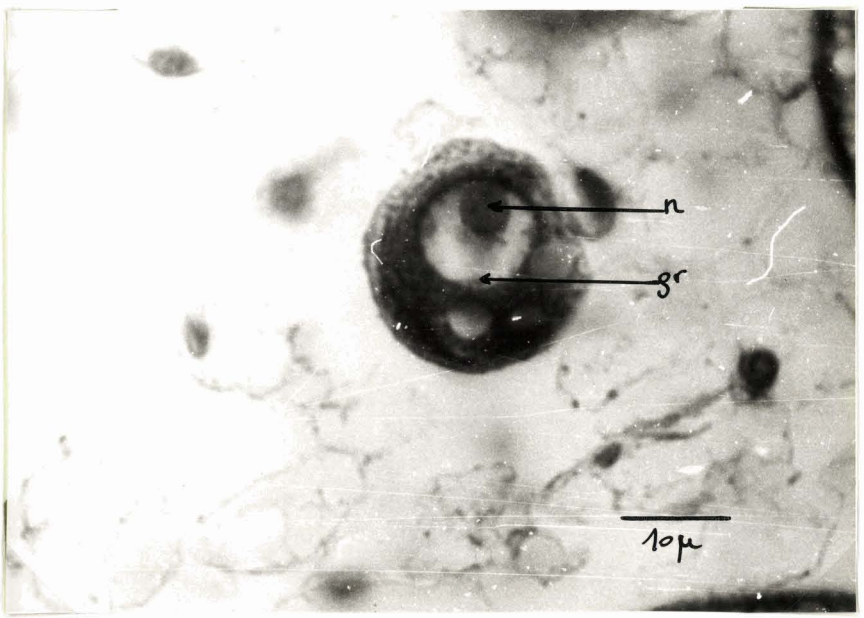



Fig. 2 - Phase I. Nucléole unique, riche en ARN, accolé à la membrane nucléaire, commence à bourgeonner. (Bleu de toluidine).
gr : grains d'ADN - n : nucléole

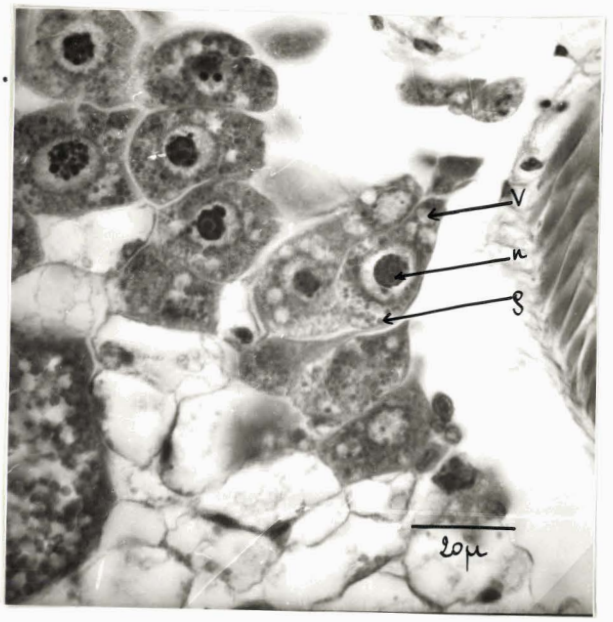
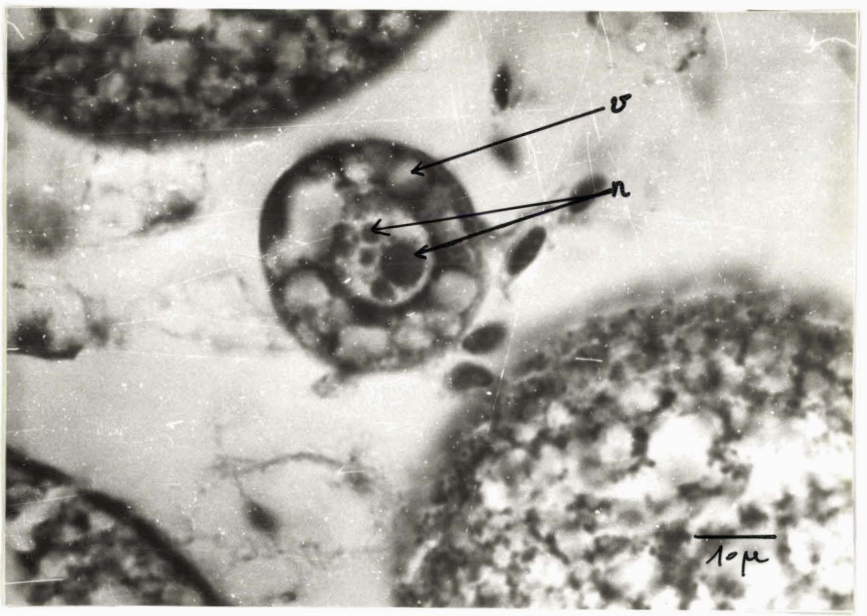



Fig. 3 - Fin de la phase I. Masse nucléolaire fragmentée. Début de vitellogénèse. (Volkonsky)

g : globule vitellin

n : nucléole

v : vésicule lipidique




LILLE

Fig. 4 - Phase II. Granules nucléolaires riches en ARN, situés autour d'un grain central prépondérant. Début de vitellogénèse. (Bleu de toluidine)

n : nucléole - v : vésicules lipidiques

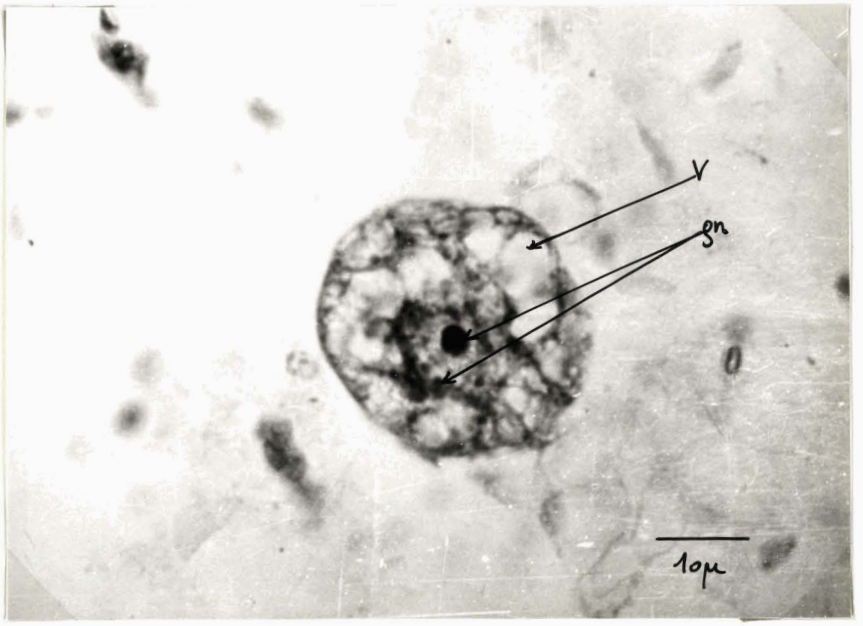



Fig. 5 - Phase II . Remarquez les granules nucléolaires situés sous la membrane nucléaire. (Bleu de toluidine)

gn : granule nucléolaire - v : vésicule lipidique.

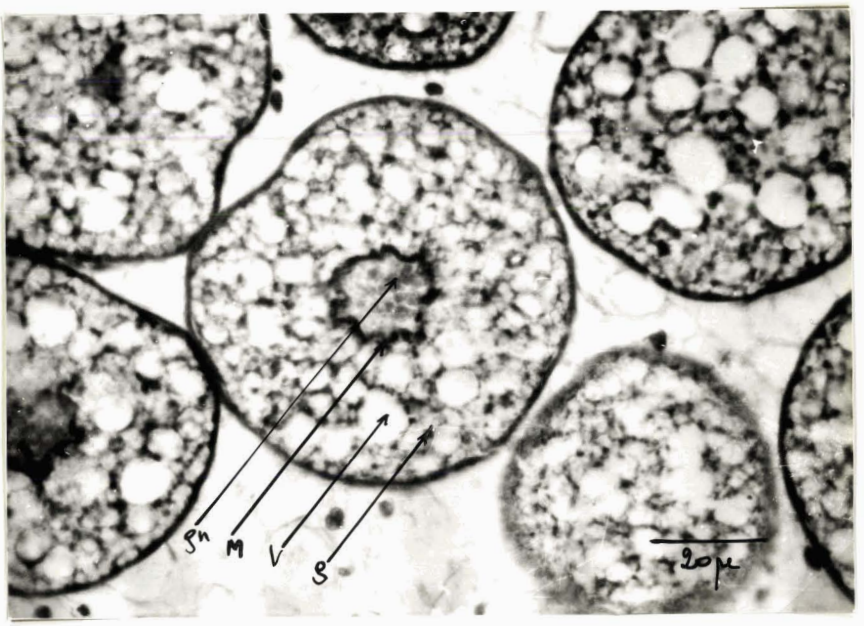



Fig. 6 - Fin de la phase II. Réseau d'ARN entre les vésicules lipidiques et les globules vitellins. Les granules nucléolaires perdent leur ARN et sont en relation avec la membrane nucléaire sinueuse. (Bleu de toluidine).

g : globule vitellin - gn : granule nucléolaire - M : membrane nucléaire, v : vésicule lipidique.

Phase III : du stade 75-80 µ au stade 140 µ (Fig. 7, 8, 9, 10, 11, 12)

le cytoplasme : Entre les globules vitellins et les vésicules lipidiques apparaissent des grains mucopolysaccharidiques très petits au début. Leur taille et leur nombre augmentent parallèlement à l'accroissement du diamètre ovocytaire. Ces grains mucopolysaccharidiques sont mis en évidence par la réaction métachromatique au bleu de toluidine (pH = 4,6) et le test à la ribonucléase dans des ovocytes de 75 à 80 µ de diamètre. Cependant le PAS ne donne une réaction positive que sur des ovocytes ayant atteint une taille de 100 à 105 µ. Le test de l'amylase salivaire suivi d'une coloration par le PAS est négatif. Ces ovocytes sont dépourvus de glycogène. La membrane de l'ovocyte contient toujours des mucopolysaccharides (Fig. 11).

Les globules vitellins et les vésicules lipidiques s'accroissent toujours en taille et en nombre.

Entre ces divers éléments nous retrouvons la trame d'ARN et autour du noyau une zone de substances basophiles.

le noyau : Les granules nucléolaires deviennent très nombreux (30 à 35) et très réfringents. Mais en même temps ils s'appauvrissent en ARN. Certains ont tendance à se placer à la périphérie du nucléoplasme. Quelques uns plus gros sont fréquemment entourés de granules plus petits (Fig. 7).

Mais l'ensemble reste disposé assez irrégulièrement dans le noyau. Ces granules nucléolaires perdent aussi leur forme circulaire pour devenir irréguliers, parfois plus ou moins lobés (fig. 8).

La membrane nucléaire reste basophile, mais le noyau prend une forme en haricot. Sur la face concave, la membrane présente un aspect déchiqueté et semble en rapport avec quelques granules nucléolaires (Fig. 9 et 10).

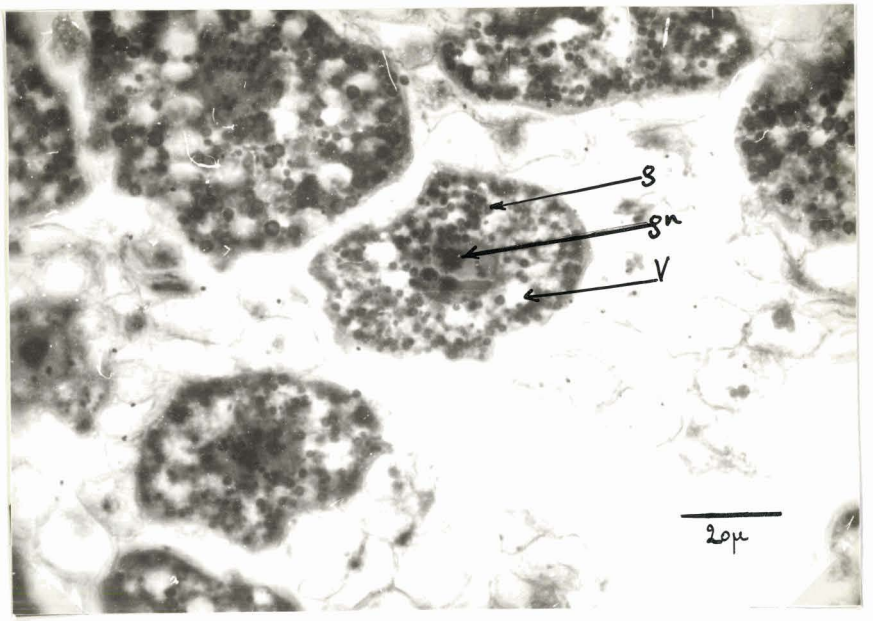



Fig. 7 - Début de la phase III. Bourgeonnement nucléolaire. Remarquez les vésicules lipidiques et les globules vitellins (Volkonsky)

g : globules vitellins - gn : granules nucléolaires
v : vésicules lipidiques

LILLE

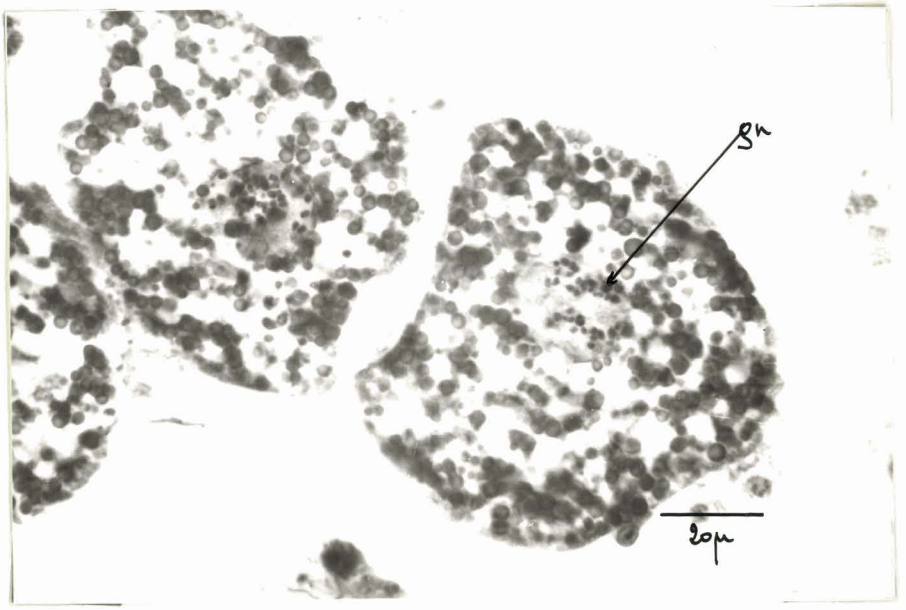



Fig. 8 - Phase III. Multiplication nucléolaire (Volkonsky)

gn : granules nucléolaires

Fig. 9 - Début de la phase III. Remarquez la forme de la membrane nucléaire et la situation des granules nucléolaires sous la face concave de la membrane (Bleu de toluidine)

gn : granules nucléolaires - M : membrane nucléaire

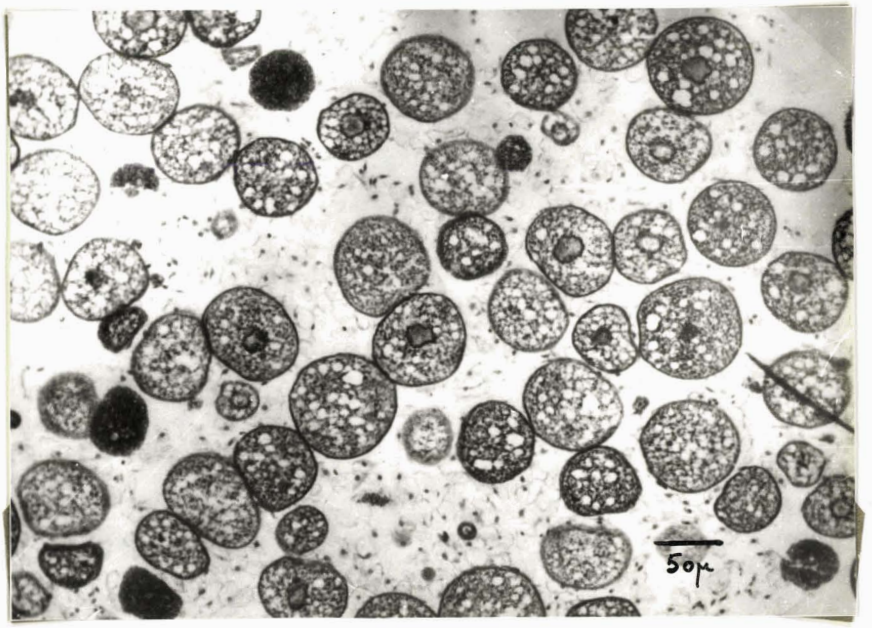



Fig. 10 - Début de la phase III. Un groupe d'ovocytes. Bleu de toluidine

Fig. 11 - Phase III. Granules nucléolaires pauvres en ARN. Mucopolysaccharide granulaire entre les inclusions cytoplasmiques (Bleu de toluidine)

g : globule vitellin - gn : granules nucléolaires - m : mucopolysaccharide - v : vésicule lipidique

Fig. 12 - Phase III. Le cytoplasme ovocytaire est très lipidique (rouge Soudan III)

l : inclusions lipidiques

Phase IV : du stade 140 µ au stade 190 µ (dans une Nereis subépitoque où les transformations somatiques de l'épitoquie sont au stade III) (Fig. 13, 14, 15, 16)

le cytoplasme : Les grains mucopolysaccharidiques précédemment individualisés deviennent si nombreux qu'ils forment une trame continue, violette après coloration au bleu de toluidine. Ils masquent l'ARN et les globules vitellins normalement incolores mais toujours mis en évidence par le Volkonsky (Fig. 14 et 15).

Cette trame mucopolysaccharidique répartie dans tout le cytoplasme réduit l'importance des vésicules lipidiques.

Toutefois les inclusions lipidiques et vitellines arrivent à leur nombre maximum peu avant 200 µ (Fig. 16 et 17).

Sur des ovocytes parvenus à ce stade, nous avons effectué la réaction au sulfate de Bleu de Nil : les vésicules lipidiques seraient constituées de lipides neutres (triglycérides), le reste du cytoplasme contiendrait des acides gras et des phospholipides.

le noyau : Si le cytoplasme devient de plus en plus riche en mucopolysaccharides, les granules nucléolaires sont de plus en plus pauvres en ARN : au stade 180 à 190 µ, ils en sont presque totalement dépourvue (Fig. 14). Cependant, ces granules nucléolaires existent toujours et sont mis en évidence par le Volkonsky. A partir de 140 µ, leur nombre tend à diminuer (Fig. 13). Vers 160 à 170 µ, il ne reste que deux ou trois gros grains nucléolaires entourés par de nombreux petits granules (Fig. 16). Cependant à 180-190 µ, chez des animaux subépitoques (stade III somatique), les granules nucléolaires très polymorphes forment une poussière de petits granules nucléolaires répartis dans tout le nucléoplasme. (Ces granules sont plus nombreux et plus petits qu'au stade III à 80-100 µ) (Fig. 17). Le noyau apparaît sensiblement circulaire, cependant la membrane nucléaire est très irrégulière avec de nombreuses sinuosités.

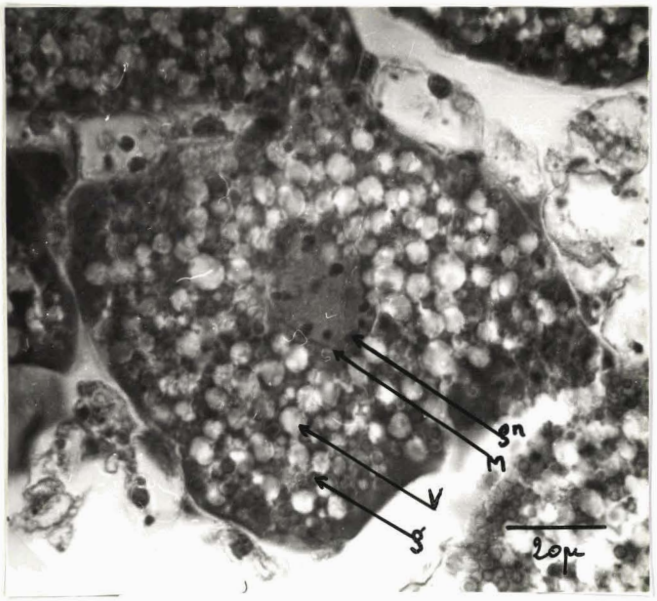



Fig. 13 - Début de la phase IV. Remarquez la situation des granules nucléolaires sous la membrane nucléaire (Volkonsky)

g : globules vitellins - gn : granules nucléolaires
M : membrane nucléaire - v : vésicule lipidique

LILLE

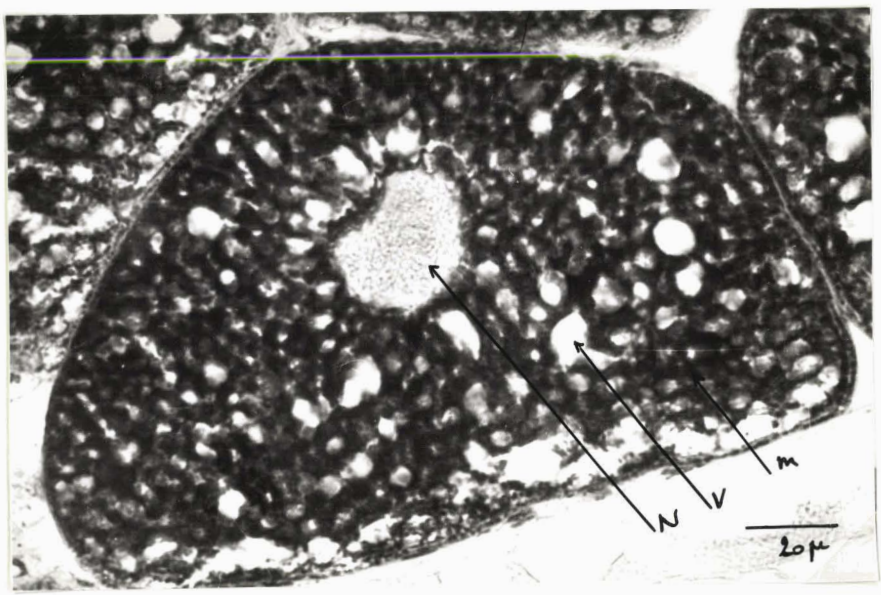



Fig. 14 - Phase IV. Présence d'un réseau mucopolysaccharidique entre les inclusions cytoplasmiques. Les granules nucléolaires sont très pauvres en ARN. (Bleu de toluidine)

m : mucopolysaccharide - N. : noyau -
v : vésicule lipidique

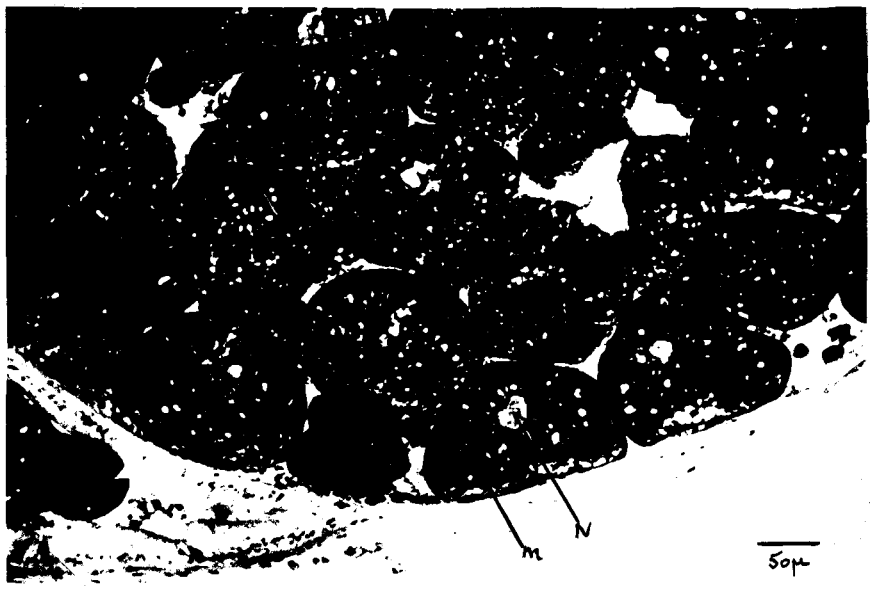



Fig. 15 - Phase IV. Un groupe d'ovocytes. Remarquez la richesse en mucopolysaccharides du cytoplasme et la pauvreté en ARN du noyau (Bleu de toluidine).

m : mucopolysaccharides - N : noyau

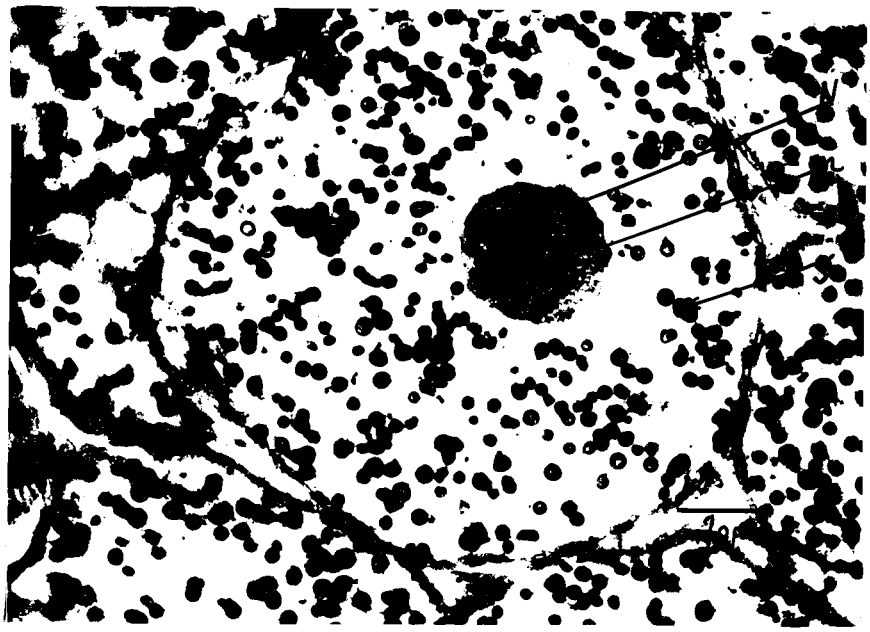



Fig. 16 - Phase IV. Le noyau ne contient que quelques grains nucléolaires qui bourgeonnent activement (Volkonsky)

n : nucléole - N : noyau - g : globule vitellin

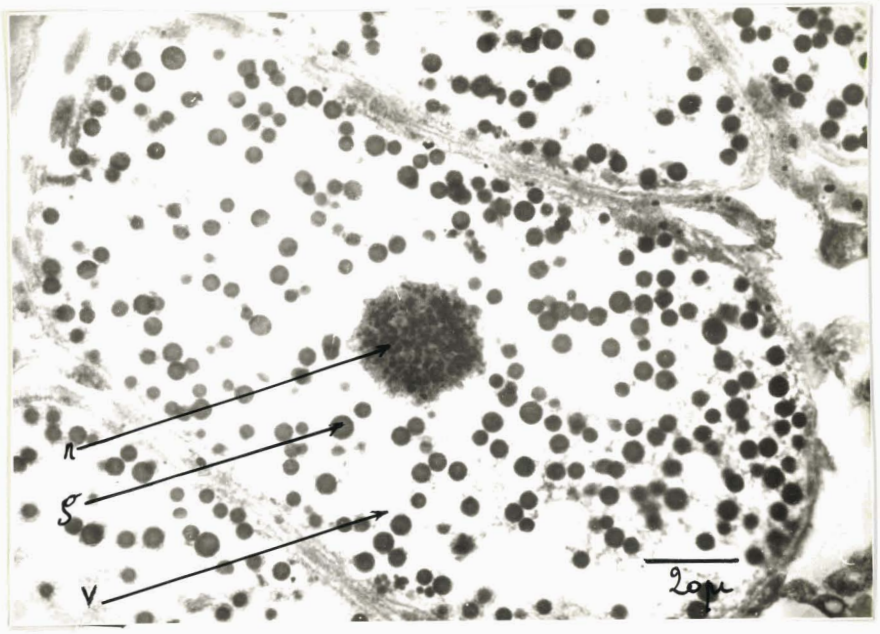



Fig. 17 - Fin de la phase IV (ovocyte d'un animal subépitoque). Pulvérisation du nucléole en une fine poussière (Volkonsky)

g : globule vitellin - n : poussière nucléolaire
V : vésicule lipidique

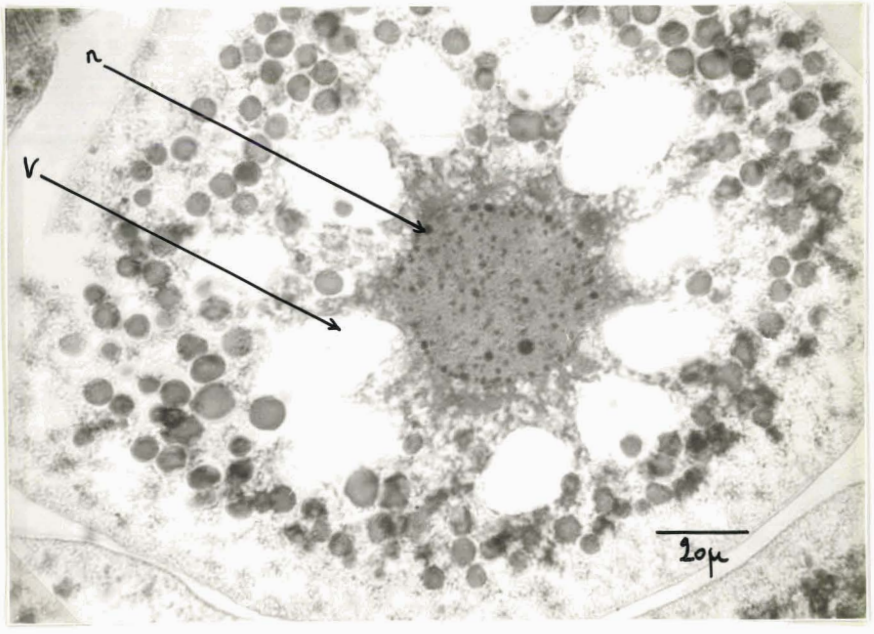



Fig. 18 - Phase V. Remarquez la situation particulière des granules nucléolaires sous la membrane nucléaire. Les vésicules lipidiques diminuent en nombre mais leur taille augmente. (Volkonsky)

n : nucléoles - V : vésicules lipidiques.

Phase V - du stade 190 µ au stade 250 µ (un ovocyte de 230 µ )

Cette phase correspond à des ovocytes d'Heteronereis. Cependant, il est à remarquer que nous groupons ainsi des ovocytes non émis, encore enfermés dans la cavité coelomique et des ovocytes libérés du coelome, susceptibles d'être fécondés (la fécondation a été réalisée et nous avons observé la formation de la membrane de fécondation et le début de la segmentation) (Fig. 18, 19, 20, 21, 22).

le cytoplasme : Les mucopolysaccharides se répartissent dans la zone sous corticale (Fig. 19 et 20). Le nombre des vésicules lipidiques et des globules vitellins a nettement diminué et leur disposition est assez particulière. De la zone périnucléaire à la périphérie de l'ovocyte, quatre zones peuvent être distinguées (Fig. 21 et 22). Elles se caractérisent respectivement par l'existence :

- de substances basophiles
- de vésicules lipidiques concentriques, disposées sur une seule couche. Il est à remarquer que si leur nombre a diminué par rapport à la phase IV, leur taille s'est nettement accrue.
- de globules vitellins dont certains pénètrent dans la zone précédente entre les vésicules lipidiques
- de mucopolysaccharides sous corticaux

le noyau : Chez les Heteronereis n'ayant pas encore émis leurs ovocytes, les granules nucléolaires gros et ronds sont disposés régulièrement à la périphérie du nucléoplasme, sous la membrane nucléaire (Fig. 18). Le centre du nucléoplasme renferme encore une poussière de granules nucléolaires moins dense et moins étendue que dans le cas d'une subépitoque. Parfois, il ne reste au centre du nucléoplasme qu'un gros nucléole vacuolisé. Dans des ovocytes matures et fécondables, le nucléoplasme est homogène dépourvu de granules nucléolaires à l'exception parfois de quelques granules à peine visibles restés dans le nucléoplasme sans situation préférentielle (Fig. 21).

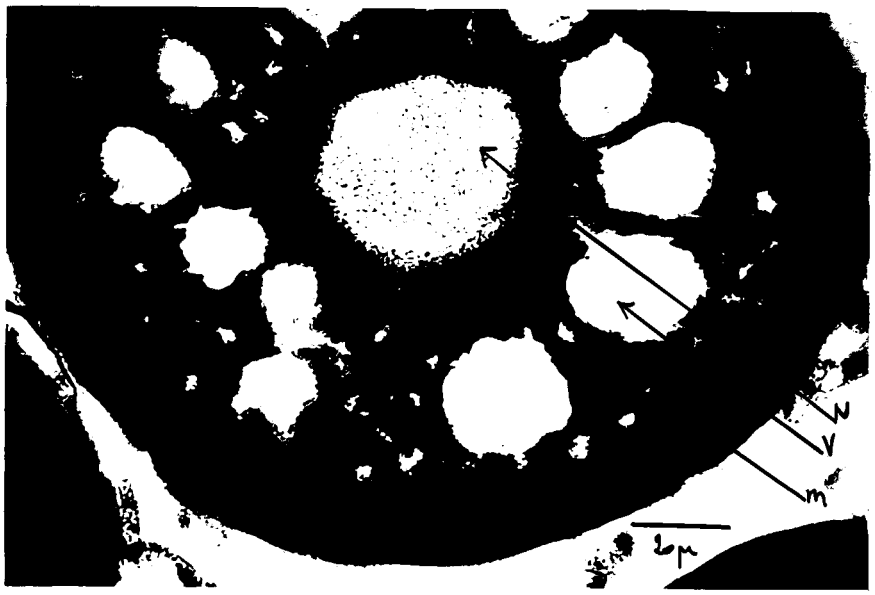



Fig. 19 - Phase V. Zone mucopolysaccharidique sous corticale. Le noyau est dépourvu de nucléole. (Bleu de toluidine)

m : mucopolysaccharides - N : noyau -
V : vésicule lipidique

Fig. 20 - Phase V. Un groupe d'ovocytes. Remarquez la richesse en mucopolysaccharides situés sous la membrane ovocytaire. Ils masquent l'ARN cytoplasmique. (Bleu de toluidine)

m : mucopolysaccharides

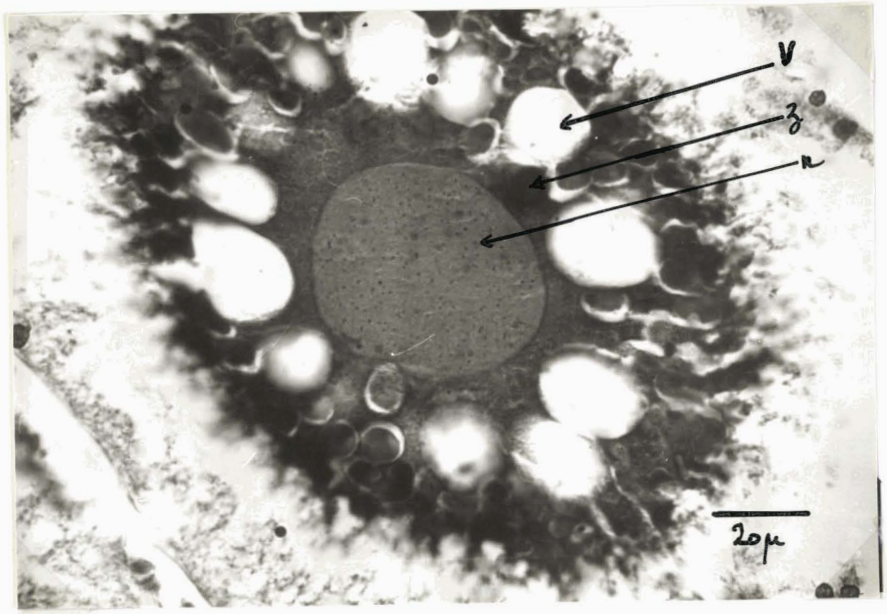



Fig. 21 - Phase V. Les granules nucléolaires sont en nombre réduit (Volkonsky)

n : granules nucléolaires - V : vésicules lipidiques - z : zone basophile périnucléaire

Fig. 22 - Phase V. Remarquez la disposition des éléments cytoplasmiques en quatre zones concentriques (Volkonsky)

g : globules vitellins - m : zone des mucopolysaccharides - V : vésicules lipidiques - z : zone basophile périnucléaire.

## CARACTERISTIQUES DES CINQ PHASES DISTINGUEES

Phase I stade ovogonie au stade 25 à 30 µ

- cytoplasme réduit et homogène
- granules nucléolaires rares
- existence de granules d'ADN intranucléoplasmiques

Phase II stade 25-30 µ au stade 70-80 µ

- début de la vitellogénèse :
  - apparition des vésicules lipidiques
  - apparition des globules vitellins
- augmentation du nombre de granules nucléolaires

Phase III stade 75-80 µ au stade 140 µ

- perte en ARN des granules nucléolaires
- prolifération intense des granules nucléolaires
- apparition de grains mucopolysaccharidiques dans le cytoplasme

Phase IV stade 140 µ au stade 190 µ

- formation d'un réseau continu mucopolysaccharidique dans le cytoplasme
- diminution du nombre de granules nucléolaires

Phase V stade 190 µ au stade 250 µ

- formation d'une couche mucopolysaccharidique sous corticale
- diminution du nombre de globules vitellins et de vésicules lipidiques et accroissement de taille corrélatif
- disposition périnucléoplasmique des granules nucléolaires

## DISCUSSION ET ESSAI D'INTERPRETATION DE CES PHASES

Quatre faits essentiels ont retenu notre attention :

- pour les granules nucléolaires : leur multiplication
  leur relation possible avec le cytoplasme
- pour le cytoplasme : la situation des mucopolysaccharides
  les globules vitellins et lipidiques

### I - LES GRANULES NUCLEOLAIRES

#### 1- Phénomènes de multiplications et d'extrusions pendant la prévitellogénèse

Les jeunes ovocytes de phase I (avant la vitellogénèse) présentent une "pulvérisation" intranucléoplasmique de l'ADN chromosomial et une disparition progressive de la réaction de Feulgen. Ces phénomènes s'accompagnent d'une basophilie intense du cytoplasme. Ces faits sont classiquement décrits dans la majorité des ovocytes animaux (RAVEN, 1961). Corrélativement le nucléole présente une grande richesse en ARN. De plus, les observations cytologiques conduisent à distinguer un nucléole diffus et fragmenté sous forme de granules nucléolaires. -Néanmoins un nucléole unique a été observé à des stades très jeunes (ovogonies à 6 µ). Nous pensons qu'il s'agit là de stades succédant à une division goniale-. Ce nucléole diffus se présente sous différents aspects. Parfois des granules basophiles intranucléolaires dans une masse foncée nettement limitée font penser à une simple fragmentation du nucléole unique. D'autres figures donnent l'impression d'une scission d'un nucléole unique en deux nucléoles. Enfin certaines représentent de véritables bourgeonnements de granules nucléolaires à partir d'un nucléole unique central. Ce phénomène de bourgeonnement pourrait se faire simultanément pour plusieurs gros granules nucléolaires. Cette dernière hypothèse nous semble la plus vraisemblable pour expliquer les phénomènes nucléolaires observés dans les phases suivantes.

Ces granules nucléolaires, riches en ARN, prolifèrent dans le nucléoplasme et parfois ils se dirigent préférentiellement vers la membrane nucléaire sous laquelle ils se disposent. Ces phénomènes d'activation nucléolaire ont été souvent décrits par de nombreux auteurs à ce stade de l'ovogénèse. Nous citerons comme exemples ceux observés chez Cyclops strennus (J. FAUTREZ et N. FAUTREZ-FIRLEFYN, 1953), Phascolosoma vulgare (F.H. GONSE, 1956). Cependant chez Limnea stagnalis (L. H. BRETSCHNEIDER et Chr. RAVEN, 1951), Patella coerulea (M. F. ALBANESE, 1964), Blatta orientalis (GRESSON et L.T. THREADGOLD, 1962), corrélativement à ces phénomènes d'activations nucléolaires, des extrusions dans le cytoplasme ont été décrites. Bien que chez N. pelagica de telles extrusions n'aient pas été nettement observées lors de cette phase, la disposition des granules nucléolaires près de la membrane nucléaire seraient en faveur d'une telle hypothèse. En général ces phénomènes sont interprétés comme un passage dans le cytoplasme de substances basophiles, sans doute proches de l'ARN (BRACHET, 1954) et précurseurs des synthèses protéiques qui vont apparaître avec la vitellogénèse.

2- Pendant la vitellogénèse

a- Phénomènes de multiplications nucléolaires

Pendant toute la vitellogénèse nous assistons à une intense activité et à d'importants remaniements nucléolaires. Le nucléole décrit un véritable cycle :

- pendant la phase II, les granules nucléolaires basophiles prolifèrent dans une certaine limite.

- au début de la phase III (80 $\mu$ ) nous assistons à une pulvérisation nucléolaire. Des grains nucléolaires sont entourés de petits granules dont certains semblent encore en relation avec le grain central.

- à la fin de la phase IV (170 $\mu$ ) il ne reste que quelques formations nucléolaires qui bourgeonnent (deux ou trois gros grains nucléolaires ont à leur périphérie de petits granules disposés régulièrement.

- les granules nucléolaires des ovocytes (190 µ) d'animaux sub-épitoques sont réduits en une poussière de petits nucléoles.

- lors de la phase V (chez des individus épitoques) le nucléoplasme est pratiquement vide en nucléoles (à l'exception de quelques uns situés à proximité de la membrane nucléaire).

Corrélativement à la multiplication nucléolaire au début de la phase III le nucléole perd sa basophilie, ce qui traduit très vraisemblablement une perte d'ARN. Ces phénomènes ont déjà été signalés par COWDEN (1963), chez Branchiostoma caribaeum et par MALONE THOMAS et HISAOKA (1963) chez Brachydanio rerio. Ces auteurs pensent que ces processus sont en étroite relation avec les synthèses cytoplasmiques.

Cependant, on peut penser aussi que le taux d'ARN nucléolaire total chez N. pelagica reste sensiblement constant mais il se trouve fortement dilué par suite de la multiplication des nucléoles.

Une telle hypothèse a déjà été formulée par HISAOKA et FIRLIT (1962) qui observent chez Brachydanio rerio une diminution de taille et une disparition des nucléoles. Pour ces auteurs, la signification de ces changements n'est pas encore connue, néanmoins ils considèrent que la formation du vitellus et la croissance de l'ovocyte sont corrélatifs de la diminution en nombre et de la disparition des nucléoles. En considérant la teneur en ARN, ils concluent que l'augmentation de la concentration de l'ARN nucléaire et cytoplasmique est synchrone des synthèses des protéines du vitellus.

Nous conclurons avec ces auteurs que les modifications nucléolaires décrites précédemment chez N. pelagica sont en relation directe avec l'élaboration du vitellus.

b- <u>phénomènes d'extrusions nucléolaires</u>

Diverses observations (nucléoles accolés contre la membrane nucléaire, multiplication nucléolaire suivie d'une diminution du nombre de nucléoles dans le nucléoplasme, membrane nucléaire sinueuse

en voyant des expansions dans le cytoplasme) permettent de conclure à l'existence d'extrusions nucléolaires dans le cytoplasme à divers moments de la vitellogénèse. Si dans les phases II, III et IV, nous observons des granules nucléolaires sous la membrane nucléaire, les figures les plus significatives ont été décrites au cours de la phase V. Ces ovocytes matures, encore dans la cavité coelomique, ont leurs granules nucléolaires accolés à la membrane nucléaire ; lorsqu'ils sont émis, ils sont pratiquement dépourvus de nucléole. Chez un animal dont les ovocytes étaient à la phase IV, nous avons même observé des "vacuoles" périnucléaires, allongées radiairement, donnant l'impression qu'elles venaient de passer à travers la membrane nucléaire ; en même temps, les nucléoles étaient disposés à la périphérie du nucléoplasme. En fait, des extrusions nucléolaires à ce stade de l'ovogénèse ont déjà été observées chez différentes annélides, en particulier par SRIVASTATA (1952) chez Lumbricus terrestris et par GATENBY (1925) chez Sacocirrus. WITTEK (1952) chez les Amphibiens décrit le passage de nucléoles à travers la membrane nucléaire dans le cytoplasme. Il conclut à des échanges actifs au niveau de la membrane nucléaire et pense que des substances nucléolaires sinon des nucléoles eux-mêmes passent vers le cytoplasme et jouent un rôle essentiel dans la vitellogénèse. De plus, à la fin de la vitellogénèse, il n'observe plus de nucléoles périphériques alors que ceux-ci étaient très abondants dans les petits ovocytes et pendant toute la période de vitellogénèse active.

De même chez N. pelagica, le problème se pose de savoir si ces extrusions s'effectuent par une dissolution de la substance nucléolaire permettant le passage à travers la membrane du noyau ou par passage in toto après modification de la membrane nucléaire. Une réponse à un tel problème ne pourra être amenée qu'avec une étude ultra structurale. De même la destinée de ces substances nucléolaires dans le cytoplasme ne peut pour l'instant être connue avec précision.

Il est à remarquer que les extrusions nucléolaires décrites chez N. pelagica et leur interprétation se rapprochent plus souvent de celles des Vertébrés inférieurs (Poissons, Amphibiens) que des Invertébrés (Mollusques, Crustacés).

## II - LE CYTOPLASME

### 1- Apparition et migration des mucopolysaccharides

Au début de la phase III (ovocytes de 80 µ), corrélativement à un net accroissement de taille de l'ovocyte, apparaît dans le cytoplasme un mucopolysaccharide granulaire mis en évidence par le PAS, la réaction métachromatique au bleu de toluidine (pH = 4,6).

Lors de la phase IV, les grains mucopolysaccharidiques atteignent une telle densité qu'ils forment une véritable trame intracytoplasmique entre les différentes inclusions. Au cours de la phase V, ce mucopolysaccharide intracytoplasmique migre sous la membrane de l'ovocyte pour devenir sous-cortical. De tels phénomènes mucopolysaccharidiques au cours de l'ovogénèse ont déjà été décrits par GONSE (1956) chez Phascolosoma vulgare, par PASTEELS et MULNARD (1957) chez Barnea candida, par MALONE, THOMAS et HISAOKA (1963) chez Brachydanio rerio, par COWDEN (1963) chez Branchiostoma caribaeum.

### 2- Les globules vitellins et les vésicules lipidiques

Au début de la phase II (ovocytes de 25 à 30 µ) apparaissent des substances de réserves. Nous distinguons deux formes d'inclusions cytoplasmiques très soudanophiles, dont l'aspect est assez constant pendant toute l'ovogénèse. Ce sont les vésicules lipidiques uniquement constituées de lipides et les globules vitellins lipoprotéiniques certainement riches en protéines. Ces inclusions sont limitées et séparées par une trame basophile d'ARN (action de la $RNA^{se}$) puis par les mucopolysaccharides. Au cours de la phase V, leur nombre se réduit énormément mais parallèlement la taille des vésicules lipidiques augmente. Il nous est donc permis de penser que les vésicules lipidiques fusionnent entre elles.

# CHAPITRE II

## MATURATION EXPERIMENTALE

Le diamètre ovocytaire (voir tableau I) a été mesuré à l'aide de la chambre claire. L'écart type a été calculé en utilisant la formule $\sigma = \sqrt{s^2}$ sachant que $s^2 = \frac{1}{n-1}\left[T_2 - \frac{T_1^2}{n}\right]$

où $T_1 = \Sigma x$

$T_2 = \Sigma x^2$

n = nombre de mesures

### DESCRIPTION DES MODIFICATIONS

Nous décrirons simultanément les modifications observées dans les parties antérieure et postérieure.

### FIXATION A 10 JOURS

Animaux dont le diamètre ovocytaire initial était de 30 à 35 µ (Pl. I)

partie antérieure (Pl. I, fig. 1) ovocytes de 30 à 55 µ

En général le nucléole est unique mais nous trouvons parfois d'autres granules nucléolaires plus petits dispersés dans le nucléoplasme. Ce nucléole renferme de nombreuses vacuoles incolores. Le réseau bleu d'ARN (bleu de toluidine) qui limite les vacuoles pauvres en ARN est parfois parsemé de grains plus foncés.

Le cytoplasme riche en ARN contient de grosses vésicules lipidiques et des globules vitellins plus petits.

partie postérieure (Pl. I, fig. 2) ovocytes de 30 à 65 µ

Le nucléole est souvent unique, hétérogène avec de nombreuses vacuoles plus claires limitées par de l'ARN. A l'intérieur de ces vacuoles ou à leur périphérie, il semble exister quelques grains violets (bleu de toluidine).

Le cytoplasme est normal : vésicules lipidiques et globules vitellins limités par une trame d'ARN avec parfois des grains de mucopolysaccharides autour des vésicules.

Animaux dont le diamètre ovocytaire initial était de 55 à 65 µ (Pl. II)

partie antérieure (Pl. II, fig. 1) ovocytes de 55 à 85 µ

Le nucléole souvent unique peut se présenter sous la forme de deux ou trois gros grains vacuolisés. Ils sont moins riches en ARN que le nucléole des ovocytes de 40 à 50 µ. Ces gros grains sont entourés de petits grains très pauvres en ARN.

Le cytoplasme est riche en ARN, globules vitellins et vésicules lipidiques, mais il acquiert des mucopolysaccharides sous forme de grains.

partie postérieure (Pl. II, fig. 2) ovocytes de 60 à 75 µ

Le nucléole souvent unique contient parfois tant de vacuoles que l'ARN forme un véritable réseau.

Les granules mucopolysaccharidiques du cytoplasme semblent plus nombreux que dans les ovocytes de la partie antérieure.

Animaux dont le diamètre ovocytaire initial était de 95 à 100 µ

partie antérieure : ovocytes de 85 à 115 µ

Les granules nucléolaires deviennent nombreux et très pauvres en ARN. Certains présentent des vacuoles plus claires, plus pauvres en ARN.

Le cytoplasme s'enrichit en mucopolysaccharides granulaires. Les vésicules lipidiques et les globules vitellins sont plus gros que dans les ovocytes de 70 µ.

partie postérieure : ovocytes de 85 à 125 µ

Les granules nucléolaires, pauvres en ARN, augmentent en nombre alors que le cytoplasme devient très mucopolysaccharidique.

PLANCHE I - Régions antérieure et postérieure fixées à 10 jours.
Animal dont le diamètre ovocytaire initial était de 30 à 35 µ.

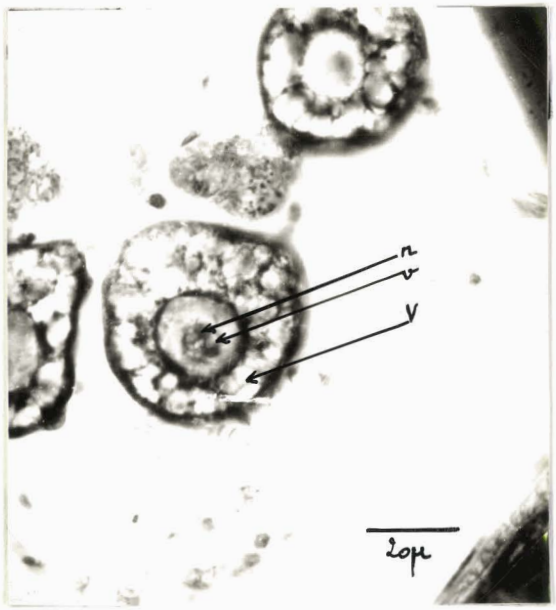



Fig. 1 - Ovocytes de la région antérieure.

Le nucléole unique, riche en ARN, renferme quelques vacuoles dépourvues d'ARN (Bleu de toluidine)

n : nucléole - v : vacuoles nucléolaires - V : vésicules lipidiques.

LILLE

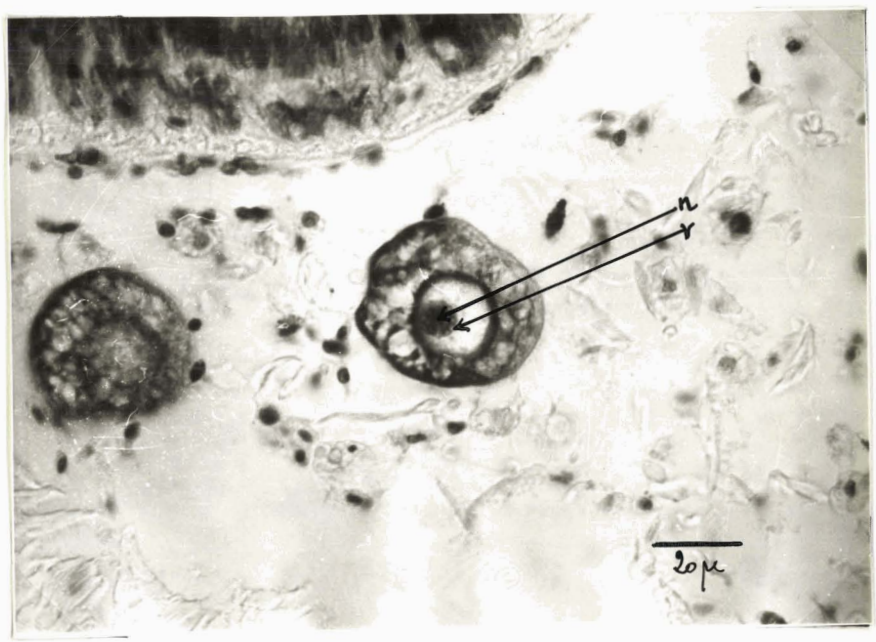



Fig. 2 - Ovocytes de la région postérieure. Le nucléole unique, riche en ARN, présente des vacuoles à sa périphérie. (Bleu de toluidine)

n : nucléole - v : vacuoles nucléolaires.

PLANCHE II - Régions antérieure et postérieure fixées à 10 jours.
Animal dont le diamètre ovocytaire initial était de 55 à 65 µ.

Fig. 1 - Ovocytes de la région antérieure. Une masse nucléolaire centrale, riche en ARN, est entourée d'une zone pauvre en ARN et vacuolisée (Bleu de toluidine)

n : nucléole - v : vacuoles nucléolaires

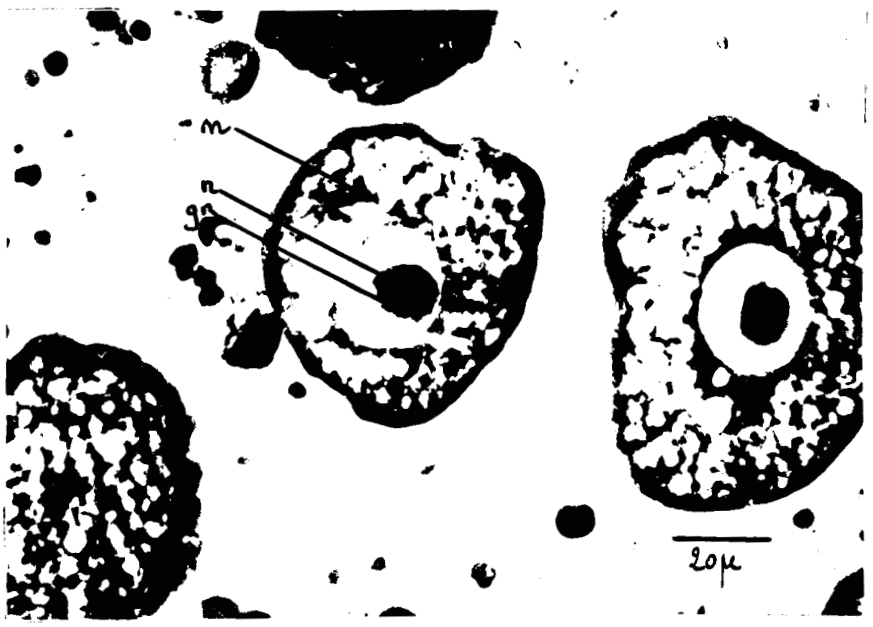



Fig. 2 - Ovocytes de la région postérieure. Le nucléole unique renferme quelques granules nucléolaires plus riches en ARN (Bleu de toluidine)

gn : granules nucléolaires - m : mucopolysaccharide - n : nucléole unique

FIXATION A 20 JOURS

Animaux dont le diamètre ovocytaire initial était de 35 à 40 µ (Pl. III)

partie antérieure (Pl. III, fig. 1) ovocytes de 25 à 65 µ

Le nucléole se présente tantôt sous la forme d'un nucléole unique, tantôt sous la forme de plusieurs granules. Nous observons parfois des vacuoles mais elles sont beaucoup moins nombreuses que dans les ovocytes laissés dix jours en maturation.

partie postérieure (Pl. III, fig. 2) ovocytes de 90 à 110 µ

Les granules nucléolaires nombreux sont pauvres en ARN. Certains renferment des vacuoles. La membrane nucléaire et la zone cytoplasmique périnucléaire sont riches en ARN (bleu de toluidine et test à la ribonucléase).

Le cytoplasme sous cortical est riche en mucopolysaccharides.

Animaux dont le diamètre ovocytaire initial était de 70 à 80 µ

partie antérieure : ovocytes de 75 à 100 µ

Plusieurs granules nucléolaires sont répartis dans le nucléoplasme. Le cytoplasme, riche en ARN, est encore dépourvu de mucopolysaccharides.

partie postérieure : ovocytes de 90 à 115 µ

Les nucléoles sont très pauvres en ARN. Le cytoplasme présente de nombreux grains mucopolysaccharidiques (les mucopolysaccharides ne forment pas un réseau continu : nous sommes à la phase II de l'ovogénèse naturelle).

PLANCHE III - Régions antérieure et postérieure fixées à 20 jours.
Animal dont le diamètre ovocytaire initial était de 35 à 40 µ

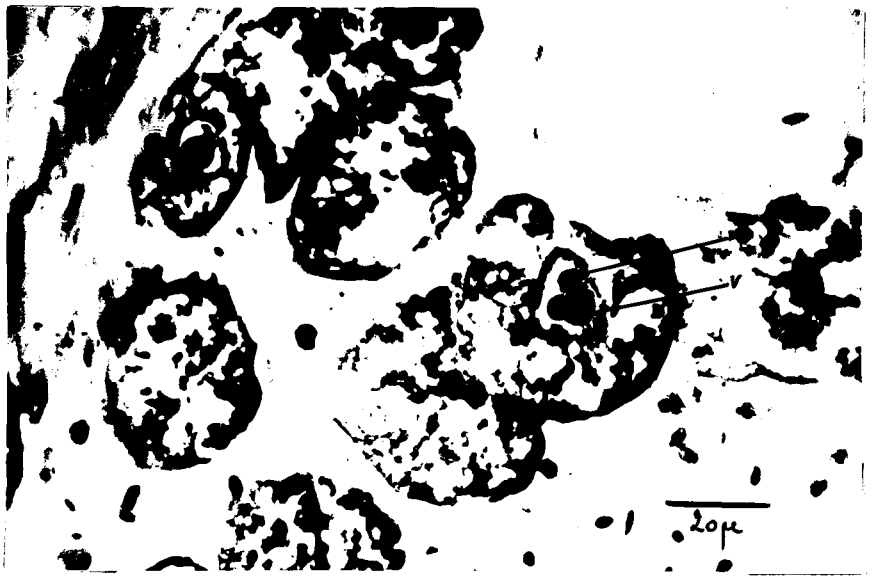



Fig. 1 - Ovocytes de la région antérieure. Les grains nucléolaires, riches en ARN, sont en petit nombre et très sensiblement vacuolisés (Bleu de toluidine)

n : grains nucléolaires - v : vacuoles nucléolaires

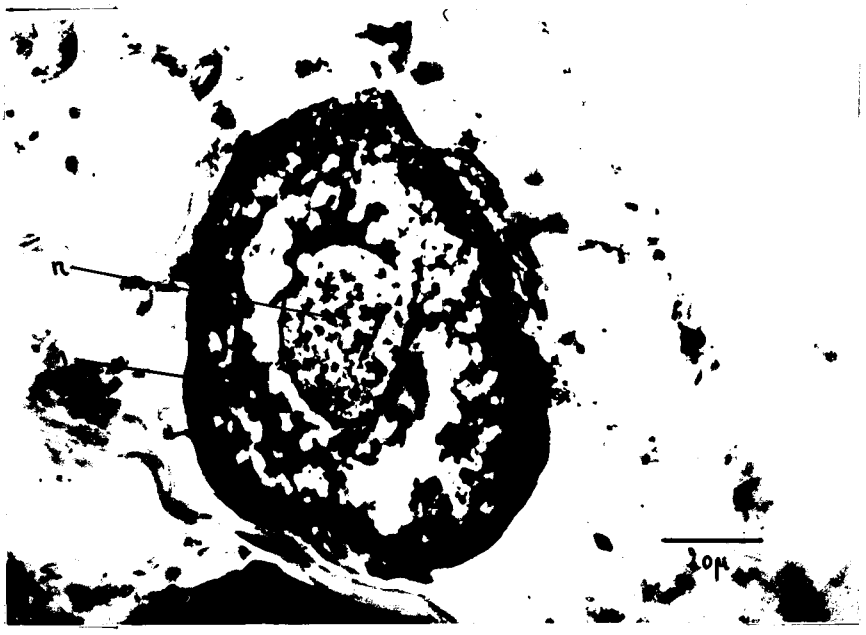



Fig. 2 - Ovocyte de la région postérieure. Nombreux grains nucléolaires, pauvres en ARN. Mucopolysaccharides cytoplasmiques (Bleu de toluidine)

m : mucopolysaccharides - n : granules nucléolaires

FIXATION A 40 JOURS

Animaux dont le diamètre ovocytaire initial était de 30 à 35 µ (Pl. IV et V)

partie antérieure (Pl. IV, fig. 1 - Pl. V, fig. 1)

ovocytes de 30 à 35 µ

Un ou deux gros grains nucléolaires riches en ARN et vacuolisés sont entourés par des grains plus petits. Dans le cytoplasme, les vésicules lipidiques et les globules vitellins sont limités par une trame d'ARN qui forme un réseau.

partie postérieure (Pl. IV, fig. 2 - Pl. V, fig. 2)

ovocytes de 115 à 135 µ

Les granules nucléolaires présents sont pauvres en ARN. Leur situation dans le nucléoplasme varie avec l'état de maturité de l'ovocyte. Dans certains ovocytes, ils sont régulièrement disposés le long de la membrane nucléaire ; dans d'autres, il ne reste que quelques grains peu visibles ; enfin parfois, ils n'existent plus.

Les éléments cytoplasmiques se répartissent en quatre couches concentriques. De la région périnucléaire vers la région sous-corticale, nous distinguons : une substance basophile (ARN, action $RNA^{se}$), les vésicules lipidiques grosses et en petit nombre, les globules vitellins et enfin une zone riche en mucopolysaccharides.

Animaux dont le diamètre ovocytaire initial était de 70 à 80 µ

partie antérieure : ovocytes de 90 à 120 µ

Nous comptons jusqu'à cinq ou six gros grains nucléolaires à côté de petits granules. Ils sont pauvres en ARN. Le cytoplasme s'enrichit en granules mucopolysaccharidiques entre les inclusions cytoplasmiques.

partie postérieure : ovocytes de 110 à 155 µ

Elle est identique à celle décrite précédemment à 40 jours. Les granules nucléolaires sont disparus ou restent en nombre réduit. Les éléments cytoplasmiques sont répartis en quatre zones distinctes.

PLANCHE IV - Régions antérieure et postérieure fixées à 40 jours
Animal dont le diamètre ovocytaire initial était de 30 à 35µ

Fig. 1 - Ovocytes de la région antérieure. Grains nucléolaires en petit nombre (Bleu de toluidine) n : grains nucléolaires

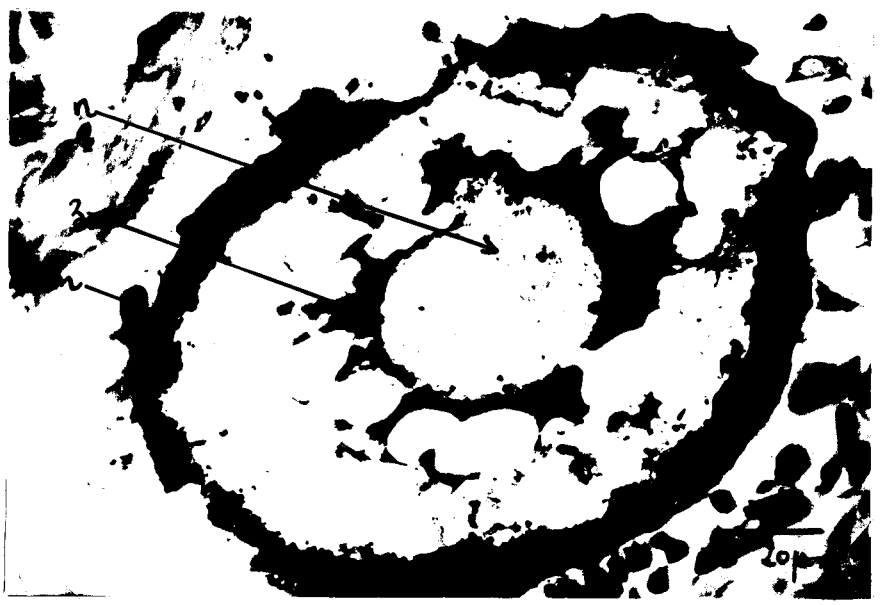
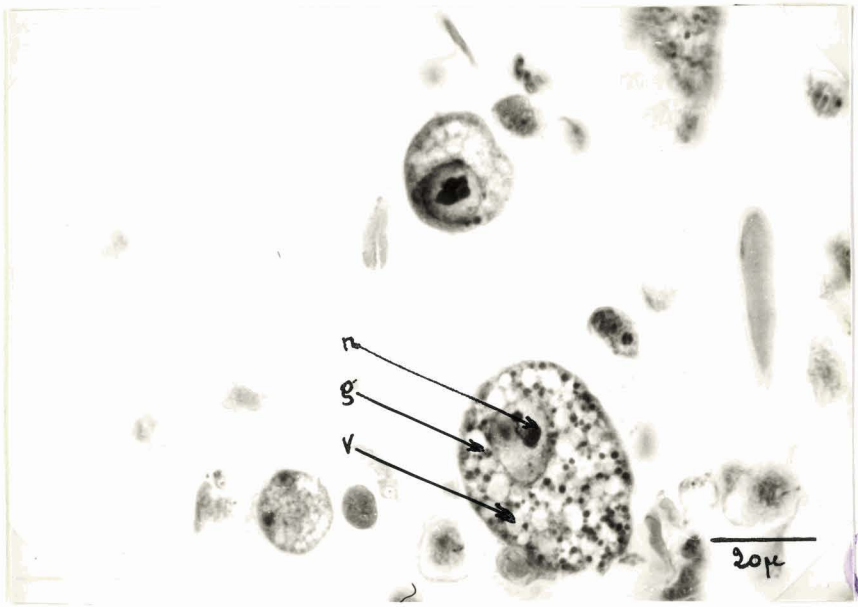



Fig. 2 - Ovocyte de la région postérieure. Granules nucléolaires pauvres en ARN. Zone basophile (ARN) périnucléaire. Mucopolysaccharides sous corticaux (Bleu de toluidine)
n : granules nucléolaires - m : mucopolysaccharides sous-corticaux - z : zone basophile périnucléaire.

PLANCHE V - Régions antérieure et postérieure fixées à 40 jours.
Animal dont le diamètre ovocytaire initial était de 30 à 35 µ




BU LILLE

Fig. 1 - Ovocytes de la région antérieure. Peu de grains nucléolaires. Cytoplasme normal. (Volkonsky)
g : globules vitellins - n : grains nucléolaires - V : vésicules lipidiques

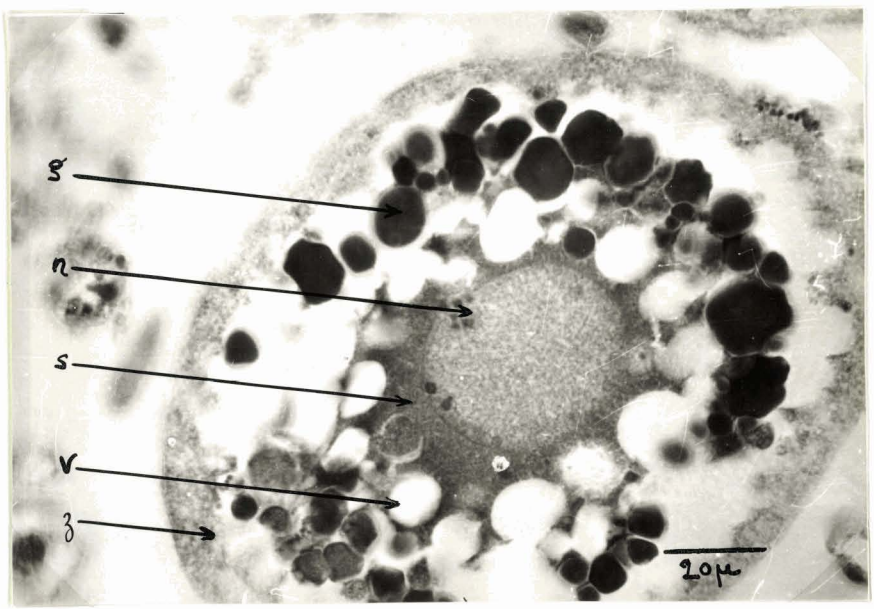



Fig. 2 - Ovocytes de la région postérieure. Granules nucléolaires placés sous la membrane nucléaire. Inclusions cytoplasmiques disposées selon quatre zones concentriques. (Volkonsky)
g : globules vitellins - n : granules nucléolaires - s : substances basophiles (ARN) - V : vésicules lipidiques - z : zones des mucopolysaccharides.

INFLUENCE DE L'HORMONE CEREBRALE SUR LA CROISSANCE DES OVOCYTES

| Temps de l'expérience | Diamètre ovocytaire initial | Région antérieure (témoin) Ovocytes en présence d'hormone cérébrale | | Région postérieure Ovocytes soustraits à l'hormone cérébrale | |
|---|---|---|---|---|---|
| 10 jours | 30 à 35 µ | 43,2 ± 5,5 µ | (19) | 36,5 ± 7 µ | (10) |
| | 30 à 35 µ | 42,8 ± 14 µ | ( 8) | 60,1 ± 6,3 µ | (16) |
| | 60 à 65 µ | 69,5 ± 17 µ | (29) | 66,2 ± 6,2 µ | (34) |
| | 95 à 100 µ | 101,3 ± 16,4 µ | (23) | 104,6 ± 22,4 µ | (11) |
| 20 jours | 35 à 40 µ | 44,7 ± 22,2 µ | (41) | 102,3 ± 10 µ | (16) |
| | 35 à 40 µ | 43,3 ± 9,2 µ | (24) | 101, ± 9,6 µ | (21) |
| | 70 à 80 µ | 87 ± 12,5 µ | (7) | 103,8 ± 13,4 µ | (49) |
| 40 jours | 30 à 35 µ | 39,1 ± 10 µ | (50) | 126,8 ± 10,4 µ | (15) |
| | 70 à 80 µ | 105,5 ± 15,8 µ | (16) | 134,5 ± 22,4 µ | (34) |

TABLEAU I

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de mesures effectuées.

INFLUENCE DE L'HORMONE CEREBRALE SUR LES PHENOMENES CYTOLOGIQUES OVOCYTAIRES

| (Temps de l'expérience) | diamètre ovocytaire initial | Partie antérieure (témoin) - Ovocytes en présence d'hormone cérébrale | Partie postérieure Ovocytes soustraits à l'hormone cérébrale |
|---|---|---|---|
| 10 jours | 30 à 35 µ | nucléole souvent unique vacuolisé, riche en ARN. Cytoplasme riche en ARN avec inclusions absence mucopolysaccharides. | nucléole souvent unique hétérogène avec vacuoles pauvres en ARN. Cytoplasme normal avec quelques grains de mucopolysaccharides |
| | 60 à 65 µ | 2 ou 3 grains nucléolaires vacuolisés quelques grains mucopolysaccharidiques | ARN du nucléole (souvt unique) forme un réseau Granules mucopolysaccharidiques sont plus denses que dans partie antérieure |
| | 95 à 100 µ | Nbreux granules nucléolaires pauvres en ARN Mucopolysaccharide granulaire est dense | Multiplication granules nucléolaires pauvres en ARN. |
| 20 jours | 35 à 40 µ | Nucléole unique ou diffus riche en ARN | Nbreux granules nucléolaires pauvres en ARN Zone périnucléaire riche en ARN |
| | 70 à 80 µ | Quelques granules nucléolaires. Absence de mucopolysaccharides. | Nucléoles pauvres en ARN Mucopolysaccharide granulaire. |
| 40 jours | 30 à 35 µ | peu de grains nucléolaires riches en ARN | Granules nucléolaires pauvres en ARN sous membrane nucléaire, ou absents. Eléments cytoplasmiques en quatre zones concentriques de l'intérieur vers l'extérieur : zone basophile, soudanophile, lipoprotéinique, mucopolysaccharidique |
| | 70 à 80 µ | Quelques grains nucléopauvres en ARN. Granules mucopolysaccharidiques dans le cytoplasme. | identique à la partie postérieure décrite précédemment |

TABLEAU II

COMPARAISON AVEC LA MATURATION NATURELLE

Les ovocytes en maturation expérimentale sont classés suivant les phases décrites dans l'étude de l'ovogénèse naturelle. Néanmoins, cette détermination n'est établie que sur des critères cytologiques indépendamment du diamètre des ovocytes, car nous verrons qu'il existe des décalages entre les phénomènes cytologiques et le diamètre ovocytaire.

D'autre part, nous nous limiterons aux différences observées avec l'ovogénèse naturelle.

DES ANIMAUX FIXES A 10 JOURS

partie antérieure

L'aspect cytologique des ovocytes décrits correspond à la phase II et au début de la phase III. Si l'aspect du cytoplasme est identique à celui des ovocytes de même taille de l'ovogénèse naturelle, il n'en est pas de même du nucléole.

Indépendamment de la richesse du nucléole en ARN (qui correspond à l'ovogénèse naturelle), le nombre de granules nucléolaires est en général inférieur à celui observé dans l'ovogénèse naturelle. De plus, ce nucléole souvent unique présente une configuration particulière : nous y observons des vacuoles pauvres en ARN. L'ARN forme donc un réseau dans le nucléole.

partie postérieure

L'aspect cytologique des ovocytes décrits précédemment correspond à la phase II et à la phase III.

Le nucléole présente les mêmes phénomènes que dans la partie antérieure. Les grains nucléolaires sont en nombre moindre et il arrive même qu'il n'y en n'ait plus qu'un. Des vacuoles pauvres en ARN transforment le nucléole en un véritable réseau.

L'aspect cytologique du cytoplasme semble être en légère avance sur celui d'ovocytes de même taille de l'ovogénèse naturelle.

DES ANIMAUX FIXES A 20 JOURS

partie antérieure

A 20 jours, les ovocytes ne diffèrent de ceux de l'ovogénèse naturelle que par la présence de quelques vacuoles pauvres en ARN dans les granules nucléolaires.

partie postérieure

Chez un animal dont les ovocytes ont : 102 $\mu$ $\pm$ 10 $\mu$ , nous avons noté deux zones cytoplasmiques : l'une riche en ARN périnucléaire, l'autre mucopolysaccharidique sous corticale. A ce stade dans l'ovogénèse naturelle, le cytoplasme est uniformément formé de granules mucopolysaccharidiques au dessus d'un réseau d'ARN entre les différentes inclusions.

DES ANIMAUX FIXES A 40 JOURS

partie antérieure

Des vacuoles existent encore dans les granules nucléolaires mais leur nombre est vraiment inférieur à celui des animaux fixés à 10 et 20 jours. Ceci pourrait s'expliquer facilement en admettant l'hypothèse que les vacuoles seraient la conséquence des phénomènes de régénération.

partie postérieure

Les granules nucléolaires et le cytoplasme correspondent à ceux des ovocytes matures ou ceux des épitoques de l'ovogénèse naturelle. Cependant, il nous faut remarquer que si l'aspect cytologique des ovocytes correspond à la phase V de l'ovogénèse naturelle, leur taille n'est que de 150-160 $\mu$ au lieu de 200-220 $\mu$ .

COMPARAISON DES OVOCYTES DE LA PARTIE POSTERIEURE AUX TEMOINS
(Ovocytes de la partie antérieure)

| Temps de l'expérience | Phase des ovocytes témoins (partie antérieure) | Phase des ovocytes à maturation induite (partie postérieure) |
|---|---|---|
| 10 jours | Phase II<br>Début de la phase III | Phase II<br>Début de la phase III |
| 20 jours | Début de la phase II<br>Début de la phase III | Début de la phase III<br>Fin de la phase III |
| 40 jours | Phase II<br>Phase III | Phase V<br>Phase V |

TABLEAU III

L'observation des tableaux II et III montre que les différences cytologiques entre les ovocytes à maturation induite et les ovocytes témoins s'accentuent à mesure que les temps expérimentaux sont augmentés.

## DISCUSSION ET ESSAI D'INTERPRETATION

CHOQUET (1962) a montré que des ovocytes de N. pelagica subissent rapidement une importante augmentation de taille quand ils sont expérimentalement soustraits à l'influence de l'hormone inhibitrice. Les ovocytes qui subissent une maturation accélérée peuvent être fécondés ; leur développement s'arrête cependant au moment de la gastrulation.

Nos travaux aboutissent à des résultats identiques en ce qui concerne l'augmentation de volume en l'absence d'hormone (cf tableau I). D'autre part, l'étude cytologique nous a permis de constater que l'ovogénèse ainsi déclenchée subissait une évolution parallèle à l'ovogénèse naturelle (enrichissement en mucopolysaccharides et même comportement des nucléoles). Nous pouvons toutefois signaler une vacuolisation nucléolaire dans les ovocytes de la région antérieure surtout -beaucoup moins nette dans la région postérieure-. De plus, ces vacuoles sont visibles à 10 jours , à 20 jours, elles le sont moins, elles deviennent rares dans les nucléoles des ovocytes fixés à 40 jours. Cette vacuolisation peut être liée à des modifications métaboliques dues à des phénomènes de régénération.

Dans la région postérieure, la zone basophile (ARN) périnucléaire parait plus riche que dans l'ovogénèse naturelle ; sans doute faut-il voir là une relation avec les synthèses accélérées du cytoplasme. Dans les séries expérimentales les plus longues (40 jours) l'aspect cytologique des ovocytes est identique à celui observé chez les épitoques (disparition des granules nucléolaires, remaniements des inclusions cytoplasmiques, migration du mucopolysaccharide intracytoplasmique dans la zone sous-corticale).

Il est intéressant de comparer l'évolution en l'absence d'hormone chez N. pelagica avec les modifications observées chez N. diversicolor. Il a été constaté que, chez cette dernière espèce, les ovocytes, en l'absence d'hormone, subissent une augmentation de taille (CLARK et RUSTON, 1963). Cependant l'étude cytologique en

l'absence d'hormone et en culture organotypique (DURCHON et DHAINAUT, 1964) a montré que les ovocytes subissent de profondes modifications. Les ribonucléoprotéines s'accumulent dans la zone périnucléaire à partir du deuxième jour de culture , une structure fibrillaire se développe dans cette région. Une étude ultrastructurale (DURCHON et BOILLY, 1964) a permis de constater qu'en absence d'hormone les ovocytes acquièrent une membrane semblable à celles d'ovocytes ayant subi une maturation naturelle (présence de macrovillosités) mais en outre le noyau est entouré par de très nombreuses lamelles annelées, ces formations correspondent à la condensation des ribonucléoprotéines observée en microscopie optique. Ces ovocytes sont voués à une dégénérescence.

On constate donc, aussi bien chez N. pelagica que chez N. diversicolor, une réponse immédiate des ovocytes lorsque ces derniers sont soustraits à l'influence hormonale. Cependant, chez N. pelagica, cette maturation provoquée n'aboutit jamais à une dégénérescence comme chez N. diversicolor.

# C O N C L U S I O N

L'étude de la maturation naturelle de N. pelagica nous a conduit à préciser ses différents processus cytologiques. Elle se caractérise essentiellement par une migration de mucopolysaccharides intracytoplasmiques et par un véritable cycle de bourgeonnement du nucléole. Cette multiplication nucléolaire s'accompagne de phénomènes d'extrusions dans le cytoplasme. Ces modifications nucléolaires seraient directement en relation avec l'élaboration du vitellus. Parallèlement nous avons recherché par les méthodes expérimentales et histologiques classiques, l'influence de l'hormone cérébrale au cours de l'ovogénèse de N. pelagica. L'absence d'hormone déclenche une rapide maturation de l'ovocyte sans doute accompagnée d'un accroissement du métabolisme.

L'étude des Néréidiens permet de distinguer ceux à vie longue (longévité moyenne de trois ans) comme P. cultrifera, où l'ablation du cerveau n'entraîne aucune modification dans la croissance des ovocytes. Ceux à vie courte, comme Pl. dumerilii (trois à six mois à 20° C) présente une vitellogénèse rapide après décérébration. Enfin, ceux de longévité moyenne (deux ans) où seuls les ovocytes ayant atteint 30 µ de diamètre sont capables de subir un développement rapide en l'absence du cerveau. Par conséquent, chez les Néréidiens, l'évolution de l'ovogénèse en l'absence de l'hormone cérébrale conduit à l'intérieur d'une même famille à des résultats très différents suivant les espèces.

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

ALBANESE M.P., 1964 - Passaggio di nucleoli attraverso la membrana nucleare negli ovociti in accrescimento di Patella coerulea L. (Experentia, Suisse, 20, n° 10, 550-551)

BRACHET (J.), 1954 - Chemical embryology. New York, Interscience Press.

BRETSCHNEIDER (L.H.) et RAVEN (Ch.), 1951 - Structural and topochemical changes in the egg cells of Limnea stagnalis L. during oogenesis. (Arch. Néerl. Zool., 10, 1)

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

CLARK R. et RUSTON, 1963 - The influence of brain extirpation on oogenesis in the Polychaeta Nereis diversicolor. (Gen. and Comp. Endocr., t 3, 529-541)

COWDEN R.R., 1963 - Cytochemical studies of oocyte growth in the lancelet, Branchiostoma caribaeum. (Z. Zellforsch. mikr. Anat., Dtsch., 60, n° 3, 399-408)

DURCHON M., 1952 - Recherches expérimentales sur deux aspects de la reproduction chez les Annélides Polychètes : l'épitoquie et la stolonisation. (Ann. Sc. Nat., Zool., t 14, 119-206)

DURCHON M. et BOILLY B., 1964 - Etude ultrastructurale de l'influence de l'hormone cérébrale des Néréidiens sur le développement des ovocytes de Nereis diversicolor O. F. Müller (Annélide Polychète) en culture organotypique. (C. R. Acad. Sc., t 259, 1245-1247)

DURCHON M. et DHAINAUT A., 1964 - Influence de l'hormone cérébrale des Néréidiens sur la croissance des ovocytes. Etude en culture organotypique. (Ext. C. R. Acad. Sc., 259, n° 4, 917-919)

FAUTREZ J. et FAUTREZ-FIRLEFYN N., 1953 - A propos des relations entre nucléole et cytoplasme dans l'ovocyte de Cyclops strennus. (C. R. Soc. Biol., 147, n° 3-4, 351-352)

GATENBY J.B., 1925 - The oogenesis of Lumbricus terrestris. (Nature, 115, 979)

GONSE Ph., 1956 - L'ovogénèse chez Phascolosoma vulgare. (Acta Zool. Suède, 37, n° 3, 193-233)

GRESSON R.A.R. et THREADGOLD L.T., 1962 - Extrusion of nuclear material during oogenesis in Blatta orientalis. (Quart. J. micr. Sc., G.B., 103, n° 2, 141-145)

HAUENSCHILD C., 1956 - Hormonale Hemmung der Geschlechtsreife und Metamorphose bei dem Polychaeten Platynereis dumerilii. (Zeitsch. für Naturfor., 11 b, 125-132)

HISAOKA K. K. et FIRLIT CF., 1962 - The localization of nucleic acids during oogenesis in the zebrafish. (J. Anatomy, 110, n° 3, 203-215)

MALONE, THOMAS E. et HISAOKA K.K., 1963 - A histochemical study of the formation of deutoplasmic components in developing oocytes of the zebrafish, Brachydanio rerio. (J. Morph., 112, n° 1, 61-76)

PASTEELS J.J. et MULNARD J., 1957 - La métachromasie in vivo au bleu de toluidine et son analyse cytochimique dans les oeufs de Barnea candida, Gryphaea angulata (Lamellibranches) et de Psammechinus miliaris. (Arch. Biol., 68, 115-163)

RAVEN ChrP., 1961 - Oogenesis (Pergamon Press)

SRIVASTATA D.S., 1952 - Nucleolus and nuclear extrusions in the oocytes of Lumbricus terrestris L. (La Cellule, 55, 131-136)

WITTEK M., 1952 - La vitellogénèse chez les Amphibiens. (Arch. Biol., 63, 4, 134-198)