# UNIVERSITÉ DE LILLE FACULTÉ DES SCIENCES

# THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LILLE

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

par

MARCEL CHOQUET

Contribution à l'étude du cycle biologique et de l'inversion du sexe chez Patella vulgata L. (Mollusque Gastéropode Prosobranche)

Soutenue le 12 Mars 1969 devant la commission d'examen

MM. R. DEFRETIN, Président

M. DURCHON, Rapporteur

F. SCHALLER, Examinateur

L. GOMOT, Membre invité

A Meh Houique de Ceersufder en ami cal hommage Thoftet

#### FACULTE DES SCIENCES DE LILLE

DOYENS HONORAIRES : MM. H. LEFEBVRE, M. PARREAU

PROFESSEURS HONORAIRES: MM. ARNOULT, BEGHIN, BROCHARD, CAU, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, DEHEUVELS, DEHORNE, DOLLE, FLEURY, P. GERMAIN, KAMPE DE FERIET, LAMOTTE, LELONG, KOURGANOFF, Mme LELONG, MM. MAZET, A. MICHEL, NORMANT, PARISELLE, PASCAL, PAUTHENIER, ROIG, ROSEAU, ROUBINE, ROUELLE, WIENAN, ZAMANSKY.

DOYEN : M. R. DEFRETIN, Professeur de Biologie Marine

ASSESSEURS : M. J. HEUBEL, Professeur de Chimie Minérale

M. A. IEBRUN, Professeur de Radioélectricité et Electronique

#### PROFESSEURS

M. P. BACCHUS

M. J.P. BEAUFILS

M. M. BECART

M. V. BLOCH

M. P. BONNEMAN

M. A. BONTE

M. P. BOUGHON

M. S. BOUISSET

M. R. BOURIQUET

M. P. CELET

M. E. CONSTANT

M. P. CORSIN

M. M. DECUYPER

M. P. DEDECKER

Astronomie et Calcul Numérique

Chimie Générale

I.U.T. Physique

Psychophysiologie

Chimie et Physico-Chimie industrielle

Géologie Appliquée

Mathématiques

Physiologie Animale

Biologie Végétale

Géologie Générale

Radioélectricité

Paléobotanique

Mathématiques

Mathématiques

M. R. DEHORS

M. C. DELATTRE

M. P. DELEAU

M. M. DELHAYE

M. J.M. DERCOURT

M. R. DESCOMBES

M. M. DURCHON

M. R. FOURET

M. R. GABILLARD

M. G. GLACET

M. G. GONTIER

M. H. HEIM DE BALSAC

M. M. HEUBEL

M. M. HOCQUETTE

M. A. LEBRUN

M. H. LEFEBVRE

Melle J. LENOBLE

M. R. LIEBAERT

M. R. LINDER

M. M. LUCQUIN

Melle S. MARQUET

M. A. MARTINOT-LAGARDE

M. F. MONTARIOL

M. J. MONTREUIL

M. M. MORIAMEZ

M. M. PARREAU

M. J.P. PEREZ

M. PHAM MAU QUAN

M. P. POUZET

M. J. PROUVOST

M. J. SAVARD

M. F. SCHALLER

M. R. SCHILTZ

Automatique

Géologie Générale

Géologie et Minéralogie

Chimie Physique et Minérale

Géologie et Minéralogie

Calcul Différentiel et Intégral

Biologie Animale

Physique

Electronique

Chimie Organique

Mécanique des Fluides

Biologie Animale

Chimie Minérale

Biologie Végétale

Radioélectricité

Chimie

Physique

I.U.T.

Biologie Végétale

Chimie Physique

Mathématiques

Mécanique des Fluides

Chimie Minérale Appliquée

Chimie Biologique

Physique

Mathématiques

Physique

Mathématiques

Mathématiques

Géologie et Minéralogie

Chimie Générale

Biologie Animale

Physique

Mme M.H. SCHWARTZ

M. J. TILLIEU

M. G. TRIDOT

M. J. VAILIANT

M. E. VIVIER

M. G. WATERLOT

M. R. WERTHEIMER

MAITRES DE CONFERENCES

M. J. BELLET

M. J. BENABOU

M. J. BILLARD

M. P. BOILLET

M. BUI TRONG LIEU

M. Y. CHERRUAULT

M. P. DEVRAINNE

Mme R. DRAN

M. P. GOUDMAND

M. P. GUILBAUT

M. J. GUILLAUME

M. T. HANGAN

M. J. HERZ

M. P. HUARD DE LA MARRE

M. A. LABLACHE-COMBIER

M. L. LACOSTE

M. J. LANDAIS

M. D. LEHMANN

Mme J. LEHMANN

M. C. LOUCHEUX

M. S. MAES

M. M. MONTEL

M. M. PANET

Mathématiques

Physique

Chimie Minérale Appliquée

Mathématiques

Biologie Animale

Géologie et Minéralogie

Physique

Physique

Mathématiques

Physique

Physique

Mathématiques

Mathématiques

Chimie Minérale .

Chimie Organique

Chimie Physique

Physiologie Animale

Biologie Végétale

Mathématiques

Mathématiques Appliquées

Mathématiques Appliquées

Chimie Générale

Biologie Végétale

Chimie Organique

Mathématiques

Mathématiques

Chimie Physique

Physique

Physique

Electrotechnique

M. F. PARSY

M. L. RACZY

M. F. ROBERT

M. G. SAADA

M. E. SEGARD

M. P. VIDAL

Mme N. ZIN-JUSTIN

Mécanique des Fluides

Radioélectricité

Mathématiques Appliquées

Physique

Chimie Biologique

Automatique

Mathématiques

# CONTRIBUTION A L'ETUDE DU CYCLE BIOLOGIQUE ET DE L'INVERSION DU SEXE CHEZ PATELLA VULGATA L. (MOLLUSQUE GASTEROPODE PROSOBRANCHE)

Marcel CHOQUET

Laboratoire de Biologie Animale de la Faculté des Sciences de Lille

Ce travail a été réalisé sous la direction de Monsieur le Professeur M. DURCHON, au Laboratoire de Biologie Animale de la Faculté des Sciences de Lille (directeur : Prof. M. DURCHON). L'étude biologique de <u>P. vulgata</u> dans son milieu naturel et les expériences relatives au chapitre IV de la troisième partie, ont été effectuées lors de séjours à l'Institut de Biologie Maritime et Régionale de Wimereux (directeur : Prof. R. DEFRETIN).

#### SOMMAIRE

INTRODUCTION	p.	1
PREMIERE PARTIE		
ETUDE BIOLOGIQUE DE <u>PATELIA VULGATA</u> L.  DANS SON MILIEU NATUREL		
CHAPITRE I - REPARTITION ET DETERMINATION SPECIFIQUE DES PATELLA DANS LE BOULONNAIS	p.	3
I - RAPPEL DES TRAVAUX ANTERIEURS	p.	3
II - DISTRIBUTION DES PATELLES LE LONG DES COTES DU BOULONNAIS  1 - Le Cap de la Crèche (p. 6)  2 - Le Fort de Croï (p. 6)  3 - Le Cap Gris-Nez (p. 8)	p.	6
III - ETUDE SYSTEMATIQUE DES RELEVES	p.	8
IV - DISCUSSION	p.	15
Conclusion	p.	21

CHAPITRE II - ETUDE STATISTIQUE DE LA REPRODUCTION ET DE LA SEX RATIO	p. 23
I - RAPPEL DES TRAVAUX ANTERIEURS	p. 23
1 - Méthodes de récolte (p. 24)	p. 24
2 - Détermination de l'état génital (p. 25)	
3 - Les différents stades de la maturation sexuelle (p. 25)	
III - RESULTATS	p. 28
A - Périodes de reproduction de P. vulgata dans	
le Boulonnais	p. 28
B - La sex ratio chez P. vulgata	p. 31
1 - Variations annuelles de la population (p. 31)	
2 - Proportion sexuelle en fonction de la	
taille des individus (p. 33)	
Conclusion	p. 38
CHAPITRE III - CROISSANCE ET LONGEVITE DE PATELLA VUIGATA L. DANS	
LE BOULONNAIS	p. 39
I - RAPPEL DES TRAVAUX ANTERIEURS	p. 39
II - METHODES D'ETUDE DE LA CROISSANCE	p. 40
1 - Etude des fréquences de taille (p. 40)	
2 - Stries d'accroissement (p. 40)	
3 - Marquage (p. 41)	
III - RESULTATS	p. 42
A - Croissance globale de la population	p. 42
1 - Croissance des animaux marqués en été (p. 42)	
2 - Croissance des jeunes patelles marquées	
au printemps (p. 45)	

B - Variations de croissance au cours du cycle annuel	p. 45
C - Variations de croissance en fonction de la taille	p. 46
D - Variations de croissance en fonction du milieu	p. 47
DISCUSSION	p. 49
IV - ECLOSION, FIXATION, CROISSANCE ET LONGEVITE DE	
PATELIA VULGATA	p. 52
A - Eclosion et fixation des larves	p. 52
B - Croissance, vie sexuelle et longévite	p. 53
1 - Données numériques et courbe de croissance (p.	53)
2 - Eclosions estivales et automnales (p. 56)	
3 - Eclosions hivernales (p. 57)	
4 - Eclosions printanières (p. 57)	
Discussion	p. 58
Conclusion	p. 60
CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE	p. 61
DEUXIEME PARTIE	
DEUXIEME PARTIE  GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE	
GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE	
GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE AU COURS DU CYCLE NATUREL	p. 63
GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE AU COURS DU CYCLE NATUREL  CHAPITRE I - L'EBAUCHE DE LA GONADE SPERMATOGENESE ET OVOGENESE	
GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE AU COURS DU CYCLE NATUREL  CHAPITRE I - L'EBAUCHE DE LA GONADE SPERMATOGENESE ET OVOGENESE NATURELLES.	p. 63
GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE AU COURS DU CYCLE NATUREL  CHAPITRE I - L'EBAUCHE DE LA GONADE SPERMATOGENESE ET OVOGENESE NATURELLES  INTRODUCTION.	p. 63
GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE AU COURS DU CYCLE NATUREL  CHAPITRE I - L'EBAUCHE DE LA GONADE SPERMATOGENESE ET OVOGENESE NATURELLES.  INTRODUCTION.  I - LA GONADE JUVENILE BISEXUEE	p. 63
GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE AU COURS DU CYCLE NATUREL  CHAPITRE I - L'EBAUCHE DE LA GONADE SPERMATOGENESE ET OVOGENESE NATURELLES.  INTRODUCTION.  I - LA GONADE JUVENILE BISEXUEE.  1 - Position (p. 64)	p. 63 p. 64
GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE AU COURS DU CYCLE NATUREL  CHAPITRE I - L'EBAUCHE DE LA GONADE SPERMATOGENESE ET OVOGENESE NATURELLES  INTRODUCTION  I - LA GONADE JUVENILE BISEXUEE.  1 - Position (p. 64) 2 - Structure (p. 64)	p. 63 p. 64
GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE AU COURS DU CYCLE NATUREL  CHAPITRE I - L'EBAUCHE DE LA GONADE SPERMATOGENESE ET OVOGENESE NATURELLES.  INTRODUCTION.  I - LA GONADE JUVENILE BISEXUEE.  1 - Position (p. 64) 2 - Structure (p. 64)  II - EVOLUTION ULTERIEURE DE LA GONADE. MATURITE GENITALE	p. 63 p. 64

III - SPERMATOGENESE	p.	69
A - Morphologie et structure de la gonade	p.	69
B - Cytologie de la spermatogenèse	p.	70
1 - Spermatogonies (p. 71)		
2 - Spermatocytes (p. 71)		
3 - Spermiogenèse (p. 72)		
C - Evolution de la gonade en phase mâle au cours du		
cycle annuel	p.	73
1 - Période de repos génital (p. 73)		
2 - Les étapes successives de la gamétogenèse (p.	73)	
IV - OVOGENESE	p.	75
A - Cytologie de l'ovogenèse	p.	76
l - Période gamétogénétique (p. 76)		
2 - Période végétative (p. 77)		
3 - Conclusion (p. 80)		
B - Evolution de la gonade en phase femelle au cours		
du cycle annuel	p.	81
1 - Stade de repos apparent (p. 81)		
2 - Evolution de l'ondée ovogénétique (p. 82)		
CONCLUSION DU CHAPITRE	n	84
CONCLOSION DO CHATILIE	p.	
CHAPITRE II - INVERSION SEXUELLE NATURELLE	p.	86
I - CYTOLOGIE DE L'INVERSION SEXUELLE NATURELLE	p.	86
1 - La lignée femelle chez les individus en		
phase mâle (p. 86)		
2 - Le stade de préinversion (p. 88)		
3 - L'inversion sexuelle (p. 88)		

II - EVOLUTION DE LA SEXUALITE CHEZ P. VULGATA	p. 89
1 - Evolution des deux lignées au cours du	
cycle vital (p. 89)	
2 - Les étapes de la sexualité au cours du	
cycle vital (p. 92)	
III - DISCUSSION	p. 94
l - Evolution de la lignée femelle (p. 94)	
2 - L'hermaphrodisme simultané (p. 95)	
3 - La sexualité chez P. vulgata (p. 95)	
4 - Conclusion (p. 96)	
CONCLUSION DE LA SECONDE PARTIE	p. 97
TROISIEME PARTIE	
ETUDE EXPERIMENTALE DE DETERMINISME	
ENDOCRINE CHEZ PATELLA VULGATA L.	
INTRODUCTION	p. 99
LES TECHNIQUES DE LA CULTURE ORGANOTYPIQUE	p. 101
1 - Isolement et mise en culture (p. 101)	
2 - Milieux de culture (p. 101)	
3 - Comportement des explants en culture (p. 102)	
TECHNIQUES HISTCLOGIQUES	p. 103
CHAPITRE I - RECHERCHE DES FACTEURS INTERNES INTERVENANT DANS	
L'EVOLUTION DES GONIES CHEZ LES INDIVIDUS JUVENILES	
	1
ET EN PHASE MAIE. ETUDE IN VITRO	p. 1.04

I - CULTURE DE	GONADES MAIES ISOLEES	p. 104
1 -	Explantation en période de repos (p. 104)	
2 -	Culture de gonades prélevées en période	
	de gamétogenèse (p. 105)	
3 -	Explantation en période d'élimination	
	du sperme (p. 107)	
II - RECHERCHE	DE FACTEURS HUMORAUX D'ORIGINE GONADIQUE	p. 109
1 -	Association de gonades (p. 109)	
2 -	Méthode des broyats (p. 109)	
III - ROLE DU C	CERVEAU DANS LA SPERMATOGENESE IN VITRO	p. 111
1 -	Survie des ganglions cérébroïdes en culture (p.	111)
2 -	Association avec des gonades prélevées en	
	période de repos génital (p. 111)	
3 -	Association de cerveaux avec une gonade en	
	spermatogenèse (p. 113)	
4 -	Association pratiquée en fin de période	
	de reproduction (p. 113)	
5 -	Associations hétérologues (p. 114)	
6 -	Discussion (p. 115)	
IV - ROLE INHIE	BITEUR DU TENTACULE SUR LA SPERMATOGENESE	
IN VITRO	•••••	p. 117
1 -	Survie du tentacule en culture (p. 118)	
2 -	Association autologue gonade-tentacule en	
	période de repos génital (p. 118)	
3 -	Association en période de reproduction (p. 119)	
4 -	Associations hétérologues (p. 119)	
V - ASSOCIATION	DE GONADES AVEC LE COMPLEXE TENTACULE-CERVEAU	n 121
	Associations autologues (p. 121)	h. Tr.T
	Associations homologues (p. 121)	
The second secon	" TEC )	

) - Associations avec un complexe dissocie (p. 12)	1	
4 - Associations hétérologues (p. 124)		
VI - DISCUSSION	p.	124
VII - CULTURE DE GONADES D'ANIMAUX JUVENILES	p.	128
1 - Problème posé par la lignée femelle (p. 128)		
2 - Protocole expérimental (p. 129)		
3 - Résultats (p. 129)		
4 - Discussion (p. 131)		
CONCLUSION DU CHAPITRE	p.	133
CHAPITRE II - INFLUENCE DES FACTEURS INTERNES SUR LA LIGNEE		
OVOGENETIQUE AU COURS DU CYCLE VITAL	p.	135
I - EVOLUTION DE LA LIGNEE FEMELLE DANS LES GONADES EN		
PHASE MALE	_	175
A - Cultures de gonades n'ayant pas atteint le	p.	100
		175
stade de préinversion	р.	135
1 - Explantation en période de repos (p. 135)	,	
2 - Cultures effectuées en période de reproduction	(p.	151
B - Cultures de gonades en préinversion	p.	137
1 - Culture de gonades isolées (p. 138)		
2 - Associations autologues (p. 139)		
3 - Associations hétérologues (p. 141)		
C - Discussion	p.	142
1 - Lignée femelle chez les animaux en phase		
mâle (p. 142)		
2 - Inversion sexuelle expérimentale (p. 144)		
II - CULTURES DE GONADES EN PHASE FEMELLE	p.	146
1 - Cultures effectuées au printemps (p. 146)		
2 - Explantation en période de gamétogenèse (p. 147	7)	
3 - Discussion (p. 149)		
CONCLUSION DU CHAPITRE	p.	150
	-	

CHAPITRE III - ETUDE HISTOLOGIQUE DU COMPLEXE CEPHALIQUE TENTATIVE		
DE LOCALISATION DU CENTRE INHIBITEUR TENTACULAIRE	p.	152
I - ANATOMIE MICROSCOPIQUE DU COMPLEXE CEPHALIQUE	p.	152
A - Morphologie du tentacule	p.	152
1 - Le bourrelet (p. 152)		
2 - Le filament tentaculaire (p. 152)		
B - Structure du complexe nerveux	p.	154
1 - Ganglion cérébroïde (p. 154)		
2 - Innervation tentaculaire (p. 156)		
3 - L'organe juxtaganglionnaire (p. 161)		
C - Discussion	p.	161
II - DONNEES EXPERIMENTALES SUR LA NATURE ENDOCRINE DU		
TENTACULE	p.	164
A - Association d'organes juxtaganglionnaires	p.	164
1 - Protocole expérimental (p. 164)		
2 - Résultats (p. 164)		
B - Tentative de localisation du centre inhibiteur		
tentaculaire	p.	165
1 - Protocole expérimental (p. 165)		
2 - Résultats (p. 166)		
CONCLUSION DU CHAPITRE	p.	169
CHAPITRE IV - ESSAI D'ANALYSE EXPERIMENTALE DES EFFETS PRODUITS PAR		
ABLATIONS IN VIVO	p.	171
I - TECHNIQUES	p.	171
A - Elevages	p.	
1 - Elevages en circuit ouvert (eau de mer		
courante) (p. 171)		
2 - Elevages en milieu naturel (p. 172)		
3 - Elevages au laboratoire, en milieu confiné (p.	173	)

B - Techniques opératoires	p.	173
1 - Ablations du tentacule ou du complexe (p. 174)		
2 - Ablation élective des ganglions cérébroïdes (p.	172	+)
3 - Témoins opérés (p. 175)		
II - RESULTATS	p.	177
A - Comportement post-opératoire. Nutrition, Croissance	p.	177
l - Activité motrice (p. 177)		
2 - Nutrition (p. 178)		
3 - Croissance (p. 178)		
B - Ablations effectuées chez les patelles juvéniles.	p.	179
1 - Mortalité (p. 180)		
2 - Résultats (p. 181)		
3 - Discussion (p. 181)		
C - Ablations effectuées chez des patelles adultes	p.	182
l - Ablations des ganglions cérébroïdes chez des		
animaux en période de repos (p. 182)		
2 - Ablation du cerveau au cours de la		
gamétogenèse (p. 183)		
3 - Ablation des tentacules chez les adultes (p. 18)	+)	
CONCLUSION DU CHAPITRE	p.	185
DISCUSSION GENERALE SUR LE DETERMINISME DE LA SEXUALITE CHEZ		
PATELIA VULGATA L	p.	186
I - THEORIES RELATIVES AU DETERMINISME DU SEXE CHEZ LES		
MOLLUSQUES HERMAPHRODITES	p.	186
1 - Déterminisme phénotypique (p. 186)		
2 - Déterminisme génotypique (p. 187)		
3 - Hypothèse relative au déterminisme hormonal (p.	189	))

II - LES CORRELATIONS ENDOCRINES CHEZ P. VULGATA L	p.	189
A - Culture de gonades isolées	p.	190
B - Rôle du tentacule	p.	192
C - Rôle du cerveau	p.	193
D - Associations avec le complexe tentacule-cerveau	p.	195
E - Les rapports entre tentacule et cerveau	p.	196
F - Conclusion	p.	199
III - LE DETERMINISME DE LA SEXUALITE CHEZ LES INVERTEBRES	p.	200
A - Etude expérimentale chez les Gastéropodes  1 - Les Pulmonés (p. 200)  2 - Chez les Prosobranches (p. 202)	p.	200
B - Etude expérimentale chez d'autres Invertébrés  1 - Facteurs gonadiques (p. 203)  2 - Facteurs cérébraux (p. 204)  3 - Rapports entre glandes androgènes et neurosécrétion (p. 204)	p.	203
RESUME	p.	207
BTRLTOGRAPHTE.	n	211

#### AVANT-PROPOS

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de Biologie animale de la Faculté des Sciences de Lille et au Laboratoire de Biologie maritime et régionale de Wimereux.

C'est pour moi un devoir bien agréable de remercier M. le Professeur M. DURCHON, Directeur du Laboratoire de Biologie animale de Lille qui m'a proposé le sujet de ce travail. Pendant la durée de ces recherches, il n'a cessé de me prodiguer des conseils éclairés et de précieux encouragements. Qu'il veuille bien me permettre de lui exprimer ma profonde et respectueuse gratitude et mon sincère attachement.

Toute me reconnaissance va également à M. le Professeur R. DEFRETIN, Doyen de la Faculté des Sciences, Directeur du Laboratoire de Biologie maritime et régionale de Wimereux. Après avoir guidé mes pas de chercheur, il m'a toujours accueilli avec bienveillance au cours de mes nombreux séjours sur le littoral. Je le prie d'accepter mes très sincères remerciements pour les facilités matérielles qu'il n'a cessé de me prodiguer depuis de nombreuses années.

Je tiens à remercier également M. le Professeur SCHALIER de l'intérêt qu'il porte à mon travail. Je lui suis particulièrement reconnaissant d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

M. L. GOMOT, Professeur à la Faculté des Sciences de BESANÇON, m'a fait le grand honneur de s'intéresser à mes recherches. Il a accepté de juger ce travail et de participer à mon jury de thèse. Je me permets de lui témoigner ma vive et sincère gratitude.

Mme L. MEUNIER, aide-technique, m'a aidée avec dévouement et compétence dans les taches ingrates que nécessitent les cultures organotypiques; je tiens à lui redire mon amicale reconnaissance.

#### INTRODUCTION

Pendant longtemps, les Gastéropodes Prosobranches ont été considérés comme gonochoriques; cependant les études statistiques de population et les recherches cytologiques ont permis de montrer que certaines espèces présentaient un changement de sexe au cours de leur cycle vital.

L'existence d'un hermaphrodisme successif a été démontrée chez certains Monotocardes et Diotocardes. Sans entrer dans le détail, il convient de signaler, pour les premiers, les travaux de ANKEL (1926, 1930), IAURSEN (1953) et GRAHAM (1954) chez les Janthinidae, de ANKEL (1936) chez les Scalidae.

Les Calyptraeacea ont fait l'objet de nombreuses recherches : PELLEGRINI (1949), BACCI (1951 b), WYATT (1957) ont étudié le cycle génital de Calyptraea simensis L. et montré que chaque individu passe par une phase fonctionnelle mâle puis change de sexe à un stade précis du cycle biologique. Chez les Crépidules, les résultats obtenus par différents auteurs montrent que l'inversion sexuelle peut intervenir plus ou moins précocement. Les principaux travaux ont été réalisés par GOUID (1917 a, b, 1919, 1947, 1949, 1952) chez Crepidula plana Say.,

ORTON (1909), COE (1935, 1936 b, 1938 a, c, 1948, 1953) et WALNE (1956) chez Crepidula fornicata L., ISHIKI (1936, 1939) chez Crepidula aculeata et C. walshi, COE (1942 a) chez Crepidula onyx.

Chez les Diotocardes, l'hermaphrodisme successif se rencontre essentiellement chez les <u>Patellacea</u>. Signalé par WILLCOX (1898) chez <u>Acmaea fragilis</u>, il a été surtout étudié chez les <u>Patellidae</u>; ORTON (1920, 1928 b, 1946) est le premier à émettre l'hypothèse de l'existence d'un hermaphrodisme protandre chez <u>Patella vulgata</u> L. que d'autres travaux sur lesquels nous reviendrons ultérieurement (1<sup>ere</sup> partie, chapitre II) ont confirmée.

Cependant, les causes de l'inversion sexuelle sont très mal connues et les données expérimentales sont à ce jour encore fragmentaires. En l'absence de résultats concernant les facteurs endocrines intervenant dans ce mécanisme, on considère généralement que la détermination du sexe s'effectue génétiquement ou sous l'influence de conditions externes.

Si, chez les Pulmonés, les travaux de LAVIOLETTE (1954), LUSIS (1961, 1966) PELLUET et LANE (1961) ont permis de montrer l'existence de facteurs

internes d'origine gonadique, tentaculaire ou cérébrale intervenant dans le cycle génital, peu de recherches ont été effectuées chez les Prosobranches. GOULD et COE ont tenté de montrer le rôle joué par l'association d'individus âgés et de jeunes animaux dans le changement de sexe chez <u>Crepidula</u> mais WILCZINSKI (1958) réfute les interprétations proposées par ces deux auteurs.

Récemment STREIFF (1967) a effectué des recherches expérimentales chez <u>Calyptraea sinensis</u> L. Grâce aux méthodes modernes de cultures organotypiques, cet auteur a pu mettre en évidence l'existence de facteurs endocrines réglant l'évolution du tractus génital. En phase mâle sa morphogenèse nécessite l'intervention d'une hormone émise par le tentacule oculaire mâle.

La régression du pénis est déterminée par une autre hormone émise par le système nerveux central. Le tractus femelle est sous la dépendance d'un facteur endocrine issu également du cerveau mais indépendant du précédent.

L'évolution de la gonade est également liée à des facteurs internes : la gamétogenèse mâle ne peut s'effectuer qu'en la présence permanente d'une hormone masculinisante émise par le système nerveux mâle tandis que la phase femelle serait due à l'intervention d'impulsions hormonales se superposant à un phénomène d'autodifférenciation oocytaire.

La première partie de ce travail est consacrée à la détermination spécifique des patelles du Boulonnais, à l'étude statistique de la <u>sex-ratio</u> ainsi qu'à celle de la croissance et de la longévité.

Dans une seconde partie, nous envisagerons l'histogenèse de la gonade ainsi que l'étude de la gamétogenèse et de l'inversion sexuelle naturelles.

Enfin, dans la dernière partie, nous analysons et discutons les résultats expérimentaux relatifs aux corrélations endocrines intervenant au cours du cycle sexuel.

Ce travail ne prétend pas élucider complètement et définitivement le mécanisme de l'évolution des lignées mâle et femelle au cours du cycle vital chez <u>P. vulgata</u> mais il constitue une première contribution à son étude.

#### PREMIERE PARTIE

#### ETUDE BIOLOGIQUE DE PATELLA VULGATA L. DANS SON MILIEU NATUREL

#### CHAPITRE I

# REPARTITION ET DETERMINATION SPECIFIQUE DES <u>PATELLA</u> DANS LE BOULONNAIS

Les recherches que nous avons entreprises sur la biologie sexuelle des Patelles nous ont conduit à effectuer de nombreux relevés périodiques sur les côtes du Boulonnais pour avoir une connaissance précise des espèces présentes.

#### I - RAPPEL DES TRAVAUX ANTERIEURS

Sans entrer dans le détail, nous rappellerons que les principaux travaux relatifs à la systématique du genre <u>Patella</u> sont dûs essentiellement à P. FISCHER (1865), JEFFREYS (1865), PILSERY (1891), DAUTZENBERG et ses collaborateurs (1887 à 1913). Les critères de détermination spécifique utilisés actuellement sont dûs à FISCHER-PIETTE (1932), ESLICK (1940), EVANS (1947 c, 1953), FISCHER-PIETTE et GAILLARD (1959). Ils reposent sur le rapport entre la longueur de la radula et celle de la coquille (R/C), sur les caractères de coloration des papilles du manteau, la forme des dents pluricuspidées et unicuspidées de la radula. Eventuellement, le critère biologique de la période de maturité génitale peut être utilisé : ORTON (1946), FISCHER-PIETTE (1946). Sur ces bases, les espèces rencontrées le long des côtes de l'Atlantique et de la Manche sont les suivantes (Plymouth Marine Fauna 1957) :

#### P. vulgata L.

# P. aspersa Lamarck 1819

- = P. athletica Bean 1844; Winckworth 1932; Evans, 1947
- = P. depressa Jeffreys 1865; Fischer-Piette, 1932, 1935; Eslick, 1940; Orton, 1946.

P. intermedia Jeffreys; Fischer-Piette 1935, 1948; Eslick, 1940; Orton (1946)

- = P. vulgata variété intermedia Jeffreys 1865
- <u>P. depressa</u> Pennant 1777, Plymouth Marine Fauna 1957
  Evans (1947, 1953, 1958), BRIAN et OWEN (1952), DODD (1956),
  ORTON et SOUTHWARD (1961).

Pour cette dernière espèce nous utiliserons le terme de <u>P. depressa</u>, le plus fréquemment employé par les <u>auteurs</u> ayant effectué les <u>recherches</u> les plus récentes sur cette espèce.

En ce qui concerne la répartition, il faut se référer aux travaux de DAUTZENBERG et collaborateurs (1887 à 1913), ORTON (1929), FISCHER-PIETTE (1932, 1935, 1941), ESLICK (1940), EVANS (1947 a, b, c, 1953, 1958), DAS et SESHAPPA (1947), BRIAN et OWEN (1952), SOUTHWARD et CRISP (1954), EBLING et collaborateurs (1962). Les principales stations d'études des Patelles ouest européennes ont été rapportées sur la figure 1.

Sur les côtes anglaises, <u>P. vulgata</u> existe partout ; <u>P. depressa</u> disparaît à l'est de l'île de Wight (EVANS, 1953) ; elle est absente des Iles Scilly (FISCHER-PIETTE, 1936) et ne se rencontre pas au delà d'Anglesey, sur la côte ouest (CRISP et KNICHT-JONES, 1955). Quant à <u>P. aspersa</u>, elle ne semble présente qu'au sud et à l'ouest du pays et existerait également le long des côtes orientales de l'Ecosse (CRISP et SOUTHWARD, 1958).

Le long du littoral français, les recherches récentes basées sur des diagnoses précises concernent essentiellement la région comprise entre les Sables d'Olonnes et Dieppe; selon FISCHER-PIETTE, seule <u>P. vulgata</u> est présente au nord des Iles St MARCOUF, au large du Cotentin.

On doit également à FISCHER-PIETTE (1932, 1935) et à EVANS (1958) une étude sérieuse des patelles de la côte basque.

Le matériel utilisé pour nos recherches expérimentales provenant de la région de Boulogne-sur-Mer, il nous a semblé nécessaire de préciser la spécificité des patelles en appliquant les critères de détermination les plus récents.



Fig. 1 - Principales stations d'études des patelles Ouest européennes.

#### II - DISTRIBUTION DES PATELLES LE LONG DES COTES DU BOULONNAIS

Dans cette région, PELSENEER (1926) ne mentionnait l'existence que de <u>P. vulgata</u>; cependant cette conclusion ne peut être admise sans réserve étant donné l'absence, à cette date, de caractères spécifiques précis.

La région que nous avons étudiée s'étend d'Equihen au Cap Gris-Nez (fig. 2); constituée de terrains jurassiques, cette zone est encadrée au nord par des falaises crétacées et au sud par une plage sableuse.

Nos relevés périodiques ont été effectués essentiellement sur la digue Carnot, au Cap de la Crèche, au Fort de Croï et au Cap Gris-Nez.

### 1 - Le Cap de la Crèche

Cette région est constituée de terrains portlandiens dont la base est représentée par un banc de grès qui s'avance vers le large.

Le Cap présente deux zones distinctes :

Au sud de la digue existe un mode battu caractérisé par la présence de quelques touffes de <u>Pelvetia canaliculata</u> L. et une ceinture de <u>Fucus</u> (essentiellement <u>F. serratus</u> L.). La zone des Laminaires est faiblement découverte, même au moment des plus fortes marées.

Sur la face nord, le mode calme est caractérisé par l'abondance d'Ascophyllum nodosum L. qui tend à se substituer aux <u>Fucus</u>. La ceinture de Laminaires (<u>L. digitata</u> Harv. et plus rarement <u>L. saccharina</u> Lamour) est largement découverte en basse mer de vive eau.

# Répartition des Patelles

D'une façon générale, la population de Patelles est répartie d'une façon discontinue; les individus sont essentiellement fixés entre les stipes de <u>Fucus</u> et sur les rochers nus, surtout dans la zone des <u>F. serratus</u>.

Nous n'avons trouvé comme seule espèce que <u>P. vulgata</u> dont la limite d'extension verticale se situe à peu près entre les hautes et les basses mers de morte-eau.

#### 2 - Le Fort de Croï

Au fort de Croï, où l'<u>Ascophyllum nodosum</u> est absent et où les ceintures de phéophycées sont largement représentées, seule <u>P. vulgata</u> est présente. Il en est de même sur la face Nord de la digue Carnot, la seule qui soit accessible.

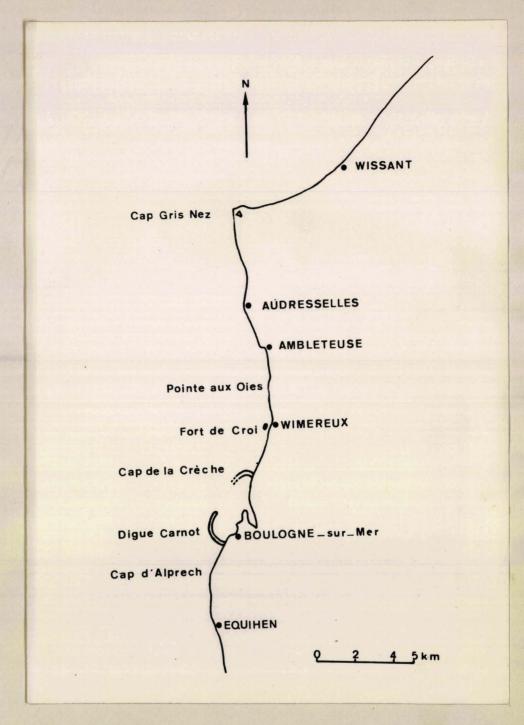


Fig. 2 - Carte schématique du littoral boulonnais et emplacement des stations de récolte.

#### 3 - Le Cap Gris-Nez

Formée essentiellement de grès jurassique, cette région présente deux zones caractérisées, l'une par la présence de <u>P. canaliculata</u> et d'<u>A. nodosum</u>, l'autre par un revêtement exclusif de <u>Fucus</u>. Quelque soit le biotope envisagé, nous n'avons récolté que l'espèce <u>P. vulgata</u>.

#### III - ETUDE SYSTEMATIQUE DES RELEVES

Le grand nombre d'exemplaires recueillis aux différents points envisagés ci-dessus nous a permis d'effectuer une étude précise des individus en envisageant successivement le rapport R/C et la morphologie des dents radulaires.

#### 1 - Rapport R/C

Rappelons que ce rapport est établi pour chaque individu en fonction de la longueur de la radula et de celle de la coquille.

Les études ont porté sur des patelles provenant de quatre stations (fig. 2, 3, 4); dans tous les cas, les mesures ont été faites sur 50 individus en prenant soin d'examiner des animaux de toute taille et récoltés à différents niveaux. Dans le tableau I, sont groupées les caractéristiques relatives aux stations et niveaux de récolte ainsi que les valeurs moyennes et extrêmes du rapport envisagé.

Il convient de comparer ces résultats à ceux des auteurs ayant étudié les patelles des côtes de l'Atlantique et de la Manche.

FISCHER-PIETTE (1935) donne pour <u>P. vulgata</u> des valeurs du rapport R/C variant de 1,66 (Le Conquet) à 1,75 (St Jean de Luz et diverses localités jusqu'à Fécamp). Ultérieurement, cet auteur trouve des valeurs de 1,70 à Dieppe (1941), 1,60 à St Jean de Luz (nouvelles études de 1948) et 1,80 à Dinard (1948).

Des variations semblables sont enregistrées si l'on compare les résultats d'ESLICK (1940) à ceux d'EVANS (1953) qui trouvent respectivement des valeurs de 1,51 à Port St Mary (Ile de Man) et de 1,46 (Alum Bay) à 1,87 (Bognor reef) sur la côte sud de l'Angleterre.

D'autre part BRIAN et OWEN (1952) ont montré que le rapport R/C varie en fonction des niveaux de récoltes ; il est plus faible pour la population des bas niveaux que pour celle des niveaux supérieurs de la zone intercotidale. Ce fait est confirmé par EBLING et collaborateurs (1962) qui

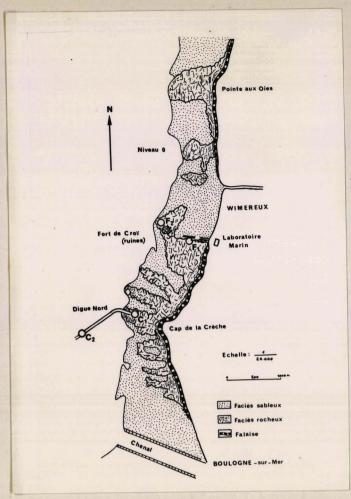


Fig. 3 - Faciès de la zone intercotidale et emplacement
des stations de récolte
entre Boulogne et le
lieu-dit "La Pointe aux
Oies".

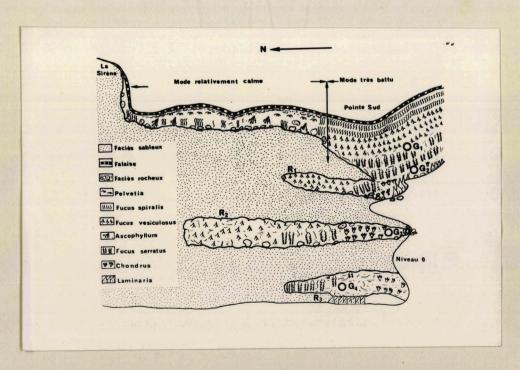


Fig. 4 - Schéma de la zone intercotidale au niveau du Cap Gris-Nez : faciès, répartition des Phéophycées, emplacement des stations.

TABLEAU I - Variations du rapport R/C chez Patella vulgata dans les différentes stations de la côte.

Valeur ) moyenne ) type )	1,55 ± 0,14 )	1,55 ± 0,14 )	1,60 ± 0,11)	1,51 ± 0,16) 1,42 ± 0,14) 1,40 ± 0,16) 1,58 ± 0,16)
Valeurs extrêmes	1,30 - 2;11	1,16 - 1,58	1,15 - 2,09	1,00 - 1,88 1,10 - 1,78 1,20 - 1,92
Nombre d'individus	20 20	20	20	50 50
Niveau algologique	F. vesiculosus F. serratus	F. serratus Pas de Fucus	F. vesiculosus F. serratus	F. vesiculosus F. serratus Chondrus crispus F. serratus
Lieu	Face Nord Face Nord	Face Nord Extrémité de Digue	Digue Ruines du fort	Pointe Sud " " R2 R3
Nomenclature du relevé	D <sub>2</sub>	$^{\circ}_{2}$	т н п с	6 2 6 1 6 4
Station	Digue Carnot (fig. 2)	Cap de la Crèche (fig. 3)	Fort de Crof (fig. 3)	Cap Gris-Nez (fig. 4)

enregistrent une diminution progressive de la valeur du rapport R/C depuis les hauts niveaux (1,66) jusqu'aux niveaux les plus inférieurs (1,30).

Les chiffres que nous avons obtenus pour <u>P. vulgata</u> se montrent inférieurs à ceux donnés par FISCHER-PIETTE, EVANS, BRIAN et OWEN; ils sont par contre très voisins de ceux rapportés par EBLING.

D'autre part, ces chiffres ne peuvent s'appliquer à l'espèce <u>aspersa</u>; en effet les valeurs numériques relevées dans des travaux antérieurs ont un taux moyen inférieur à celui que nous enregistrons sur nos côtes (tableau II).

TABLEAU II - Variations du rapport R/C chez Patella aspersa le long des côtes ouest européennes.

( Auteur (	Année	Localité	Valeur moyenne	
( FISCHER-PIETTE (	: : 1935	Le Conquet	1,03	?
( " "	: 1941 :	Dinard	1,15	0,8 - 1,4
( " "	1948	Côte basque	1,03	0,7 - 1,3
( ESLICK	1940	Ile de Man	1;05	0,93 - 1,25
( EVANS : ( : ( : : : : : : : : : : : : : : :	1953	Côte sud de l'Angletterre	1,03 à : 1,18 :	0,73 - 1,47 ) )

Il convient cependant d'être plus circonspect si l'on effectue une comparaison avec les valeurs connues pour P. depressa (tableau III).

<u>TABLEAU III</u> - Variations du rapport R/C chez <u>Patella depressa</u> le long des côtes ouest européennes.

( Auteur	: Année	Localité	Valeur moyenne	Valeurs extrêmes
( FISCHER-PIETTE (	1935	Le Conquet	1,8	?
( " "	: 1941	Dinard	: 2,1 :	1,6 - 2,7
( " "	1948	St Jean de Luz	1,67	1,2 - 2,2
( EVANS (	1953	Côte sud de l'Angleterre	1,43 à :	1,14 - 2,60 )

On constate que l'étude biométrique du coefficient radulaire n'est bien discriminative que pour <u>P. aspersa</u> mais pour séparer entre elles les deux autres espèces, elle l'est peu, les valeurs moyennes étant très voisines. Cette dernière considération nous a amené à effectuer une étude plus approfondie de certains relevés et à envisager l'examen morphologique des individus et l'étude microscopique des dents radulaires.

# 2 - Etude critique de certains relevés

## a) Morphologie

Quelle que soit la station envisagée, les coquilles des Patelles vivant dans les hauts niveaux sont plus hautes que celles des individus peuplant les bas niveaux.

Les côtes, alternativement grandes et petites vont de l'apex aux bords de la coquille, ces derniers ne possèdent pas les crênelures des coquilles déprimées de <u>P. aspersa</u> et l'ornementation ne présente pas les fines côtes de <u>P. depressa</u>.

L'observation des papilles du manteau n'apporte pas de conclusion valable car si, chez certains individus, elles sont transparentes, chez d'autres elles sont blanchâtres; or, il faut rappeler que chez <u>aspersa</u> et <u>depressa</u>, ces papilles sont blanches.

La coloration du corps est également très variable, allant de l'orangé au brun noir.

L'ensemble de ces critères se révèle donc insuffisant pour affirmer la seule présence de l'espèce vulgata.

#### b) Etude des dents de la radula

L'examen du ruban radulaire pratiqué sur 50 individus selon la technique de FISCHER-PIETTE (1935) montre que, dans la majeure partie des cas, les dents pluricuspidées n'ont pas la forme typique décrite par cet auteur et ne correspondent ni aux figures données par EVANS (1953) pour les groupes A B C E F G de P. vulgata, ni à celles des groupes A B D de P. depressa. Il y a par contre similitude de forme entre les dents du groupe D de P. vulgata et C de P. depressa (fig. 5 A, B). L'examen de ces dents nous a conduit à les homologuer au type D de P. vulgata car la cuspide externe est aigüe; il en est de même pour la cuspide interne qui est cependant plus élevée que celle décrite par EVANS (fig. 5 D<sub>1</sub>). Chez P. depressa, ces mêmes cuspides sont arrondies (fig. 5 B).

D'autre part, nous n'avons jamais observé de dents du type aspersa (fig. 5 C) où la cuspide la plus haute est externe alors que chez les autres espèces (vulgata, depressa) elle occupe une position médiane.

Cependant, pour compléter ces déterminations, nous avons eu recours à l'observation des dents unicuspidées après dissociation d'une rangée selon la technique de FISCHER-PIETTE et GAILLARD (1959). Après traitement d'un fragment de radula à l'eau de javel diluée, il est facile d'extraire les dents entières sans les léser. L'examen microscopique nous a permis de constater que ces dents présentaient une similitude de forme (fig. 5, D, 3,4) avec celles décrites par ces auteurs. L'ensemble de ces critères de détermination nous ont conduit à admettre la seule présence de P. vulgata le long des côtes du Boulonnais où cette espèce présente des variations d'aspect extérieur et de caractères radulaires en fonction des niveaux et des stations étudiés.

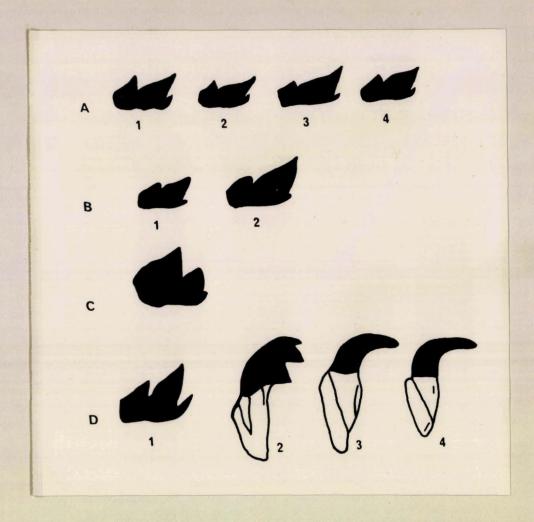


Fig. 5 - Quelques aspects des dents de la radula des patelles atlantiques européennes.

- A : Dents pluricuspidées du groupe D chez <u>Patella</u> <u>vulgata</u> (d'après EVANS)
- B: Dents pluricuspidées du groupe C chez <u>Patella</u> <u>depressa</u> (d'après EVANS)
- C : Une dent pluricuspidée de <u>Patella aspersa</u> (d'après EVANS)
- D: Morphologie des dents radulaires des <u>P. vulgata</u> du littoral boulonnais

1 - 2 : dents pluricuspidées

3 : deuxième dent latérale unicuspidée

4 : première dent latérale unicuspidée

#### IV - DISCUSSION

#### 1 - Phylogénie des patelles atlantiques

Les études de biométrie radulaire entreprises chez les patelles des côtes de l'Atlantique et de la Manche ont donné des résultats très variables pour chaque espèce.

C'est ainsi que pour <u>P. vulgata</u>, les valeurs numériques du coefficient R/C varient de 1,30 (EBLING et coll., 1962) à 1,87 (EVANS, 1953). Une première explication de ce phénomène nous est fournie par l'existence, dans certaines régions, de patelles atypiques. En effet, FISCHER-PIETTE (1935) observe sur la côte basque et à l'île de Wight des formes transitoires coexistant avec les patelles typiques des espèces <u>vulgata</u>, <u>aspersa</u> et <u>depressa</u> et, dans ces deux stations, il rencontre même des individus possédant certains caractères de l'espèce méditerranéenne <u>coerulea</u>.

EVANS (1953) confirme, par l'étude systématique des caractéristiques de la coquille, de la forme des dents pluricuspidées et du rapport R/C, l'existence de tels hybrides le long de la côte sud de l'Angleterre; leur fréquence augmente d'Ouest en Est jusqu'à l'Île de Wight où ces individus forment la majorité de la population.

Une première hypothèse sur l'origine de ces formes transitoires a été émise par FISCHER-PIETTE : l'apparition d'hybrides par fécondations croisées entre les différentes patelles.

Cependant, dans les stations où on rencontre ces formes transitoires, P. coerulea n'est pas présente; on ne peut donc pas expliquer par un tel mécanisme biologique l'existence de patelles possédant certains des caractères de cette espèce.

Par contre, on pourrait concevoir la possibilité d'une hybridation entre les trois espèces atlantiques : <u>vulgata</u>, <u>depressa</u>, <u>aspersa</u>. ORTON (1946) a réalisé, sur le littoral nord des Cornouailles, des expériences de fécondation croisée et obtenu une faible survie des hybrides issus de ces croisements ; jusqu'à présent, l'existence de vrais hybrides n'a pu encore être démontrée. De plus, dans certaines régions, <u>P. vulgata</u>, <u>P. depressa</u> et <u>P. aspersa</u> coexistent en une même station sans qu'on observe de formes de passage (exemple : la côte nord bretonne).

La seconde hypothèse formulée par FISCHER-PIETTE et qu'il considère comme la plus valable est que "le groupe <u>Patella</u> est un groupe polymorphe,

de grande variabilité et capable d'acquérir des caractères quelque peu variables sous des climats différents. Ce groupe a tendance à se fractionner en espèces distinctes; ce fractionnement est réalisé en certaines régions, il ne l'est pas en d'autres".

Cet auteur émet alors l'idée qu'il existe un "stock commun vulgata - depressa - coerulea - aspersa".

Or, simultanément, ORTON et FISCHER-PIETTE, en 1946, découvrent des différences entre les dates de reproduction des trois espèces atlantiques et ce dernier auteur, en utilisant ce nouveau critère, reprend, en 1948, l'étude des patelles de la côte basque où les formes transitoires s'étaient révélées très nombreuses en 1935. Il constate alors que, si l'on exclut les P. vulgata et P. aspersa, bien reconnaissables, tous les autres individus sont au même stade d'évolution génitale et appartiennent tous, y compris les types de forme intermédiaire, à l'espèce P. depressa.

L'étude des dents pluricuspidées montre également que les formes très variées qu'il avait interprétées comme assurant le passage aux autres espèces sont bien à rapporter à P. depressa.

FISCHER-PIETTE adopte alors une position plus restrictive que celle prise en 1935 et il admet l'existence d'un "stock commun depressa - coerulea". A partir de cette souche, se sont individualisées deux sous-espèces : les <u>P. depressa</u>, telles qu'on les rencontre en Bretagne et les <u>P. coerulea</u> méditerranéennes. <u>P. vulgata</u> et <u>P. aspersa</u> gardent leur individualité partout où elles existent.

Si, dans l'Île de Wight, une telle espèce souche <u>depressa-coerulea</u> existait, les caractères de <u>P. coerulea</u> se rencontreraient chez les individus de <u>P. depressa</u>.

Or, EVANS (1953) note que seule P. vulgata présente les caractères de <u>coerulea</u> et ces observations suggèrent davantage une parenté entre <u>coerulea</u> et <u>vulgata</u> qu'entre coerulea et depressa.

D'autre part, il existe plus de formes <u>P. vulgata/depressa</u> et <u>P. vulgata/aspersa</u> que de <u>P. depressa/aspersa</u> et <u>P. aspersa/depressa</u>, ce qui semble indiquer que <u>P. aspersa</u> et <u>P. depressa</u> sont plus voisines de <u>P. vulgata</u> qu'elles ne le sont l'une de l'autre.

P. vulgata semble donc se comporter comme une souche d'où sont issues
P. depressa, aspersa et coerulea.

FISCHER-PIETTE admettait que <u>P. vulgata</u> et <u>aspersa</u> étaient stables, or, EVANS observe, surtout chez la première espèce, de nombreuses formes atypiques.

Ainsi à BOGNOR, station située à plus de 40 km à l'est de la région la plus proche où se reproduisent <u>P. aspersa</u> et <u>P. depressa</u>, <u>P. vulgata</u> existe seule ; à Bognor reef (station battue), on rencontre 25 % de formes hybrides alors qu'à Bognor pier (zone abritée) on ne rencontre que des <u>P. vulgata</u> typiques.

Selon EVANS, de la souche commune <u>vulgata</u>, qui existe seule à Bognor, s'est individualisée, dans l'île de Wight, l'espèce <u>aspersa</u>. <u>P. depressa</u> qui n'est pas encore spécifique dans cette dernière station atteint son plein épanouissement sur la côte ouest, notamment à Cardigan Bay. Par contre, vers l'est (Brighton) c'est <u>P. vulgata</u> qui trouve des conditions écologiques favorables à sa prospérité. Quant à <u>P. coerulea</u>, elle n'atteint jamais, sur les côtes anglaises, le stade d'espèce.

En 1958, EVANS reprend l'étude des patelles de la Bretagne à la côte basque et montre que dans cette dernière région <u>P. depressa</u> est plus apparenté à <u>P. vulgata qu'à P. coerulea</u>.

Il réfute donc l'hypothèse de FISCHER-PIETTE et confirme ses suggestions concernant l'existence d'une espèce souche <u>vulgata</u>.

Si l'on conçoit l'existence d'une origine commune pour les quatre espèces de patelles ouest européennes, par contre, on ignore tout des causes qui ont provoqué la diversification en espèces distinctes.

On peut cependant penser que des facteurs climatiques et écologiques sont impliqués dans ce phénomène.

#### Facteurs climatiques

Si l'espèce <u>coerulea</u>, bien individualisée en Méditerranée, semble cantonnée dans des mers assez tempérées, par contre les autres espèces qui vivent dans des mers plus froides ont une répartition qui n'est pas aussi nette que pour <u>P. coerulea</u>. En effet, elles coexistent en certaines stations alors que dans d'autres régions, où le climat est identique, certaines n'apparaissent pas.

Il semble donc que les facteurs climatiques ne soient pas responsables de l'évolution phylogénétique du genre <u>Patella</u> en Europe occidentale puisque dans 2 régions aussi différentes du point de vue climatique que sont la côte basque et le sud de l'Angleterre, on observe les mêmes caractéristiques évolutives.

#### Facteurs écologiques

P. coerulea trouve son maximum d'expansion en Méditerranée. Les autres espèces au contraire affectionnent les côtes soumises au phénomène rythmique des marées.

Cependant, elles ont chacune des exigences écologiques spécifiques. On peut remarquer que là où les côtes sont assez abritées et où existent des mares à Lithothamnium, on trouve <u>P. vulgata</u> et <u>aspersa</u> (ESLICK, 1940); lorsque le littoral est très battu les espèces dominantes sont <u>depressa</u> et <u>aspersa</u> (EVANS 1947 a, b) (SOUTHWARD et ORTON, 1954), <u>P. vulgata</u> étant cantonnée dans les plus hauts niveaux.

Pour pouvoir juger objectivement de l'importance des facteurs écologiques, il importerait d'étudier le comportement de patelles transférées dans des stations où elles n'existent pas naturellement.

Sur la côte hollandaise, la seule espèce autochtone est <u>P. vulgata</u> (LUCAS, 1954). Il arrive cependant que <u>P. depressa</u> et <u>P. aspersa</u> soient rejetées sur ce littoral, fixées sur la phéophycée <u>Himanthalia</u> sp., mais aucune d'elles ne s'établit sur les rochers, peut être à cause de conditions écologiques défavorables.

Outre ces facteurs, il conviendrait peut être d'envisager la physiologie sexuelle. En effet, on sait que du point de vue génital, il existe des analogies très étroites entre les modalités de l'hermaphrodisme protandrique chez P. vulgata (ORTON, SOUTHWARD et DODD, 1956) et P. coerulea (BACCI, 1947). La majeure partie des individus de ces deux espèces subissent l'inversion sexuelle irréversible, le reste de la population étant gonochorique. Chez P. depressa et P. aspersa, l'hermaphrodisme ne semble affecter qu'un très faible pourcentage des individus et n'existerait même pas chez cette dernière espèce (DODD, 1956).

Il serait intéressant d'étudier statistiquement le cycle génital des patelles atypiques de la côte basque et de l'Île de Wight, pour préciser l'évolution sexuelle des formes transitoires <u>P. vulgata/depressa</u> et P. <u>vulgata/aspersa</u>.

Cette étude, étayée par le contrôle histologique permettrait peut être d'apporter des précisions nouvelles sur la phylogénie des patelles européennes.

# 2 - Spécificité des patelles du Boulonnais

La coexistence de formes atypiques et de patelles spécifiques permettrait ainsi de comprendre les variations observées, en biométrie du coefficient radulaire, entre les individus de différentes stations du sud de l'Angleterre et de la côte basque.

Dans d'autres régions du littoral ouest européen, les valeurs du coefficient R/C obtenues chez <u>P. vulgata</u> sont plus stables et correspondent à des types évolués n'ayant pas d'autre caractère que celui de l'espèce envisagée.

EVANS (1953) signale cependant qu'à Brighton et Newhaven, donc dans la partie orientale du littoral sud britannique, si P. vulgata présente des variations, aucune ne s'oriente dans le sens aspersa, depressa ou coerulea.

Les patelles du Boulonnais montrent des caractères identiques à ceux présentés par les individus de ces deux stations anglaises.

L'examen des dents pluricuspidées et unicuspidées nous amène à considérer que la population est spécifiquement homogène, et si on envisage l'hypothèse d'EVANS sur l'existence d'une souche <u>vulgata</u>, on peut penser que sur les côtes septentrionales françaises l'espèce <u>P. vulgata</u> est nettement individualisée. Dans le Boulonnais, les conditions écologiques ne semblent favorables qu'à l'existence de cette espèce.

De nombreuses stations de cette région sont en effet beaucoup moins soumises à l'action violente des vagues que ne le sont les côtes atlantiques et celles du sud et de l'ouest des îles britanniques; dans ces zones,

P. depressa et aspersa trouvent des conditions optimales à leur prospérité.

La station qui serait la plus favorable à ces deux espèces est le Cap Gris-Nez, mais nous n'en n'avons jamais recueilli d'exemplaires, même aux plus bas niveaux exondés en basses mers de vive eau.

L'absence de mares à Lithothamnium ne favorise pas non plus l'implantation de <u>P. aspersa</u> qui affectionne ce biotope. De plus, il convient de mentionner la présence constante, sous le niveau des mers de morte eau d'une

pellicule de vase renfermant <u>Polydora ciliata</u> Johnston, autre cause défavorable au peuplement des bas niveaux du littoral par les patelles.

Il convient d'ajouter que cette zone rocheuse est géographiquement et écologiquement isolée, les stations les plus proches où vivent <u>P. aspersa</u> et <u>P. depressa</u> étant celles étudiées par EVANS (côte sud de l'Angleterre, d'Ouest en Est, jusqu'à l'Île de Wight). Les larves ayant une vie pélagique brève semblent incapables de parcourir une telle distance avant de se fixer.

Sur les côtes du Boulonnais, <u>P. vulgata</u> est bien individualisée, la population est spécifiquement homogène et il n'existe pas de types transitoires avec les espèces depressa et aspersa.

Cependant les valeurs numériques obtenues dans l'étude biométrique de la radula sont faibles et variables avec le niveau de récolte, il importe donc d'étudier les raisons qui peuvent expliquer ce phénomène.

## 3 - Variabilité du coefficient radulaire chez Patella vulgata

Il convient d'être prudent dans les comparaisons de résultats obtenus, en biométrie du coefficient radulaire, par les chercheurs ayant travaillé dans des stations où les formes transitoires sont absentes, et où chaque individu possède les caractères propres à son espèce; en effet, BRIAN et OWEN (1952) ayant montré que le coefficient R/C variait en fonction du niveau de récolte, il importe de connaître les zones où les relevés ont été effectués.

Notons également que certains auteurs n'ont réalisé leurs calculs qu'avec un nombre restreint d'individus, ce qui entraîne des valeurs moyennes contestables de R/C.

Une des causes de la variabilité du coefficient radulaire nous est suggérée par les remarques de RUSSEL (1907) : les patelles des hauts niveaux possèdent une coquille plus élevée que celles des niveaux inférieurs. Ces variations de forme ont d'ailleurs conduit FISCHER-PIETTE (1948) à décrire, à Dinard, deux écotypes de P. vulgata : la variété conica cantonnée dans la zone intercotidale supérieure (R/C : 2,34) et les patelles aplaties des bas niveaux (R/C : 1,50). ORTON (1933) explique cette différence de forme par des causes mécaniques : par contractions musculaires, les individus vivant sur les rochers fréquemment exondés se fixent solidement sur le substratum, ils gardent ainsi un peu d'eau entre la coquille et la masse viscérale pour

lutter contre la dessication. La croissance en hauteur est plus importante que celle de l'ouverture de la coquille ; ces patelles ont donc une forme plus élevée que celle des exemplaires vivant aux bas niveaux.

MOORE (1934) apporte une preuve expérimentale de l'hypothèse d'OR-TON en soumettant des patelles marquées à des conditions écologiques variables. Il remarque que le diamètre de l'ouverture augmente lorsque le temps d'exposition à l'air diminue. Chez les individus ayant commencé leur existence aux niveaux supérieurs et placés ensuite dans une zone plus longtemps immergée, on observe, sur la coquille, l'apparition d'un rebord marquant un changement de croissance corrélatif de la modification des conditions de vie.

JONES (1948) remarque que chez <u>P. vulgata</u>, les individus immergés se déplacent activement et passent plus de temps à se nourrir que ceux vivant sur des rochers fréquemment exondés ; ERIAN et OWEN (1952) tirent de ces observations l'hypothèse d'une usure rapide de la radula chez les patelles des bas niveaux, ce qui entraînerait un coefficient radulaire plus faible.

Notons que les variations observées en biométrie du coefficient radulaire ne s'appliquent pas uniquement aux patelles européennes puisque KOCH (1949) rapporte des résultats identiques chez les espèces d'Afrique du Sud.

Il ne nous est pas permis actuellement d'émettre une opinion précise sur les différentes hypothèses émises pour expliquer les variations du coefficient radulaire en fonction des niveaux de récolte; des précisions ultérieures seront apportées à ce sujet.

Dans la population de <u>P. vulgata</u> que nous avons étudiée, les valeurs du rapport R/C sont identiques à celles rapportées par EBLING et collaborateurs en Irlande. Quant au chiffre de 1,51 qu'ESLICK indique dans son travail effectué à l'Île du Man, il correspond à des individus récoltés un peu sous le niveau de mi-marée et se trouve ainsi compris dans les limites des valeurs qu'EBLING et nous-mêmes donnons pour les patelles des hauts et bas niveaux. La variabilité du rapport R/C et de la forme des dents pluricuspidées chez certains individus apportent une confirmation de l'existence chez <u>F. vulgata</u> de modifications phénotypiques de certains caractères.

#### CONCLUSION

L'étude de la répartition des patelles sur les côtes du Boulonnais apporte un complément aux recherches antérieures effectuées sur le littoral

atlantique européen en Manche et en Mer du Nord.

La seule présence de <u>Patella vulgata</u> confirme les observations de FISCHER-PIETTE relatives à la disparition de <u>P. depressa</u> et <u>P. aspersa</u> au nord de l'Ile St Marcouf. Bien que spécifiquement homogène, la population de <u>P. vulgata</u> présente des variations liées aux conditions de milieu.

L'étude biométrique du coefficient radulaire montre en effet une diminution du rapport R/C entre les individus des hauts niveaux et ceux de la partie inférieure de la zone intercotidale. Ces variations phénotypiques sont comparables à celles observées en Irlande, par EBLING; les valeurs numériques sont sensiblement identiques et sont en relation avec la répartition verticale des patelles ayant servi aux calculs biométriques.

#### CHAPITRE II

#### ETUDE STATISTIQUE DE LA REPRODUCTION ET DE LA SEX RATIO

#### I - RAPPEL DES TRAVAUX ANTERIEURS

Jusqu'à la fin du 19e siècle, le genre <u>Patella</u> était considéré comme gonochorique : (CUVIER (1817), DE BLAINVILLE (1825), MILNE-EDWARDS (1840), LEBERT et ROBIN (1846), GIBSON (1887)). Bien que GEMMIL (1896) signalât pour la première fois la présence de gonades hermaphrodites chez <u>Patella vulgata</u> L. (3 individus sur 250), on continua de considérer les patelles comme unisexuées (BOUTAN (1900), DAVIS et FLEURE (1903)). PELSENEER (1926) trouva cependant un exemplaire hermaphrodite de <u>P. vulgata</u> sur 2.750 individus étudiés.

C'est ORTON (1920) qui, le premier, envisage la possibilité d'un hermaphrodisme protandrique chez cette espèce en étudiant la <u>sex ratio</u> en fonction de la taille des individus au sein de la population de Plymouth. Dans un travail ultérieur (1928), il aboutit aux conclusions suivantes : "Patella is not an ordinary dioecious species ; in most, if not all individuals are male at the first maturity ; change of sex from male to female may occur at an age of one year and at any time afterwards, the occurence of old males indicates the possibility of the existence of two kinds of males, one pure and one protandric". Cependant, il pense aussi que les jeunes femelles pourraient être passées par une hypothétique phase mâle très brève.

Cette hypothèse n'est toutefois pas admise par PELSENEER (1926) qui explique cette <u>sex ratio</u> par "une mortalité plus grande du sexe mâle qui prédomine dans le jeune âge". Cependant des recherches ultérieures entreprises le long des côtes anglaises conduisent ORTON (1946) a effectuer de nombreuses études statistiques qui corroborent l'hypothèse qu'il avait émise antérieurement.

DAS et SESHAPPA (1947) remarquent qu'à Cullercoats (côte est de l'Angleterre) la première maturation atteinte, chez <u>P. vulgata</u> à la taille de 10 mm, est toujours mâle; les premières femelles apparaissent à 15 mm et leur nombre augmente graduellement jusqu'au groupe 21-25 mm. L'égalité des sexes est atteinte pour la classe de taille 36-40 mm et, chez les exemplaires

de grande taille, les femelles représentent 80 % de la population.

BACCI (1952) confirme, par l'étude histologique, le phénomène d'inversion sexuelle chez <u>P. vulgata</u> et montre que ce changement intervient en période de repos sexuel, immédiatement après l'élimination du sperme. Il retrouve ainsi des phénomènes identiques à ceux qu'il avait mis en évidence chez une espèce méditerranéenne <u>P. coerulea</u> L. (1947, a, b, c).

ORTON, SOUTHWARD et DODD (1956) considèrent que 90 % des individus ont une première maturation mâle et constatent que les exemplaires ayant au plus 10 mm de long sont sexuellement indifférenciés. Chez les deux autres espèces ouest atlantiques: P. depressa et P. aspersa, l'hermaphrodisme protandrique n'existerait pas ou serait rare, (ORTON et SOUTHWARD 1961; DODD, 1956); chez la dernière espèce, 30 à 40 % de femelles se rencontrent déjà chez les plus jeunes individus en évolution génitale.

Nous avons effectué, sur les côtes rocheuses du Nord de la France, une étude similaire à celle effectuée sur le littoral britannique (CHOQUET, 1966). Nous envisagerons successivement les techniques d'étude de la population, les périodes de reproduction de <u>P. vulgata</u> dans le Boulonnais et la <u>sex ratio</u> de cette espèce au cours de l'année et durant le cycle vital.

# II - TECHNIQUES D'ETUDES DES RELEVES

Pour étudier l'évolution génitale des patelles, nous avons pratiqué des relevés mensuels en divers points de la côte.

# 1 - Méthodes de récolte

Les individus recueillis proviennent de différents niveaux; cependant la majeure partie des relevés ont été effectués en basses et hautes mers de morte eau.

Pour obtenir une population homogène, une surface rocheuse à grande densité de patelles est choisie sur laquelle tous les exemplaires qui s'y trouvent sont récoltés.

Pour l'étude statistique, nous avons toujours opéré de la même manière, en classant les individus par catégories de taille ; dans chacune d'elles, les patelles ont sensiblement le même âge. Ces groupes sont les suivants : inférieur ou égal à 10 mm, 11-15 mm, 16-20, 21-25, 26-30, 31-35 et 36-45. Nous n'avons pas pu envisager l'étude des exemplaires de grande taille qui sont très rares sur nos côtes.

# 2 - Détermination de l'état génital

Comme il n'existe ni organe copulateur, ni dimorphisme sexuel, la détermination du sexe ne peut être réalisée que par l'examen de la glande génitale. Après extraction de l'animal de sa coquille, le manteau est déchiré, puis la masse viscérale est retournée derrière la région céphalique et rabattue à droite; la gonade plaquée contre le tube digestif est alors visible.

En période de repos génital, les gonades présentent dans les deux sexes une teinte brun orangé due à la présence de pigments caroténoïdes (GOODWIN et TAHA, 1950; GOODWIN, 1950).

Lorsque commence l'évolution sexuelle, ces pigments se dispersent puis le sexe devient discernable par simple examen de la surface de la glande génitale.

#### 3 - Les différents stades de maturation sexuelle

Au cours de la maturation, les gonades des deux sexes subissent de nombreuses modifications, l'évolution des cellules germinales entraînant des accroissements de taille et d'épaisseur.

En considérant l'extension de la glande génitale par rapport à la masse viscérale et à la radula, il est possible de diviser le cycle reproducteur annuel en plusieurs stades.

Dans leur travail sur la reproduction de <u>P. vulgata</u> en Grande Bretagne, ORTON, SOUTHWARD et DODD (1956) distinguent pour chaque sexe, outre le stade O, correspondant aux individus neutres, 5 stades de maturation et un nombre équivalent pour l'émission des gamètes.

Des considérations histologiques que nous envisagerons ultérieurement nous ont amené à simplifier le schéma donné par les auteurs précités et à diviser le cycle annuel en cinq périodes : stades neutres 1, 2, 3, 4, dont nous allons envisager les caractéristiques.

# a) Stade neutre = Stade O d'ORTON, SOUTHWARD et DODD

Ce stade est relatif aux glandes génitales inactives des deux sexes. La gonade se présente sous l'aspect d'une mince lame orangée,

plaquée contre l'hépatopancréas sur la face ventrale de la masse viscérale (fig. 6 A). Antérieurement, elle est contigüe aux glandes salivaires et extérieurement, elle s'applique contre le rectum.

### b) Stade 1 = stade I

La glande génitale qui ne s'étend jamais vers la région céphalique entre en contact avec la radula et dans son extension n'atteint pas la limite postérieure de la masse viscérale (fig. 6 B).

# c) Stade 2 = stade II

Le sexe est toujours déterminable à l'oeil nu : chez la femelle, les ovocytes sont visibles, chez le mâle, la gonade présente une couleur blanc laiteux. La glande génitale atteint les bords externe et postérieur de la masse viscérale, elle refoule la radula vers la partie droite du corps et son épaisseur s'est considérablement accrue (fig. 6 C).

# d) Stade 3 = stades III et IV

La gonade, très épaisse, s'étend jusqu'à la partie droite du corps, la radula est alors rejetée sur la portion latérale droite de la masse viscérale (fig. 6 D).

A ce stade, chez la femelle, de nombreux ovocytes sont libres et atteignent leur taille maximum.

Chez le mâle, les spermatozoïdes sont très nombreux dans la lumière des tubules séminifères.

On peut considérer que les individus ayant atteint ce stade sont matures.

# e) Stade 4 = stades V et V+

Il correspond à l'émission des produits génitaux. La glande génitale recouvre alors presque complètement la masse viscérale et forme hernie sur le côté droit (fig. 6 E). Elle comprime fortement le tube digestif et, comma au stade 3, elle fait saillie lorsque le manteau est enlevé; elle peut même rompre ce dernier lors du décollement de l'animal de son substratum.

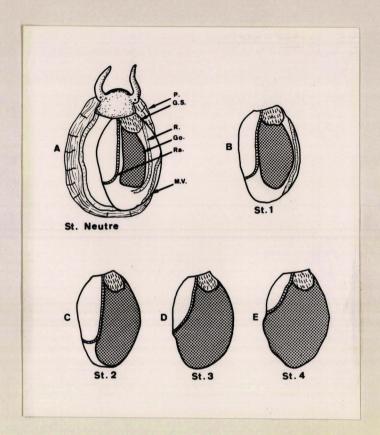


Fig. 6 - Représentation schématique des différents stades de maturation sexuelle au cours du cycle reproducteur annuel chez P. vulgata. La tête et le pied sont vus dorsalement la masse viscérale ventralement après sa torsion vers la droite, derrière la région céphalique.

GO: gonade

GS: glandes salivaires

MV : masse viscérale

P : pied

R : rectum

Ra: radula

#### III - RESULTATS

sexes.

A - Périodes de reproduction de P. vulgata dans le Boulonnais

Dans le tableau IV, nous avons groupé les valeurs numériques relatives aux mâles et femelles matures au cours du cycle annuel (1) et les courbes de la figure 7 représentent les variations annuelles dans les deux

On constate que :

- l'allure générale des deux courbes est identique, les maxima et minima se plaçant aux même saisons pour les deux sexes (octobre novembre et avril mai).
- pendant la période de repos génital, on rencontre encore des individus matures des deux sexes.

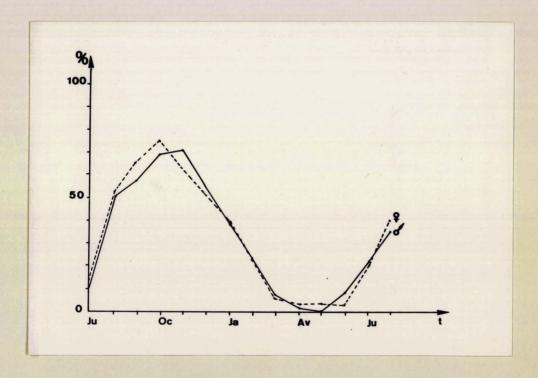


Fig. 7. Variation du taux d'animaux mûrs des deux sexes au cours du cycle génital annuel.

(1) Dans l'établissement de ce tableau, nous avons considéré comme mûrs les individus dont les gonades sont aux stades 3 et 4 définis précédemment.

TABLEAU IV

Pourcentages d'individus matures des deux sexes au cours du cycle sexuel annuel.

	Τσ	Тф	ð mûrs	o mûres	% đ mûrs	% Q ) : mûres )
( Juillet 1963	: 266	98	: 19	10	7,3	10,2
( Août	: 342	87	: 174	45	50,8	51,7
( Septembre	359	96	206	63	57,3	65,6
( Octobre	: 467	115	324	87	69,3	75,6
( Novembre	: 153	37	: 109	23	71,2	62,1
( Janvier 1964	415	104	: 159	41	38,3	39,4
( Mars	203	48	: 15	3	7,3	6,2
( Avril	: 153	77	: 3	3	2	3,8
( Mai	68	48	. 0	2	0	4,1
( Juin	46	30	: 4	1	8,6	3,3
( Juillet	153	89	32	22	20,9	22,9
( Août	359	68	: 132	27	36,7	40,4
				•		

La figure 8 représentant les variations du pourcentage d'animaux neutres, mâles et femelles au cours d'un cycle annuel confirme ces observations puisqu'elle montre que les individus neutres représentent 30 à 40 % de la population en mars, 60 à 70 % entre avril et juin et moins de 10 % entre août et décembre.

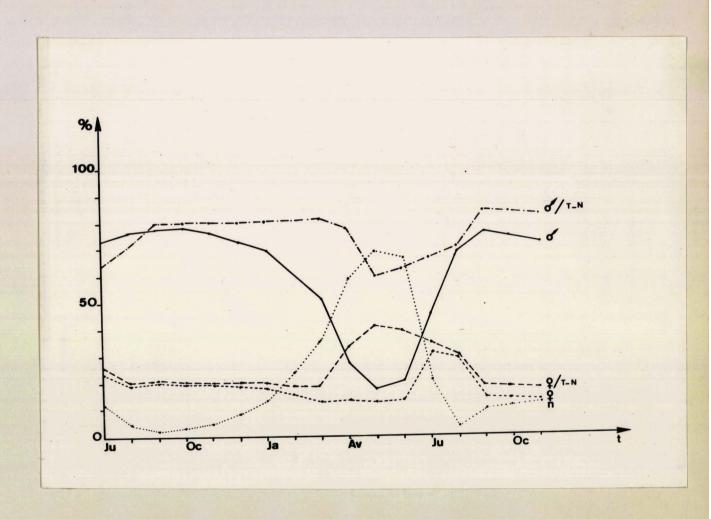


Fig. 8 - Variations du pourcentage d'individus neutres, mâles et femelles au cours du cycle reproducteur annuel.

T-N: taux d'animaux sexués (nombre total moins les patelles neutres).

C'est donc entre août et janvier que la majeure partie des patelles subissent la maturation sexuelle; la reproduction de <u>P. vulgata</u> sur les côtes septentrionales françaises de la Manche survient donc en automne et dans la première moitié de l'hiver.

Nos résultats sont voisins de ceux obtenus par ORTON, SOUTHWARD et DODD (1956) sur la côte sud de l'Angleterre et les observations relatives au cycle reproducteur annuel de <u>P. vulgata</u> rejoignent en partie celles faites à Wimereux par PELSENEER (1926): "Les glandes génitales sont mûres toute l'année, la maturité sexuelle est passée en avril et mai, la ponte et la fécondation se faisant au commencement de l'année".

#### B - La sex ratio chez P. vulgata

# 1) Variations annuelles de la population

Dans le tableau V, nous avons rapporté les caractéristiques numériques des différents relevés en faisant figurer le nombre d'individus neutres, mâles et femelles et les pourcentages respectifs par rapport à la population totale. D'autre part, nous avons évalué les taux de mâles et de femelles au cours de l'année, par rapport au nombre total des individus sexués T-N, en excluant donc les neutres. La figure 8 schématise l'évolution des différents types sexuels.

L'examen des résultats montre que :

- la population de <u>P. vulgata</u> est constituée en grande partie par des mâles et à aucun moment de l'année, les courbes représentatives des pourcentages de mâles et de femelles par rapport au nombre total d'individus récoltés n'ont de point commun.
  - la population femelle est relativement stable au cours du cycle annuel.
- dans aucun relevé mensuel, le pourcentage des neutres n'atteint 100, le maximum étant voisin de 70; il y a donc toujours, au cours de l'année, des gonades chargées de produits génitaux et on peut penser qu'il existe une superposition de deux cycles de reproduction successifs; lorsque des gonades sont en fin de maturation, d'autres ont déjà commencé un nouveau cycle.
- on observe encore d'août à novembre des individus en phase neutre. Cette présence de patelles indifférenciées pendant la période de reproduction est la conséquence d'une maturation tardive de certains animaux et de l'existence

TABLEAU V

Données numériques relatives aux animaux neutres, mâles et femelles au cours du cycle annuel.

( Mois	. T	. N	ď	: • •	% N/T	% d/T	% Q/T	% d/T-N	% q/T-N
Juillet 1963	416	52	266	98	12,5	63,9	23,6	63	27
( Août	: 449	20	342	87	4,4	76,1	19,5	80	20
( Septembre	465	10	359	96	2,1	77,2	20,8	79	21
(Octobre	602	20	467	115	3,3	77,5	19,2	80	20
( Novembre	200	9	153	37	4,5	76,5	19	80	20
( Janvier 1964	599	80	415	104	13,3	69,2	17,5	80	20
( Mars	399	143	203	48	36,2	51,6	12,2	81	19
( Avril	555	325	153	77	58,5	27,7	13,8	77	33
( Mai	379	263	68	48	69,3	17,9	12,8	59	41
( Juin	228	151	46	30	66,4	20,2	13,4	62	38
( Juillet	402	80	186	136	20,1	46,4	33,5	65	35
( Août	666	23	455	188	3,4	68,3	28,3	70	30
(Septembre	475	47	359	68	9,8	75,9	14,3	84	16
( Novembre :	284	40	204	40	14	72	14	83	17

T : nombre total d'individus récoltés

N : nombre d'exemplaires neutres

de très jeunes individus dont la différenciation sexuelle surviendra au cours du prochain cycle reproducteur.

- les courbes représentatives des pourcentages d'individus mâles et femelles par rapport au nombre de sexués (T-N) montrent que la période de reproduction est caractérisée par la stabilité des deux sexes tandis que de mars à juillet, la sexualité semble moins stable.

Nous reviendrons ultérieurement sur ce problème mais il convient de noter dès maintenant que pendant cette dernière période, la population mâle reste prépondérante.

Ces résultats généraux nous apportent déjà des renseignements sur la proportion des sexes ; l'étude systématique de chaque catégorie de taille va nous permettre de préciser les phénomènes.

# 2) Proportion sexuelle en fonction de la taille des individus

a) Evolution de la sexualité au cours du cycle vital

Dans le tableau VI, nous avons réuni les données relatives à l'état génital de la population de <u>P. vulgata</u> en fonction de la taille pendant la période de reproduction (août-janvier). Nous avons également noté les taux d'individus mâles et femelles par rapport au nombre d'animaux dont le sexe est déterminable et exclu de ce tableau les individus dont la taille est inférieure à 10 mm et qui se sont tous révélés neutres.

Les courbes de la figure 9 représentent les variations du pourcentage de mâles et de femelles par rapport au nombre de sexués (T-N) pendant cette même période.

Les résultats obtenus montrent que :

- dans les catégories comprises entre 11 et 20 mm, il y a toujours plus de 90 % de mâles
- dans la classe 21-25 qui groupe des individus ayant déjà subi au moins une maturation, le pourcentage des mâles atteint encore 85
- le nombre des mâles diminue de plus en plus en fonction de la taille ; inversement la proportion de femelles augmente et finalement une égalité des sexes s'établit (45 mm).

TABLEAU VI

Sex-ratio chez P. vulgata, en fonction de la taille pendant la période optimale de reproduction (août-janvier)

(	11 - 15	16 - 20	21 - 25	26 - 30	31 - 35	: 36 - 45 ) :)
( N	53	52	28	8	-	2 )
(	30	307	651	481	181	86
( p	1	18	92	185	71	72
( T	84	377	766	674	252	160
( % N/T	63	13,9	3	1,2	-	1,2
( % d/T	35,7	81,3	85	71,3	71,9	53,7
( % Q/T	1,3	4,8	12	27,5	28,1	45,1
( % d/T-N	97	94,5	85,4	72,3	71,9	54,5
( % Q/T-N	3	5,5	14,6	27,7	28,1	45,5
			0			}

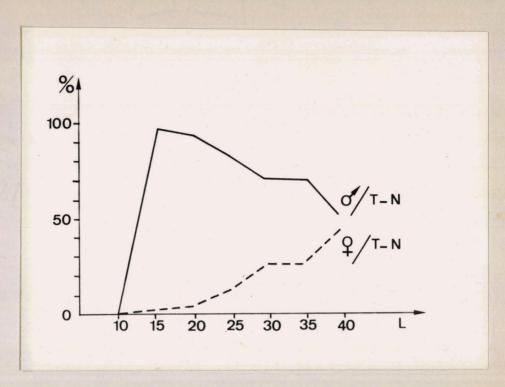


Fig. 9 - Variations du taux de patelles mâles et femelles par rapport au nombre d'animaux sexués (T-N) pendant la période de reproduction.

#### DISCUSSION

Le fait essentiel qui ressort de l'examen des proportions sexuelles est la prédominance des mâles. Pour interpréter ce phénomène, il est tout d'abord impossible d'admettre que la reproduction mâle commence chez les individus de plus petite taille que celle des femelles. En effet, s'il en était ainsi, la majeure partie des individus sexuellement indifférenciés devraient évoluer ultérieurement en femelles. Ainsi, dans la catégorie 11-15 mm, on obtiendrait 63 % (tableau VI); or, dans les classes suivantes, on n'enregistre qu'un pourcentage très faible de femelles : 12 % (21-25), 27,5 % (26-30) et par contre le nombre de mâles est toujours très élevé chez les sexués de petite taille et diminue au fur et à mesure de la croissance somatique. Cette variation enregistrée dans la sex-ratio ne peut être que la conséquence d'un hermaphrodisme protandre; cette hypothèse, avancée dès 1920 par ORTON se trouve confirmée par l'étude histologique que nous avons entreprise sur les gonades et dont les résultats seront exposés ultérieurement (deuxième partie).

L'existence d'un changement de sexe chez <u>P. vulgata</u> demande a être précisée par la détermination du moment auquel se produit l'inversion sexuelle, ce que nous allons envisager.

# b) Evolution de la sexualité au cours du cycle annuel

Sur la figure 10 nous avons groupé les courbes relatives aux variations annuelles des pourcentages de neutres, mâles et femelles dans chaque catégorie de taille.

Les patelles dont la longueur ne dépasse pas 10 mm sont toujours sexuellement indifférenciées.

Dans les classes suivantes, le pourcentage de femelles est maximum en juillet (tableau VII) et augmente régulièrement avec la taille des individus.

#### TABLEAU VII

Variations du pourcentage des individus femelles au cours de la période de reproduction juillet-janvier

Taille en mm de femelles	11 - 15	16 - 20	21 - 25	26 - 30	: 31 - 35	36 <b>-</b> 45 )
( % juillet :	8,4	14,6	23,6	36	41	60 )
( % maximum :	6 (Oct.)	10,9 (Sept.)	15,7 (Août)	34,5 (Août)	40 (Août)	55,5 (Août)
(	1,2	4,3	10,2	26,2	27,2	45,5 )

% juillet : pourcentage de q dans les relevés de juillet

% maximum : taux maximum observé pendant les autres mois de la période de reproduction

% moyen : taux moyen au cours des autres mois de la même période

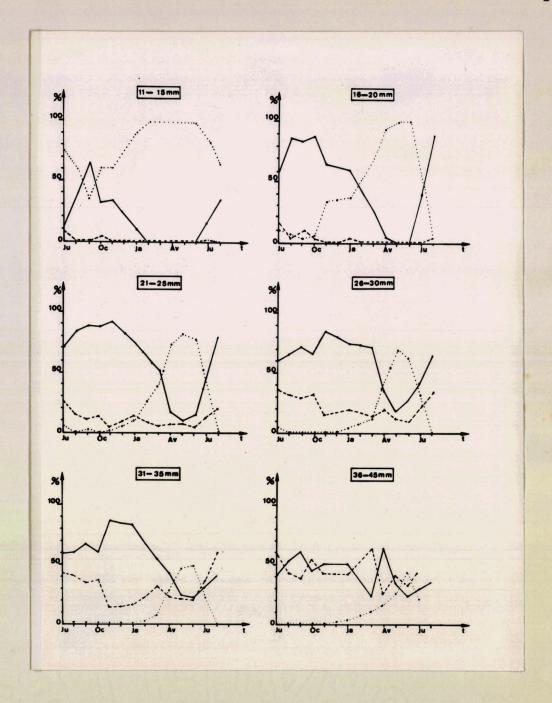


Fig. 10 - Variations annuelles du pourcentage d'individus neutres, mâles et femelles en fonction de la taille.

En pointillé, les courbes représentatives des animaux neutres, en trait plein celles relatives

aux mâles et, en tirés, celles ayant trait aux

femelles.

#### CHAPITRE III

# CROISSANCE ET LONGEVITE DE <u>PATELLA VULGATA</u> L. DANS LE BOULONNAIS.

Quand, au sein d'une population, on prélève des individus de toutes tailles destinés aux travaux histologiques ou expérimentaux, il apparaît nécessaire de pouvoir déterminer l'âge des exemplaires récoltés. C'est pourquoi, nous avons étudié la croissance et la longévité de P. vulgata L. sur la côte du Boulonnais.

Après avoir rappelé les principaux travaux antérieurs se rapportant à ce problème, nous envisagerons les méthodes d'étude de la croissance. Nous exposerons et discuterons les résultats obtenus par mensuration de lots d'individus marqués. Notre étude portera sur l'accroissement linéaire en fonction de facteurs tels que : la taille, le milieu, la nourriture, les cycles saisonniers et reproducteur (CHOQUET 1968, sous presse).

Enfin, nous comparerons nos résultats relatifs à la longévité possible de P. vulgata avec ceux d'auteurs auant travaillé dans d'autres régions.

# I - RAPPEL DES TRAVAUX ANTERIEURS

RUSSEL (1909) et ORTON (1928 b, 1928 c) sont les premiers à avoir étudié la croissance de <u>P. vulgata</u>; leurs travaux, effectués respectivement en Ecosse et dans le sud de l'Angleterre, portent sur la vitesse de croissance en fonction de la taille, des saisons et du cycle sexuel. Le travail de RUSSEL a été utilisé ultérieurement par HAMAI (1937 b) qui en a tiré les courbes de croissance.

Sur les côtes bretonnes, HATTON (1936, 1938) et FISCHER-PIETTE (1939, 1941, 1946) ont entrepris des recherches similaires; ils ont apporté des données nouvelles sur l'accroissement de taille en fonction de l'habitat, des facteurs nutritifs et des conditions de milieu (action des vagues et des courants). Ils ont montré que la croissance rapide en milieu pollué est due à

la richesse de l'eau en matières organiques et non à la "dessalure" et que la durée de vie est inversement proportionnelle à la vitesse de croissance. A l'exception de quelques données rapportées par FISCHER-PIETTE (1941), aucun travail n'a été réalisé, à notre connaissance, chez les autres espèces atlantiques (P. depressa Pennant, P. aspersa Lamarck) ou méditerranéennes (P. coerulea L., P. lusitanica Gmelin notamment). Par contre, le cycle vital de Patina pellucida L. (Helcion pellucida L.) a été étudié par GRAHAM et FRETTER (1947). Chez les Patellacea asiatiques, citons les travaux d'ABE (1932) chez Acmaea dorsuosa Gould (= Patelloidea grata) et d'HAMAI (1937a) chez Patelloidea conulus et chez les espèces américaines les recherches de FRANK (1965a, 1965b) chez Acmaea digitalis L., A. paradigitalis Fritchman et A. pelta Eschscholtz.

Les résultats obtenus par ces différents auteurs seront comparés ultérieurement aux nôtres.

# II - METHODES D'ETUDE DE LA CROISSANCE

Seuls, les individus vivant dans leur biotope naturel ont été étudiés. Trois méthodes peuvent être utilisées (HASKIN, 1954): l'étude des fréquences de taille, celle des stries d'accroissement (en particulier sur la coquille) enfin le marquage qui permet la mensuration régulière d'individus suivis au cours d'un ou de plusieurs cycles annuels.

# 1 - Etude des fréquences de taille

Avec cette méthode, on considère une population globale; les individus récoltés sont répartis en classes de taille, de 5 en 5 mm par exemple. Chaque mode obtenu peut correspondre à une génération; cette méthode utilisée par QUAYLE (1952) chez <u>Venerupis</u> et FUGI (1957) chez <u>Corbicula japonica</u> permet, dans certains cas, une évaluation rapide de la croissance. Cependant, on peut commettre de nombreuses erreurs dues, en particulier, à l'absence de données sur l'âge des jeunes exemplaires mesurés et aussi à une faible représentation éventuelle d'une génération donnée.

# 2 - Stries d'accroissement

Cette méthode a été surtout utilisée chez les Lamellibranches :

citons les travaux de WEYMOUTH (1923), WEYMOUTH et THOMPSON (1931), ORTON (1923, 1927), ISELY (1931), HOPKINS (1941), PRATT et CAMPBELL (1956), STEVENSON et DICKIE (1954), MASON (1957), ANSELL (1961), ANSELL et collaborateurs (1964). Elle a été également employée chez les Amphineures (CROZIER, 1918), plus rarement chez les Gastéropodes (DARBY, 1964 chez Tegula funebralis, FROMMING, (1953) et VAN DER SPOEL, (1958, 1959) chez Viviparus viviparus L.)

Cette technique présente plusieurs inconvénients (COMFORT, 1957); des arrêts de croissance peuvent survenir plusieurs fois au cours d'un cycle annuel sous l'effet de plusieurs facteurs (température, nutrition, gamétogenèse). D'autre part, chez les individus âgés la croissance peut s'arrêter et dans ces conditions, on ne peut obtenir de renseignements sur la longévité.

Des techniques modernes (radiographie, examen en lumière polarisée de lames minces de coquilles) ont été utilisées par HARANGHY, BALAZS et BURG (1965) et ont permis de montrer qu'il existait des pseudostries différentes des véritables anneaux d'accroissement.

Chez les <u>Patellacea</u>, ABE (1932) pense que chez <u>Acmaea dorsuosa</u>
Gould, chaque anneau est formé au cours d'un cycle annuel; il émet d'autre
part l'hypothèse que les individus âgés peuvent vivre plusieurs années sans
s'accroître. Ces deux méthodes ne permettent pas d'étudier avec précision
la croissance d'une coquille et n'apportent pas de renseignements précis
sur la longévité, c'est pourquoi nous avons employé exclusivement la technique
des marquages.

#### 3 - Marquage

Les individus sont récoltés dans la nature, marqués au Laboratoire et replacés dans un délai qui ne dépasse pas 24 heures, à l'endroit où ils ont été prélevés. Périodiquement, ils sont repris, mesurés et à nouveau replacés dans leur biotope naturel.

Plusieurs précautions doivent être prises : les caractéristiques de la station choisie doivent être notées (couverture de balanes ou de <u>Fucus</u>) et au moment du marquage seuls sont retenus les animaux dont la coquille est indemne de toute cassure. Les individus sont répartis en classes de tailles et sur leur coquille est gravé un numéro de code correspondant à la longueur initiale Lo. Des encoches sont pratiquées, près du bord libre de la coquille,

à l'aide d'un disque d'émeri monté sur un tour de dentiste ; ensuite une peinture résistante à l'eau de mer est passée à l'endroit du marquage.

Les animaux marqués sont replacés sur le rocher dès le début du reflux pour leur permettre de se fixer solidement avant le retour du flot. Pour obtenir des résultats valables, il est nécessaire de marquer, pour chaque série, un grand nombre de patelles dechaque catégorie de taille; en effet, leur nombre diminue au cours d'un cycle annuel soit par mortalité soit par disparition accidentelle.

Lorsque, au cours de l'étude d'une série expérimentale, le nombre d'animaux d'une classe donnée devient trop faible, on effectue une série relai : des individus de taille semblable à celle dont le nombre est devenu trop faible sont prélévés dans un biotope identique au premier et sont marqués. On peut penser dans ces conditions que la nouvelle série employée présente une croissance semblable à celle de l'ancienne. Des expériences de contrôle nous ont d'ailleurs permis de le vérifier.

A chaque mensuration d'un lot, on calcule, pour chaque classe de taille, la moyenne des longueurs du plus grand axe de la coquille, l'accroissement moyen et l'écart de taille avec les valeurs initiales. L'ensemble de ces données sert à l'établissement des courbes de croissance.

#### III - RESULTATS

# A - Croissance globale de la population

Ces résultats sont relatifs à des lots de patelles marquées, vivant au cap de la Crèche sur des rochers recouverts d'un tapis irrégulier de <u>Fucus serratus</u> exondés à chaque marée et situés un peu au-dessus des basses mers de morte eau.

# 1) Croissance des animaux marqués en été

La figure 11 représente les variations de longueur des coquilles en fonction du temps écoulé depuis le début de l'expérience.

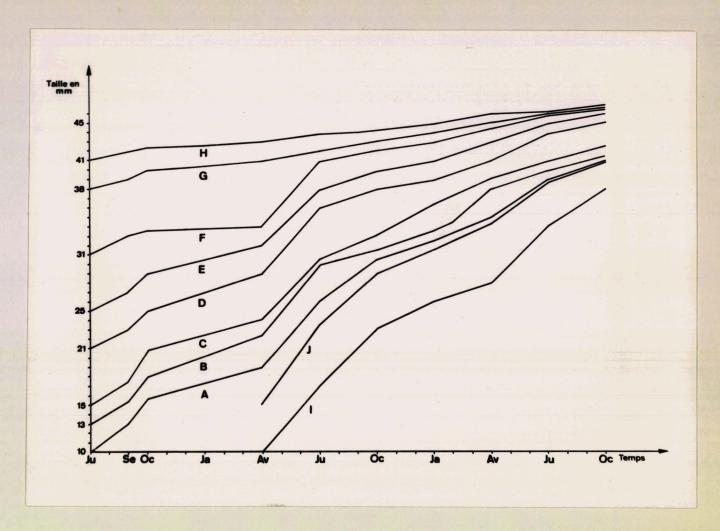


Fig. 11 - Croissance globale des patelles de tailles variées marquées en été (A à H) et de jeunes animaux marqués au printemps (I, J).

# a) <u>Croissance d'un lot d'exemplaires de 10 à 15 mm</u> Les courbes A. B. C. de la figure 11 sont représen-

tatives de l'accroissement de trois lots de patelles de 10, 13 et 15 mm.

On constate que les individus de 10 mm atteignent en moyenne 26 mm après un an et 39 mm au bout de 2 ans (A) et que les tracés des courbes B et C sont à peu près parallèles à A pendant la majeure partie de l'expérience.

Pour un lot d'animaux de 10 à 15 mm, marqués en période estivale, la croissance globale est de 15 à 16 mm la première année et de 10 à 13 mm au cours du cycle suivant.

b) <u>Croissance des patelles de taille supérieure à 15 mm</u>

Dans le tableau VIII ont été rapportées les valeurs moyennes atteintes après 1 et 2 ans d'expérience par des lots d'animaux ayant initialement 21, 25, 31, 38 et 41 mm; l'accroissement annuel correspondant est indiqué. Sur la figure 11, les courbes D, E, F, G, H sont représentatives de la croissance en fonction du temps.

#### TABLEAU VIII

Croissance de plusieurs lots de patelles au cours de deux années de marquage.

( :	: Tailles et croissances en mm )									
( L 0 :	21	25	31	38	41 )					
( L1(1an):	36	38	40	42	44 )					
( L1-L0 :	15	13	9	4	3 )					
( L 2 (2 ans) :	43	: : 44	45	45	: 46.5 )					
( L2-L1 : (	7	6	5	3	2,5 )					

L 0 : taille initiale

L 1 : taille atteinte après un an de marquage

L1 - L0: croissance au cours de la première année d'étude

L 2 : taille atteinte après deux ans d'expérience

L 2 - L 1 : accroissement de taille entre la première et la seconde année de marquage.

L'examen du tableau VIII nous montre que l'accroissement de taille est encore important chez les patelles des classes 21 et 25 mm mais qu'il tombe à 3 ou 4 mm chez les animaux âgés.

# 2) Croissance des jeunes patelles marquées au printemps

Chez les animaux ayant 10 et 15 mm en avril et placés dans les mêmes conditions de milieu que ceux marqués en été, la taille moyenne passe de 10 à 28 mm en une année et atteint 30 mm au bout de 18 mois (fig. 11, courbe I) tandis que les patelles ayant initialement 15 mm atteignent 34 et 41 mm au bout des mêmes périodes (fig. 11, courbe J). Ces valeurs sont supérieures à celles enregistrées pour les individus des mêmes classes de taille marqués en été. Ces différences montrent que la notion de croissance annuelle n'a pas une valeur absolue; elle dépend de la période d'éclosion et des conditions climatiques. La figure 11 nous montre en effet que la croissance ne s'effectue pas d'une manière continue; elle est irrégulière et subit des variations saisonnières.

# B - Variations de croissance au cours du cycle annuel

La figure 12 représente l'évolution de trois lots de patelles au cours de deux cycles annuels consécutifs.

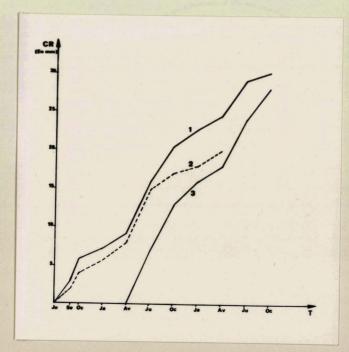


Fig. 12 - Croissances saisonnières de trois lots de patelles au cours de deux cycles annuels

- 1. Lot de 10 mm marqué en Juillet
- 2. Lot de 21 mm marqué en Juillet
- 3. Lot de 10 mm marqué en Avril

C.R : croissance

T : temps

Les animaux de 10 mm marqués en avril (fig. 12, 3) ont une croissance très active au printemps et au début de l'été (2 mm 5 en moyenne par mois) et plus lente pendant la saison chaude (1 mm 5 de juillet à septembre). Au début de l'automne, elle redevient active puis diminue notablement au cours de la période froide (0,7 mm en moyenne). Au cours du cycle annuel suivant, des variations semblables s'observent mais les accroissements de taille sont plus faibles.

Des exemplaires de 10 mm (fig. 12, 1) et de 21 mm (fig. 12, 2) marqués en été, présentent un rythme de croissance saisonnier identique.

# C - Variations de croissance en fonction de la taille

L'influence de l'âge sur la croissance est déjà manifeste lorsqu'on compare les valeurs rapportées dans le tableau VIII. Sur la figure 13, a été représenté le diagramme des croissances saisonnières d'un lot de patelles de 10 mm étudié durant deux années consécutives. Les deux traits fléchés, parallèles à l'axe des ordonnées représentent les limites respectives de la lère et de la 2ème année d'étude; les chiffres placés au-dessus correspondent aux tailles moyennes atteintes par les coquilles.

On constate que les deux portions du diagramme ont une allure identique mais que l'amplitude des valeurs correspondant à la Pème année est toujours inférieure à celle enregistrée au cours de la première. Les mesures effectuées pendant l'été d'un troisième cycle annuel montrent que le taux de croissance estivale est de 2 mm soit à peu près trois fois moins que pendant la lére année et deux fois moins qu'au cours de la seconde. Ainsi la vitesse de croissance diminue en fonction directe de l'âge des animaux.

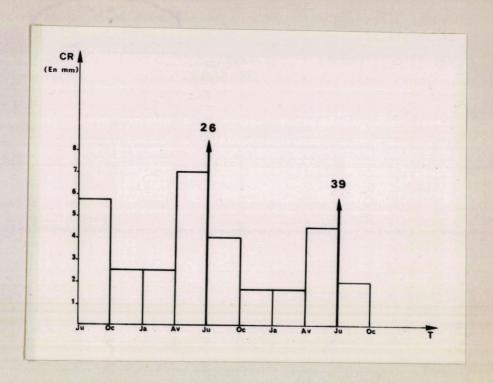


Fig. 13 - Diagramme des croissances saisonnières d'une population de patelles (taille initiale 10 mm) pendant deux années consécutives.

26, 39 : tailles moyennes (en millimètres) des animaux après un et deux ans d'expérience.

# D) Variations de croissance en fonction du milieu

Dans le tableau IX ont été rapportées les valeurs moyennes de la croissance de deux lots de patelles ayant initialement une taille comprise entre 10 et 21 mm; l'un est placé sur un substratum couvert de <u>Fucus serratus</u> au lieu dit Cap de la Crèche, l'autre sur un rocher à balanes au Fort de Croy,

face au laboratoire de Wimereux. Les animaux marqués des deux stations sont situés au même niveau vertical et découverts à chaque marée. Les valeurs numériques sont rapportées de 3 en 3 mois.

TABLEAU IX

Croissance comparée de 2 lots de patelles en fonction du milieu

( Avril (	: Fort de Croy:	Crèche
( Juillet	: 5 mm :	7,2 mm
( Octobre	5,2 mm	5,7 mm
( Janvier	: 1,5 mm :	2,1 mm
( Avril	2,9 mm	2,1 mm
( Croissance ( annuelle	14,7 mm	17,1 mm

Sur la figure 14 ont été tracées les courbes représentatives des croissances des animaux des deux séries. La croissance est plus rapide au Cap de la Crèche, la différence étant surtout sensible en été et en automne. Les conditions climatiques étant semblables dans les deux stations les variations annuelles de croissance doivent être liées à des facteurs trophiques, les <u>Fucus</u> constituant un aliment dont la présence est constante.

En effet, dans chacune de ces zones, deux séries d'animaux témoins placés dans des conditions bionomiques différentes (rochers à balanes) présentent un rythme de croissance identique entre elles (fig. 14, C, D).

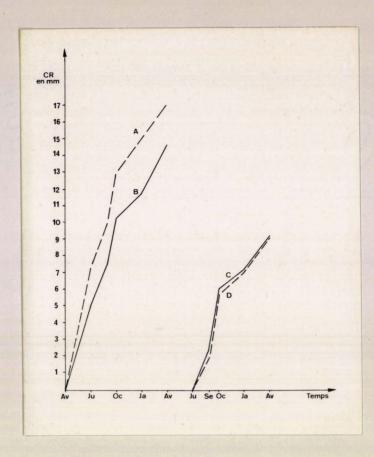


Fig. 14 - Variations de la croissance en fonction du milieu.

A et B: Lots de patelles ayant initialement une taille comprise entre 10 et 21 mm, marqués au printemps au Cap de la Crèche (A) sous une couverture de Fucus et au Fort de Croy (B) sur des rochers à balanes.

C et D: Lots témoins marqués dans ces mêmes stations sur des rochers à balanes.

#### DISCUSSION

### 1 - Croissance saisonnière

Sur les côtes bretonnes, HATTON (1938) et FISCHER-PIETTE (1941) constatent que <u>Patella vulgata</u> croît régulièrement toute l'année, quel que soit le biotope envisagé. Dans cette région, il n'existe donc pag d'arrêt

hivernal et la croissance continue se maintient jusqu'à la mort. Par contre RUSSEL (1909) et ORTON (1928 c) qui ont effectué leurs recherches en Ecosse et en Cornouailles ont constaté l'existence de variations saisonnières. Chez les jeunes Patelles, un arrêt de la croissance survient de décembre à mars ; chez les individus âgés, cet arrêt est plus long et débute en octobre. Four l'ensemble de la population, la croissance est active au printemps et en été. Dans le sud de l'Angleterre, les observations d'ORTON sont semblables aux nôtres : la croissance est rapide au printemps, et ralentie au milieu de l'été ; elle reprend en automne et s'avère très faible en hiver. Chez les animaux âgés, elle peut cesser complètement pendant la période la plus froide.

Chez les autres espèces ouest-atlantiques, les seules données que nous possédions sont dues à FISCHER-PIETTE (1941). En Bretagne, Patella intermedia Jeffreys (= P. depressa Pennant) présente une croissance régulière comme P. vulgata tandis que Patella aspersa Lamarck augmente de taille entre janvier et septembre. Nos résultats sont intermédiaires entre ceux de HATTON et FISCHER-PIETTE d'une part et ceux de RUSSEL d'autre part ; ils sont par contre semblables à ceux obtenus par ORTON dans une région de même latitude, soumise à des conditions climatiques sensiblement identiques.

#### 2 - Influence du milieu : nutrition

GRAHAM (1932), FISCHER-PIETTE (1948) et JONES (1946, 1948) ont montré que les patelles utilisent les aliments qu'elles rencontrent sur les rochers où elles vivent : Fucacées ou diatomées et autres algues microscopiques. Or, le plancton est pauvre en hiver et abondant au printemps ; ces variations sont susceptibles d'entraîner pendant la saison froide, une carence alimentaire chez les populations vivant sur des rochers nus. Par contre, les animaux vivant sous une couverture végétale, trouvent une nourriture abondante toute l'année.

Les observations que nous avons faites sont en accord avec cette hypothèse: la croissance globale des patelles vivant sous les <u>Fucus serratus</u> est supérieure à celle des individus vivant sur des rochers nus. Toutefois, au printemps, la croissance est au moins aussi active, sinon plus pour la population vivant dans le dernier biotope; le phénomène peut être dû à une riche nourriture, d'origine planctonique.

Cependant, les différences de croissance annuelle ne sont que de l'ordre de quelques rillimètres et comme la durée de vie est relativement courte, les différences entre la longévité des animaux vivant dans ces deux milieux ne sont pas très grandes.

#### 3 - Température

La température des eaux superficielles varie au cours des saisons et selon la latitude; ainsi dans le Boulonnais et en Cornouailles, les variations annuelles sont supérieures à celles enregistrées sur les côtes bretonnes (BOHNECKE, 1936). Il en est de même pour les moyennes hivernales; en général, la température de l'eau ne descend pas en-dessous de 10° C en Bretagne alors qu'elle tombe à 6° C dans le Boulonnais et à 8° C dans la région de Plymouth (COOPER, 1958). La relative constance de température existant en Bretagne peut être la cause de la croissance continue des patelles, tout au moins entraîne-t-elle un ralentissement moins marqué que dans le Nord.

COE (1942) a constaté un phénomène semblable : <u>Crepidula onyx</u>

Sowerby et <u>Crepidula nummaria</u> Gould ont une croissance continue en Californie tandis que celle de <u>Crepidula formicata</u> L., espèce plus septentrionale, est ralentie en hiver. GAILLARD (1965) constate également l'influence de la température de l'eau sur la croissance du Gastéropode <u>Monodonta lineata</u> Da Costa; chez ce <u>Trochidae</u>, la croissance printanière commence plus tôt au Pays Basque qu'à Roscoff.

La température de l'eau peut donc être considérée comme un facteur important dans les variations de croissance enregistrées dans les populations de <u>P. vulgata</u> du Nord de la France, d'Angleterre et d'Ecosse.

# 4 - Croissance et maturation génitale

RUSSEL et ORTON avaient déjà constaté, chez <u>Patella vulgata</u>, un ralentissement de la croissance lorsqu'en été débute une nouvelle poussée germinale. Cette perturbation, liée à la fonction reproductrice, a été observée chez d'autres mollusques par BELDING (1910), ORTON (1928a), COE (1947) et par GAILLARD (1965) chez <u>Gibbula pennanti</u> <u>Philippi</u>, <u>G. cineraria</u> <u>L., G. umbilicalis</u> Da Costa et <u>Monodonta lineata</u> Da Costa.

Les courbes des figures 11 et 12 montrent qu'au milieu de l'été, apparaît un ralentissement de croissance concomittant de la reprise d'activité de l'épithélium germinatif; chez les jeunes, il correspond au déclenchement de la première gamétogenèse. Cette variation d'accroissement linéaire est surtout marquée chez les animaux de 2 et 3 ans et pourrait être en relation avec le changement de sexe. Au contraire, chez les patelles juvéniles de 3 à 8 mm, sexuellement indifférenciées, la croissance est rapide, même pendant l'été. La croissance des adultes est à nouveau active en septembre; or, à ce moment, la température de l'eau est voisine de celle de juillet et août, le ralentissement observé doit donc être lié à l'activité génitale.

Nous avons tenté d'expliquer le rôle respectif de plusieurs facteurs susceptibles d'influencer la croissance et la longévité de <u>P. vulgata</u>. En conclusion, aucun des éléments envisagés ne semble responsable à lui seul des variations de croissance au cours d'un cycle annuel. Le rythme d'accroissement linéaire est la résultante de diverses influences dont les plus importantes semblent être la température, la nourriture et la vie sexuelle.

# IV - ECLOSION, FIXATION. CROISSANCE ET LONGEVITE DE PATELLA VULGATA

# A - Eclosion et fixation des larves

# 1) Développement larvaire. Vie pélagique

L'étude du développement des <u>Patellidae</u> a été entreprise à la fin du siècle dernier (PATTEN, 1885, 1886; LO BIANCO, 1899; BOUTAN, 1899; WILSON, 1904; PELSENEER, 1911). C'est à SMITH (1935), CROFTS (1955) et DODD (1957) que l'on doit les résultats les plus marquants : ils apportent des données précises sur la torsion et l'organogenèse de <u>Patella vulgata</u>. Lorsque la taille de 0,2 mm est atteinte, la coquille définitive remplace graduellement la protoconque larvaire et le muscle rétracteur définitif de la coquille étant formé, la larve est capable de se fixer.

Auparavant, les larves mènent une vie pélagique et LEBOUR (1937, 1947) constate leur présence dans le planction de la région de Plymouth.

Elles y sont observées de septembre à avril, communes en novembre et février, abondantes en décembre et janvier mais absentes ou très rares de mai à août. Ces observations sont en accord avec les résultats d'ORTON (1928b) et CHOQUET (1966) relatifs à la période optimale de reproduction de cette espèce.

#### 2) Fixation des larves

Les données relatives à la taille minimale des patelles rencontrées sur le terrain sont variables. Selon SMITH (1935) et HATTON (1938), les larves peuvent se fixer directement sur les rochers ou rester immergées très peu de temps dans des flaques permanentes. Selon JONES (1948), la première fixation surviendrait dans les mares peu profondes ; elle serait suivie d'une migration sur les rochers lorsque la taille de 3 mm est atteinte. Quant à RUSSEL (1909), il n'observe que rarement des individus de moins de 5 mm. Personnellement nous n'avons jamais rencontré d'animaux de taille inférieure à 3 mm; ils sont abondants en hiver, en nombre très restreint au début de l'été et sont cantonnés sur les blocs situés au voisinage des basses mers de morte eau. Les zones inférieures de la côte sont couvertes d'une pellicule de vase et sont peu propices à la fixation des mollusques.

# B - Croissance, vie sexuelle et longévité

# 1) Données numériques et courbe de croissance

La figure 15 retrace les étapes successives de la vie des patelles qui éclosent au cours d'une période de reproduction donnée. Les courbes qui y sont tracées représentent la croissance moyenne de l'ensemble des animaux nés aux mois d'août (courbe A), novembre (B), mars (C) et avril (D). La droite parallèle à l'axe des abscisses correspond à l'apparition possible de la maturité génitale (10 mm), les droites parallèles à l'axe des ordonnées délimitent les périodes de repos génital (février-Juillet) et de gamétogenèse (juillet-février) des cycles annuels successifs. Les chiffres portés sur les courbes représentent approximativement les années écoulées depuis la naissance.

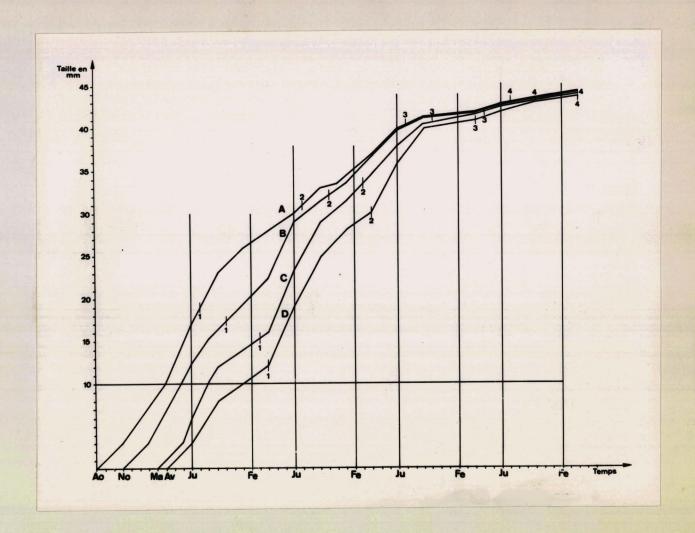


Fig. 15 - Croissance et âge des patelles en fonction de la période d'éclosion.

Les chiffres portés sur les courbes correspondent aux années écoulées depuis la naissance.

Les courbes A, B, C, D sont représentatives de la croissance des

Les courbes A, B, C, D sont représentatives de la croissance des patelles écloses en août, novembre, mars et avril.

- Dans le tableau X, sont rapportées les tailles moyennes des patelles au cours de 4 années de vie selon les cas envisagés ci-dessus.

TABLEAU X

Croissance moyenne et taille (en mm) des patelles au cours de quatre années de vie.

( Date : ( d'éclosion :		: : Tai : 2		Croissance 2e année		Taille 3 ans		croissance: 3e année :	Taille 4 ans	: Croissance) : 4e année )
( :	19	: 31	mm	12	0 0	40	:	9 :	43	: 3
( Novembre :	17	: 32	mm	15	000	41	:	9:	43	: 2
( Mars :	15	: 33	mm	18	0	42	:	9:	45	: 2
( Avril :	12	: 30	mm	18	00	41	:	11 :	44	: 3
(		0			0		:			:

- Dans le tableau XI sont rapportés les chiffres relatifs aux nombres d'individus sexués et neutres (sans sexe déterminable <u>de visu</u>) au cours d'un cycle annuel ; ces valeurs sont relatives aux animaux jeunes (classes de taille 10-15 et 16-20 mm). Ces données étant établies nous y feront appel au cours de l'étude du cycle vital des patelles écloses à différentes époques de la période de reproduction.

La recherche régulière des patelles de 3 mm sur les rochers, leur marquage et l'étude corrélative de la durée de la période de reproduction nous a permis de connaître l'âge de ces animaux et de suivre leur croissance ultérieure.

TABLEAU XI

Variations du nombre d'animaux sexués et neutres chez les jeunes patelles au cours du cycle annuel.

( Périodes du	Classe de	e taille 15 mm	Classe de taille 16 - 20 mm		
cycle annuel	Sexués	Neutres	Sexués	Neutres	
( Janvier Mars	: : 2 <u>:</u>	177	95	150	
( ( Avril Juin (	. 0	97	: : 3	167	
( Juillet Sept.	: 53	116	: : 301	87	
( Octobre Dec.	63 :	81	: : 396 :	32	

#### 2) Eclosions estivales et automnales

La croissance des jeunes est rapide (fig. 15,A); au printemps suivant la taille de 10 mm est atteinte et la maturité sexuelle intervient à l'âge d'un an alors que la longueur de la coquille est en moyenne de 19 mm. En effet, la taille minimale possible observée chez des patelles sexuées (10 mm) est atteinte pendant la période de repos; d'avril à juin, pratiquement tous les animaux de taille inférieure à 20 mm sont dépourvus de gonades (tabl. XI). A 2 ans, ils atteignent 31 mm ce qui traduit une croissance de 12 mm au cours de la seconde année (tableau X).

A cette taille, le taux de femelles atteint 40 % du total des individus sexués ; comme l'inversion sexuelle intervient pendant la phase de repos génital, on peut affirmer que de nombreuses patelles subissent le changement de sexe entre 18 mois et 2 ans.

A l'âge de 3 ans, la taille est voisine de 40 mm (tableau X), et la population femelle devient prépondérante. Comme aucune preuve ne nous autorise à croire à une mortalité plus précoce chez les mâles que chez les femelles, il faut admettre que cette variation de la <u>sex-ratio</u> correspond au changement de sexe d'une nouvelle fraction de la population qui était en phase mâle.

Entre la 3e et la 4e année, la croissance est faible; au cours des années suivantes, elle reste du même ordre (quelques millimètres) et on peut admettre que les rares exemplaires de 50 mm vivant sur nos côtes sont âgés d'au moins 6 ans. Cette valeur doit correspondre à la longévité maximale de l'espèce dans le Boulonnais.

#### 3) Eclosions hivernales

C'est au cours de l'hiver que s'observe le maximum d'animaux de très petite taille (3 mm). Lorsque débute la période de reproduction suivantes, ils ont 12 à 13 mm et sont susceptibles de subir leur première maturation (fig. 15, courbe B). A un an, ils ont en moyenne 17 mm.

Dans les relevés du tableau XI, ces patelles s'intègrent dans la catégorie des sexués de la période estivale de la classe 10-15 mm ou dans celle des sexués d'automne et d'hiver de la classe 16-20 mm selon la précocité relative de leur évolution. A 2 ans, ils ont 32 mm, à 3 ans leur taille atteint 41 mm et au cours du cycle suivant, leur croissance est de quelques millimètres (tableau X).

# 4) Eclosions printanières

Elles fournissent des jeunes patelles qui, en été, ont entre 3 et 10 mm de long.

## a) Eclosions de mars

Les jeunes patelles issues de ces éclosions ont au début de leur vie, une croissance plus rapide que celle des individus d'hiver (tableau X) et la première maturation peut intervenir pour une taille comprise entre 10 et 15 mm. Leur croissance est très active au cours de la seconde année et à 2 ans, elles atteignent une taille égale ou légèrement supérieure à celle d'animaux nés 6 mois plus tôt (tableau X).

A l'âge de 16 à 18 mois, elles peuvent subir leur 2e gamétogenèse, changer de sexe et correspondre alors aux jeunes femelles susceptibles d'apparaître dans la classe 21-25 de nos relevés de population.

#### b) Eclosions tardives

Les larves écloses en avril et mai (rares) n'atteignent la taille de 10 à 15 mm qu'au moment de la fin de la période de reproduction (fig. 15, D). Or les relevés effectués entre janvier et mars montrent qu'à cette époque pratiquement tous les animaux de cette classe de taille sont neutres (tableau XI). Ils n'atteindront donc la maturité sexuelle que l'été suivant à une taille moyenne de 20 mm. Ces patelles ne présentent effectivement pas de gonade différenciée pendant la période avril-juin (tableau XI). Leur croissance est rapide au cours de la seconde année (18 mm), ils atteignent 30 mm à 2 ans et 41 mm à 3 ans (tableau X).

#### DISCUSSION

L'étude du cycle vital de Patella vulgata L. montre que :

- la maturité génitale est atteinte à l'âge de 9 mois ou d'un an chez les patelles nées en été, automne et hiver, mais pour celles écloses au printemps, elle ne survient général, qu'à 18 mois.
- toutes la patelles ayant survécu atteignent approximativement la même taille (voisine de 40 mm) quelle que soit la période d'éclosion (fig. 15). Celles nées à la fin de l'hiver auront cependant mis six mois de moins pour y parvenir. Donc, dans une population, des animaux de même taille, issus d'une même génération annuelle n'ont pas forcément le même âge.

# Longévité chez les Patellacea

Dans le tableau XII, ont été rapportés les résultats relatifs à la croissance et à la longévité possible chez quelques genres et espèces de <u>Patellacea</u>.

Pour une même espèce, les valeurs obtenues sont variables selon les régions prospectées et dans une même région, croissance et longévité varient selon les conditions bionomiques des stations. Chez <u>Patella vulgata</u>, la

TABLEAU XII

Croissance et longévité probable chez quelques Patellacea

Les chiffres entre parenthèses placés dans la colonne "longévité probable" correspondent à la taille maxima atteinte par l'espèce dans la station envisagée.

Espèce étudiée	Auteur	Région	Facies	: Taille : lan	: Taille :	Taille 3 ans	: Taille : 4 ans	Lomgévité probabl
Patella vulgata	: RUSSEL (1909) :	Ecosse	: Rochers	: 20 à 25 mm	: 38 mm	43 mm	: 45 à 48 mm	: 4 ans (48 mm)
	: ORTON (1928)	Plymouth	: Quai du Port	26 à 33	53		· • 5 - 35	: 2 ans (53 mm)
		• 11		: 11 à 27	: 47 à 49			: 2 ans (49 mm)
•	: HATTON (1938) :	Saint-Malo	: Rochers	: 6 k 9	8 2 11	9 à 12	: 10 à 13	: 16 ans (23 mm)
	: FISCHER-PIETTE : (1939, 41, 48) :	DINARD	: Rochers			•	•	: 16 ans (25 mm)
•	*	CANCAVAL (Estuaire RANCE)	: Rochers	: 8 mm	: 13 mm	50 mm	: 23 mm	: 5 ans (25 mm)
		Port St Hubert	: Estuaire	: 25	35			: 2 ans 1/2 (38 mm
	: CHOQUET :	Boulonnais	: Rochers	: 12 à 19	30 à 33	40 à 43	: 43 à 45	: 5 à 6 ans (49 mm
Patella depressa	: FISCHER-PIETTE : (1941) :	DINARD	: Rochers	,	?	,	,	: 20 ans ? (25 mm)
Patella aspersa		CANCAVAL	•	?	: 20 mm (?)	?	. ?	: 11 ans (46 mm)
Patina pellucida	GRAHAM et FRETTER:	DEVON (Angletterre)	: Rochers : et Laminaires	: 10	: 15 mm (rare)			: 1 à 2 ans
cmaea dorsuata	: ABE (1932)	Japon	: Rochers	6 mm	: 10 mm	12 à 18	: 14 à 22	: 16 ans (23 à 25 : selon le milieu
cmaea; pelta	: FRANK (1965 b) :	Oregon (U.S.A.)	: Rochers	17	24	30	34	: 4 ans
" digitalis				. 11	15	18	: 50	: 6 ans (22 mm)
" paradigitalis				: 9	11	11	: 12	: 20 ans (25 mm)

longévité varie de 2 à 16 ans ; ces variations seraient dues essentiellement à des facteurs trophiques comme l'ont montré HATTON (1938) et FISCHER-PIETTE (1939, 1941, 1943, 1948). Plus la croissance est rapide, plus la vie est brève, mais selon FISCHER-PIETTE (1943) la croissance rapide n'est pas l'indice d'un développement purement végétatif, elle s'accompagne d'une évolution génitale précoce.

L'étude de la <u>sex-ratio</u> et des séquences sexuelles chez les animaux vivant 2 ans permettrait de savoir si tous les individus changent de sexe après la première gamétogenèse. Une étude similaire réalisée chez les populations où la croissance est lente permettrait de savoir si l'inversion sexuelle est liée à la taille ou à l'âge.

L'examen du tableau XII montre que les patelles des régions septentrionales atteignent une taille supérieure à celle des populations vivant sous une latitude plus méridionale.

GAILLARD (1965) constate un phénomène identique chez <u>Gibbula pennanti</u>
Philippi en comparant les animaux de Bretagne et du Pays Basque; WEYMOUTH,
MAC MILLIN et RICH (1931) aboutissent à des résultats similaires chez le,
Lamellibranche <u>Siliqua patula</u> Dixon d'Alaska et de Californie. MOORE (1934)
et DEHNEL (1964) émettent l'hypothèse que ces variations pourraient être liées.
à une plus grande richesse des eaux froides en plancton. SPARK (1936) comparant la consommation d'oxygène de Lamellibranches du Groenland et du Danemark
constate qu'elle est plus importante chez les animaux septentrionaux.

L'étude de la croissance de <u>P. vulgata</u> dans des stations plus méridionales que celles de Bretagne serait souhaitable pour essayer de tester les influences respectives de la latitude et de la température sur l'accroissement de taille et sur la longévité.

#### CONCLUSION

Grâce à la méthode des marquages, nous avons pu étudier la croissance de <u>P. vulgata</u> dans son milieu naturel et déterminer la longévité possible de cette espèce sur les côtes du Boulonnais.

L'étude de la croissance de lots de patelles marquées en été et au printemps montre que la croissance annuelle dépend de la période d'éclosion et des conditions climatiques.

Au cours du cycle annuel, la croissance ne s'effectue pas d'une manière continue, elle est irrégulière, subit des variations saisonnières mais ne
cesse pas complètement en hiver. L'accroissement de taille n'est pas homogène
pour l'ensemble de la population d'une station : il diminue en fonction directe
de l'âge, il est perturbé au cours de la gamétogenèse et il est plus important
chez les animaux vivant sous les <u>Fucus</u> que chez ceux peuplant les rochers
dépourvus de couverture végétale.

En tenant compte des variations de la <u>sex-ratio</u> en fonction de la taille et des saisons et des données relatives à la croissance, nous avons tenté de retracer les étapes successives de la vie des patelles à partir de la date d'éclosion au cours d'une même génération annuelle. La longévité possible est de 5 à 6 ans ; à cet âge, les patelles atteignent, sur nos côtes, une longueur d'environ 50 mm.

#### CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE

La première partie de notre travail a été consacrée à l'étude du cycle biologique de Patella vulgata L. dans son biotope naturel.

- 1. Nous nous sommes attachés, tout d'abord, à envisager la répartition des patelles sur les côtes du Boulonnais. L'examen de nombreux exemplaires nous ayant montré qu'il existait, au sein de la population, des variations morphologiques, nous nous sommes posés le problème de la spécificité des patelles peuplant cette région. A l'aide des critères de détermination dus à FISCHER-PIETTE, complété par l'étude biométrique du coefficient radulaire et l'examen des dents pluricuspidées et unicuspidées de la radula, nous avons pu conclure à la seule présence de P. vulgata sur ces côtes.
- 2. L'étude statistique de la reproduction et de la <u>sex-ratio</u> a été réalisée par la méthode des relevés mensuels de population effectués en divers points de la côte.

Elle nous a permis de montrer que :

- le cycle génital annuel est divisé en deux parties : la période de reproduction qui s'étend de juillet-août à février-mars et la phase de repos survenant au printemps et au début de l'été.
- la <u>sex-ratio</u> est caractérisée par une nette prépondérance du taux d'individus mâles par rapport à celui des femelles. Le nombre de mâles diminue en fonction de la taille et inversement, la proportion de femelles augmente; cette variation enregistrée dans la <u>sex-ratio</u> est la conséquence d'un changement de sexe affectant la majorité des patelles. L'hypothèse de l'existence d'un hermaphrodisme protandre, avancée dès 1920 par ORTON se trouve confirmée pour la population du Boulonnais qui n'avait jamais été étudiée jusqu'à ce jour.
- le passage de la phase mâle à la phase femelle peut se produire chez des animaux de taille variée et il survient au cours de la phase d'inactivité sexuelle.
- 3. L'étude de la croissance et de la longévité de <u>P. vulgata</u> a été réalisée par la technique des marquages d'animaux dans leur biotope naturel.

Nous avons pu constater que :

- la croissance est rapide au printemps, ralentie en été, elle reprend en automne et est faible en hiver. Elle est donc discontinue contrairement à ce qui se passe sur les côtes bretonnes où les variations saisonnières de croissance n'existent pas.
- la nutrition influe sur l'accroissement linéaire; ce dernier est plus grand chez les patelles viant sous un tapis végétal de Phéophycées que chez celles peuplant les rochers à Cirripèdes.
- la croissance se ralentit en été lorsque, chez les adultes, commence la gamétogenèse, une telle perturbation ne s'observe pas chez les animaux juvéniles.
- le taux de croissance est la résultante de divers facteurs dont les plus importants semblent être la température, la nourriture et l'activité génitale.

#### DEUXIEME PARTIE

#### GAMETOGENESE ET CHANGEMENT DE SEXE AU COURS DU CYCLE NATUREL

#### CHAPITRE I

# L'EBAUCHE DE LA GONADE. SPERMATOGENESE ET OVOGENESE NATURELLES.

#### INTRODUCTION.

Depuis les travaux de CONKLIN (1897), ROBERT (1902), WILSON (1904) et PELSENEER (1911), on sait que chez tous les Mollusques, à l'exception des Céphalopodes, l'oeuf subit une segmentation spirale et que le micromère 4 d est à l'origine du mésoblaste. Deux bandelettes mésodermiques dérivées de 4 d ont été décrites par PATTEN (1886) chez Patella.

La plupart des auteurs admettent généralement que la gonade est d'origine mésodermique et qu'elle dérive de la paroi péricardique (DAWYDOFF 1928). Les cellules migreraient ventralement et l'ébauche de la glande génitale s'appliquerait contre le tube digestif.

Chez Patella vulgata, SMITH (1935) étudie le développement larvaire et la métamorphose mais n'apporte aucune donnée sur l'organogenèse de la gonade :" No trace of the origin of the gonads has been observed".

DODD (1957) ne mentionne pas non plus l'existence de l'ébauche germinale chez des jeunes animaux obtenus par fécondation artificielle et dont la taille atteint l mm 5. Il semble donc que chez Patella, l'organogenèse de la glande génitale s'effectue tardivement et après la fixation des individus sur les rochers. Chez Crepidula adunca Sorverby, MORITZ (1939) constate un phénomène identique.

Les auteurs qui ont étudié la reproduction de <u>P.vulgata</u> (ORTON, SOUTHWARD et DODD 1956) et celle de <u>P.coerulea</u> (BACCI 1947), ne rapportent aucune donnée sur la gonade juvénile. De même BACCI (1952) évoquant l'aspect cytologique de l'inversion sexuelle chez <u>P.vulgata</u> ne décrit que l'évolution d'animaux âgés.

Il n'existe donc aucune recherche relative à l'ébauche génitale; il nous a paru nécessaire de préciser le moment où, dans la gonade juvénile en différenciation, apparaissent les éléments souches des lignées mâle et femelle.

Des animaux entiers ou des masses viscérales de patelles d'une taille comprise entre 3 et 15 mm ont été fixés, coupés et colorés par les méthodes histologiques et cytologiques classiques.

## I - LA GONADE JUVENILE BISEXUEE

#### 1- Position

Comme nous l'avons mentionné précédemment, nous n'avons pas pu récolter d'exemplaires de moins de 3 mm de long; il ne nous a donc pas été possible d'étudier les premiers stades de la genèse du tissu germinal. Cependant, comme la gonade semble avoir une origine tardive, les formations rencontrées chez des patelles de trois à cinq millimètres doivent correspondre à un stade jeune mais non au premier stade de l'organogenèse.

Chez les animaux de cette taille, la gonade existe déjà dans sa position définitive; elle est accolée contre la face ventrale de la masse visugrale, dans la région postérieure du corps. Elle est contigüe à la masse pédieuse mais ne possède aucune connexion avec cet organe. Il n'existe aucune relation anatomique avec l'appareil excréteur : c'est un organe autonome. Elle est accolée à l'hépatopancréas.

#### 2- Structure

La gonade ne présente pas encore de cloisonnement interne; elle ne renferme qu'un seul follicule de forme conique (Pl.I, fig.a) ce qui n'est pas sans rappeler les observations de GOULD (1917, a) chez <u>Crepidula plana</u> Say.

Les parois sont constituées par des fibres conjonctives entre lesquelles sont disséminés des noyaux étroits et allongés; ce tissu possède une structure syncytiale.

A l'intérieur du follicule, trois types cellulaires sont décelables (Fig.16).

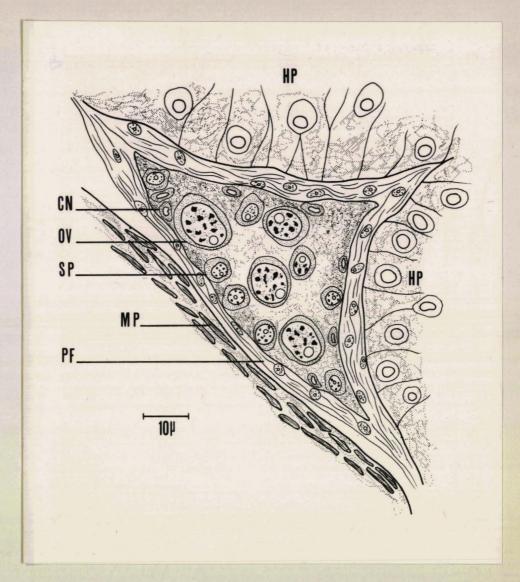


Fig. 16 - L'ébauche de la gonade bisexuée chez les patelles juvéniles.

CN : cellules nourricières

HP: Hépatopancréas

MP : Muscle pédieux

OV : Ovogonies souches

PF : Paroi folliculaire

SP: Spermatogonies souches

## a) Ovogonies souches

Ce sont des cellules d'environ 10 µ, isolées ou disposées en ilôts de trois ou quatre éléments. La majeure partie du cytoplasme, acidophile, est répartie en deux calottes polaires. Le noyau, ovoïde, renferme un gros nucléole. La chromatine ne présente pas un aspect réticulé; elle est réduite en mottes irrégulières, anguleuses disposées surtout à la périphérie du nucléoplasme, contre l'enveloppe nucléaire (Fig.16:0V).

Les caractères structuraux de ces cellules nous incitent à les homologuer à des ovogonies souches. La plupart sont quiescentes; on peut cependant observer dans certaines d'entr'elles, des figures de division, notamment des prophases et des métaphases. La présence de ces aspects caryologiques montre qu'il s'agit de mitoses équationnelles. Ces gonies sont donc capables de se multiplier; permettant ainsi la prolifération de la lignée femelle; toutefois, à ce stade d'évolution de la gonade, l'activité gamétogénétique est encore faible.

## b) Spermatogonies souches.

A côté des éléments ovogénétiques, existent d'autres cellules plus petites, alignées contre l'épithélium germinatif ou disposées en ilôts à l'intérieur du follicule générateur (Fig.16:SP).

Elles ont une taille d'environ 5 µ. Le noyau arrondi, très chromatique, se colore intensément par l'hématoxyline et l'hémalun. Le nucléole est petit et la chromatine, beaucoup plus fine que dans les ovogonies, est répartie uniformément dans le nucléoplasme. Le cytoplasme se présente en général sous forme d'un anneau éosinophile mais peut avoir également une forme polygonale.

Ces éléments peuvent être considérés comme les précurseurs de la lignée mâle et être homologués aux spermatogonies souches. Ils sont pratiquement tous à l'état de repos; de rares mitoses équationnelles ont été observées chez des animaux de taille comprise entre 4 et 6 mm.

# c) Eléments intrafolliculaires.

Ils sont encore peu abondants à ce stade : ce sont des petites cellules dont la taille peut varier de 2,5 à 4 µ. Les noyaux, réniformes ou fusiformes sont entourés d'une frange de cytoplasme aux contours irréguliers (Fig.16): nous les nommerons cellules nourricières.

#### II - EVOLUTION ULTERIEURE DE LA GONADE. MATURITE GENITALE.

#### 1 - Prépuberté.

La croissance de la gonade se caractérise par la multiplication du nombre des follicules. Des cloisons apparaissent; elles sont issues essentiellement de la paroi ventrale. Ces invaginations se ramifient et s'étendent vers la lumière du follicule initial (Pl I, fig.b). Une gonade prélevée chez un animal de 6 à 7 mm de long possède quatre acini; leur nombre augmente progressivement et peut atteindre la dizaine chez une patelle de 8 mm. Ce cloisonnement entraîne une répartition des gonies souches dans les divers follicules néoformés; la glande génitale prend un aspect qui graduellement se rapproche de celui observé chez l'adulte.

Les mitoses deviennent plus nombreuses et dans chaque acinus coexistent les éléments des deux lignées.

On constate également une augmentation importante du tissu interstitiel nourricier, dont les noyaux basophiles, de formes variables, se distinguent nettement dans les acini (Pl I, fig.c).

La gonade reste plaquée contre la masse viscérale; son volume s'accroît mais il n'existe pas de connexion avec les organes voisins et aucune formation annexe ne se développe.

Les spermatogonies souches sont riches en A.D.N; la réaction nucléale de F.eulgen est positive. Par contre, les ovogonies ont une chromatine peu colorable.

# 2 - Maturité génitale.

A partir d'observations cytologiques, nous avons émis précédemment l'hypothèse de l'existence des deux lignées dans la gonade juvénile. Il était intéressant d'étudier le comportement des gonies de l'ébauche germinale au moment où la maturité sexuelle est atteinte.

Chez les patelles de 10 à 15 mm en début de gamétogenèse, la lignée mâle évolue (nous étudierons dans le chapitre suivant les modalités de la spermatogenèse). Les éléments qui sont à l'origine de cette évolution sont alignés le long de l'épithélium germinatif et présentent les caractères cytologiques des cellules que nous avons appelées précédemment spermatogonies souches. Ces cellules, qui existaient parfois en ilôts dans la gonade

juvénile se sont disposées, à l'approche de la puberté, contre les parois des acini,

Les ovogonies souches ne subissent aucune évolution et ne sont pas affectées par le déroulement de la gamétogenèse mâle (Planche I, fig.d); nous étudierons ultérieurement leur comportement. Ces éléments ne peuvent donc pas être considérés comme des protogonies indifférenciées car, s'il en était ainsi, la totalité ou la majeure partie d'entr'elles ne seraient transformées en spermatogonies, ce qui n'est pas le cas.

#### 3 - Discussion.

L'étude de l'ébauche génitale des patelles juvéniles révèle la coexistence des précurseurs des lignées mâle et femelle dans la gonade en différenciation. Cette notion n'est pas originale et des observations identiques ont été faites chez d'autres Mollusques présentant un hermaphrodisme consécutif. On peut citer les travaux de LOOSANOFF (1937) chez Venus mercenaria L., COE (1932) chez Ostrea lurida, ORTON (1922) et COIE (1942) chez Ostrea edulis L., LUBET (1959) chez Mytilus edulis L et M.galloprovincialis L., GOULD (1917a) sur Crepidula plana Say, COE (1936, 1943) sur Teredo, COE (1936) chez Crepidula fornicata L., WILCZYNSKI (1958) chez Crepidula fornicata L., STREIFF (1967) chez Calyptraea sinensis L. Cependant aucune recherche n'avait été effectuée, jusqu'à ce jour, chez les Patellidae.

Cette étude, qui devra être complétée ultérieurement par des données relatives aux animaux de taille inférieure à 3 mm, nous a néanmoins permis de montrer que chez <u>P.vulgata</u>, la goinde juvénile est bisexuée. Les cellules souches des deux lignées coexistent dans les follicules; elles diffèrent les unes des autres par leur taille et leurs caractères cytologiques mais ne présentent pas, en général, une disposition bien déterminée dans les acini. Les gonies sont entourées par un tissu nourricier qui se résorbe à la maturité génitale.

La présence simultanée des deux lignées est importante à considérer lorsqu'on se propose d'étudier les facteurs susceptibles d'influer sur leur évolution au cours du cycle vital.

L'existence de spermatogonies et d'ovogonies souches dans le follique initial de la gonade pose le problème de leur origine.

Nous n'avons pas rencontré avec certitude des gonades à un stade indifférencié dans lesquelles nous ayons observé des cellules mères évoluant soit en spermatogonie soit en ovogònie. Il est probable, en effet, que chez des patelles ayant un ou deux millimètres de long existent dès éléments primordiaux : les cellules mères des gonies ou protogonies, selon la terminologie employée par BECCARI (1924) chez les Batraciens. Ce terme de protogonie est utilisé chez les Mollusques pour désigner des éléments germinaux qui ne semblent pas correspondre à des stades d'évolution comparables. Ainsi LUBET (1959) décrit chez Mytilus un stade précoce de l'ébauche génitale et constate l'existence de gonies plus jeunes que celles étudiées chez ce même genre par COE (1943) et homologuées à des protogonies par SAKSENA (1950).

Chez <u>P.vulgata</u>, BACCI (1952) utilise également ce terme pour désigner des cellules qui semblent correspondre en fait à des ovogonies. Afin de tenter de résoudre le problème de l'origine de la lignée germinale, il importe de rechercher des stades d'organogenèse gonadique très précoces en réalisant notamment le développement larvaire expérimental.

L'étude en microscopie électronique devra être entreprise pour préciser la structure des gonies souches des deux lignées.

#### III - SPERMATOGENESE.

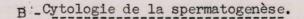
Chez les Gastéropodes Prosobranches, d'importantes recherches ont été effectuées par TUZET (1930); chez les <u>Patellidae</u>, ses travaux ont portés sur <u>P. coerulea</u> L. Cet auteur décrit les différents stades de la spermatogenèse et souligne l'existence d'une lignée atypique totalement distincte de la lignée normale dès le stade spermatogonie. Chez <u>P. vulgata</u> L, seule la spermatogenèse a été étudiée par FRANZEN (1956).

# A -Morphologie et structure de la gonade.

La glande génitale n'est en relation avec aucun organe copulateur et ne possède pas de conduit propre; les gamètes sont émis dans la cavité palléale par l'orifice rénal droit (RAY LANKESTER 1867). Aucune glande

accessoire n'apparaît au cours de la vie. La gonade d'un animal n'ayant pas encore atteint la maturité sexuelle se présente sous l'aspect d'une mince lame blanchâtre, de forme irrégulière, limitée longitudinalement, sur un côté, par la radula. En période de repos post gamétogénétique, les gonades des deux sexes ont une couleur rouge brique, parfois brune, due à la présence de pigments caroténoïdes dont le plus abondant est le 3 carotène (GOODWIN 1950).

L'étude du développement de l'ébauche germinale chez les patelles juvéniles nous a montré que la paroi externe s'invagine pour diviser le folliculi initial en de nombreux acini lobés, de forme irrégulière. Leurs parois, de structure syncytiale renferment les gonies souches.



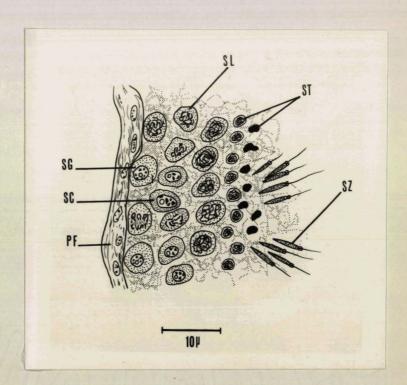


Fig. 17 - Cytologie de la spermatogenèse

C.N: Cellules nourricières

P.F : Paroi du follicule

S.C: Spermatocyte

S G: Spermatogonie

S.L: Spermatocyte au stade leptotène

S.t : spermatide

S Z : spermatozoide

#### 1 - Spermatogónies.

Ce sont des cellules de 4 à 5 µ (Fig.17, SG). Le noyau volumineux, présente une chromatine en petites mottes arrondies, réparties uniformément dans le nucléoplasme; il possède également un gros nucléole. Le cytoplasme clair, riche en A.R.N, forme une mince bandelette annulaire autour du noyau et renferme à l'un des pôles de la cellule des granulations mitochondriales. En période de repos, les spermatogonies sont peu chromatiques mais en début de gamétogenèse, elles deviennent très basophiles. Elles se divisent par mitoses équationnelles et donnent naissance aux jeunes spermatocytes. Il ne nous a pas été possible de compter les chromosomes, étant donné la petitesse de ces cellules.

#### 2 - Spermatocytes.

Le spermatocyte I est une cellule dont la taille moyenne est de 4 à 5 µ, le noyau atteignant à lui seul 3,6 à 4 µ. Le volume varie légèrement selon qu'il s'agisse d'un élément ayant ou non achevé sa phase d'accroissement Il se distingue de la spermatogonie par sa structure : la chromatine d'un noyau quiescent forme des blocs irréguliers intensément colorés par l'hématoxyline (Fig.17, SC). Le cytoplasme, plus granuleux, reste pyroninophile et renferme des mitochondries et de rares chondriocontes flexueux. Ces cellules subissent une division de maturation hétérotypique. Les stades leptotènes sont nets (Fig.17, SL) mais les stades zygotène, pachytène et diplotène sont difficiles à identifier. GOULD (1917a)chez Crepidula plana et STREIFF (1967), chez Calyptraea sinensis ont décrit, au cours de la spermatogenèse, un corps chromatique cytoplasmique. Il se formerait à partir du nucléole, ce dernier traversant l'enveloppe nucléaire. Une telle structure n'a jamais été observée chez Patella vulgata.

Le chondriome reste d'abord groupé à l'un des pôles puis il tend à se répartir uniformément dans le cytoplasme; d'autres figures montrent au contraire des tassements mitochondriaux diamétralement opposés. Cette variabilité pourrait correspondre à des stades d'évolution successifs entraînant une répartition des éléments du chondriome dans les futures cellules filles. Le spermatocyte II a une taille inférieure à 4  $\mu$ , sa structure est voisine de celle du spermatocyte I tant au point de vue nucléaire que cytoplasmique. Il convient toutefois de signaler que les amas fuchsinophiles mitochondriaux semblent plus abondants.

Une division équationnelle aboutit à la formation de spermatides.

#### 3 - Spermiogenèse

Quelques brèves indications relatives à la spermiogenèse de <u>P.vulgata</u> sont fournies par GIBSON (1887); les études ultérieures plus complètes sont dues à TUZET (1930) pour <u>P.coerulea</u> et à FRANZEN (1956) pour <u>P.vulgata</u>.

Les spermatides sont de petites cellules de 1,8 à 2,3  $\mu$  à cytoplasme très réduit. Le noyau est compact, fortement chromatique, riche en A.D.N (fig.17, St).

Le cytoplasme ne présente plus de réaction au BRACHET, il semble dépourvu d'A.R.N; le chondriome est décelable, par la fuchsine d'Altmann, à l'un des pôles de la cellule.

L'évolution ultérieure de la spermatide est caractérisée par la formation d'un manchon fuchsinophile polaire, ébauche de la pièce intermédiaire du futur spermatozoïde. Au pôle opposé, la coloration à l'hématoryline de Regaud, après fixation au tétroxyde d'osmium, révèle l'existence d'une plage chromatique correspondant à l'ébauche de l'acrosome. Le cytoplasme est encore présent mais il tend à régresser et forme une mince couche entourant le noyau compact, intensément coloré par la réaction de FEULGEN. Sur une coupe de tubule séminifère, tous ces stades de spermiogenèse peuvent s'observer et, certaines spermatides situées dans la lumière des acini présentent une forme allongée; on y distingue un petit flagelle caudal qui n'a pas atteint sa taille définitive. Ce stade correspond à celui du jeune spermatozoïde en maturation.

Le gamète mûr est de type primitif (FRANZEN 1956); il possède une tête en tronc de cône, plus allongée que celle de <u>P. coerulea</u> et atteignant environ 4 μ de long sur 0,5 μ de large (Fig.17,SZ). Le flagelle très grêle, mesure 25 à 30 μ.

Les résultats relatifs à l'étude cytologique de la spermatogenèse de <u>P.vulgata</u> sont conformes à ceux précédemment rapportés par TUZET (1930) pour <u>F.coerulea</u>; toutefois. nous n'avons pas rencontré de sperma-

tozoides atypiques.

Le long de l'épithélium germinatif existent parfois des cellules ressemblant à celles décrites par cet auteur et homologuées à des spermatogonies atypiques; nous verrons ultérieurement que chez <u>P.vulgata</u>, ces éléments doivent être considérés comme appartenant à la lignée femelle.

#### C - Evolution de la gonade en phase male au cours du cycle annuel.

#### 1 - Période de repos génital.

Pendant la période qui s'étend de mars à Juin, la majeure partie des patelles sont en phase de repos sexuel (Pl.II, fig.a). Les tubules séminifères des gonades sont désorganisés, ils ont une forme lobée, irrégulière; leurs parois renferment des spermatogonies quiescentes qui sont à l'origine de la future ondée mâle. Le tissu de soutien de l'épithélium germinatif possède une structure syncytiale fibrillaire, il est très riche en noyaux de forme variable, souvent elliptiques, dont la taille atteint environ 3 µ.

On constate également la présence de gonies femelles que nous étudierons ultérieurement (chapitre II) au cours de l'exposé relatif aux modalités de l'inversion sexuelle naturelle.

## 2 - Les étapes successives de la gamétogenèse.

Au début de la période de reproduction, la gonade subit des modifications structurales : les acini prennent une forme régulière, en doigt de gant; le tissu nourricier se résorbe progressivement et l'épithé-lium germinatif redevient actif.

Bien avant que le sexe ne soit discernable <u>de visu</u>, l'examen microscopique révèle une intense activité mitotique. En effet, de la périphérie vers le centre de chaque acinus, spermatogonies, spermatocytes et spermatides apparaissent en grand nombre (Planche II, fig.b). Puis les premiers gamètes se forment (Planche II, fig.c). Les spermatozoïdes sont groupés en épis, leurs flagelles sont orientés vers le centre du follicule et ils restent quelque temps accolés par la tête.

Ia multiplication cellulaire entraîne une augmentation de volume de la gonade. En considérant l'extension de l'organe par rapport à la masse viscérale et à la radula, il est possible de distinguer cinq stades d'évolution au cours du cycle reproducteur annuel (première partie chapitre II). Le stade 0 correspond au repos sexuel, les stades 1, 2, 3, 4, sont relatifs à la gamétogenèse.

Dès le stade 1, les gamètes existent déjà en grand nombre ; la gonade prend une couleur blanc laiteux, légèrement rosée. Selon COODWIN et TAHA (1950), elle serait due à la présence de quatre pigments caroténoïdes : carotène, échininone, cryptoxanthine et zeaxanthine.

Au stade 2, le tissu de soutien des gonies diminue de volume et se réduit à une mince couche périfolliculaire. Les spermatozoïdes, produits en grand nombre, s'accumulent dans la lumière de chaque acinus où ils poursuivent leur maturation. L'épithélium germinatif n'a pas cessé de fonctionner et de nombreux spermatocytes existent encore.

A partir du stade 3 de l'évolution, on constate une diminution puis un arrêt des divisions spermatogoniales. La glande génitale continue cependant à augmenter de volume jusqu'au stade 4 car les spermatocytes issus des dernières générations spermatogoniales achèvent leur différenciation.

Dans une gonade mûre, les gamètes occupent tout le volume du follicule et entrent en contact avec l'épithélium germinatif où ne subsistent que
des spermatogonies souches. Les stades let 2 s'observent en général dès le
mois de juillet; en août, certaines gonades sont déjà mûres mais c'est surtout entre septembre et décembre qu'existe le plus fort pourcentage d'individus
matures.

Après émission des gamètes, les acini se vident (Pl. II, fig. d), mais tout le sperme n'est pas émis. La lumière des follicules est envahie peu à peu par un tissu interstitiel constitué de cellules ovalaires ou piriformes pouvant atteindre 25  $\mu$ ; le noyau, assez petit (5 à 6  $\mu$ ) est périphérique et la majeure partie de la cellule est occupée par une vacuole riche en amas éosinophiles. Ces éléments amiboïdes apparaissent en fin de reproduction et participent à la phagocytose des spermatozoïdes non éliminés ; on observe en effet la présence de résidus chromatiques dans leur vacuole.

Les tubules reprennent une forme irrégulière et leurs parois s'épaississent. Des tâches brunes apparaissent à la surface de la gonade et le sexe ne devient plus visible extérieurement. Les formations pigmentaires affectent graduellement l'ensemble de l'organe qui fait retour à une phase de repos.

## IV - OVOGENESE.

Chez les Mollusques, l'ovogenèse a fait l'objet de recherches portant notamment sur la cytologie nucléaire et sur la cytochimie du nucléole et de l'ovocyte en vitellogenèse.

GIBSON (1887) étudie très succinctement la gonade femelle de P. vulgata; il note cependant l'existence d' "endonucléoles" apparaissant transitoirement au cours de l'ovogenèse. Dans un travail beaucoup plus complet, réalisé chez P. tramoserica, P. rota, P. coerulea L, P. coffea et Patella sp. de Roscoff, JORGENSEN (1913) constate l'existence d'un nucléole primaire et d'amphinucléoles ( = endonucléoles de GIBSON) dont il étudie le cycle. Un travail similaire est effectué par LUDFORD (1921) chez P. vulgata et chez cette même espèce, BRAMBELL (1924) étudie la nature et l'origine du vitellus. Chez P. coerulea L, les principales recherches ont été effectuées par BACCI (1947) RANZOLI (1953), BOLOGNARI (1960), ALBANESE (1964). D'autres travaux sont également à signaler chez des Prosobranches (FRANK 1951, MARTOJA et MARTOJA-PIERSON (1959), ALBANESE et DONATO 1964 , les Scaphopòdes (ARVY, 1950) et les Polyplacophores (GABE et PREMANT, 1949). Enfin une importante mise au point sur les différentes phases de 1 oogenèse a été publiée par RAVEN (1960).

Nous avons repris cette étude chez <u>P. vulgata</u>. Nos recherches ont parté sur la cytologie de l'ovogenèse et sur l'évolution de la gonade en phase femelle au cours du cycle annuel.

Les glandes génitales ont été colorées selon les techniques suivantes: Glychémalun, hématoxyline de HEIDENHAIN, bleu de toluidine, MALLORY, FEULGEN, fuchsine d'ALIMANN et technique de BRACHET.

## A - Cytologie de l'ovogenèse.

L'ovogenèse de <u>P.vulgata</u> peut être divisée en deux phases successives :

- La période gamétogénétique qui s'achève à la prophase hétérotypique.
- La période végétative caractérisée par des modifications nucléolaires et par l'élaboration des réserves vitellines.

## 1 - Période gamétogénétique.

## a) oogonies

La gonade en phase de repos possède, le long des parois folliculaires, des ovogonies de 8 à 10 µ de diamètre. Elles sont arrondies ou ovalaires. Le noyau a une taille d'environ 6 µ; le nucléole est riche en A.R.N; la chromatine est peu colorable au Feulgen (Fig.18 a). Le cytoplasme est réduit, faiblement éosinophile et la réaction de BRACHET montre qu'il renferme de l'A.R.N. Il existe des granulations mitochondriales réparties uniformément dans le cytoplasme.

Ces cellules se divisent par mitoses équationnelles (Fig. 18, b: anaphase ) qui aboutissent à la formation d'ovocytes primordiaux ou préméiotiques.

# b) ovocytes préméiotiques.

Ce sont des cellules de 10 à 12 µ; le noyau renferme un gros nucléole; la chromatine, beaucoup plus fine que dans l'ovogonie, est répartie uniformément dans le nucléoplasme (Fig.18, c). Elle est très chromatique et plus riche en A.D.N. que celle de l'oogonie. Le cytoplasme est plus abondant qu'au stade précédent. Il est surtout bien développé aux pôles de la cellule où il se présente en calotte; il renferme de nombreuses mitochondries et est riche en A.R.N.

Les ovocytes primordiaux entrent en prophase méiotique : la chromatine se colore intensément au FEULGEN. Les chromosomes s'individualisent (Fig.18, d) au stade l'eptotène; ils deviennent ensuite courts et épais (Fig.18,c: pachytène). En fin de prophase hétérotypique, les phénomènes caryologiques s'arrêtent; les chromosomes s'estompent, le nucléoplasme devient homogène. La réaction nucléaire de ERACHET est alors extrêmement faible; elle deviendra négative dès le stade suivant tout comme celle de FEULGEN.

Le jeune ovocyte va dès lors subir de profondes transformations

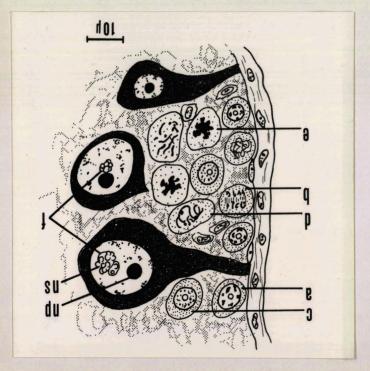


Fig. 18 : Cytologie de l'ovogenèse.

cytologiques.

a : ovogonie quiescente

b : mitose ovogoniale homéotypique (anaphase)

c : ovocyte prémiotique

d : ovocyte en méiose ( leptotène)

e : ovocyte en méiose (pachytène)

f : Différentes figures d'émission de nucléoles secondaires

dans le noyau d'ovocytes en prévitellogenèse.

N.P : Nucléole primaire

N.S : Nucléole secondaire.

2 - Période végétative

Au cours de cette période, les ovocytes augmentent régulièrement

la prévitellogenèse et la vitellogenèse. qui présentent chacune des caractères cytologiques particuliers : ce sont de volume; cette phase d'accroissement peut être divisée en deux étapes

## a) Prévitellogenèse.

Le cytoplasme des jeunes ovocytes de 15 à 20 µ devient fortement basophile. Il est coloré en pourpre par l'éosine et prend le bleu de méthyle, ce qui confirme les observations de LUDFORD (1921). Il se colore en rouge par le mélange de UNNA-PAPPENHEIM et reste pyroninophile après action de la ribonucléase ou après hydrolyse chlorhydrique selon VENDRELY. Cependant, le taux d'A.R.N. diminue rapidement et les ovocytes de taille supérieure à 20 µ présentent une réaction négative à ces mêmes tests.

Le nucléole primaire, qui n'a pas encore subi de modification, est riche en A.R.N. mais ne semble pas renfermer d'A.D.N. La chromatine, très fine, reste encore légèrement colorable au FEULGEN mais rapidement, l'A.D.N. n'est plus décelable.

L'accroissement de l'ovocyte s'accompagne d'une augmentation de volume du nucléole. Ce dernier atteint sa taille maximale au cours de la prévitellogenèse. Le nucléole primaire émet alors des bourgeons fuchsinophiles arrondis ou de forme irrégulières qui s'en détachent et se disposent près de l'enveloppe nucléaire (Fig. 18, f, Pl. III, fig. a). Ces nucléoles accessoires sont pyroninophobes ou légèrement pyroninophiles; ils ont une structure moins compacte que celle du nucléole primaire et renferment de nombreux granules réfringents. De telles formations s'observent dans le cytoplasme et on peut observer leur passage au travers de l'enveloppe nucléaire. Elles conservent d'abord leur colorabilité propre puis elles se désintègrent ou se dissolvent dans le cytoplasme et, en se mélangeant a ce dernier, elles deviennent basophiles. Il convient de signaler que chez P. coerulea, un processus identique a été rapporté par ALBANESE (1964). Selon LUDFORD (1921), ces extrusions nucléolaires seraient en relation avec l'élaboration du vitellus et STREIFF (1967) émet la même hypothèse pour Calyptraea sinensis. Nous avons pu effectivement constater que l'émission de nucléoles accessoires était particulièrement intense en fin de vitellogenèse alors que la taille des ovocytes atteint 50 µ.

A la fin de cette première phase d'accroissement, le nucléole peut se fragmenter en deux parties dont l'une, la plus petite, peut se détacher du nucléole primaire ou y rester adhérente; ces deux organites vont coexister pendant une partie de la vitellogenèse (Pl.III, fig.b).

## b) Vitellogenèse.

Au cours de cette ultime phase de l'accroissement, le cytoplasme augmente considérablement de volume et perd peu à peu de sa basicité. Dans un stade transitoire apparaissent des masses irrégulières colorées en pourpre par l'éosine tandis que le reste du contenu cytoplasmique est teinté de rose (Pl.III, fig.c). Progressivement, l'ensemble devient acidophile; il contient parfois des plages claires ou aréoles décrites par GABE et PRENANT (1949) chez les Polyplacophores, mais cette présence ne semble pas constante.

Pendant toute la phase de vitellogenèse, le noyau est dépourvu de chromatine décelable (réactions de Feulgen et de Brachet négatives) et l'enveloppe nucléaire est souvent plissée (Pl.III, fig.d). A l'approche de la maturité ovocytaire, le nucléole se fragmente et disparaît.

Dans le cytoplasme, les réserves vitellines apparaissent sous la forme de petits granules appliqués contre l'enveloppe nucléaire. Ils s'en écartent progressivement sous la poussée des grains néoformés et fusionnent en plaquettes acidophiles protidiques. Nous n'avons pas réalisé d'étude histochimique approfondie, cette dernière ayant été effectuée chez <u>P. coerulea</u>, en particulier par BOLOGNARI (1960) et ALBANESE (1964)

Les quelques résultats obtenus sont conformes aux connaissances générales que nous possédons sur la nature chimique du vitellus.

Les techniques de mise en évidence des lipides (noir Soudan B et Bleu de Nil) indiquent la présence de globules lipidiques disséminés entre les plaquettes vitellines. L'épreuve du P.A.S montre que les glucides sont assez abondants au début de vitellogenèse mais ils semblent disparaître à l'approche de la maturité ovocytaire.

L'ovocyte mûr est entouré par un chorion (Pl.III,fig.d). Il est vraisemblable qu'il provient des cellules folliculaires qui entourent l'ovocyte au cours de l'auxocytose. Ce sont des petits éléments allongés, plaqués contre la paroi de l'ovocyte et dont le noyau, ovoïde, peut atteindre une longueur de 3 u. Leur nombre est variable mais au cours de la prévitellogenèse et de la vitellogenèse on peut parfois en observer quatre ou cinq autour d'un ovocyte. Ces cellules ressemblent aux éléments intrafolliculaires que l'on observe dans la gonade juvénile et que l'on retrouve en abondance dans les acini d'un animal prépubère.

#### 3 - Conclusion

Au cours de l'ovogenèse, le cytoplasme et le noyau sont le siège d'importantes transformations structurales et chimiques.

Sur la figure 19 nous avons tracé les courbes relatives à l'évolution de quelques caractères chimiques des gonies femelles pendant la gamétogenèse :

- Evolution de l'A.R.N.cytoplasmique (Fig.19, A) et de l'A.D.N. nucléaire (Fig.19, B) décelables par les réactions de FEULGEN et de BRACHET.

- Variation de l'acidophilie cytoplasmique (Fig. 19, C).

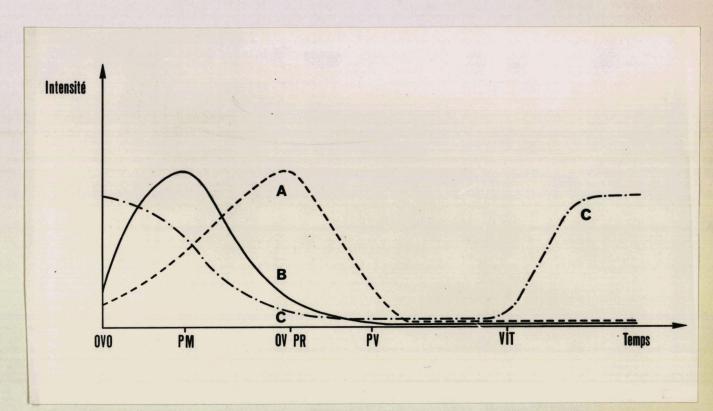


Fig.19 - Variations de quelques caractères chimiques des gonies au cours de l'ovogenèse.

A : Evolution de l'A.R.N. cytoplasmique

B : Variation de l'A.D.N. décelable.

C : Variation de l'acidophilie cytoplasmique.

OVO : Ovogonie

OV.PR: Ovocyte préméiotique

P.M : Prophase méiotique

P.V: Prévitellogenèse

VIT: Vitellogenèse

N'ayant pas eu la possibilité de réaliser une étude cytophotométrique, nous avons tracé les courbes relatives à l'évolution des acides nucléiques en tenant compte d'appréciations sur l'intensité des réactions pendant les différentes phases de l'ovogenèse.

- Le cytoplasme, acidophile et riche en A.R.N. chez les ovogonies et les ovocytes primordiaux, augmente de volume dès la prévitellogenèse; il devient alors basophile et s'appauvrit en ribonucléines pyroninophiles qui ne deviennent finalement plus décelables. Au début de la vitellogenèse, il redevient acidophile et ne renferme pas d'A.R.N.
- Le noyau présente une phase gamétogénétique pendant laquelle il est riche en A.D.N. Après la prophase hétérotypique, la chromatine s'estompe peu à peu et n'est plus décelable en prévitellogenèse. Les transformations les plus marquantes sont celles du nucléole : sa taille augmente pendant la phase d'accroissement ovocytaire. Il émet des nucléoles secondaires qui traversent l'enveloppe nucléaire; leur contenu se mélange au cytoplasme. Ces formations joueraient un rôle important dans l'élaboration des protéines cytoplasmiques pendant la vitellogenèse.

Au cours de l'ovogenèse, il existe un synchronisme entre les modifications cytoplasmiques et nucléaires. Lorsqu'après la prophase méiotique, les ovocytes acquièrent un cytoplasme basophile, on constate une disparition corrélative de la chromatine, donc un appauvrissement en A.D.N. Cette basophilie est également concomittante de l'accroissement du nucléole qui atteint sa taille maximale au cours de la prévitellogenèse. Le retour progressif à l'acidophilie cytoplasmique, marquée par l'élaboration du vitellus, est précédé par l'émission de nucléoles secondaires qui migrent dans le cytoplasme. Ces synchronismes sont le reflet d'une interdépendance des organites cellulaires; le nucléole, en particulier, semble jouer un rôle important au cours de la vitellosynthèse.

# B - Evolution de la gonade en phase femelle au cours du cycle annuel

# 1 - Stade de repos apparent.

Pendant la période de repos, il faut avoir recours à l'examen histologique de la gonade pour déterminer le sexe d'une patelle.

L'épithélium germinatif est peu développé au début de ce stade et renferme les ovogonies primaires. Pendant le printemps, ces cellules se multiplient par mitoses homéotypiques, leur nombre devient important contre les parois des follicules (Pl.IV, fig.a). On peut également observer des oogonies en méiose et des ovocytes primordiaux; les divisions cellulaires deviennent plus abondantes lorsque la période de reproduction approche.

Au début du stade de repos, existent, à côté des ovogonies, des jeunes ovocytes en phase d'auxocytose. Or, comme à ce moment là, les mitoses goniales sont peu abondantes, il semble que ces ovocytes proviennent de la génération précédente. En effet, en fin de gamétogenèse, des ovocytes jeunes ou en prévitellogenèse, issus des ultimes mitoses ovogoniales du cycle, n'achèvent pas leur évolution. Ils subsistent pendant l'hiver et le printemps et n'effectuent leur vitellogenèse que l'été suivant. Ce phénomène pourrait être dû soit à l'absence d'impulsion vitellogénique soit à un appauvrissement de la gonade en substances nutritives.

On constate donc que, contrairement à ce qui se passe chez les patelles en phase mâle, la période de repos n'est qu'apparente; la lignée femelle est le siège d'une activité mitotique entraînant l'apparition d'ovocytes qui commencent alors leur auxocytose.

- 2 Evolution de l'ondée ovogénétique.
- Au stade 1 les gonades accentuent leur activité gamétoformatrice, les ovocytes poursuivent leur accroissement et, pendant la prévitellogenèse, ils restent réunis à l'épithélium germinatif par un pédoncule cytoplasmique. Les phénomènes d'extrusions nucléolaires apparaissent mais à ce stade aucun ovocyte n'est en vitellogenèse. (Pl.IV.fig.b).
- Cette dernière apparaît au stade 2 lorsque les gonies atteignent 40 à 50 µ: le cytoplasme devient acidophile et les globules vitellins sont décelables. L'émission des nucléoles secondaires cesse et ne subsistent qu'un ou deux nucléoles qui se fragmenteront à l'approche de la maturité. Le tissu conjonctif de soutien de l'épithélium germinatif est très réduit et les ovocytes se libèrent de la paroi des acini; le pédoncule s'estompe et le cytoplasme forme alors un anneau régulier autour du noyau (Pl.IV,fig.c).

Au stade 2, le sexe est toujours décelable macroscopiquement. La gonade est brune ou verte, cette dernière couleur étant la plus fréquente. Selon GOODWIN et TAHA (1950), on rencontre dans les glandes génitales de femelles, les mêmes pigments caroténoïdes que chez les animaux en phase mâle. Cependant, ils n'entreraient que pour une faible part dans la coloration de la glande qui serait due à un pigment de nature inconnue, appelé Y, associé à une protéine. A ce stade, les mitoses goniales sont encore décelables mais leur nombre diminue notablement. De nombreux ovocytes en vitellogenèse font saillie dans la lumière des follicules.

Lorsque la gonade a atteint sa limite d'extension postérieure à l'extrémité de la masse viscérale, elle poursuit son accroissement vers la partie droite du corps et provoque un déplacement latéral de la radula (stade 3). Les mitoses goniales cessent, l'épithélium germinatif entre en phase de repos réel, les ovogonies demeurent quiescentes. L'augmentation de taille de la gonade jusqu'à son extension maximale (stade 4) est due à la différenciation des ovocytes formés au cours des stades antérieurs.

Les ovocytes mûrs ont un diamètre de 150 à 170 µ; ils sont entourés d'un chorion dont l'épaisseur peut atteindre 10 µ; (Pl.III,fig.d); leurs contours sont polygonaux et obstruent complètement la lumière des acini. On observe encore des jeunes ovocytes en début auxocytose ou en prévitellogenèse avancée. Certains d'entr' eux poursuivront leur maturation, d'autres subsisteront pendant la phase de repos et ne termineront leur évolution qu'au cours du cycle reproducteur suivant.

Comme pour les mâles, les gonades s'observent en grand nombre de septembre à mars.

La ponte entraîne une vidange presque totale de la glande génitale, mais l'involution est plus lente que chez les animaux en phase mâle. Tous les ovocytes ne sont pas éliminés et certains subissent une dégénérescence intrafolliculaire (Pl.IV, fig.d). On enregistre l'apparition d'un tissu interstitiel assurant la phagocytose des cellules en dégénérescence. Les jeunes ovocytes restent reliés à la paroi des acini et ne subissent pas de pycnose. Il en est de même des ovogonies souches qui sont à l'origine de la prochaine ondée ovogénétique.

L'examen histologique des gonades femelles montre que la gamètogenèse commence au cours de la phase de repos apparente, au printemps, donc bien avant le début de la période de reproduction. Le stade de repos réel de l'épithélium germinatif débute au stade 3 et s'achève avec la ponte.

#### CONCLUSION DU CHAPITRE

L'ébauche germinale de <u>Patella vulgata</u> n'avait jamais été étudiée jusqu'à présent, les recherches cytologiques sur les gonies n'ayant été effectuées que chez les adultes. Les résultats obtenus ont permis de montrer que, dans la gonade juvénile d'animaux ayant quelques millimètres de long, les cellules souches des deux lignées coexistent dans le follicule initial. Elles se multiplient et se répartissent dans les acini qui se forment par cloisonnements successifs de la première ébauche. A la première maturité sexuelle, les ovogonies ne dégénèrent pas; les spermatogonies entrent en mitose et la phase mâle apparaît.

L'étude cytologique de la spermatogenèse naturelle a confirmé les résultats d'auteurs ayant travaillé sur <u>P. vulgata</u> ou sur d'autres espèces. Toutefois, nous n'avons pas décelé de lignée atypique.

L'étude cytologique de l'ovogenèse montre l'existence de deux périodes consécutives : gamétogénétique et végétative. Les ovocytes préméiotiques, bloqués en prophase hétérotypique, commencent leur auxocytose. En prévitellogenèse, le nucléole bourgeonne : il émet des nucléoles secondaires qui passent ensuite dans le cytoplasme. Des cellules folliculaires, plaquées contre la paroi cellulaire, existent au cours de la phase d'accroissement. Les ovocytes, en fin de vitellogenèse, ont 150 à 170 µ et sont entourés par un chorion. Nous avons tenté de montrer, sous forme d'un schéma, l'évolution de quelques caractères chimiques de la cellule reproductrice, depuis l'oogonie jusqu'à l'ovocyte mûr.

- Le cytoplasme, acidophile et riche en A.R.N. chez les ovogonies et les ovocytes primordiaux, devient basophile en prévitellogenèse. Il retrouve son acidophilie en début de vitellogenèse mais ne renferme plus d'A.R.N.
- Le noyau est riche en A.D.N. au cours de la période gamétogénétique; la chromatine n'est plus décelable à partir du stade prévitellogenèse.

Nous avons étudié l'évolution des gonades en phase mâle et en phase femelle au cours du cycle annuel. Chez la femelle, la véritable

période de repos de l'épithélium germinatif ne se situe pas au printemps mais pendant la vitellogenèse et la ponte.

#### CHAPITRE II

#### INVERSION SEXUELLE NATURELLE

Si, chez les <u>Patellidae</u> l'étude statistique de l'inversion sexuelle a été effectuée par de nombreux auteurs (première partie, chapitre II), par contre les données précises sur la cytologie du changement de sexe sont rares ; il convient toutefois de signaler les travaux de BACCI (1947) chez <u>Patella</u> coerulea et ceux, plus succincts, relatifs à P. vulgata (1952).

Dans le cadre de nos recherches sur le déterminisme de la sexualité, nous avons repris l'étude de ce problème en tenant compte des résultats obtenus sur la croissance et la longévité de l'espèce sur les côtes du Boulonnais.

## I - CYTOLOGIE DE L'INVERSION SEXUELLE NATURELLE

## 1 - La lignée femelle chez les individus en phase mâle

Chez <u>P. coerulea</u> et <u>P. vulgata</u>, BACCI ne signale l'existence d'ovogonies et d'ovocytes que chez quelques exemplaires mâles en activité spermatogénétique.

L'examen microscopique de très nombreuses gonades en phase mâle prélevées chez des individus de toutes tailles au cours des différentes périodes du cycle annuel nous a permis de constater la présence constante de gonies femelles.

# a) Période de repos

Pendant la période de repos sexuel faisant suite à une spermatogenèse, la lignée femelle est représentée par des ovogonies isolées ou groupées en ilôts épars pouvant renfermer une dizaine de cellules ; certaines sont quiescentes, d'autres en division homéotypique ou en prophase de méiose (Pl. V, fig. a, b).

Parfois, on constate également la présence d'ovocytes jeunes ou en prévitellogenèse (Planche V, fig. c). Contrairement à ce qui se passe chez les femelles fonctionnelles, ces ovocytes ne sont pas pédonculés; aucune tractus

cytoplasmique ne les retient à la paroi des follicules.

Donc, chez un individu en phase mâle, la lignée femelle est présente et est capable d'évoluer pendant la période de repos génital.

#### b) Au cours de la spermatogenèse

Les éléments ovogénétiques subsistent sans entraver le déroulement de la séquence mâle. Le plus souvent, les ovogonies sont disposées contre la parci des acini, donc dans une position périphérique, fréquemment observée chez les Mollusques hermaphrodites (SAKSENA, 1950). Ces cellules sont quiescentes et ont une taille et une structure rappelant celles attribuées par TUZET (1930) aux spermatogonies atypiques de P. coerulea. Chez P. vulgata, la lignée atypique semble absente et ces éléments doivent être homologués à des ovogonies. Les ovocytes sont également présents à côté des ovogonies (Pl. II, fig. c).

On observe fréquemment des ovocytes en prévitellogenèse dans la lumière des follicules ; ils sont entourés de cellules mâles en voie de différenciation et il est vraisemblable que la majeure partie d'entre eux sont éliminés avec le sperme (Pl. V, fig. d). De toute manière, ces ovocytes ne présentent jamais de vitellogenèse, il ne peut donc y avoir autofécondation et nous n'avons pas constaté de cas d'hermaphrodisme simultané.

Il est intéressant de signaler que l'examen histologique de gonades prélevées chez des animaux en phase mâle atteignant 45 mm de long révèle la présence d'ovogonies et de jeunes ovocytes. Etant donné que, sur les côtes du Boulonnais, les exemplaires de cette taille sont rares et qu'ils correspondent à peu près au maximum de longévité (première partie, chapitre III), la lignée femelle peut subsister jusqu'à la mort de la patelle sans devenir fonctionnelle.

D'autre part, nous avons vu que la gonade juvénile renferme déjà les cellules souches de la lignée femelle et que chez les jeunes individus mâles qui sont à leur première maturation, existent des éléments ovogoniaux. Donc, si l'étude statistique de la population décèle la présence de mâles purs, l'étude histologique montre que ces patelles sont de faux gonochoriques car elles possèdent une gonade bipotentielle.

## 2 - Le stade de préinversion

Nous venons de voir que la lignée femelle est latente chez toutes les patelles en phase mâle mais qu'il n'y a jamais d'hermaphrodisme simultané. En effet, chez P. vulgata comme chez P. coerulea, l'inversion sexuelle n'apparaît pas au cours de la gamétogenèse; elle survient pendant une période de repos, après élimination des gamètes mâles. Dans certaines gonades en fin de spermatogenèse, on constate une nette évolution de la lignée femelle marquée par la prolifération des ovogonies et l'apparition de nombreux ovocytes primordiaux qui entrent ensuite en prévitellogenèse (Pl. VI, fig. a). Corrélativement, les spermatozoïdes non éliminés sont phagocytés, in situ, par un tissu constitué de cellules amiboïdes envahissant la lumière des tubules.

Le fait le plus significatif de l'apparition du stade que nous appelons préinversion consiste en un changement de structure intervenant au sein des follicules. Cette modification est caractérisét par la disposition des éléments ovogénétiques. Alors qu'en période de repos suivant une phase mâle normale, les gonies femelles sont réparties en ilôts, au stade de préinversion, elles se disposent le long de l'épithélium germinatif tandis que les ovocytes en prévitellogenèse restent reliés à la paroi des acini par un pédoncule cytoplasmique (Pl. VI, fig. b).

Ce stade est irréversible mais peut être parfois suivi par une nouvelle gamétogenèse mâle car des spermatogonies souches restent présentes dans la gonade. Dans le cas où une phase mâle survient, la lignée femelle demeure intacte au sein de l'ondée spermatogénétique; les ovogonies restent quiescentes. La quantité de sperme produite est moins abondante et la gonade peut ne pas subir une extension morphologique totale jusqu'au stade 4. Une telle remarque avait déjà été effectuée au cours de l'étude statistique de la période de reproduction (première partie, chapitre II).

# 3 - L'inversion sexuelle

Les gonades qui ont atteint le stade de préinversion peuvent entrer directement en gamétogenèse femelle, sans passer par une nouvelle phase mâle. L'élimination du sperme s'accompagne d'une poussée ovogénétique et l'apparition de nombreux ovocytes en prévitellogenèse; ces derniers poursuivent alors leur maturation et entrent en vitellogenèse.

La glande génitale ne subit donc pas de véritable repos car, au printemps et au début de l'été, elle est le siège d'une activité mitotique ovogoniale entraînant le changement de sexe.

Chez l'espèce méditerranéenne P. lusitanica Gmelin, JEANTET (résultats inédits) observe une forme d'hermaphrodisme que nous n'avons pas décelée chez les P. vulgata des côtes du Boulonnais. Cet auteur constate que, dans certains cas, le développement de la lignée femelle entraîne l'involution de la lignée séminale formée. Ce phénomène, très rapide, atteint la gonade au début du cycle sexuel; les spermatocytes se détachent de la paroi des tubules et sont éliminés dans la lumière des follicules. Ce mode d'inversion sexuelle apparaît surtout dans les gonades d'individus vivant dans des zones polluées où la croissance est rapide (égout de Cortiou près de Marseille). Or, on sait (FISCHER-PIETTE, 194A), que les patelles vivant dans de telles conditions bionomiques ont une croissance rapide mais une longévité plus faible que celle des animaux qui vivent au eau pauvre en déchets organiques; il n'est pas exclu qu'une longévité courte nécessite une inversion rapide et brutale.

Chez les animaux qui changent de sexe, que devient la lignée mâle : disparaît-elle immédiatement ou tardivement ? Dans cette dernière éventualité, comment se comporte-t-elle lorsqu'après l'inversion commence une gamétogenèse femelle fonctionnelle ? Les résultats expérimentaux, que nous rapporterons dans la troisième partie de notre travail, nous montreront que, chez les jeunes femelles, la lignée mâle reste latente, qu'elle est capable de réapparaître en culture de gonade isolée et que cette évolution semble liée à des facteurs endocrines. Chez les individus qui ont pu fonctionner comme femelles depuis un ou deux cycles annuels, il semble que les éléments spermatogénétiques aient disparu : il est en effet impossible d'en déceler à l'examen histologique et de les faire apparaître expérimentalement.

## II - EVOLUTION DE LA SEXUALITE CHEZ P. VULGATA

# 1 - Evolution des deux lignées au cours du cycle vital

Sur la figure 20 ont été tracées les courbes représentatives de l'évolution des lignées mâle et femelle au cours du cycle vital. Pour les établir, il a été tenu compte des données relatives à la croissance, à la sex ratio en fonction de la taille et à l'histologie des gonades d'animaux de

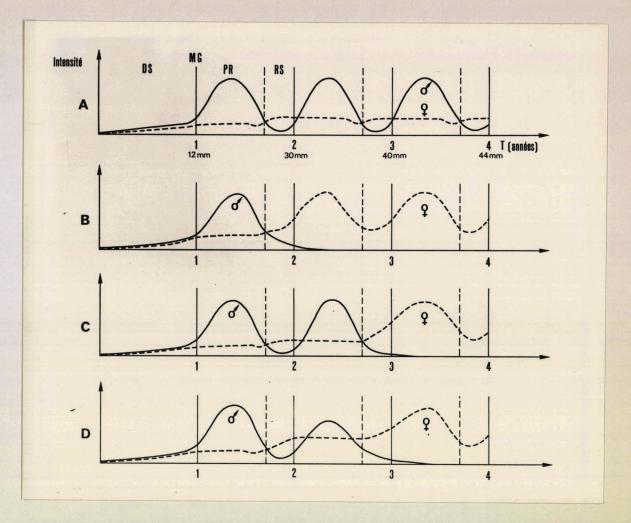


Figure 20 : Courbes représentatives de l'évolution des lignées mâle et femelle au cours de cycle vital.

A : Animaux ne subissant pas l'inversion sexuelle

B : Patelles changeant de sexe à 2 ans

C : Apparition de la phase femelle à 3 ans

D: Individus changeant de sexe à 3 ans mais ayant atteint le stade préinversion à 2 ans.

D.S. : Différenciation sexuelle

M.G.: Maturité génitale

P.R.: Période de reproduction

R.S.: Repos sexuel

tout âge, prélevées aux différentes époques du cycle annuel.

Calyptraea sinensis L., chez P. vulgata, l'inversion sexuelle n'apparaît pas à une époque donnée de la vie et elle n'est pas en relation avec la taille des individus. D'autre part, nous avons signalé précédemment que certains exemplaires ne changent pas de sexe.

Les quatre séries de courbes de la figure 20 correspondent aux modalités les plus fréquentes de l'évolution sexuelle de <u>P. vulgata</u>. Nous avons supposé chaque fois que les patelles vivaient jusqu'à l'âge de quatre ans.

### a) Animaux ne subissant pas l'inversion (fig. 20, A)

Chez ces patelles, la lignée femelle ne devient jamais fonctionnelle; les éléments ovogénétiques existent toute la vie mais le stade de préinversion n'est pas atteint.

Pendant les périodes de repos annuel, les gonies femelles se multiplient mais les ovocytes formés n'entrent pas en vitellogenèse; ils commencent leur auxocytose mais la plupart d'entr'eux sont éliminés avec le sperme à la fin de la période de reproduction. La phase mâle reste fonctionnelle jusqu'à la mort.

# b) Patelles changeant de sexe à deux ans (fig. 20, B)

Les recherches sur la proportion des sexes en fonction de la taille ont montré que le taux de femelles devient important chez les individus atteignant 25 à 30 mm. En rapportant ces valeurs aux courbes de croissance obtenues par marquage, on constate qu'à l'âge de deux ans (30 mm), 25 % des patelles ont déjà changé de sexe. Chez ces animaux, la phase mâle est donc relativement courte et l'inversion sexuelle apparaît après une seule spermatogenèse qui se produit entre un an et un an et demi.

L'examen histologique des gonades de ces patelles montre qu'en fin de gamétogenèse mâle, les éléments ovogénétiques peuvent évoluer vers le stade de préinversion. Le changement de sexe peut donc survenir à l'âge de deux ans et dans ce cas, la phase femelle peut être plus longue que la phase mâle.

# c) Apparition de la phase femelle à l'âge de trois ans (fig. 20, C, D).

Les relevés de population montrent que les patelles sexuées de 40 mm (environ trois ans) le pourcentage de femelles atteint 50 % alors qu'il n'est que de 25 % chez les animaux de 2 ans ; donc, de nombreux individus chande sexe entre deux et trois ans.

L'examen histologique de gonades prélevées sur des exemplaires de 30 à 40 mm de long, en phase mâle, montre qu'au cours de la spermatogenèse, la disposition et la densité des gonies femelles sont variables : dans certains cas, le stade de préinversion est atteint et l'ondée mâle est moins abondante que lors d'une spermatogenèse normale ; dans d'autres, au contraire, les éléments ovogénétiques restent isolés en ilôts épars. D'autre part, chez les individus de 35 à 40 mm en période de repos, les stades de préinversion sont assez fréquents, l'existence d'une phase mâle antérieurcétant marquée par la présence de spermatozoïdes résiduels.

Chez les patelles qui changent de sexe à trois ans, l'évolution des deux lignées a été représentée sur la figure 20, C, D. Les courbes C schématisent le cas où le stade de préinversion est atteint à deux ans et demi, les courbes D correspondent aux patelles atteignant ce stade à deux ans et qui ne changent de sexe que l'année suivante après avoir subi une nouvelle poussée germinative mâle.

Il convient également de préciser que l'inversion sexuelle peut intervenir à quatre ans selon un processus identique à celui que nous venons d'envisager pour les animaux chez lesquels la lignée femelle devient fonctionnelle à trois ans.

# 2 - Les étapes de la sexualité au cours du cycle vital

Quel que soit le moment où s'effectue le changement de sexe, la vie d'une patelle peut se diviser en trois parties :

# a) Différenciation sexuelle

Dès que l'ébauche génitale est formée, apparaîtraient, à partir de protogonies indifférenciées, les cellules souches des deux lignées : la gonade devient donc bisexuée. Chez la plupart des patelles, elle le restera

jusqu'à l'apparition de la phase femelle fonctionnelle; chez certains individus, la glande génitale reste bisexuée toute la vie.

#### b) Phase mâle fonctionnelle

Elle apparaît à la puberté (à un an en moyenne) et s'achève en général lorsque la gonade atteint le stade de préinversion. Pendant cette période, l'ondée ovogénétique n'entrave pas la spermatogenèse et de nombreux ovocytes formés pendant les périodes de repos apparent de la gonade sont éliminés avec le sperme à la fin de la gamétogenèse mâle suivante. Rappelons que la phase mâle peut se poursuivre au delà du stade de préinversion ; elle ne s'achève que lorsque les ovocytes entrent en vitellogenèse. Cette constatation nous incite à émettre l'hypothèse de l'existence d'un facteur endocrine régissant le déclenchement de la synthèse vitelline.

Au cours d'un cycle annuel, la période de reproduction est caractérisée par une grande stabilité sexuelle marquée par l'absence d'évolution simultanée des deux lignées. Chez P. vulgata, l'inversion sexuelle ne survient pas pendant cette partie du cycle, comme c'est parfois le cas chez P. lusitanica.

La période de repos est marquée, au contraire, par une labilité sexuelle que l'étude statistique de la population nous a révélée. Les recherches histologiques nous ont montré, en effet, que le stade de préinversion et le changement de sexe surviennent lorsque la lignée mâle est quiescente, donc entre deux gamétogenèses successives.

Dans son ensemble, la phase mâle est caractérisée par une instabilité sexuelle due à la présence d'éléments ovogénétiques qui tendent à devenir fonctionnels.

## c) Phase femelle

Lorsque la lignée femelle devient fonctionnelle, on n'observe jamais, <u>in vivo</u>, la réapparition de l'ondée spermatogénétique; dès lors existe, chez la patelle, une stabilité sexuelle qui persiste jusqu'à la mort. Il faut toutefois noter que les gonies mâles persistent quelque temps après l'inversion et qu'elles sont susceptibles de reprendre leur activité dans une gonade isolée de l'organisme et cultivée <u>in vitro</u>.

#### III - DISCUSSION

## 1 - Evolution de la lignée femelle

L'étude histologique des gonades de <u>Patella vulgata</u> a permis de mettre en évidence les faits suivants :

- quel que soit leur âge, tous les individus en phase mâle possèdent dans leur gonade des éléments de la lignée ovogénétique. Des observations identiques ont été faites par JEANTET chez P. coerulea (résultats inédits) ce qui infirme l'hypothèse de BACCI (1947, 1952) selon laquelle, chez ces deux espèces, l'existence de la lignée femelle chez les animaux en phase mâle ne serait pas générale.
- chez les jeunes patelles, les gonies femelles sont en général peu abondantes, groupées en ilôts. Les ovocytes formés peuvent être éliminés, en partie, avec le sperme.
- les ovogonies se multiplient pendant la période de repos génital apparent. Au cours de la spermatogenèse, les éléments ovogénétiques restent quiescents et leur présence ne perturbe pas l'ondée mâle.
- à une certaine période du cycle vital, qui peut parfois correspondre à la fin de la première année, la lignée femelle évolue vers le stade de préinversion irréversible caractérisé par une modification intervenant dans la répartition et la disposition des ovogonies et des ovocytes dans chaque follicule.

Une gonade en préinversion peut être parfois le siège d'une nouvelle spermatogenèse dont le déroulement ne perturbe pas l'évolution des gonies femelles; ces dernières achèveront leur maturation après l'élimination du sperme.

- le plus souvent, le stade de préinversion est suivi d'un changement de sexe qui, expérimentalement, paraît irréversible. L'étude statistique de la sexualité montre que dans une population de patelles, il ne semble pas y avoir de retour à une phase mâle après une gamétogenèse femelle; l'hermaphrodisme successif n'est pas rythmique.
- l'étude de l'évolution de la lignée femelle chez <u>P. vulgata</u> en phase mâle nous permet de penser que l'inversion sexuelle procède d'abord d'une évolution progressive des éléments ovogénétiques aboutissant au stade

de préinversion. Il importe de savoir si ce processus est lié à des facteurs endocrines et si, notamment, le déclenchement de la vitellogenèse est sous la dépendance d'un facteur interne.

## 2 - L'hermaphrodisme simultané

Chez <u>P. vulgata</u>, nous n'avons pas observé, jusqu'à présent, d'hermaphrodisme fonctionnel ; de tels cas ont cependant été rapportés par plusieurs auteurs.

Sur 250 animaux examinés, GEMMIL (1896) observe trois patelles possédant des gamètes mûrs des deux lignées. La gonade de ces patelles présentait des parties mâles et des portions femelles. Il mentionne l'existence d'oeufs en division et même d'embryons ciliés ; il semble que ces cas d'autofécondation soient exceptionnels.

PELSENEER (1926) constate un cas d'hermaphrodite simultané sur 2750 individus; JONES (1933, cité par DODD, 1956) un sur 3000 cependant qu'ORTON (1926) n'en observe aucun.

DODD (1956) décrit des cas d'hermaphrodisme (0,012 %) chez P. vulgata; certains semblent liés à l'existence de trématodes parasites : Cercaria patellae et Ophryocotyle sp. Ia majeure partie des gonades décrites sont à prédominance mâle avec quelques ilôts femelles; selon nous, elles pourraient correspondre à des individus en phase mâle ayant atteint le stade de préinversion. Dans d'autres cas, la lignée femelle est prépondérante; il pourrait s'agir de patelles subissant un changement de sexe du type de celui observé par JEANTET chez P. lusitanica. DODD signale que l'hermaphrodisme simultané est plus fréquent dans les localités nordiques (Ecosse) que dans les stations du sud de l'Angleterre; COE (1945) aboutit à des conclusions identiques chez les lamellibranches. Toutefois DODD pense que ces cas d'hermaphrodisme sont accidentels et doivent être dissociés du changement de sexe naturel.

# 3 - La sexualité chez P. vulgata

Nous avons constaté que les mâles âgés ne sont pas génétiquement purs puisque leur gonade renferme des ovogonies et des ovocytes. D'ailleurs, l'étude de l'ébauche germinale nous a permis de montrer que, chez les patelles juvéniles,

les éléments souches des deux lignées coexistent. Selon BACCI (1950, 1951),

P. vulgata est considérée comme un hermaphrodite à maturation distincte;

c'est un faux gonochorique présentant au cours de sa vie une phase apparemment

mâle et une période où il se comporte comme femelle. Etant donné que la lignée

ovogénétique existe chez les immatures et chez tous les individus en phase

mâle, P. vulgata devrait être plutôt rangé dans la catégorie des hermaphrodites

à maturation asynchrone chez lesquels, selon BACCI, les éléments germinaux

des deux sexes coexistent mais ne murissent pas en même temps.

Cependant, toutes les patelles ne changent pas de sexe, certaines demeurent en phase mâle toute leur vie sans que la lignée femelle devienne fonctionnelle; d'autres, plus rares, pourraient être femelles dès la puberté. L'étude statistique de la <u>sex-ratio</u> en fonction de la taille révèle, en effet, la présence de jeunes femelles dans les relevés de population. Cependant, les recherches complémentaires, relatives à la croissance (première partie, chapitre III et CHOQUET 1968 sous presse), montrent que certaines d'entre elles sont à leur deuxième gamétogenèse et peuvent donc être passées par une phase mâle antérieure. En fait, seuls de rares exemplaires de 15 à 20 mm peuvent être considérés comme femelles définitives. Le manque de données sur leur ébauche germinale ne nous autorise pas à les considérer comme génétiquement pures. Il est possible que, sous l'influence de certains facteurs, les protogonies évoluent toutes en ovogonies sans qu'apparaissent les précurseurs de la lignée mâle mais il est possible aussi que ces derniers soient bloqués avant la maturité génitale et que l'ovogenèse s'établisse d'emblée.

La vie sexuelle de <u>P. vulgata</u> est caractérisée par la bisexualité de sa gonade et, sauf pour un faible pourcentage d'animaux, l'hermaphrodisme protandre est constant. Chez les individus en phase mâle, il existe une alternance de périodes de stabilité (gamétogenèse) et de labilité (repos) sexuelles jusqu'à ce que la lignée femelle devienne fonctionnelle.

## 4 - Conclusion

L'étude de l'inversion sexuelle naturelle de <u>P. vulgata</u> a permis de montrer que :

- Chez tous les animaux en phase mâle existent des ovogonies et parfois des ovocytes, contrairement à l'opinion de BACCI qui ne signalait leur présence que chez quelques patelles en activité spermatogénétique.
- En général, ces éléments sont groupés en ilôts épars ; au cours de la gamétogenèse, ils demeurent quiescents, ne dégénèrent pas mais certains d'entr'eux peuvent être éliminés avec le sperme.
- Pendant la période de repos annuel, les ovogonies sont capables de se diviser; ces mitoses assurent la prolifération de la lignée femelle et la gonade en phase mâle atteint alors un stade que nous appelons préinversion caractérisé par la colonisation des parois folliculaires par les ovogonies et les ovocytes.
- A ce stade peut faire suite une nouvelle poussée mâle en général abortive. Cependant, dans la majeure partie des cas, le stade de préinversion est suivi d'un déclenchement de la vitellogenèse et la première ovogenèse apparaît.
- L'inversion sexuelle procède donc d'abord d'une évolution progressive de la lignée femelle, ensuite, il semble qu'une impulsion endocrine soit nécessaire pour achever le processus de changement de sexe. Ce dernier n'apparaît jamais pendant une spermatogenèse, il se produit durant une phase de repos cette dernière est donc une période d'instabilité sexuelle.

#### CONCLUSION DE LA SECONDE PARTIE

La seconde partie de notre travail est d'abord consacrée à l'étude histologique de la gonade juvénile de <u>Patella vulgata</u> L. et à l'évolution des gonies des deux lignées jusqu'à la maturité génitale. Nous envisageons ensuite la cytologie de la spermatogenèse et de l'ovogenèse ainsi que l'évolution de la gonade en phase mâle ou en phase femelle au cours du cycle annuel. Enfin, nous décrivons le comportement de la lignée femelle chez les patelles en phase mâle et les modalités du changement de sexe naturel.

Les résultats originaux suivants ont été obtenus :

- La gonade juvénile est bisexuée : à partir d'éléments initiaux sans doute indifférenciés qui seraient les protogonies mais que nous n'avons pas identifiés avec certitude, apparaîtraient les cellules souches des deux lignées. Ces dernières coexistent dans le follicule primordial puis dans les acini qui se forment, par cloisonnement du follicule initial, au cours de la croissance de la glande génitale.
- A la maturité sexuelle, les ovogonies ne dégénèrent pas mais demeurent quiescentes, par contre, les spermatogonies se multiplient et la phase mâle fonctionnelle apparaît.
- Chez les femelles, la période de repos sexuel n'est qu'apparente. En fait, c'est durant ce temps que les ovogonies se multiplient puis se transforment en jeunes ovocytes. La véritable période de repos de l'épithélium germinatif femelle survient pendant la vitellogenèse et au cours de la ponte.
- Les éléments ovogénétiques existent chez tous les individus en phase mêle sous forme de nids d'ovogonies et d'ovocytes. Leur densité s'accroît au cours des périodes de repos, et atteignent un stade que nous qualifions de préinversion. C'est alors que sans doute sous l'influence d'une impulsion hormonale, la vitellogenèse se déclenche et entraîne le changement de sexe de la gonade.

La connaissance du cycle biologique de <u>P. vulgata</u> était indispensable pour entreprendre des recherches expérimentales. L'étude de la <u>sex-ratio</u>, de la croissance, de la gamétogenèse et de l'inversion sexuelle naturelle nous a apporté des résultats auxquels nous nous réfèrerons fréquemment au cours de la dernière partie de notre travail.

#### TROISIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE DU DETERMINISME ENDOCRINE DU CYCLE SEXUEL CHEZ Patella vulgata L.

#### INTRODUCTION

On sait depuis longtemps, que de nombreux Mollusques Gastéropodes sont hermaphrodites protandres ou simultanés. Plusieurs théories ont été proposées, pour expliquer le comportement de la lignée germinale : détermination génotypique et phénotypique du sexe. Nous reviendrons plus longuement sur ces problèmes au cours de la discussion finale de ce travail.

Jusqu'à présent, peu de travaux expérimentaux ont été entrepris in vivo, citons cependant ceux de PELLUET et LANE (1961) et PELLUET (1964) chez les Pulmonés <u>Arion subfuscus</u> Drap, <u>Arion ater</u> et <u>Milax</u> sp. Selon ces auteurs, les tentacules inhiberaient l'ovogenèse et permettraient la prolifération de la lignée mâle. D'autre part, la production d'ovules serait sous le contrôle d'une hormone cérébrale.

La culture organotypique constitue une nouvelle technique dans la recherche du rôle des facteurs internes dans le mécanisme de l'activité sexuelle. Depuis quelques années, des chercheurs français ont appliqué cette méthode aux Gastéropodes. Il convient de citer les travaux de STREIFF et PAYRE (1963) et STREIFF (1967). chez le Prosobranche Calyptraea sinensis L. Chez cet hermaphrodite protandre, STREIFF montre que le tentacule oculaire est responsable de l'édification du tractus génital mâle. Le système nerveux central émet une hormone assurant la régression du pénis et intervenant dans la différenciation du tractus génital femelle. Le cycle de la gonade est régi par une hormone cérébrale masculinisante, inhibitrice de l'autodifférenciation ovarienne. De plus, un facteur, également issu des ganglions cérébroïdes, assurerait le déclenchement de la prévitellogenèse.

Chez <u>Helix aspersa</u> Mull, GUYARD et GOMOT (1964) et GUYARD (1967) montrent, qu'en culture organotypique, le complexe nerveux céphalique intervient dans la croissance des ovocytes et la différenciation des spermatogonies. De plus, les ganglions cérébroïdes interviendraient dans le changement de sexe.

Nous avons entrepris l'étude du déterminisme du sexe chez <u>Patella vulgata, in vitro</u> par la méthode des cultures organotypiques (CHOQUET 1964,1965,1967) et <u>in vivo</u> par la pratique des ablations.

Il n'existe pas de dimorphisme sexuel chez <u>P.vulgata</u>. Etant donné l'absence d'organe d'accouplement chez les animaux en phase mâle, l'étude de l'inversion sexuelle par ablation élective d'organes supposés endocrines est souvent peu démonstrative. De plus, elle nécessite toujours, pour chaque série expérimentale, un contrôle histologique de toutes les gonades des opérés et des témoins. D'autre part, nous verrons ultérieurement que la mortalité est importante chez les patelles opérées. C'est pourquoi, nous avons surtout entrepris nos recherches en culture organotypique. Cette méthode permet en effet de nombreux types d'associations de fragments de gonades avec des organes dont on veut tester le rôle éventuel sur le cycle sexuel.

Après avoir exposé succinctement les techniques utilisées en culture et en histologie, nous envisagerons, dans le premier chapitre, les résultats obtenus au cours de l'étude du rôle des facteurs internes sur l'évolution in vitro des gonies chez les patelles en phase mâle et chez les animaux juvéniles.

Le second chapitre est consacré à l'influence des facteurs internes sur la lignée ovogénétique au cours du cycle vital.

Dans le troisième chapitre, nous exposerons nos résultats relatifs à l'étude histologique du complexe céphalique et à la tentative de localisation du centre inhibiteur tentaculaire.

Le quatrième chapitre concernera l'analyse expérimentale <u>in vivo</u> des effets produits par ablations céphaliques.

Enfin, les résultats seront discutés et confrontés avec ceux obtenus par des auteurs ayant effectué des recherches identiques chez les Mollusques Gastéropodes et chez d'autres Invertébrés.

#### LES TECHNIQUES DE LA CULTURE ORGANOTYPIQUE

## 1 - <u>Isolement et mise en culture</u>.

Les patelles destinées aux expériences sont récoltées à Wimereux, ramenées au Laboratoire de Lille et placées sur des pierres dans des cuvettes. Elles sont maintenues en chambre froide (+ 5°C); l'eau est fréquemment renouvelée et les animaux subissent une alternance d'immersion et d'émersion reproduisant sommairement le rythme naturel quotidien. Ceux qui sont destinés à fournir des explants pour les cultures ne sont pas nourris; nous laissons le tube digestif se vider pendant quelques jours afin d'éviter les risques de contamination bactérienne.

Une semaine avant la mise en culture, les patelles sont isolées dans de l'eau de mer stérile additionnée de pénicilline (200.000 U.I pour 400 cc d'eau) et streptomycine (deux gouttes); l'eau est renouvelée plu - sieurs fois pendant la durée de l'isolement et les coquilles sont brossées afin d'éliminer les épizoaires et la vase. Quelques heures avant l'explantation, les animaux sont mesurés, extraits de leur coquille et immergés en boîtes de Pétri. Une petite incision du manteau est pratiquée pour permettre à la masse viscérale et à la gonade de baigner dans l'eau. Enfin, ils sont soumis pendant 20 minutes à l'action des U.V. avant d'être introduits dans la salle stérile.

Des précautions doivent être prises avant et pendant la mise en culture afin d'éviter la contamination des milieux par les bactéries et les champignons (Aspergillus, Penicillium, levures). Nous avons ajouté, en cas de prolifération des spores, plusieurs types d'antifongiques en solution, fungizone et mycostatine notamment; aucun ne s'est révélé totalement efficace lorsque le mycelium est implanté sur le milieu de culture ou sur l'explant.

## 2 - Milieux de culture

A partir des travaux initiaux de WOLFF et HAFFEN (1952), de nombreux milieux de culture ont été utilisés chez les Invertébrés; nous avons testé celui que DURCHON et SCHALLER (1963) ont mis au point pour les Annélides Polychètes et les résultats ont été satisfaisants.

Ce milieu solide a la composition suivante :

-	Gélose à 1% dans eau de mer glucosée à 1 %	7	gouttes
-	Eau de mer stérile glucosée à 1%0	3	gouttes
-	Albumine d'oeuf à 50% dans eau de mer glucosée		
	à 1%0	3	gouttes
-	Sérum de cheval (Difco)	1	goutte
-	Embryon de poulet à 50 % dans eau de mer glucosée		
	à 1 %	1	goutte
-	Spécilline G	10	00 U.I
-	Stréptomycine	0,	,009 mg
	( une goutte ajoutée avant l'emploi dans 75 cc d'eau		
	de mer glucosée à 1 %o)		

Pour certaine séries expérimentales, nous avons remplacé une goutte d'eau de mer glucosée par la même quantité de PARKER 199. Dans d'autres cas, le glycogène, a été substitué au glucose. Enfin, d'autres milieux ont été testés, tels que celui de STREIFF et PAYRE (1963).

Les cultures sont conservées à la température constante de 20°C et à l'obscurité; certaines salières ont été maintenues à température plus basse (10°C).

Au début de nos recherches, les explants étaient repiqués tous les quatre jours mais l'expérience nous a montré que l'évolution des organes s'effectuait d'une manière aussi satisfaisante lorsqu'ils étaient maintenus une à deux semaines sur le même milieu.

## 3 - Comportement des explants en culture.

Pendant les premiers jours suivant l'explantation, on observe fréquemment un essaimage cellulaire abondant, surtout dans le cas d'une gonade en phase mâle, prélevée en période de reproduction. Il faut alors laver et assécher les explants tous les jours; lorsque la cicatrisation commence à s'effectuer, la surveillance des cultures peut-être moins soutenue. La cicatrisation apparaît plus ou moins rapidement selon l'état de maturation de la gonade. Elle survient en quelques jours chez les tronçons de gonades explantés au cours de la période de repos; elle est plus tardive chez ceux prélevés sur des animaux en gamétogenèse.

Les mêmes variations s'observent dans la soudure des fragments associés; toutefois, même dans les circonstances les plus défavorables, les tentacules ou les complexes céphaliques se soudent aux gonades au bout de quelques jours. Les tronçons de glande génitale restent très longtemps sensibles aux variations thermiques passagères (lampe de la loupe binoculaire, contact de liquide froid) et aux excitations physiques (piqûre). Le filament tentaculaire est doué de motilité pendant plusieurs semaines.

Les fragments de gonade tendent à se déformer par aplatissement sur le milieu; une régénération épithéliale apparaît et tend à envelopper l'organe; cette couche néoformée assure la protection et permet les échanges avec le milieu.

#### TECHNIQUES HISTOLOGIQUES.

Les tronçons de gonades témoins prélevés au moment de la mise en culture ainsi que les explants en cours ou en fin d'expérience ont été fixés au Bouin alcoolique, Bouin Hollande, Carnoy, Helly. Les colorations topographiques et cytologiques suivantes ont été effectuées : Glychémalun de MAYER, Hématoxyline d'HEIDENHAIN avec coloration de fond soit à l'érythrosine-orangé G en solution aqueuse soit au vert lumière ou au picroindigo-carmin en solution alcoolique. La détection de l'A.D.N. a été réalisée par la méthode de FEUIGEN. Le trichromique de MASSON, variante de GOLDNER et la triple coloration de PRENANT ont permis de suivre le trajet des fibres nerveuses. Enfin, la détection d'éventuelles neurosécrétions a été réalisée par les méthodes suivantes : CLARK, AZAN, Hématoxyline chromique de GOMORI et fuchsine paraldéhyde de GABE.

#### TROISTEME PARTIE

#### CHAPITRE I

RECHERCHE DES FACTEURS INTERNES INTERVENANT DANS L'EVOLUTION DES GONIES
CHEZ LES INDIVIDUS JUVENILES ET EN PHASE MALE. ETUDE IN VITRO

Le problème du déterminisme du cycle génital annuel des patelles en phase mâle a été abordé par la méthode des cultures organotypiques. Des gonades, prélevées à différentes périodes de l'année, ont été cultivées seules ou en association avec des organes céphaliques tels que le cerveau et le tentacule.

#### I - CULTURE DE GONADES MALES ISOLEES

## 1 - Explantation en période de repos

Rappelons que les spermatogonies souches de l'épithélium germinatif sont quiescentes; parfois des spermatozoides résiduels sont encore décelables (Pl. VII, fig. a).

Certains explants ont été fixés au bout de 8 jours, d'autres après 20 et 36 jours ; un test de contrôle de l'évolution des gonies a été pratiqué : il consiste à cultiver des gonades et à en prélever des fragments successifs après 8, 20 et 36 jours. Dans les deux cas expérimentaux, les résultats sont concordants.

Après une semaine de culture, on ne constate aucune modification de structure; les spermatogonies restent quiescentes, l'aspect de la gonade est voisin de celui du fragment témoin prélevé le jour de la mise en culture. Au bout de 20 jours, les tubules séminifères s'individualisent : ce sont des formations en doigts de gants, tapissées par un épithélium germinatif supportant les gonies souches (spermatogonies) alignées le long de la paroi. Des figures de mitose sont décelables et des spermatocytes apparaissent dans la lumière des acini (Pl. VII, fig. b).

Un mois après le début de l'expérience, les cellules germinales ont continué leur évolution : les spermatocytes I et II sont nombreux (Pl. VII, fig. c), les spermatides sont apparues et la spermiogenèse s'effectue (Pl. VII, fig. d) Des spermatozoides flagellés sont présents dans la lumière des follicules (CHOQUET, 1964). Il convient de signaler que la gamétogenèse ne présente pas une intensité aussi grande que celle de la gonade prélevée in vivo chez un animal en début de période de reproduction. En général, elle affecte tous les tubules mais les gamètes sont peu nombreux.

On constate donc une reprise de l'activité gamétogénétique dans des gonades en phase mâle placées isolément en culture; il est donc possible, expérimentalement, de rompre la période de repos et de provoquer le déclenchement d'une spermatogenèse précoce. Ces résultats, qui se sont avérés constants dans les séries réalisées pendant plusieurs années, ne nous permettent cependant pas d'affirmer que cette reprise d'activité est due à la suppression d'une influence inhibitrice interne. En effet, elle pourrait être en relation avec le milieu de culture ou avec la température.

Il ne semble pas que cette dernière agisse directement sur les gonies car les cultures placées à 10° C présentent une évolution semblable à celle obtenue à 20° C; toutefois la spermatogenèse s'effectue plus lentement lorsque les explants sont maintenus à basse température. En ce qui concerne la composition du milieu, nous avons testé l'influence éventuelle de l'extrait d'embryon de poulet, susceptible de renfermer des substances hormonomimétiques. Les fragments de gonade placés sur un milieu contenant de l'extrait embryonnaire ont un comportement identique à celui des tronçons cultivés dans des salières qui en sont dépourvues.

## 2 - Culture de gonades prélevées en période de gamétogenèse

Les glandes génitales sont prélevées sur des animaux aux stades l et 2 de leur évolution, en Juillet et Août surtout. A ce moment, les spermatogonies sont actives, les spermatocytes et les gamètes abondants (Pl. VIII, fig. a). Par la méthode des prélèvements fractionnés, nous avons pu suivre l'évolution de la lignée germinale pendant plus de quatre mois.

## a) Evolution pendant le premier mois de culture

Pendant les premières semaines de culture, la lignée mâle subit une dégénérescence progressive ; les gamètes qui n'ont pas essaimé sur le milieu subissent une lyse <u>in situ</u> (Pl. VIII, fig. b). La pycnose existe déjà au bout de deux semaines ; elle est générale un mois après l'explantation ; les spermatocytes dégénèrent également, ils n'évoluent donc pas vers le stade spermatide et la spermiogenèse est stoppée. Seules, les spermatogonies ne sont pas affectées par la nécrose, elles demeurent intactes contre la paroi des tubules ; la lignée mâle est donc revenue pratiquement à un stade de repos. Les noyaux pycnotiques des gonies se présentent sous forme de granules fortement chromatiques qui peuvent confluer en petites flaques. La lumière des tubules est envahie par un tissu amiboïde à grandes cellules vacuolisées à contenu éosinophile; elles phagocytent les cellules sexuelles en dégénérescence. Il convient de signaler que la nécrose n'intéresse que le tissu germinal, les éléments somatiques conservent leur intégrité.

Les gonades cultivées isolément en période de spermatogenèse présentent un arrêt évolutif et une involution vers une phase de repos. Il est donc possible, expérimentalement, d'entraver le déroulement de la gamétogenèse et d'obtenir un retour précoce à l'état de repos.

# b) Evolution ultérieure de la gonade (un à quatre mois de culture)

Selon le temps de culture, on peut observer des amas résiduels de la phase mâle précédente, ils diminuent peu à peu et finissent par disparaître.

Corrélativement, on observe une nouvelle poussée germinale : les spermatogonies reprennent leur activité mitotique, des spermatocytes néoformés réapparaissent dans la lumière des tubules. Les spermatozoïdes sont toujours peu nombreux et la gamétogenèse n'atteint jamais l'ampleur de celle existant chez les gonades mises en culture en période de repos. De plus, elle peut ne pas affecter tous les follicules. Les éléments néoformés s'altèrent à leur tour et finissent par disparaître ; seules subsistent les spermatogonies souches.

Les explants conservés quatre à cinq mois en culture n'ont manifesté aucune nouvelle reprise d'activité ni dans le sens mâle ni dans le sens femelle. L'épithélium germinatif reste quiescent et toutes les formations somatiques survivent sans subir de nécrose.

Expérimentalement, il est donc possible de provoquer une reprise de la spermatogenèse, sans phase de repos intercalaire. Toutefois, la densité des éléments néoformés est faible. Nous verrons ultérieurement que des facteurs humoraux semblent nécessaires à l'obtention d'une gamétogenèse expérimentale voisine de celle existant in vivo.

## 3 - Explantation en période d'élimination du sperme

A ce stade, les spermatogonies sont quiescentes, les spermatozoïdes emplissent la lumière des acini et on n'observe plus de spermatocytes et de spermatides.

Le protocole expérimental est analogue à celui utilisé dans le cas précédent : en général, pour chaque gonade explantée, quatre stades successifs de l'évolution germinale sont examinés : état génital initial, puis après un, deux, trois ou quatre mois de culture.

Les résultats sont identiques à ceux obtenus sur des gonades cultivées pendant la spermatogenèse ; après la dégénérescence des gamètes, apparaît une nouvelle poussée germinale dont l'évolution est lente. Les éléments germinaux sont peux abondants et subissent en général une lyse rapide.

Lorsque les gonades ont été cultivées pendant plusieurs mois sans prélèvements intermédiaires, on observe parfois des spermatocytes non encore dégénérés. Leur présence nous permet alors d'affirmer que l'explant a été le siège d'une spermatogenèse abortive car ces éléments n'existent pas dans le fragment témoin.

Dans le tableau XIII ont été rapportés les résultats relatifs à l'évolution de la lignée mâle en culture de gonades isolées, aux différentes périodes du cycle annuel.

#### Il montre que :

- Quel que soit le moment où le prélèvement a été effectué, on assiste toujours à une poussée spermatogénétique, plus faible que celle existant dans la nature (CHOQUET, 1965).

- Il est possible, expérimentalement, de rompre le stade de repos et de provoquer une spermatogenèse précoce.
- Il est également possible d'obtenir deux gamétogenèses successives en isolant la gonade <u>in vitro</u>. On supprime ainsi la période de repos génital qui existe normalement chez la patelle.

Tableau XIII : Evolution de la lignée mâle dans des gonades cultivées isolément.

( ( Etat génital	Téi	moin	Culture 14 j.		Culture 30 j.		Culture 60 j.		Culture 90 j.	
initial	Mit.	Spz	IVIT T.	Spz res.		Spz néof		: Spz : néof		Spz néof
( Période de ( gamétogenèse (	+++	++	-	+	+		+	+		
( Période de ( maturation (	-	+++		+	- (+)		+	+		-
( Période de ( repos	-	~ (+)	- (+)	-	+	+	+	+		_

Mit. : Mitoses

Spz néof. : Spermatozoides néoformés

Spz res. : Spermatozoides résiduels

- pas de mitoses ni de spermatozoides néoformés

+ mitoses décelables ou gamètes présents

++ mitoses ou gamètes abondants

+++ mitoses ou gamètes très abondants.

## II - RECHERCHE DE FACTEURS HUMORAUX D'ORIGINE GONADIQUE

Comme le changement de sexe se produit à la fin d'une gamétogenèse mâle et qu'il se poursuit pendant la période de repos suivante, on peut émettre l'hypothèse de l'existence de facteurs internes d'origine gonadique susceptibles d'intervenir dans le processus. D'autre part, l'étude histologique nous montre qu'il existe un tissu interstitiel, peu développé en période d'activité sexuelle, mais devenant abondant à l'approche du repos génital. Nous pensons qu'il assure la lyse des gamètes non éliminés et qu'il emmagasine des réserves nutritives pour la gamétogenèse suivante. Toutefois, il pourrait avoir un rôle dans la physiologie sexuelle.

Pour tenter d'apporter une réponse à ces problèmes, des séries expérimentales ont été réalisées : elles consistent à associer des gonades de sexe différent ou à ajouter du broyat de glandes génitales au milieu de culture.

#### 1 - Association de gonades

Lorsque deux tronçons de gonades de sexe ou d'état génital différents sont cultivés en association, on pratique l'expérience témoin qui consiste à explanter isolément un fragment de chacune d'elles. Les associations suivantes ont été réalisées :

- gonade phase mâle + gonade femelle fonctionnelle
- gonade phase mâle + gonade neutre (sans sexe déterminable de visu)
- gonade femelle + gonade neutre

Dans toutes les séries expérimentales , on constate que chaque fragment associé se comporte comme s'il était cultivé isolément : son évolution est toujours identique à celle du trongon témoin.

## 2 - Méthode des broyats

Les patelles sont extraites de leur coquille ; on prélève les gonades que l'on place dans le godet d'un homogénéiseur. A l cc de glande génitale, on ajoute 2 cc d'eau de mer et on broie l'ensemble. Le broyat est centrifugé pendant 30 minutes à 5000 g. Le liquide surnageant est prélevé à la seringue mais il n'est pas stérile. Avant d'être incorporé au milieu de culture, l'extrait est

passé sur filtres Millipores, dont le diamètre des pores est successivement de 5  $\mu$ , 1,2  $\mu$ , 0,45  $\mu$ . Les particules en suspension ainsi que les bactéries sont retenues par les filtres. En utilisant ce procédé, nous n'avons jamais eu de contamination bactérienne imputable à l'extrait de gonade.

Certaines salières ont reçu deux gouttes de broyat stérile, d'autres cinq; dans ce dernier cas, afin de rétablir la solidité du milieu, nous ajoutons dix gouttes de gélose au lieu de sept.

Avec ces deux concentrations, les cultures ont été réalisées selon le protocole suivant :

- gonades femelles sur milieu avec extrait mâle
- gonades femelles sur milieu avec extrait femelle
- gonades mâles sur milieu avec extrait femelle
- gonades mâles sur milieu avec extrait mâle
- gonades mâles sur milieu avec extrait de gonade en repos
- gonades en repos sur milieu avec extrait mâle
- gonades en repos sur milieu avec extrait femelle

Corrélativement, dans chaque cas, un fragment témoin est prélevé au moment de l'explantation et une culture témoin est réalisée sur milieu sans extrait.

- L'apport d'extrait femelle à des gonades en phase femelle ne modifie pas l'évolution <u>in vitro</u>. Le tissu interstitiel ne semble avoir aucun rôle dans la maturation. De plus, il ne modifie pas l'évolution sexuelle des glandes génitales en phase mâle.
- Des conclusions identiques sont obtenues après culture avec extraits mâles : ces derniers n'exercent aucune influence sur l'épithélium germinatif des animaux en période de repos.

L'inversion sexuelle ne semble donc pas être liée à un facteur humoral ayant son origine dans le tissu interstitiel des gonades ou dans les gonies elles-mêmes.

Nous nous sommes alors efforcés de rechercher quels sont les facteurs internes responsables de l'évolution cyclique de la lignée mâle. Au cours de ce travail, nous n'avons jamais utilisé de substances pharmacodynamiques pour essayer de modifier l'évolution des gonades <u>in vitro</u>. Des associations ont été

effectuées avec des organes prélevés chez des patelles de sexe ou d'âge différents.

Nous n'avons pas testé l'action éventuelle d'hormones de vertébrés tels que le propionate de testostérone ou le benzoate d'oestradiol. D'ailleurs ROSE et HAMON (1939 a, b) ont montré que ces extraits étaient inopérants en injections vitales chez <u>Murex trunculatus</u> L. et <u>Milax gagates</u> Drap.

Au cours de ces recherches, nous nous sommes efforcés de rester le plus près possible des conditions naturelles.

#### III - ROLE DU CERVEAU DANS LA SPERMATOGENESE IN VITRO

Chez <u>Patella vulgata</u>, les ganglions cérébroïdes sont des formations paires situées à la base du tentacule sensoriel. Ils sont réunis entr'eux par une commissure large et plate et reliés aux autres masses nerveuses du corps par des connectifs.

Après avoir étudié le comportement du cerveau <u>in vitro</u>, nous envisagerons son rôle sur des gonades en phase mâle explantées au cours des différentes périodes du cycle annuel.

# 1 - Survie des ganglions cérébroïdes en culture

Au bout d'un mois de culture, les ganglions cérébroïdes présentent une structure identique à celle du témoin : les fibres du neuropile restent individualisées et les corps cellulaires corticaux ne présentent pas de nécrose. Les cellules nerveuses de petite taille voisinent avec des éléments plus volumineux (15  $\mu$ ) dont nous envisagerons ultérieurement la structure.

# 2 - Association avec des gonades prélevées en période de repos génital

Lorsque un ou plusieurs ganglions sont cultivés en association avec un fragment de gonade, un tronçon témoin est fixé au début de l'expérience et un autre maintenu isolément pendant le même temps de culture.

## a) Association autologue avec un ou deux cerveaux

Rappelons que, dans la gonade en repos, l'épithélium germinatif ne manifeste aucune activité spermatogénétique (Pl. IX, fig. a). Au bout de 20 jours de culture isolée, la glande génitale présente une différenciation mâle, marquée par l'existence de spermatogonies et de spermatocytes (Pl. IX, fig. b). Pendant le même temps, un tronçon de la même gonade, cultivé en présence du cerveau est le siège d'une spermatogenèse plus intense (Pl. IX, fig. c, d). Après 40 jours de culture, le nombre des gonies en évolution, ainsi que celui des gamètes formés est plus important dans le fragment associé au ganglion cérébroïde que dans celui cultivé isolément (CHOQUET, 1965). Cette ne différence porte pas uniquement sur la portion de gonade située au niveau de la soudure avec le cerveau; elle affecte les tubules les plus distaux. Ce n'est donc pas une réaction de contact mais une action en profondeur qui touche tout l'organe associé. La spermatogenèse est plus régulière et se rapproche de celle existant chez les animaux prélevés dans la nature. Ce résultat est encore plus net lorsque les deux ganglions du donneur sont associés à la gonade. Le cerveau semble donc avoir un rôle stimulateur sur l'épithélium germinatif.

## b) Association homologue avec plusieurs ganglions cérébroides

Nous nous sommes efforcés de rechercher si, expérimentalement, il ne serait pas possible d'obtenir, <u>in vitro</u>, une gamétogenèse plus abondante, voisine de la normale, en associant un nombre plus élevé de cerveaux.

Une gonade est divisée en tronçons ; les fragments obtenus sont cultivés selon le protocole suivant :

- fragment isolé
- fragment associé à deux cerveaux
- fragment associé à quatre cerveaux
- fragment associé à six cerveaux

Les ganglions cérébroides sont prélevés sur des animaux de même taille et de même état génital que ceux du donneur de gonade.

L'expérience est réalisée sur des jeunes individus qui sont pratiquement tous au même état physiologique et qui ont subi leur première spermatogenèse.

Pour pouvoir comparer le degré d'évolution dans les divers cas envisagés, il importe d'effectuer des comptages de mitoses. Pour cela, on choisit une coupe correspondant à l'état moyen et on calcule, dans plusieurs follicules, le pourcentage de mitoses par rapport au nombre total d'éléments germinaux de cette catégorie (ex.: spermatogonies). On peut également opérer un comptage de spermatozoïdes.

Sur la figure 21 (voir plus loin : discussion) a été tracée la courbe représentative du taux de mitoses spermatogoniales en fonction du nombre de cerveaux associés. La courbe A montre que l'évolution des gonades est sensiblement identique quel que soit le nombre de ganglions associés (deux, quatre ou six). In vitro, l'activité mitotique de la lignée mâle est maximale en présence de deux ganglions cérébroïdes, potentiel normal de chaque individu.

## 3 - Association de cerveaux avec une gonade en spermatogenèse

Rappelons que la lignée mâle en évolution dégénère en culture isolée (Pl. VIII, fig. b). A cette lyse, fait suite une nouvelle poussée germinale de faible amplitude qui s'effectue donc sans qu'il y ait eu de période de repos intermédiaire.

En présence du cerveau, les tubules séminifères conservent leur structure initiale et les gonies poursuivent leur évolution. On n'observe pas de pycnose; l'épithélium germinatif est le siège de nombreuses mitoses spermatogoniales (Pl. VIII, fig. c).

La densité de gamètes obtenus reste toutefois inférieure à celle observée chez le témoin mais cette diminution est due, en partie, à l'abondant essaimage cellulaire qui suit la mise en culture.

<u>In vitro</u>, les ganglions cérébroïdes assurent le maintien de la spermatogenèse en agissant sur les gonies ; dans les gonades d'animaux en phase mâle, ils semblent stimuler les mitoses du tissu germinal (CHOQUET, 1967).

# 4 - Association pratiquée en fin de période de reproduction

En présence des ganglions cérébroïdes, on constate une reprise d'activité plus précoce que dans le fragment isolé. En effet, alors qu'au bout de 15 jours, l'épithélium germinatif de la portion isolée ne manifeste aucune activité, un tronçon de la même gonade, associé à un ou deux cerveaux, présente déjà des spermatocytes. Ces résultats sont donc comparables à ceux obtenus en culture de glandes génitale en phase mâle, explantées pendant la période de repos sexuel.

## 5 - Associations hétérologues

L'association du système nerveux central d'une femelle en début d'ovogenèse, avec une gonade en phase mâle, aboutit à des résultats identiques à ceux obtenus en association autologue ou homologue. Le cerveau, prélevé chez une femelle en début de gamétogenèse, possède donc des potentialités stimulatrices sur les mitoses mâles. Par contre, les ganglions cérébroïdes prélevés chez une femelle en période de vitellogenèse ou en phase de ponte sont inactifs. Il convient de signaler que ces associations n'entraînent pas l'apparition d'une phase femelle; elles n'induisent pas de changement de sexe.

Ces résultats montrent que le système nerveux des patelles libère une gonadostimuline. D'autre part, chez les femelles, il existerait un cycle d'activité cérébrale qui se superpose à celui de la gonade. Nous reviendrons ultérieurement sur ces résultats, au cours de l'étude du rôle des facteurs internes sur l'évolution de la gonade pendant le cycle vital.

#### 6 - Discussion

Dans le tableau XIV, ont été rassemblées les données relatives à l'évolution des gonies mâles dans des fragments de gonades isolés ou associés avec les cerveaux du donneur (associations autologues).

<u>Tableau XIV</u>

Evolution de la lignée mâle en présence du cerveau

Etat génital	Témoin		Culture 14 j. gonade isolée		Culture 14 j. gonade + cerveau		Culture 30 j. gonade isolée		Culture 30 J. gonade + cerveau	
initial	Mitoses	Spz	Mitoses	: Spz : néoformés	Mitoses	: Spz : néoformés	Mitoses	: Spz : néoformés	Mitoses	: Spz : néoformés
Période de gamétogenèse	+++	++		-	++	++	+	-	++	: ++
Période de maturation	-	***	-	-	+	-	+	+	+++	++
Période de repos	-	- (+)	-	-			+	+	++	: ++

- pas de mitoses ni de spermatozoides néoformés
- + Mitoses décelables ou gamètes présents
- ++ Mitoses ou gamètes abondants
- +++ Mitoses ou gamètes très abondants

Sur la figure 21 ont été représentées les variations des taux moyens de mitoses spermatogoniales et spermatocytaires en fonction du type de culture (gonade isolée ou en association autologue avec le cerveau). La courbe A est relative aux explants prélevés en période de repos, la courbe B aux tronçons provenant d'une glande génitale en spermatogenèse. Cette figure a été réalisée d'après les résultats obtenus par comptage de mitoses effectués dans dix follicules de gonades provenant de trois séries de cultures identiques dans chacun des deux cas et réalisées en 1965, 1966 et 1967.

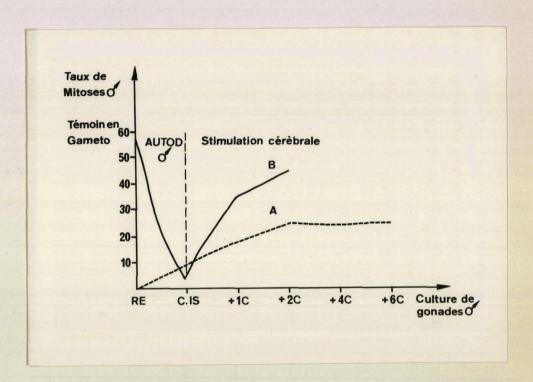


Fig. 21: Variations des taux moyens de mitoses mâles en fonction du type de culture.

- A : courbe relative aux explants prélevés en période de repos
- B : courbe ayant trait aux cultures effectuées avec des gonades en spermatogenèse
- 1 C, 2 C, 4 C, 6 C: nombre de cerveaux associés à une gonade AUTOD of: Autodifférenciation de la lignée mâle.

- Au bout de deux semaines de culture, quel que soit l'état initial, l'épithélium germinatif ne manifeste pas d'activité nouvelle dans les explants isolés. Pendant ce même temps, la présence du cerveau entraîne, par contre, une reprise d'activité plus rapide ou un maintien de l'état génital initial, selon la période du cycle sexuel.

Ainsi, en début de période de reproduction, les ganglions cérébroides préviennent toute nécrose des gonies et assurent le maintien de la spermatogenèse <u>in vitro</u> (courbe B).

- En période d'éjaculation, ils n'empêchent pas la dégénérescence, in situ, des gamètes mais ils provoquent une nouvelle poussée germinale plus précoce que celle apparaissant dans le fragment isolé.
- Dans les gonades explantées en période de repos, le cerveau stimule l'épithélium germinatif entraînant une spermatogenèse plus abondante et plus régulière que celle existant dans les tronçons cultivés seuls. Il se comporte, en associations in vitro comme stimulateur des mitoses de la lignée mâle et son activité s'observe en période de gamétogenèse (courbe B). Pendant le repos sexuel, il reste toutefois capable d'augmenter le taux de mitoses dans un fragment de gonade qui lui est associé (courbe A).

Si, dans l'organisme de la patelle, le cerveau était capable d'activer la lignée mâle pendant toute l'année, la gonade serait en activité permanente et la période de repos génital n'existerait pas. Or, l'épithélium germinatif n'est actif qu'au cours de la gamétogenèse estivale et automnale; dès que les spermatozoïdes sont formés, les spermatogonies redeviennent quiescentes. Ces constatations nous amènent à émettre l'hypothèse de l'existence d'un facteur inhibiteur responsable de la période de repos et possédant, à ce moment là, une action prépondérante par rapport à celle du cerveau. Cette hypothèse est étayée également par le fait que, dans les gonades en phase mâle, isolées de l'organisme et cultivées isolément, on constate une rupture de la période de repos et le déclenchement d'une spermatogenèse précoce.

#### IV - ROLE INHIBITEUR DU TENTACULE SUR LA SPERMATOGENESE IN VITRO

Les travaux de PELIUET et LANE (1961) et PELIUET (1964) chez Arion subfuscus Drap. et Arion ater L'ayant mis en évidence le rôle endocrine du tentacule dans la différenciation des cellules germinales, nous nous sommes

efforcés de rechercher son rôle éventuel chez Patella vulgata.

## 1 - Survie du tentacule en culture

<u>In vitro</u>, le tentacule présente une bonne survie pendant plusieurs semaines ; sont extrémité, douée de motilité, est sensible aux agents physiques. L'explant s'entoure d'une enveloppe muqueuse formant un manchon ; ce dernier doit être enlevé périodiquement pour que l'organe puisse se nourrir par osmose.

Après un mois de culture, on constate parfois l'apparition de points de nécrose, situés essentiellement à l'extrémité du filament tentaculaire.

Dans la plupart des cas, l'enveloppe épithéliale subsiste mais les tissus musculaire, conjonctif et nerveux se dégradent. Lorsqu'une telle dégénérescence survient, l'explant et le tentacule associé sont sacrifiés afin de ne pas fausser le résultat. Il convient de signaler que la survie du tentacule est meilleure à la température de 10° C qu'à celle de 20° C; une température élevée entraîne un début de nécrose plus précoce.

# 2 - Association autologue gonade-tentacule réalisée en période de repos génital

Lorsqu'un fragment de gonade, prélevé chez un animal en repos sexuel, est cultivé pendant un mois en association avec un ou deux tentacules du donneur (Pl. X, fig. c), il se comporte comme s'il était resté dans l'organisme. Sa structure reste voisine de celle du fragment témoin prélevé à la mise en culture (Pl. X, fig. a). L'épithélium germinatif reste quiescent. On ne constate aucune mitose spermatogoniale (Pl. X, fig. d); aucun tubule seminifère ne s'individualise, le tissu interstitiel ne se résorbe pas, tout au plus prend-il un aspect vacuolaire. Cette quiescence des gonies s'applique pas uniquement aux éléments des acini situés au voisinage du tentacule, elle est générale dans tout le fragment associé.

In convient de rappeler qu'un tronçon de la même gonade, cultivé isolément, est le siège d'une reprise d'activité génitale caractérisée surtout par l'apparition de spermatocytes et qu'en association avec le cerveau, la lignée mâle évolue complètement dans tous les tubules (Pl. X, fig. b).

On constate donc qu'in vitro, les tentacules préviennent toute reprise de la spermatogenèse. Ces résultats suggèrent l'existence d'un facteur
inhibiteur d'origine tentaculaire dont la disparition entraînerait une rupture
de la période de repos et une reprise d'activité génitale précoce. Ce facteur
pourrait donc être responsable de l'apparition de la période de repos naturelle.

## 3 - Association effectuée en période de reproduction

Lorsqu'un fragment de gonade en spermatogenèse est cultivé avec les seuls tentacules du donneur, on observe, au cours des premières semaines, une évolution semblable à celle du tronçon isolé. Les gamètes, les spermatides et spermatocytes dégénèrent. Cette pycnose semble d'ailleurs s'effectuer plus rapidement que dans la gonade cultivée seule ; au bout de deux à trois semaines, seules les spermatogonies souches subsistent le long de l'épithélium germinatif. Les acini disparaissent et un abondant tissu interstitiel se développe. La gonade, associée aux tentacules, présente alors l'aspect caractéristique d'une phase de repos. Des fixations échelonnées montrent qu'ultérieurement, les gonies restent quiescentes contrairement à ce que l'on constate dans un fragment de la même gonade cultivé isolément.

Il est donc possible, expérimentalement, de provoquer un retour précoce à la phase de repos en soustrayant la gonade en évolution à l'action du cerveau et en la maintenant sous la seule influence des tentacules.

## 4 - Associations hétérologues

Le tentacule d'un animal en phase femelle est capable de bloquer l'évolution de la lignée mâle. Cette observation nous suggère l'hypothèse suivante : le tentacule pourrait avoir un rôle endocrine dans le changement de sexe en bloquant la phase mâle et en permettant ainsi à la lignée femelle d'évoluer. Cependant, des tentacules d'animaux femelles de grande taille se sont révélés inopérants. Leur inefficacité expérimentale pourrait être en relation avec une perte de leur rôle endocrine chez les femelles âgées chez lesquelles les cellules mâles ne semblent plus exister. Nous reviendrons sur ces points lors de l'étude expérimentale de l'évolution in vitro des éléments ovogénétiques.

Dans le tableau XV ont été rapportés les résultats relatifs au comportement de la lignée mâle, en association autologue et homologue avec le tentacule.

Tableau XV: Evolution de la lignée mâle en culture de gorades isolées ou associées aux tentacules.

La légende est identique à celle du tableau XIV.

( ( Etat ( génital	Témoi	.n	Gonade un m	isolée ois	Gonade associée aux tentacules un mois		
initial	Mitoses	Spz	Mitoses	: Spz : néoformés	Mitoses	Spz ) néoformés )	
( Période de ( repos	_		+	+	-	: _ ) : _ )	
( Période de ( gamétogenèse (	+++	++	+	-		- )	
( Période de ( maturation (	-	+++	+	:		: ) : - ) : - )	

Il montre que, quel que soit le moment où ils sont explantés, les tentacules préviennent toute reprise de la spermatogenèse <u>in vitro</u> et maintiennent les explants en phase de repos. Si ce pouvoir inhibiteur existait seul ou s'il manifestait une prépondérance constante, les patelles en phase mâle seraient en repos permanent. Or, il est rien et de plus, nous avons vu que le cerveau possède un rôle totalement opposé puisqu'il stimule l'épithélium germinatif.

Il semble donc exister un antagonisme entre ces deux organes qui possèdent d'ailleurs, entr'eux, de nombreuses connexions nerveuses. Avant de tenter d'expliquer les rôles respectifs qu'ils jouent au cours du cycle reproducteur, il importe de connaître le comportement de la lignée mâle associée, <u>in vitro</u>, au complexe céphalique tentacule-cerveau, association qui, du point de vue endocrine, se rapproche le plus des conditions naturelles.

#### V - ASSOCIATION DE GONADES AVEC LE COMPLEXE TENTACULE-CERVEAU

Le complexe tentacule-cerveau est une formation paire dont nous étudierons la structure et les connexions dans le chapitre III. Il est constitué par le ganglion cérébroïde et le tentacule, ce dernier étant innervé par plusieurs troncs issus du cerveau.

Au cours de nos recherches expérimentales, nous avons procédé à des associations de fragments de gonade en phase mâle avec un ou deux complexes prélevés soit sur le donneur de glande génitale (associations autologues) soit sur des patelles de même sexe (associations homologues) soit sur des animaux en phase femelle (associations hétérologues). Des cultures ont également été réalisées en associant un tronçon de glande génitale avec un ou plusieurs complexes dissociés.

#### 1 - Associations autologues

Les résultats de ces expériences, réalisées à différentes périodes du cycle annuel, ont été rapportés. dans le tableau XVI.

Tableau XVI : Evolution de la lignée mâle en association autologue avec le complexe Tentacule-cerveau.

( Etat )	Témoi	n	Gonade + complexe l mois			
( génital ( init1al (	Mitoses	Spz	Mitoses	Spz néoformés		
( Période de ( gamétagenèse (	+++	++	++	++		
( Elimination ( du sperme (	-	+++	- (+)	-		
( Période de ( repos	-	-	-	_		

#### Ce tableau montre que :

- En période de repos, le fragment de gonade explanté ne subit aucune évolution ; il garde une structure semblable à celle du fragment témoin. Il se comporte comme s'il était associé aux seuls tentacules (Tableau XV). Le complexe entier a donc, au cours de cette période, le même rôle inhibiteur sur la lignée mâle que le tentacule seul.
- En période de gamétogenèse, les gonies évoluent comme si le cerveau seul était associé (Tableau XIV, Pl. VIII, fig. d). Le complexe a alors, sur la spermatogenèse, le même rôle stimulateur que le ganglion cérébroïde (CHOQUET, 1967).

#### 2 - Associations homologues

Deux types d'expériences ont été réalisés : une première série de cultures est pratiquée selon le même schéma que celui envisagé pour les associations autologues mais les complexes sont prélevés chez un individu de même sexe que le donneur de gonade.

Dans le second cas, une glande génitale est cultivée isolément pendant trente à quarante jours ; après ce laps de temps, un fragment est prélevé et sert de témoin à la seconde partie de l'expérience. Celle-ci consiste à effectuer une association avec des ganglions cérébroïdes, des tentacules ou ces deux formations, prélevés sur un donneur de même âge et de même sexe que celui qui a fourni la glande génitale. Un tronçon reste isolé, il permet de suivre l'évolution des gonies en absence de toute influence interne. Les fragments isolés sont maintenus en culture pendant près de trois mois et les associations durant quarante jours.

Les résultats obtenus concordent avec ceux enregistrés en associations autologues. Ainsi, le fragment témoin de la seconde partie de l'expérience est le siège d'une poussée germinale; elle se poursuit puis s'estompe sur le tronçon qui demeure isolé alors qu'elle est stoppée dès l'association de tentacules.

Dans les deux cas d'associations homologues, les résultats sont semblables. Ils confirment le rôle inhibiteur des tentacules sur la lignée mâle et l'influence stimulatrice du cerveau sur les mitoses goniales.

## 4 - Associations hétérològues

Rappelons qu'elles consistent à cultiver des fragments de glandes génitales d'animaux en phase mâle avec des organes céphaliques prélevés chez des individus femelles. Les résultats obtenus dépendent de l'état sexuel des femelles. Le complexe d'un animal en début d'ovogenèse se comporte comme le cerveau : il est capable de stimuler les mitoses mâles. Par contre, lorsqu'on associe le complexe d'une femelle en vitellogenèse ou en période de ponte, l'activité cérébrale est nulle. Il semble que chez la femelle, le cerveau l'activité des variations d'activité plus marquées que chez la patelle en phase mâle.

VI - DISCUSSION

Dans le tableau XVII ont été rapportés les résultats relatifs au

comportement de la lignée mâle en culture organotypique.

Tableau XVII : Etude comparée de l'évolution des gonades mâles cultivées seules ou en association avec tout ou partie du complexe céphalique.

Gonade + complexe		Gonade + tentacule		Gonade + cerveau		Gonade isolée		Témoin		Etat
zq2 səmroloən	Mitoses	zq2 : sèmroloèn :	Mitoses	zq2 :	Mitoses	zq2 :	Mitoses	zdg	Mitoses	génital initial
714	3 - 3		-	++	**	+	+	- "	:	Période de Repos
++	++	era T		++	++	+	+	++	: : +++ :	Période de samétogenèse
-	y = 5 4 5	-	y (5-98	++	++	+	+	***	-	Période d'é- limination du sperme

Ce tableau montre les principaux résultats obtenus en culture de glandes génitales prélevées chez des patelles en phase mâle, au cours des différentes périodes du cycle annuel. Nous envisagerons successivement les cultures de gonades isolées et associées au tentacule, au cerveau ou au complexe céphalique.

#### 1 - Culture de gonades isolées

- a) Il est possible, expérimentalement, de rompre le stade de repos et de provoquer le déclenchement d'une spermatogenèse précoce. Il semble donc exister un facteur inhibiteur de l'autodifférenciation mâle; il serait responsable de l'apparition et du maintien de la phase de repos naturel.
- b) Lorsqu'on isole la gonade en période de gamétogenèse, les éléments préexistants (spermatocytes, spermatides et gamètes) dégénèrent. Cette observation nous incite à penser que l'épithélium germinatif a besoin d'un facteur mitogène pour fonctionner normalement. Les spermatogonies ne subissent pas de pycnose; elles peuvent se réactiver; toutefois, la spermatogenèse néoformée est toujours très faible.

Ces expériences montrent que, quel que soit le moment où la gonade est explantée, on constate, <u>in vitro</u> une reprise d'activité génitale.

## 2 - Associations avec le tentacule

Une gonade prélevée au cours du stade de repos et cultivée en association autologue ou homologue avec le tentacule, ne subit pas de rupture de la période de repos.

Lorsque l'association est effectuée pendant la gamétogenèse, les gonies en évolution dégénèrent. Cette pycnose n'est suivie d'aucune reprise d'activité; la gonade revient à un état quiescent.

Ces résultats montrent que les tentacules préviennent toute reprise de la spermatogenèse <u>in vitro</u> et maintiennent les gonades en phase de repos.

Le tentacule serait donc responsable de l'apparition de cette période de repos.

#### 3 - Rôle du cerveau

- Un fragment de gonade, explanté en période de repos et associé aux ganglions cérébroïdes du donneur, est le siège d'une spermatogenèse plus rapide et plus intense que celle du tronçon de la même gonade cultivé isolément : les divisions cellulaires y sont plus abondantes (fig. 21). Ces résultats montrent que le cerveau stimule les mitoses mâles.
- Les associations autologues, réalisées en début de gamétogenèse, montrent que le cerveau assure, <u>in vitro</u>, le maintien de l'activité génitale: les gonies ne se lysent pas, la spermatogenèse se poursuit. Le taux de mitoses est plus élevé que dans les explants prélevés en période de repos et cultivés en présence des ganglions cérébroïdes du donneur (fig. 21).

Ces résultats confirment l'existence d'un facteur mitogène cérébral et montrent que ce dernier est plus actif en début de gamétogenèse qu'en période de repos.

#### 4 - Associations avec le complexe tentacule-cerveau

Les fragments de gonade, prélevés chez un animal en phase mâle, pendant le repos sexuel et cultivés avec le complexe du donneur, se comportent comme s'ils étaient en présence du seul tentacule: la lignée mâle n'évolue pas. Par contre, les associations effectuées au début de la spermatogenèse aboutissent à des résultats identiques à ceux obtenus en culture de gonade avec le cerveau. Il convient de signaler que ces données sont conformes à celles révélées par l'étude de la spermatogenèse naturelle (deuxième partie, chapitre I).

Les observations faites <u>in vitro</u> montrent, qu'en période de repos, le tentacule a un rôle prépondérant alors qu'au cours de la spermatogenèse, l'action du cerveau est déterminante. Or, nous avons vu, précédemment, que le tentacule exerce une action inhibitrice sur les spermatogonies et que ce facteur est présent pendant toute la phase mâle. Il semble donc que les différentes périodes du cycle sexuel annuel soient sous la dépendance du rythme de l'activité cérébrale.

Sur la figure 22, a été représenté le schéma des corrélations endocrines réagissant le cycle annuel de la gonade des patelles en phase mâle. Il a été établi à partir des résultats obtenus en culture organotypique.

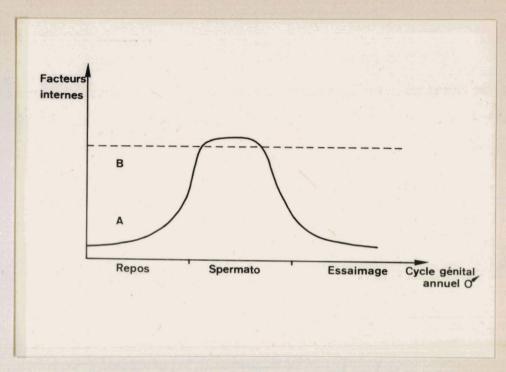


Fig. 22 : Schéma montrant les corrélations endocrines existant au cours du cycle annuel des patelles en phase mâle.

A : Facteur mitogène cérébral

B: Facteur inhibiteur tentaculaire.

Cette figure montre qu'à la fin de la période de repos, apparaît un accroissement d'activité du facteur mitogène cérébral. Ce dernier serait responsable du déclenchement de la spermatogenèse. Nous verrons ultérieurement, que, chez les patelles, existent alors, dans le cortex des ganglions cérébroïdes, de gros neurones dont le cytoplasme renferme des granules. Ces derniers ont une réaction positive à la fuchsine paraldéhyde de GABE et à l'hématoxyline chromique de GOMORI. Il se peut que ces éléments soient de type neurosécréteur.

En fin de gamétogenèse, la restauration de la phase de repos est conditionnée par une nette diminution de l'activité cérébrale. Le tentacule redevient prépondérant ; il inhibe la lignée mâle et ne permet plus au cerveau de stimuler les spermatogonies. Il existe donc une interdépendance entre le tentacule et le cerveau. Le cycle génital annuel des patelles en phase mâle est régi par ces deux organes antagonistes.

## 5 - Relations tentacule-cerveau

Les expériences de cultures de gonades avec tentacule, cerveau et complexe entier montrent qu'il ne semble pas exister d'inhibition tentaculaire sur le cerveau. Deux facteurs endocrines régissent le cycle de la gonade : l'un, d'origine cérébrale, l'autre issu du tentacule.

Or, dans les expériences d'association avec le complexe dissocié, la lignée mâle peut évoluer légèrement dans les acini voisins du cerveau alors qu'elle reste quiescente dans les follicules contigüs au tentacule. Ces observations nous incitent à penser que les connexions nerveuses ou sanguines existant entre ces deux organes pourraient intervenir dans la réalisation des mécanismes régulateurs du cycle sexuel. Des recherches complémentaires s'avèrent nécessaires.

## VII - CULTURE DE GONADES D'ANIMAUX JUVENILES

## 1 - Problème posé par la lignée femelle

Il convient de rappeler que l'étude histologique des animaux juvéniles a permis de constater que les éléments précurseurs des deux lignées existent dans les follicules de la gonade. Nous avons vu également (deuxième partie, chapitre I), qu'à maturité sexuelle, les ovogonies ne présentent aucun signe d'évolution; elles demeurent quiescentes et ne subissent aucune altération. Par contre, les spermatogonies prolifèrent; la gonade devient fonctionnelle, la phase mâle apparaît. L'étude de l'ébauche germinale et de son évolution jusqu'à la maturité sexuelle nous a donc permis de montrer que les deux types cellulaires du germen des patelles juvéniles correspondent bien aux éléments souches des deux lignées.

L'apparition de la phase mâle fonctionnelle à la première gamétogenèse est un phénomène à peu près général. Statistiquement, seuls quelques rares individus seraient susceptibles d'évoluer d'emblée en femelles. Cette constatation nous amène à poser le problème suivant : pourquoi les éléments ovogénétiques n'évoluent-ils pas plus tôt au cours du cycle vital ; pourquoi restent-ils quiescents alors que la lignée mâle devient fonctionnelle ? En d'autres termes, existe-t-il un facteur inhibiteur interne empêchant la phase femelle d'apparaître à la maturité génitale ?

Pour tenter de résoudre ce problème, plusieurs séries de gonades, prélevées à diverses saisons chez des animaux juvéniles, ont été cultivées isolément ou en association avec des ganglions cérébroïdes ou des tentacules.

## 2 - Protocole expérimental

Les expériences ont été effectuées sur deux groupes de patelles : l'un comprenant des animaux de taille inférieure ou égale à 11 mm, l'autre renfermant des individus de 12 à 15 mm. Dans la plupart des cas, la gonade n'est pas visible ; elle se confond avec l'enveloppe conjonctive entourant la masse viscérale. Pour prélever la gonade, il faut exciser une bande de tissu, la plus mince possible, à la surface du corps, dans la région où l'ébauche génitale a été détectée par l'étude histologique. Elle est entraînée avec du tissu digestif qui lui sert de soutien sur le milieu de culture.

En raison de la taille de l'explant, il est impossible d'effectuer plusieurs associations avec une même glande génitale ; les divers cas expérimentaux ont donc été réalisés sur des gonades d'animaux de même taille.

Des associations autologues, homologues et hétérologues de cerveaux, tentacules ou complexes ont été pratiquées. De plus, on effectue, chaque fois, une culture témoin d'épithélium germinatif isolé. Ce dernier est prélevé sur une patelle de même taille que celle qui sert de donneur pour les associations.

# 3 - Résultats

# a) Lignée femelle

- Que ce soit après 20, 40 ou 60 jours de culture isolée, on n'observe aucune évolution de la lignée femelle : les ovogonies restent quiescentes (Pl. XI, fig. a).
- Les cultures effectuées en présence de cerveaux prélevés chez le donneur ou chez des individus adultes en phase mâle n'ont pas donné de résultats plus favorables. Les ovogonies ne se mulitplient pas, aucune d'entr' elles n'évolue en ovocytes préméiotiques. Cette inactivité se manifeste aussi bien lorsque la lignée mâle est active (Pl. XI, fig. b) que dans les explants ne présentant aucune spermatogenèse (Pl. XI, fig. c).

- Chez les patelles juvéniles, l'association de la gonade avec des ganglions cérébroïdes prélevés chez des femelles fonctionnelles n'entraîne pas la prolifération des éléments ovogénétiques; elle n'aboutit donc pas à une phase femelle précoce (Pl. XI, fig. d). Les expériences réalisées avec des cerveaux provenant d'animaux en période de repos ou en début d'ovogenèse n'induisent pas l'apparition de la maturité sexuelle femelle.

Lorsqu'on associe un cerveau de femelle avec une gonade qui commence sa première spermatogenèse, on n'observe pas de changement de sexe. Le cerveau d'une patelle en phase femelle semble incapable de provoquer une inversion sexuelle dans la jeune gonade qui lui est associée.

## b) Lignée mâle

- Chez les animaux de moins de 10 mm, l'isolement de la gonade n'entraîne pas une spermatogenèse précoce (Pl. XI, fig. a).
- Chez des individus plus grands (10 à 14 mm), la prolifération de la lignée mâle peut intervenir en culture isolée : les spermatogonies s'alignent le long des parois folliculaires et se divisent. Les spermatocytes existent dans la majeure partie des cas mais les gamètes n'apparaissent généralement pas (Pl. XII, fig. a). Certaines gonades restent quiescentes comme celles d'animaux très jeunes (taille inférieure à 10 mm). La maturité sexuelle ne semble pas être en relation avec la taille, elle n'apparaît pas pour une longueur de coquille donnée, ce que l'étude de la croissance nous avait déjà suggérée (première partie, chapitre III).
- Les associations autologues ou hétérologues avec des cerveaux ne sont pas capables d'activer les spermatogonies des follicules de glande génitale de très jeunes patelles (Pl. XII, fig. b). Chez les individus qui ont atteint le seuil de la maturité génitale, ces organes se comportent comme stimulateur des mitoses; en général, les gamètes apparaissent, contrairement à ce qui se passe en culture inolée (Pl. XII, fig. c, d). Cependant, étant donné qu'il est très difficile de tronçonner en deux la même gonade, les comparaisons strictes ne peuvent être effectuées. Il faut, dans ce cas, comparer entre eux les résultats relatifs aux cultures isolées et ceux ayant trait à un type d'association.

- L'association de tentacules et de gonades très jeunes n'apporte aucun résultat notable étant donné que les gonies restent toujours quiescentes, quel que soit le mode de culture réalisé. Chez les jeunes adultes, le tentacule devient fonctionnel et son rôle est alors comparable à celui que nous avons évoqué dans un paragraphe précédent.

## 4 - Discussion

Les cultures de gonades juvéniles, ainsi que les associations autologues, homologues et hétérologues, apportent des données sur les mécanismes endocrines existant, chez les jeunes patelles, au début du cycle vital, jusqu'à l'apparition de la maturité sexuelle.

## 1 - Lignée ovogénétique

En culture de gonade isolée, les ovogonies ne subissent aucune évolution ; les mitoses ne s'effectuent pas. Chez <u>P. vulgata</u>, il ne semble pas exister d'inhibition interne de l'ovogenèse.

Chez les Invertébrés, des cas d'autodifférenciation ovariennes ont été obtenus: en culture organotypique, notamment par BERREUR-BONNENFANT (1963) chez le Crustacé Amphipode Orchestia gammarella Pallas. Chez le Gastéropode Prosobranche Calyptraea sinensis. hermaphrodite protandre, STREIFF (1966) cultive isolément des gonades immatures d'animaux mesurant 2 à 5 mm ou des glandes génitales d'individus en phase mâle fonctionnelle de 4 à 6 mm de long. Après 20 jours de culture, les ovocytes sont en phase d'accroissement; la lignée mâle n'apparaît pas ou disparaît lorsqu'elle était en évolution. Selon cet auteur: "Le déterminisme et le maintien de la spermatogenèse seraient dus à l'action de facteurs inhibiteurs de l'autodifférenciation ovarienne". L'existence d'un tel mécanisme n'est pas surprenante, car, chez Calyptraea sinensis, l'inversion sexuelle se produit, pour tous les individus, à un âge et une taille donnés, entre la première et la seconde période de reproduction (PELLEGRINI, 1949); l'hermaphrodisme est équilibré (ermafroditismo bilanciato de BACCI, 1951).

In n'en est pas de même chez <u>P. vulgata</u> L. et <u>P. coerulea</u> L. Chez ces Prosobranches primitifs, la durée de la phase mâle est variable et

l'inversion sexuelle peut même ne jamais survenir l'hermaphrodisme n'est pas équilibré. Les types <u>Patella</u> et <u>Calyptraea</u> sont donc très différents l'un de l'autre et BACCI (1965) choisit d'ailleurs, comme exemples, ces deux genres de Mollusques hermaphrodites protandres pour exposer les modalités de la variabilité sexuelle.

Un mécanisme endocrine aussi précis que celui existant chez <u>Calyptraea</u> ne semble pas concevable chez <u>Patella</u> et l'étude expérimentale montre qu'effectivement, chez les animaux juvéniles, la lignée femelle n'est soumise à aucun inhibition interne. Il convient d'ailleurs de noter que les modalités d'évolution des éléments ovogénétiques sont différents dans les deux genres.

Chez <u>Calyptraea</u>, ils n'apparaissent qu'en fin de spermatogenèse (BACCI, 1951) et prolifèrent au cours de la phase transitoire hermaphrodite; l'inversion est donc brutale, ce qui correspond à la manifestation d'une variation soudaine d'influence hormonale.

Chez <u>P. vulgata</u>, les cultures de gonades isolées montrent qu'il n'existe pas d'autodifférenciation ovarienne. Les expériences d'associations hétérologues montrent que les jeunes ovogonies sont insensibles à l'action cérébrale, quelle soit d'origine mâle ou femelle. Elles semblent donc être indifférentes à tout stimulus interne pendant la première partie du cycle vital.

# 2 - Lignée mâle

Nous avons vu, précédemment, qu'une gonade d'animal adulte en phase mâle, isolée de l'organisme, donc soustraite à l'inhibition tentaculaire, est le siège d'une reprise d'activité. Or, chez les animaux très jeunes, l'isolement in vitro n'entraîne pas de spermatogenèse précoce. Il en est de même lorsque des cerveaux sont associés aux gonades. Les spermatogonies souches d'individus de moins de 10 mm de long semblent insensibles à des stimuli hormonaux. La gonade ambisexuée des jeunes patelles ne semble donc soumise à aucune influence céphalique. Il est probable que sa croissance et son développement prépubère sont uniquement conditionnés par le métabolisme général de la patelle.

Il convient d'ailleurs de rappeler que les expériences d'associations montrent que chez ces animaux, tentacule et cerveau semblent inactifs. Par contre, à l'approche de la maturité sexuelle, la gonade isolée de l'organisme est capable de commencer sa première spermatogenèse que l'association autologue ou hétérologue de cerveaux renforce, que l'association des tentacules inhibe. Ainsi, à l'approche de la maturité génitale, le complexe tentacule cerveau devient endocrine et peut être est-ce sous son influence que les gonies atteignent ce seuil de réceptivité aux influences internes.

En conclusion, les expériences réalisées chez les très jeunes patelles nous montrent qu'il n'y a pas d'autodifférenciation ovarienne, qu'en dessous d'un seuil qui se situe au voisinage de la maturité génitale, les gonies des deux sexes ne semblent être sous la dépendance d'aucune influence interne. A l'approche de la maturité sexuelle, le complexe céphalique acquiert ses potentialités endocrinos. Si la lignée femelle n'évolue pas d'emblée ce n'est pas parce qu'elle est inhibée mais sans doute parce qu'elle est moins réceptive que la lignée mâle aux stimuli internes.

Dans un travail que nous avons entrepris, nous essayons de détruire électivement la lignée mâle. En culture organotypique, et selon le protocole expérimental utilisé pour les gonades bisexuées, nous tentons d'apporter des précisions sur le problème de la lignée femelle dans les gonades juvéniles.

### CONCLUSION DU CHAPITRE

L'étude du rôle des facteurs internes sur l'évolution des gonies chez les patelles en phase mâle et les animaux juvéniles a été entreprise par la méthode des cultures organotypiques. Des fragments de gonades sont isolées ou associées avec des ganglions cérébroïdes, des tentacules ou les deux organes ensemble. Ces derniers sont prélevés chez le donneur de glande génitale soit chez des animaux de même sexe soit sur des femelles. On réalise ainsi des associations autologues, homologues ou hétérologues.

Les séries expérimentales, effectuées au cours des différentes périodes du cycle annuel, ont permis de montrer que :

- Chez les juvéniles immatures, les gonies des deux sexe ne sont pas soumises à des influences hormonales. En dessous d'un seuil de réceptivité, qui se situe au voisinage de la maturité sexuelle, les cellules germinales ne peuvent entrer en activité fonctionnelle.

- Il n'existe pas de centre inhibiteur de l'autodifférenciation ovarienne chez P. vulgata.
- L'association avec des cerveaux prélevés chez des animaux femelles n'entraîne pas l'apparition d'une ovogenèse précoce et n'induit pas le changement de sexe chez les patelles en première spermatogenèse.
- Les ganglions d'individus en phase mâle ont un rôle stimulateur sur les mitoses spermatogoniales et sont responsables du déroulement normal de la gamétogenèse.
- Le tentacule, au contraire, se comporte comme un centre inhibiteur de la spermatogenèse. Il maintient la lignée mâle en état de quiescence.

Le déclenchement de la spermatogenèse est dû à une augmentation du taux d'hormone mitogène cérébrale.

#### CHAPITRE II

# INFLUENCE DES FACTEURS INTERNES SUR LA LIGNEE OVOGENETIQUE AU COURS DU CYCLE VITAL

Après avois étudié le rôle des facteurs internes sur le cycle des animaux en phase mâle, il importe de connaître le comportement des ovogonies et des ovocytes en culture, à la fois dans les explants en phase mâle, dans les gonades en inversion sexuelle et dans celles prélevées sur des femelles fonctionnelles.

## I - EVOLUTION DE LA LIGNEE FEMELLE DANS LES GONADES EN PHASE MALE.

Nous avons vu précedemment (deuxième partie, chapitre II) que chez les individus en phase mâle, la lignée femelle existe sous forme d'ovogonies disposées surtout en amas épars et d'ovocytes jeunes, le plus souvent isolés. Nous avons également constaté qu'in vivo, la lignée femelle peut se présenter sous plusieurs aspects correspondant sans doute à des degrés d'évolution vers l'état de préinversion dont les caractères cytologiques ont été décrits.

# A - Cultures de gonades n'ayant pas atteint le stade de préinversion

# 1 - Explantation en période de repos.

Dans le fragment témoin, la lignée femelle est constituée d'ovogonies quiescentes ou présentant des figures de mitose. Leur taille varie de 7 à 10 µ, le noyau est volumineux avec une chromatine en mottes anguleuses disposées contre l'enveloppe nucléaire; le cytoplasme est réduit à un mince anneau. Dans les cellules en division, les figures de prophase sont les plus nombreuses mais on rencontre également des plaques métaphasiques et des tassements polaires. Cés mitoses équationnelles assurent la multiplication des ovogonies. On observe d'autre part des jeunes ovocytes en prophase hétérotypique, des ovocytes en début d'accroissement et, plus rarement, en prévitellogenèse.

a) Au bout de 20 jours de culture isolée, les ovogonies ne présentent plus de figures de mitose; toutes sont quiescentes. Elles ne peuvent être confondues avec les spermatogonies qui sont de plus petite

taille (4 à 5 µ), très chromatiques, à nucléole peu marqué, à chromatine fine et poussiéreuse. Donc, en présence de la lignée mâle active et en absence de toute influence interne, les ovogonies ne peuvent se multiplier. Elles restent le plus souvent groupées en ilôts mais peuvent également s'aligner le long de l'épithélium germinatif; elles s'intercalent alors entre les spermatogonies mais ne sont pas altérées par l'évolution de la lignée mâle. Si les ovogonies n'évoluent pas, par contre les ovocytes peuvent poursuivre leur phase d'accroissement en absence de tout facteur humoral. L'auxocytose peut aboutir à l'apparition d'ovocytes de 30 à 40 µ de diamètre. Le cytoplasme se développe, devient basophile et présente notamment deux calottes polaires qui n'existent pas ou sont peu marquées chez les jeunes ovocytes. On peut déjà observer des phénomènes d'extrusion nucléolaire, un nucléole composite apparaît, des globules d'A.R.N., ( les nucléoles secondaires) s'en détachent et se disposent à la périphérie du nucléoplasme.

b) Après 40 jours de culture, la lignée mâle a évolué : des spermatocytes et quelques gamètes sont apparus dans la lumière des tubules. Les ilôts ovogoniaux demeurent quiescents; ils ne sont affectés d'aucune division mais ne dégénèrent pas. Les ovocytes s'accroissent et certains entrent en prévitellogenèse. Cependant, on n'observe jamais de vitellogenèse; il ne peut y avoir autofécondation. Les ovocytes en prévitellogenèse ne sont pas reliés à la paroi des follicules par un pédoncule cytoplasmique et évaluent dans la lumière des acini ... Ils peuvent être éliminés sur le milieu de culture par rupture accidentelle de la paroi de la gonade (Pl.XIII,fig.a).

La lignée femelle se comporte donc, in vitro, d'une manière identique à celle existant au cours de la gamétogenèse naturelle chez une patelle en phase mâle (Pl.XIII, fig.b).

# c) Expériences d'associations.

En présence de cerveaux ou de tentacules d'animaux en phase mâle, les ovogonies restent quiescentes. D'une manière générale, la lignée femelle se comporte comme dans le cas où la gonade est cultivée iso-lément.

Lorsque le fragment de la glande génitale est associé avec le complexe entier (Pl.XIII, fig.c), rappelons que la lignée mâle ne subit aucune évolution et qu'elle se comporte de la même manière lorsqu'elle est mise en présence du seul tentacule. Dans ce cas d'association, les ovogonies se divisent, la gonade a une structure voisine de celle du fragment témoin prélevé au moment de la mise en culture (Pl.XIII, fig.d).

Il convient de signaler que les associations hétérologues avec des cerveaux ou des complexes prélevés chez des animaux en phase femelle n'ont pas entraîné d'inversion sexuelle, au sein des gonades en phase mâle chez lesquels la lignée femelle est peu évoluée.

## 2 - Cultures effectuées en période de reproduction.

Au cours de la période de spermatogenèse naturelle, les ovogonies sont quiescentes. <u>In vivo</u>, elles ne subissent aucune évolution que ce soit dans une gonade cultivée isolément ou en association autologue avec les organes du complexe céphalique. Si les ovogonies restent quiescentes par contre, les ovocytes préexistants peuvent poursuivre leur auxocytose sans atteindre toutefois le stade vitellogenèse. Nous avons mentionné précédemment que, pendant la phase de spermatogenèse, semblait exister, <u>in vivo</u>, une stabilité sexuelle. Les cultures organotypiques confirment cette hypothèse. L'hormone cérébrale est active vis à vis de la lignée mâle; elle ne provoque pas de prolifération simultanée des éléments ovogénétiques.

Les associations hétérologues de cerveaux d'animaux en phase femelle fonctionnelle montrent qu'il n'y a pas d'involution de la lignée spermatogène, qui se comporte comme dans le cas des associations autologues (Chapitre I). Après 40 à 50 jours de culture, nous n'avons jamais observé de changement de sexe.

# B - Culture de gonades en préinversion.

Rappelons que le stade de préinversion caractérise, in vivo, l'état de la gonade en période de repos apparent précédant la première ovogenèse fonctionnelle. Les ovogonies s'alignent le long de l'épithélium germinatif où les mitoses sont nombreuses. Les ovocytes entrent en

prévitellogenèse et demeurent un certain temps rattachées aux parois des follicules générateurs par un pédoncule cytoplasmique. Rappelons également que dans les gonades en phase mâle fonctionnelle, que ce soit en période de repos ou de spermatogenèse, ces mêmes éléments restent disséminés en ilôts.

Lorsque les gonades sont prélevées au début de la période de repos l'existence de résidus spermiens de la phase mâle précédente est une preuve que nous ne sommes pas en présence d'une femelle fonctionnelle mais d'un individu en préinversion (Pl.XIV, fig.a).

## 1 - Culture de gonades isolées.

Au bout de 10 jours, certaines ovogonies présentent encore des figures de mitose équationnelles et quelques rares prophases méiotiques sont décelables. L'épithélium germinatif semble donc rester actif.

Toutefois, les comptages de mitoses montrent que le taux de cinèses est nettement plus faible que chez le témoin.

Après 40 jours de culture, la gonade a peu évolué et les gonies restent quiescentes. A quelques rares exceptions près, la lignée femelle n'a pas poursuivi l'évolution qui était décelable sur le fragment témoin initial. Par contre, les ovocytes présentent un accroissement de taille certain (Pl.XIV,fig.b). L'auxocytose est caractérisée par une évolution chimique du cytoplasme, à l'acidophilie des jeunes ovocytes fait place une nette basophilie des éléments en prévitellogenèse. De plus, les émissions de nucléoles secondaires, sont plus fréquentes que dans le fragment témoin. Cette évolution ovocytaire est, en tous points conforme à celle que l'on constate au cours de l'ovogenèse naturelle. Il convient de signaler que la vitellogenèse ne s'effectue pas, même dans les ovocytes les plus volumineux (50 µ environ) et ce après plus de deux mois de culture.

<u>In vitro</u>, la gonade en préinversion ne présente pas une évolution semblable à celle existant normalement car seuls les ovocytes ayant dépassé le stade de prophase hétérotypique poursuivent leur développement.

Un autre phénomène important apparaît dans les gonades en préinversion cultivées isolément : dans certains acini peuvent apparaître des spermatogonies, des spermatocytes; les spermatides étant plus rares. Ces éléments présentent une répartition très anarchique : certains follicules en sont dépourvus, d'autres renferment quelques amas de spermatocytes. Cette spermatogenèse abortive est bien de néoformation puisque chez le témoin n'existe aucune trace de gamétogenèse; seuls peuvent exister des résidus spermiens en dégénérescence et les spermatocytes sont toujours absents.

#### 2 - Associations autologues.

a) En présence d'un ou des deux ganglions cérébroïdes du donneur associés pendant 40 jours, la gonade est le siège d'une ovogenèse intense (Pl.XIV, fig.c). L'épithélium germinatif présente une grande activité mitotique : figures de prophase, plaques métaphasiques, tassements polaires sont l'indice d'une multiplication équationnelle des ovogonies. Des prophases méiotiques s'observent également. La densité d'ovocytes est plus grande que dans un fragment isolé; nombreux sont ceux qui sont en prévitellogenèse. On constate, d'autre part, l'apparition de plaquettes vitellines dans le cytoplasme des gros ovocytes de 40 à 50 µ (Pl.XIV,fig.d). Toutefois, nous n'avons jamais obtenu, in vitro, une ovogenèse complète. Il est possible que ce fait soit en relation avec une insuffisance du milieu en substances nutritives. Le cerveau des animaux en préinversion paraît avoir une action directe sur la vitellogenèse mais il importera ultérieurement de reprendre ce problème sur un grand nombre de cultures en faisant varier les conditions expérimentales.

La lignée mâle peut également réapparaître, elle est parfois un peu plus abondante et plus régulière que dans un tronçon isolé mais n'atteint jamais un développement semblable à celui observé chez des gonades en phase mâle fonctionnelle. Les ganglions cérébroïdes d'une patelle en phase d'inversion sexuelle semblent présenter des potentialités endocrines différentes de celles existant chez un individu en phase mâle.

b) En présence du tentacule, les ovogonies restent quiescentes; les mitoses sont pratiquement inexistantes. L'auxocytose n'est pas entravée et le comportement des gonies femelles est donc semblable à celui observé dans le fragment de gonade isolé.

On ne constate aucune évolution spermatogène, la présence du tentacule semble prévenir toute réapparition de spermatocytes et de gamètes dans une gonade en inversion.

c) L'association d'un complexe entier prévient toute nouvelle spermatogenèse mais n'inhibe pas l'épithélium germinatif où, les mitoses ovogoniales se manifestent comme si le cerveau était présent. Les ovocytes poursuivent leur auxocytose.

# d) Association avec l'organe juxtaganglionnaire

L'organe juxtaganglionnaire est une formation glandulaire plaquée contre le cerveau, nous étudierons sa structure dans le chapitre III. Son association, <u>in vitro</u>, avec des glandes génitales au stade de préinversion s'est révélée inefficace. Cet organe ne semble pas avoir de rôle stimulateur ou inhibiteur sur la lignée femelle.

#### CONCLUSION

Dans le tableau XVIII ont été rapportés les taux de mitoses ovogoniales dans des fragments de gonade en préinversion cultivés isolément ou en association. Les pourcentages ont été établis en considérant, pour chaque cas, les valeurs moyennes obtenues en comptant les ovogonies et ovocytes préméiotiques observées dans trois coupes de chaque gonade. Trois séries de cultures ont été étudiées.

TABLEAU XVIII

Taux de mitoses femelles dans des gonades prélevées chez

des patelles en inversion

Type de	Témoin	: Gonade : isolée :	: + O.J.G.	: Gonade : + cerveau : + 0.J.G :	+	: +	: + )
( Taux de : ( mitoses : ( ovogo- : ( niales : (		4,1	5,7	25,1	26,4	; ; ; ; ;	23,8 )

O.J.G.: Organe juxtaganglionnaire

Ce tableau montre que :

- Les mitoses sont rares dans les explants isolés ou associés à l'organe juxtaganglionnaire ou au tentacule.
- L'inversion sexuelle se produit en présence du cerveau seul ou associé au tentacule. Dans ces cas, la gonade se comporte comme si elle était placée dans des conditions naturelles. Toutefois, le taux de mitoses est un peu inférieur à celui existant dans le fragment témoin; il est possible que cette différence soit liée, en partie, aux conditions expérimentales.

# 3 - Associations hétérologues.

Des gonades en préinversion ont été tronçonnées et cultivées selon le protocole suivant :

- fragment cultivé isolément
- fragment associé au complexe d'un animal juvénile
- fragment associé au complexe d'un animal femelle
- fragment associé au complexe d'un animal en phase mâle

Dans le premier cas d'association, l'ovogenèse ne poursuit pas son évolution (Pl.XV, fig.a). La lignée mâle, latente, est capable de réapparaître en culture. Ce résultat confirme que tentacule et cerveau ne sont pas actifs chez les patelles juvéniles, ce que nous avions déjà constaté précédemment.

L'association de cerveaux d'animaux en spermatogenèse (Pl.XV,fig.b) entraîne la prolifération des ovogenies (Pl.XV,fig.c). Toutefois, nous n'avons pas observé d'élaboration vitelline dans le cytoplasme desovocytes en auxocytose, contrairement à ce qui se passe en association autologue. De plus, dans certaines gonades, la lignée mâle peut réapparaître (Pl.XV,fig.d). C'est toujours une spermatogenèse abortive et nn ne constate pas de retour à une phase mâle fonctionnelle.

Les explantations avec des complexes provenant d'animaux en phase femelle ne donnent pas des résultats uniformes, ils varient en fonction de l'état sexuel du donneur. Ainsi la lignée ovogénétique est plus sensible à l'action de cerveaux prélevés sur des femelles en début de gamétogenèse qu'à celles d'organes d'animaux en vitellogenèse avancée.

Toutefois, comme nous l'avons déjà mentionné, les résultats sont trop fragmentaires pour que l'on puisse affirmer qu'il existe bien une hormone émise au niveau du système nerveux central des patelles en inversion, favorisant le déclenchement de la vitellogenèse. C'est une hypothèse qui demandera à être précisée; cependant, certaines observations faites en culture montrent néanmoins qu'elle paraît fondée. Ainsi les associations hétérologues de cerveaux d'animaux en phase mâle entraînent la prolifération des ovogonies mais ne déclenchent pas la vitellogenèse.

## C - Discussion

Dans le tableau XIX ont été regroupés les résultats relatifs à l'évolution in vitro, de la lignée femelle chez les individus en phase mâle au cours du cycle annuel ainsi que ceux ayant trait aux patelles en préinversion.

## 1 5 Lignée femelle chez les animaux en phase mâle.

Au cours de cette période, les ovogonies ont un comportement expérimental différent de celui des ovocytes. Cer derniers survivent bien in vitro; ils sont capables de commencer ou de poursuivre leur auxocytose quel que soit l'organe qui est associé à la gonade. Toutefois, lorsque les gamètes mâles sont abondants, l'accroissement est moins important et le taux d'ovocytes en prévitellogenèse est plus faible.

Les ovocytes ayant dépassé le stade de prophase hétérotypique ne semblent pas influencés par des facteurs endocrines, ils ne sont nullement affectés par la présence d'organes céphaliques. Ils peuvent atteindre le stade de prévitellogenèse mais n'entrent jamais en vitellogenèse.

La prolifération des ovogonies est incompatible avec celle des spermatogonies. En présence du cerveau de patelle en phase mâle, on observe parfois quelques mitoses (signe (+) dans la colonne correspondante du tableau XIX) mais elles ne sont jamais aussi abondantes que chez le témoin.

Tableau XIX : Evolution in vitro des deux lignées chez les animaux en phase mâle et chez les patelles ayant atteint le stade de préinversion.

Etat génital initial	TEMOIN			G	GONADE ISOLEE GONADE + C			ADE + CER	ERVEAU GONAD		DE + Tentacule		GONADE + Complexe		
	Mit.	: Pres. : d'ov.	: Lignée : ď		: Taille			: Taille		Mit. ovog.	: Taille			: Taille	
Gonad phase d' explantée en repos	+	: + (-)		-	,	+	- (+)	1	: : : :	-	1	-	+	1	-
Gonade phase d explantée en gamétogenèse	-	+ (-)	+++	-	. ,		-	1	: : : : :	-	1	: : : :		1	: : : : : :
Gonade en préinversion	++	++	: -		. 1	+	++	: /	+		. 1	-	++	: vitello	-

En association autologue avec le tentacule, les ovogonies restent quiescentes bien que la lignée mâle soit inhibée; par contre les mitoses sont actives en présence du complexe. Il convient d'ailleurs de rappeler que ce dernier cas est celui qui se rapproche le plus des conditions naturelles.

Le facteur responsable des mitoses ovogoniales semble donc être le système nerveux central qui exercerait une action dynamique sur les divisions cellulaires.

Enfin, il convient de rappeler que chez une patelle en phase mâle la gamétogenèse correspond à une période de stabilité sexuelle qu'il ne semble pas possible de modifier expérimentalement.

### 2 - Inversion sexuelle expérimentale.

Les expériences réalisées in vitro ont montré que le complexe céphalique est nécessaire à la réalisation du changement de sexe. En effet, la gonade en préinversion ne poursuit son évolution que lorsqu'elle est associée à son système nerveux central ou à celui de patelles en début d'ovogenèse. La multiplication des ovogonies est conditionnée par la présence du cerveau, l'organe juxtaganglionnaire ne paraissant pas intervenir dans les processus de changement de sexe. D'autre part, si, en milieu anhormonal, les ovocytes peuvent s'accroître jusqu'au stade de prévitellogenèse, par contre, le déclenchement de la vitellogenèse semble être sous la dépendance d'un facteur endocrine émis par le système nerveux des patelles en inversion ou en début d'ovogenèse.

Ces résultats ne sont pas sans rappeler ceux que STREIFF (1967) a obtenu chez <u>Calyptraea sinensis</u> L., par les mêmes méthodes expérimentales. Chez ce Prosobranche, l'autodifférenciation oogoniale constitue le mode d'évolution normal des gonies indifférenciées et l'apparition de la phase mâle est due à la présence permanente d'une hormone cérébrale masculinisante, inhibitrice de l'autodifférenciation ovarienne. Le changement de sexe est d'abord conditionné par la disparition de ce facteur masculinisant mais les ovocytes qui apparaissent restent bloqués en phase de petit accroissement. Selon STREIFF, il existerait "un facteur de prévitellogenèse assurant le déclenchement des premières émissions nucléolaires et mettant en route les phénomènes complexes de la vitellogenèse ".

Chez <u>P.vulgata</u>, nous avons constaté qu'il n'existait pas d'autodifférenciation ovarienne. La mise en place et la multiplication des gonies est permise grace à un facteur cérébral mitogène. Les ovocytes peuvent présenter en culture de gonade isolée, les phénomènes d'extrusion nucléolaire; toutefois, leur cytoplasme reste basophile, sans globule vitellin. Au contraire, en présence du système nerveux central d'animal en inversion, la vitellogenèse commence, le cytoplasme devient peu à peu acidophile et P.A.S.positif. Il convient cependant de signaler que nous n'avons jamais pu aboutir à la maturation complète d'ovocytes; il se peut que le milieu de culture utilisé ne contienne pas certaines substances nutritives nécessaires à la vitellogenèse.

Il semble donc exister des analogies dans le comportement expérimental des ovocytes de <u>Calyptraea sinensis</u> et <u>Patella vulgata</u>: au moment du changement de sexe, une impulsion hormonale d'origine cérébrale serait responsable du déclenchement de la vitellogenèse. Chez <u>P.vulgata</u>, elle serait nécessaire pour que le stade de préinversion de la gonade soit suivi d'une ovogenèse complète. Or, l'étude de la gamétogenèse naturelle a montré que certaine gonades en préinversion peuvent être le siège d'une nouvelle poussée mâle; celle-ci pourrait être due à l'absence d'hormone de vitellogenèse. On peut assister alors à une reprise de la spermatogenèse et les expériences <u>in vitro</u> ont montré qu'au stade de préinversion, la lignée mâle reste latente.

Selon STREIFF, : Le facteur disparaît pendant toute la durée de l'élaboration des réserves, il semble donc agir à la façon d'une impulsion ". Les expériences d'association que nous rapporterons dans le paragraphe suivant plaident également en faveur de cette hypothèse de même que certaines observations relatives au déroulement de l'ovogenèse naturelle. En effet, dès le stade 2 de l'évolution des gonades, les follicules sont remplis de jeunes ovocytes en prévitellogenèse et l'épithélium germinatif ne présente pratiquement plus de mitoses oogoniales; la majeure partie des ovocytes mûrissent en même temps. En fin de gamétogenèse, après la ponte, subsistent des ovocytes en accroissement, sans trace de synthèse vitelline dans leur cytoplasme. De même, dans une gonade d'animal en phase femelle prélevée au début du printemps et dans laquelle les ovogonies sont quiescentes, de tels ovocytes sont décelables; ils semblent donc provenir de la période de reproduction précédente. Il est permis de penser que ces cellules, issues de mitoses ovogoniales tardives n'ont pu achever leur maturation intrafolliculaire par suite du manque d'impulsion cérébrale, celle ci ayant cessé avant que les ovocytes n'aient atteint le seuil de réceptivité.

L'étude comparée de la gamétogenèse paturelle et du comportement de la gonade en culture nous permet d'apporter une première contribution à l'étude du mécanisme endocrine intervenant chez les patelles au cours du changement de sexe. A la fin d'une phase de spermatogenèse, après élimination des gamètes, la lignée mâle est inhibée par le tentacule.

Le facteur cérébral stimule les mitoses ovogoniales, permettant à la lignée femelle de se multiplier et de coloniser la paroi des acini : la gonade atteint le stade de préinversion. Les jeunes ovocytes issus de la prophase hétérotypique commencent leur phase d'auxocytose jusqu'en prévitellogenèse. Cette évolution peut être stoppée, à ce stade, si le facteur de vitellogenèse n'est pas libéré. Une nouvelle spermatogenèse peut survenir. Comme nous l'avons mentionné ( seconde partie, chapitre III), le volume de sperme élaboré est toujours moins grand que chez une gonade à lignée femelle peu évoluée. Cependant, dans la majeure partie des cas, l'état de préinversion est suivi de la vitellogenèse; cette phase ultime de l'évolution ovocytaire est la seule qui puisse permettre d'affirmer que la gonade est en inversion sexuelle.

### II - CULTURE DE GONADES EN PHASE FEMELLE.

Au cours de la période de repos, il est souvent difficile de distinguer les gonades en inversion sexuelle de celles qui ont déjà effectué une ou plusieurs ovogenèses; cette distinction est d'autant plus délicate à faire que le début de la période de reproduction est proche. A la fin de l'hiver, la présence de résidus spermiens ou d'ovocytes mûrs non éliminés permet de déterminer la nature de la phase précédente mais il n'en est plus de même lorsque l'explantation est réalisée à la fin du printemps. A ce moment, la gonade en préinversion peut renfermer des ovocytes en prévitellogenèse tout comme la gonade en phase femelle et à cette époque, il n'existe généralement plus de trace de la gamétogenèse précédente.

# 1 - Cultures effectuées au printemps.

Nous avons étudié précédemment l'ovogenèse naturelle (deuxième partie, chapitre II) et montré que, pendant la période de repos apparent, l'épithélium germinatif était le siège de mitoses ovogoniales assurant la prolifération de la lignée femelle. Nous avons signalé, que chez la femelle, la véritable période de repos se situait pendant la phase de maturation oocytaire et au cours de la ponte.

Les explants cultivés pendant cette période présentent une évolution souvent identique à celle des gonades en phase d'inversion certaine. L'épithélium germinatif ne poursuit son évolution qu'en association autologue avec le cerveau : les mitoses ovogoniales s'effectuent <u>in vitro</u> de même que la phase d'auxocytose prévitellogénétique. La vitellogenèse s'éffectue assez difficilement en culture, cependant elle est favorisée par la présence du système nerveux central d'animaux en phase femelle, comme dans le cas d'une gonade en inversion. Lorsque le complexe entier du donneur est associée avec le fragment de glande génitale, le tissu germinal se comporte comme celui du tronçon cultivé avec le cerveau.

Chez les animaux en phase femelle qui commencent leur gamétogenèse, la prolifération des ovogonies est sous la dépendance des ganglions
cérébroïdes. La phase d'auxocytose ne paraît pas dépendre de facteurs
humoraux; par contre, l'apparition du vitellus paraît être conditionnée
par la libération d'une hormone cérébrale. Comme nous l'avons déjà mentionné,
d'autres recherches sont nécessaires afin de préciser cette dernière
hypothèse.

# 2 - Explantation en période de gamétogenèse.

Rappelons qu'à ce stade du cycle annuel, la lumière des acini de la gonade est remplie d'ovocytes polyédriques de grande taille, entourés par un chorion et à cytoplasme riche en vitellus (Pl.XVI, fig.a). Tous ne mûrissent pas en même temps; le long de la paroi des follicules existent encore des ovocytes en prévitellogenèse. Par contre, les ovogonies sont peu nombreuses et la plupart d'entr'elles sont quiescentes.

# a) Culture isolée.

Après un ou deux mois de culture, les gros ovocytes tendent à dégénérer in situ (Pl. XVI, fig. b). Îyse, plus ou moins marquée selon les cas est en général plus intense dans les follicules du centre de l'organe que dans ceux de la périphérie. Cette observation nous incite à penser que la pycnose serait due à un manque de substance nécessaires à la vitellogenèse. Dans les explants assez volumineux, les substances nutritives puisées pas osmose dans le milieu de culture, atteindraient difficilement le centre de la gonade.

Dans les fragments plus petits, la survie des ovocytes en vitellogenèse est meilleure. Des expériences réalisées à 20°C et 10°C montrent que la dégénérescence est accélérée par la chaleur mais que cette dernière n'affecte ni les ovogonies ni les ovocytes jeunes.

La lyse des ovocytes est caractérisée d'abord par la rupture du chorion, puis le noyau entre en pycnose et le cytoplasme se fragmente en amas de globules vitellins qui s'épanchent dans la lumière des acini. Corrélativement, un tissu conjonctif, constitué de grandes cellules vacuolaires à noyau pariétal, envahit la cavité des follicules et forme un véritable réticulum dans les mailles duquel le cytoplasme poursuit sa dégénérescence; des plages acidophiles apparaissent dans les vacuoles du tissu interstitiel (Pl.XVI,fig.b).

Les ovocytes en prévitellogenèse ne subissent pas de lyse mais leur évolution reste très lente. Quant aux ovogonies, elles ne subissent aucune activation et restent en repos.

Une gonade en phase femelle, explantée en période de vitellogenèse ne présente aucune reprise de gamétogenèse précose, même après la dégénérescence des ovocytes mûrs existant dans les acini au moment de la mise en culture. Rappelons que la gonade d'un animal en phase mâle prélevée pendant cette période est le siège d'une nouvelle poussée germinale après la lyse des gamètes existant initialement.

Le fait d'isoler de l'organisme une gonade femelle, prélevée en période de repos mitotique, n'entraîne pas la rupture de la phase de repos; celle ci ne semble donc pas être sous la dépendance d'un facteur inhibiteur interne.

# b) Association.

Les associations autologues réalisées pendant cette période sont inefficaces; ni le cerveau ni le complexe n'entraînent une prolifération des ovogonies, les fragments de gonades se comportent, du point de vue germinatif, comme s'ils étaient cultivés isolément (Pl.XVI, fig.c). Les associations hétérologues avec des cerveaux d'individus en phase mâle se sont révélées inopérantes : aucune stimulation des mitoses ovogoniales n'est enregistrée.

Pendant la vitellogenèse, aucun facteur interne ne semble agir sur les gonies souches; les ovogonies passent pas une période au cours de laquelle elles ne sont pas réceptives aux stimuli endocrines.

Notons également que la lignée mâle peut parfois réapparaître, que ce soit en culture isolée ou en association (Pl.XVI, fig.d). Les ilôts de spermatogonies et de spermatocytes, sont plus fréquents dans les gonades de femelles de petite taille que dans celles d'animaux âgés.

## 3 - Discussion.

Les cultures isolées de gonade en phase femelle ainsi que les associations autologues et hétérologues de tout ou partie du complexe céphalique nous ont permis de dégager les faits suivants :

- Au cours de la période de repos apparent les ovocytes évoluent peu mais les ovogonies sont le siège de mitoses équationnelles induites par le facteur cérébral. Les résultats sont conformes à ceux obtenus au cours de l'étude de l'ovogenèse naturelle.
- Quel que soit le moment du cycle où la gonade est explantée, on ne constate jamais de reprise d'activité précoce en culture isolée. La lignée ovogénétique ne semble donc pas être sous la dépendance d'un facteur inhibiteur interne.
- Pendant la phase de vitellogenèse, les ovogonies sont en général quiescentes; elles le demeurent en culture isolée, même après la dégénérescence des ovocytes mûrs. L'association autologue ou hétérologue avec des cerveaux ne modifie pas cette inactivité de l'épithélium germinatif. Il semble donc que la période de maturation de la gonade soit une phase au cours de laquelle s'observe une quiescence permanente des oogonies.
- La vitellogenèse expérimentale, à partir d'ovocytes jeunes, requiert la présence du système nerveux central.

Il convient de signaler que, chez les individus prélevés en période de vitellogenèse, on observe parfois la réapparition d'éléments mâles dans les follicules des fragments isolés. L'étude statistique des fréquences de taille des animaux chez lesquels ce phénomène est apparu montre que cette légère gamétogenèse apparaît surtout chez les femelles de moins de 35 mm

de long. Les patelles de cette taille, en phase femelle, sont à leur première ovogenèse et <u>in vivo</u>, le tentacule, encore actif, empêche la réapparition de la lignée mâle qui rêste latente après le changement de sexe.

Les cultures réalisées chez des femelles de 40 mm ou plus montrent une fréquence beaucoup plus faible d'activation spermatogoniale. La population âgée renferme des femelles qui ont, pour la majeure partie d'entr'elles, subi l'inversion depuis au moins deux ans.

Chez ces animaux, la lignée mâle semble avoir disparu, et les associations hétérologues ont montré que les tentacules de femelles âgées étaient souvent incapables de bloquer la spermatogenèse d'une gonade en phase mâle. Le tentacule cesserait d'être endocrine chez les femelles âgées. De toute manière, chez P. vulgata, les associations hétérologues sont toujours empiriques car le changement de sexe ne se produit pas à une période fixe du cycle vital. Lorsqu'on prélève des organes céphaliques sur un individu en phase femelle, il n'est pas possible de savoir si celui ci est à sa première ou à sa seconde ovogenèse, même en choisissant des animaux de grande taille.

#### CONCLUSION DU CHAPITRE

L'étude expérimentale de l'influence des facteurs internes sur la lignée ovogénétique au cours du cycle vital a permis de dégager les faits suivants :

- Dans les gonades en phase mâle, les ovogonies demeurent quiescentes pendant la spermatogenèse; les ovocytes peuvent s'accroître dans la lumière des follicules mais ne dépassent jamais le stade de prévitellogenèse. Certains d'entr'eux sont éliminés avec le sperme. Au cours de la période de repos, des mitoses ovogoniales s'observent: elles sont favorisées par un facteur cérébral. L'association avec des systèmes nerveux d'animaux en phase femelle n'entraîne pas d'inversion sexuelle dans les gonades en phase mâle où la lignée femelle est peu évoluée.
- La gonade qui après une spermatogenèse, évolue vers le stade de préinversion ne poursuit son évolution que si elle est associée au système nerveux central : la multiplication des ovogonies est conditionnée par la présence du cerveau. Si, en milieu anhormonal, les ovocytes

peuvent s'accroître jusqu'en prévitellogenèse, par contre le éclenchement de la vitellogenèse semblent être sous la dépendance d'un facteur endocrine émis par le cerveau des patelles en inversion ou en début d'ovogenèse ce qui est à rapprocher des résultats obtenus par STREIFF chez <u>Calyptraea sinensis</u>. Le tentacule garde son pouvoir inhibiteur et empêche la réapparition de la lignée mâle.

- Les cultures organotypiques de gonades d'animaux en phase femelle confirment le fait que la lignée ovogénétique n'est pas sous la dépendance d'un facteur inhibiteur interne. Pendant la période de repos, l'épithélium germinatif n'est sensible à aucun stimulus, alors que durant la période de reproduction, le système nerveux central provoque la prolifération des ovogonies et le déclenchement de la vitellogenèse.

#### CHAPTTRE TIT

# ETUDE HISTOLOGIQUE DU COMPLEXE CEPHALIQUE. TENTATIVE DE LOCALISATION DU CENTRE INHIBITEUR TENTACULAIRE.

Avant d'analyser les expériences réalisées pour tenter de localiser le centre inhibiteur tentaculaire, il convient d'étudier l'anatomie microscopique du complexe tentacule ganglion cérébroïde.

## I - ETUDE HISTOLOGIQUE DU COMPLEXE CEPHALIQUE

Cette étude a fait l'objet d'un mémoire (CHOQUET et LEMAIRE, sous presse); nous ne rapporterons ici que les données nécessaires au présent travail.

## A - Morphologie du tentacule

Les tentacules de <u>P.vulgata</u> sont des formations paires situées de part et d'autre de la bouche et douées de mouvements d'extension et de rétraction.

On peut distinguer deux parties (Fig. 23).

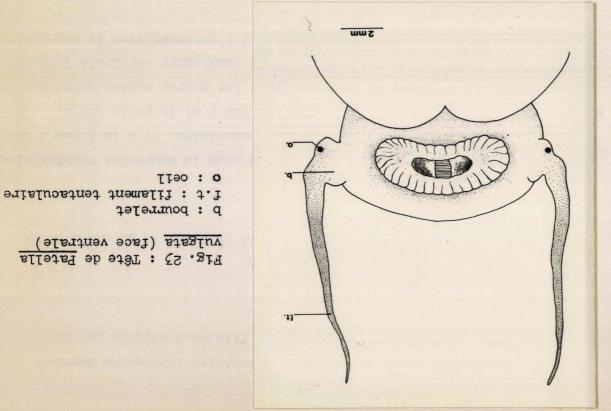
## 1 - Le bourrelet

Il correspond à la partie basale élargie, du tentacule, au niveau de son insertion sur la paroi céphalique. Sous le bourrelet se trouve le ganglion cérébroïde; il se présente sous l'aspect d'une masse jaunâtre, visible après section du tentacule au ras de la tête. L'oeil, petite tâche pigmentaire noire, est située sur une excroissance du tégument dans la partie proximale.

# 2 - Le filament tentaculaire.

C'est la portion distale du tentacule; de forme conique, elle est éffilée à son extrémité et présente une zone pigmentaire noire dont l'extension varie selon les individus.

L'organe est entouré par un épiderme renfermant des cellules épithéliales à noyau basal, des cellules muqueuses et des éléments sensoriels (fig.24).



**50h** 

Fig. 24 : Schéma représentant la paroi du tentacule

travées conjonctives	:	5.7	cellule sensorielle	:	8.0
membrane basale	:	d.m	cellule glandulaire	:	3.0
Tibre nerveuse			cellule épithéliale	:	9.0
fibres musculaires longitudinales	:	I.m.l	cuttcule	:	0

Il est constitué par un tissu musculaire représenté surtout par des fibres longitudinales disposées en faisceaux séparés par du tissu conjonctif lâche (Pl.XVII, fig.a,E).

## B - Structure du complexe nerveux.

Il est formé, de chaque côté de la tête par le ganglion cérébroide et les nerfs qui en sont issus.

## 1 - Ganglion cérébroïde

Le cerveau de <u>P.vulgata</u> est situé sous le bourrelet tentaculaire dont il est séparé par une bande de tissu musculaire. Il a la forme d'une ellipse dont le grand axe mesure en moyenne 700 µ et le petit 400 µ. Chacun des ganglions est en connexion avec les autres masses nerveuses du corps; il est relié à son homologue par une commissure cérébrale large et plate et aux ganglions pédieu et pleural par l'intermédiaire de connectifs (Pl.XVII,fig.c).

Il est assimilable au postcerebrum des Pulmonés car il ne renferme que des neurones dont les corps cellulaires sont très petits ou de taille moyenne.

Il est entouré d'une membrane conjonctive ou perineurium à noyaux rares (Fig.25).

La zone corticale, assez réduite par rapport au neuropile renferme les corps cellulaires des neurones dont on peut distinguer quatre types que nous avons appelé a, b, c, (Fig.25) et d.

- Les péricaryons du type a sont les plus nombreux (Pl.XVIII,fig.a) ce sont des petits neurones unipolaires d'environ 5 à 6 µ de diamètre, à cytoplasme clair, dont le noyau renferme une chromatine en mottes et un nucléole phloxinophile.
- Les gros neurones unipolaires du type b, ont une taille pouvant atteindre 14 μ de long et 9 μ de large. Le noyau (4 à 5 μ) présente un nucléole volumineux ; le cytoplasme renferme des granulations Gomoripositives (Fig. 25).

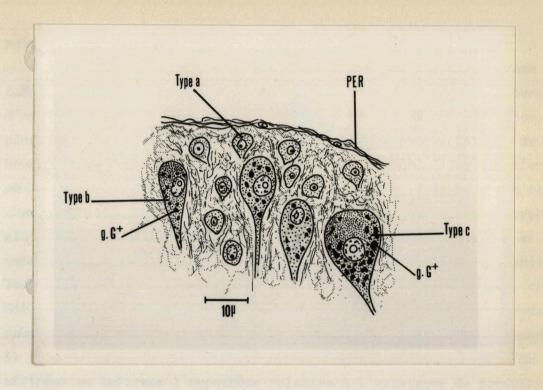


Fig. 25 - Structure de la zone corticale du ganglion cérébroïde de P.vulgata.

g.G+ granulations Gomori positives

PER: perineurium

Type a : petit neurone unipolaire
Type b : gros neurone unipolaire

Type c : Cellules piriformes

- Les cellules piriformes de grande taille du type C (18 à 20 µ) possèdent un noyau à gros nucléole, à chromatine en réseau; cet organite peut occuper une position apicale, centrale ou basale. Le cytoplasme renferme de nombreuses granulations GOMORI, CLARK et Azan positives (Pl.XVIII, fig.b). Parfois elles sont visibles dans la partie initiale du prolongement axonal. Les caractères cytologiques des neurones du type b et surtout du type c rappellent ceux de cellules neurosécrétrices d'autres Invertébrés. Selon GABE (1965), chez les Gastéropodes Prosobranches les cellules neurosécrétrices sont petites ou de taille moyenne (10 à 20 µ, rarement plus) et comme chez les autres Mollusques, les produits de sécrétion présentent des affinités tinctoriales pour l'éosine, la fuchsine

acide, l'Azocarmin et d'autres substances acidophiles.

La présence de granules avant une réaction positive dans les différentes techniques de mise en évidence des neurosécrétions permettrait d'assimiler les neurones du type C à des cellules neurosécrétrices, d'autant plus qu'il est parfois possible d'observer des granules le long de l'axone. Nous n'avons pussuivre le trajet de ces granules et déterminer l'endroit où ils quitteraient le système nerveux, phénomène très rarement observé chez les Mollusques. Les neurones b et c, dont les différences morphologiques sont peu importantes, pourraient correspondre à une seule et même catégorie cellulaire observée à différents stades d'activité sécrétoire. Toutefois, comme le mentionne GABE, il convient de signaler que, chez les Mollusques, les chromolipoïdes, abondants dans les cellules nerveuses, peuvent être colorés par diverses techniques de détection des neurosécrétions. Il importe donc d'effectuer de nombreux tests de contrôle avant de pouvoir affirmer ou infirmer l'hypothèse relative à l'existence de produits de neurosécrétion chez P. vulgata. Si NANSEN (1886) constate, chez cette espèce, l'existence de "cellules glandulaires" au sein du tissu nerveux cérébral, par contre B. SCHARRER (1937) nie l'existence de cellules neurosécrétrices chez Patella sp des côtes africaines. Afin d'apporter une réponse définitive, de nouvelles recherches sont en cours.

Le neuropile du ganglion cérébroïde est constitué d'un enchevêtrement de fibres nerveuses parmi lesquelles on observe quelques petits neurones bipolaires (type d).

## 2 - Innervation tentaculaire.

De la partie antérieure du ganglion cérébroïde partent trois nerfs qui pénètrent dans le tentacule (Pl.XVII, fig.d, fig.26).

Ce sont :

- le nerf tentaculaire
- le nerf optique
- le nerf tégumentaire de DAVIS et FLEURE (1903) ou nerf du bourrelet oculaire.

## a) Nerf du bourrelet oculaire

Issu du cerveau, il se dirige d'abord dans l'axe du tentacule puis s'incurve vers la portion du bourrelet située sous l'oeil (Pl.XVIII, fig.c). Au point d'inflexion, il présente un renflement (Pl.XVIII, fig.d) dont l'endoneurium est constitué de neurones bipolaires à cytoplasme granuleux, à noyau très chromatique; cette formation ressemble au ganglion tentaculaire des Pulmonés. Il s'agit sans doute d'un relai sensoriel. Ce perf aboutit à la base du bourrelet oculaire (Pl.XIX, fig.a) au niveau d'une plage formée de cellules à cytoplasme très granuleux, à chondriome dense, auxquelles se mêlent les ultimes ramifications nerveuses. L'ensemble constitue un véritable "bouton terminal" du nerf.

### b) Le nerf optique.

Issu également du ganglion cérébroïde, il se ramifie au voisinage de l'oeil et ses fibres se mêlent à des amas cellulaires dont l'ensemble constitue un organe "sous oculaire" (Pl.XIX, fig.b). Cette formation avait déjà été remarquée par GIBSON (1887), qui le nomme "nervous plexus" mais n'en précise pas la structure. Ces cellules, situées sous la paroi interne de l'oeil, ont un cytoplasme fortement fuchsinophile. Dans ce tissu, on constate également la présence d'amas chromatiques et d'espaces sanguins (Pl.XIX, fig.c, fig.27). L'oeil de type primitif, forme une cupule tapissée par la rétine qui est constituée de deux catégories de cellules : pigmentaires à noyau basal ovoïde à cytoplasme granuleux et éléments sensoriels, élargis à leur base et dépourvus de pigment noir.

Il existe des relations anatomiques entre le massif sous oculaire et les éléments sensoriels non pigmentaires de l'oeil (Fig.27). On observe en effet des prolongements cytoplasmiques pénétrant dans la couche sous oculaire et que DAKIN (1912) avait remarqués chez <u>Buccinum</u>. Cet organe semble correspondre à une zone de transmission des influx sensoriels des cellules rétiniennes aux ramifications initiales du nerf optique.

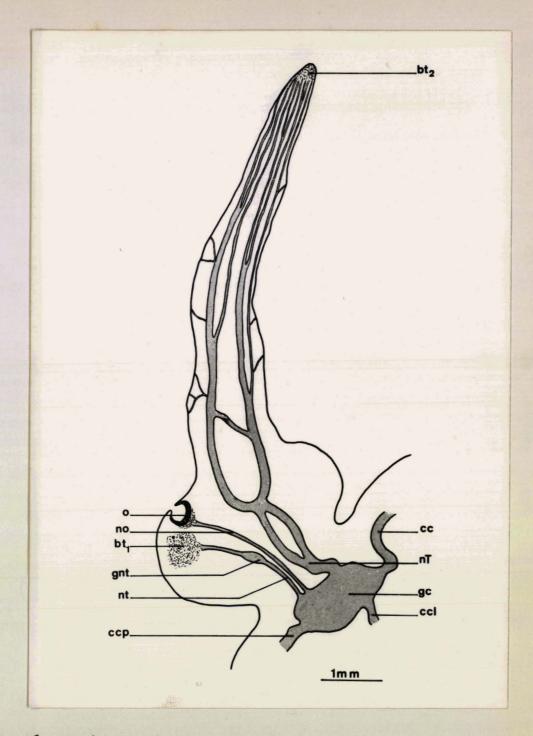


Fig. 26 - Schéma représentant le cerveau, le départ et le trajet des nerfs dans le tentacule.

b.t.1 : Bouton terminal du nerf tégumentaire

b.t.2 : Bouton terminal du nerf tentaculaire

c.c : commissure cérébrale

c.c.l : connectif cérébro-labial

c.c.p : connectif cérébro-pleural

g.c : ganglion cérébroïde

g.n.t : ganglion du nerf tégumentaire

n.o : nerf optique

n.t : nerf tégumentaire

n.T : nerf Tentaculaire

o : oeil

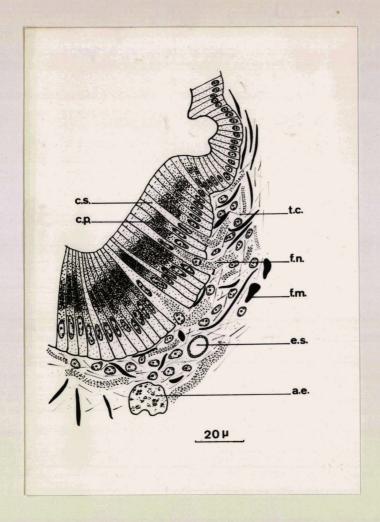


Fig.27: Structure de l'oeil de Patella vulgata.

a.e : amas éosinophile

c.p : cellule pigmentaire de

l'oeil

c.s : cellules sensorielle

e.s : espace sanguin

f.m : fibres musculaires
f.n : fibres nerveuses du

nerf optique

t.c: tissu conjonctif

# c) Nerf tentaculaire

C'est un gros tronc qui pénètre axialement dans le tentacule, il se divise ensuite en deux branches qui se soudent à la hauteur de l'oeil après avoir formé un véritable collier nerveux dans le bourrelet basal. De ce collier prennent naissance deux nerfs cheminant dans le filament tentaculaire (Fig. 26); de nombreux filets transverses quittent ces rerfe et aboutissent aux cellules sensorielles de l'épiderme (Fig. 28).

A l'extrémité du tentacule, les fibres longitudinales pénètrent dans un bouton terminal formé de cordons cellulaires séparés par des travées conjonctives et qui renferme deux catégories d'éléments; les uns à noyau clair et à nucléole volumineux, les autres à noyau plus dense,

à cytoplasme granuleux riche en mitochondries. Ces cellules ne présentent aucun caractère nerveux; on n'observe pas de prolongement axonal. Leur nature est plutôt glandulo-conjonctive. Les fines terminaisons nerveuses s'insèrent entre ces ilôts et aboutissent aux cellules sensorielles épidermiques.

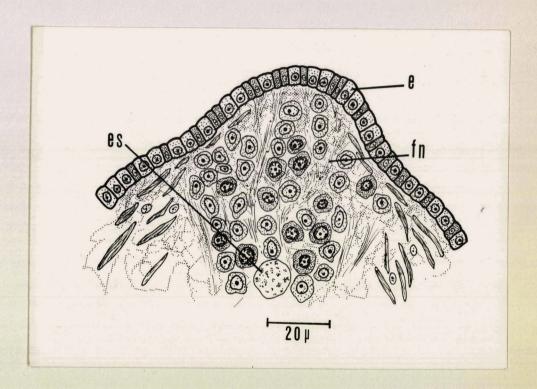


Fig. 28 : Extrémité du filament tentaculaire.

e : épiderme e.s : espace sanguin

f.n: fibre nerveuse du nerf tentaculaire

La position et la structure de cet organe ne sont pas sans rappeler celles du "bouton terminal" décrit par SANCHEZ (1962) chez le Pulmoné Helix aspersa L. Ces deux formations sont peut-être homologues; quoi qu'il en soit, leur nature endocrine ne peut être envisagée en l'absence d'étude en microscopie électronique et de résultats expérimentaux.

# 3 - L'organe juxtaganganglionnaire

A la racine du nerf tentaculaire, plaqué contre le perineurium du ganglion cérébroïde est situé l'organe juxtaganglionnaire. Cet organe, dont l'existence a été soupçonnée par MARTOJA (1965 a) chez le Gastéropode Gymnosome Hydromyles globulosa Rana a été ensuite décrit par cet auteur chez Aplysia punctata Cuv. (1965 b) et chez certains Prosobranches Diotocardes dont Patella lusitanica Gmelin (1965 c).

Constitué de cinq, six et parfois dix rangées de cellules, il est formé de petits ilôts séparés par des travées conjonctives (P;.XIX, fig.d). La taille des cellules varie entre 8 et 15 µ; les noyaux de 4 à 5 µ sont ovoïdes ou arrondis, à nucléole phloxinophile; le cytoplasme est très fuchsinophile (Pl.XIX, fig. e).

Au microscope optique, on ne décèle aucun conduit excréteur, aucune relation directe avec le cerveau qui lui est contigü. Les nerfs sont entourés, dans leur portion initiale, par un manchon de tissu glial (Pl.XIX,fig.f). Les éléments qui le constituent sont associés en cordons dont chaque cellule est de petite taille. Ce tissu s'étend jusqu'au niveau de l'organe juxtaganglionnaire.

MARTOJA a étudié l'évolution de cet organe au cours du cycle biologique. Elle rapporte ses caractères cytologiques et histochimiques et formule l'hypothèse de sa nature endocrine.

Chez le Gymnosome vivipare <u>Hydromyles globulosa</u>, au cours de l'incubation, les modifications de l'organe juxtaganglionnaire sont corrélatives de la régréssion des organes génitaux. Chez les Diotocardes étudiés, il est très développé lorsque les gonocytes sont en début de maturation et atrophié au moment de l'émission des produits sexuels.

## C - <u>Discussion</u>

L'étude histologique du cerveau et du tentacule de <u>P.vulgata</u> apporte des compléments sur la connaissance de la topographie du complexe céphalique. A notre connaissance, il n'existait aucun travail d'ensemble dans ce domaine.

Ces recherches ont permis de décrire des formations nerveuses ou ganglionnaires dont la signification physiologique reste obscure.

- L'organe juxtaganglionnaire, plaqué contre le perineurium, semble dépourvu de conduit et ne possède pas de relation directe avec la masse nerveuse. Il est peu développé chez les jeunes animaux; il l'est plus chez les adultes mais nous n'avons pas décelé d'évolution cyclique qui se superposerait au cycle sexuel annuel. De plus, il ne semble pas plus développé chez les individus femelles que chez ceux en phase mâle.
- Une formation telle que l'organe sous oculaire, riche en plages fuchsinophiles et orangé G positives et présentant des espaces sanguins n'est pas sans rappeler celle décrite par PELLUET et LANE (1961) dans le tentacule optique de <u>Limax</u>. Ces auteurs attribuent à cette formation un rôle photorécepteur possible, ce qui reste encore à démontrer.
- Le "bouton terminal" du nerf tégumentaire ne semble en relation avec aucun organe sensoriel du bourrelet et son rôle est énigmatique. Ce nerf possède aussi la particularité de posséder sur son trajet un petit renflement ganglionnaire dont l'existence est constante et qui n'avait jamais été signalée auparavant. Nous n'avons pu déceler de sécrétion intracellulaire dans les petits neurones bipolaires qui le constituent. Il s'agit sans doute d'un relai nerveux sensoriel.
- L'extrémité du tentacule présente une formation que nous avons décrite et qui rappelle le "bouton terminal" du tentacule optique de Helix aspersa; ces deux formations sont peut-être homologues. Quoi qu'il en soit, leur nature endocrine ne peut être envisagée en l'absence de données complémentaires. Selon SANCHEZ et SABLIER (1962), chez Helix l'organe des tentacules joue un rôle important dans la régulation du métabolisme et son ablation entraîne, en particulier, une dénutrition de la glande génitale.
- Nous avons signalé que le cerveau renferme des cellules à granulations Gomori positives que l'on pourrait assimiler à des éléments neurosécréteurs. Nous nous sommes efforcés de savoir si leur contenu était soumis à une évolution cyclique. Les péricaryons de grande taille (type b et c) présentent des granulations cytoplasmiques essentiellement au cours de la phase de repos et au début de la gamétogenèse. Elles sont abondantes pendant les mois de Mai, Juin et Juillet. Pendant les autres mois de l'année, en général le cytoplasme ne renferme pas de granules; il est homogène.

Il ne nous est toutefois pas permis, actuellement de statuer avec précision sur leur fonction neurosécrétrice. Des recherches complémentaires sont entreprises. Il convient cependant de signaler que BODDINGIUS (1960) décrit des cellules neurosécrétrices dans le ganglion cérébroïde de Patella vulgata, en utilisant les mêmes techniques que nous (GOMORI et GABE). Elle n'en donne pas de figure et pense que la neurosécrétion subirait des variations importantes en fonction du milieu. Lorsque les individus sont placés dans une solution hypotonique, les neurones sécréteurs, qui sont des grosses cellules semblables à celles que nous avons décrites, sont vides. Au contraire, des granules cytoplasmiques apparaissent dans le cytoplasme lorsque les animaux sont placés en milieu hypertonique. Selon BODDINGIUS, les ganglions cérébroïdes interviendraient au cours de l'osmorégulation.

Chez Crepidula fornicata L. NOLTE, EREUCKER et KUHLMANN (1965) mentionnent l'existence de cellules neurosécrétrices dans le ganglion cérébroïde. Ils constatent que les éléments sont souvent isolés, jamais réunis en groupes. Ces observations ne sont pas sans analogie avec celles que nous avons faites pour le cerveau de <u>P.vulgata</u>.

A notre connaissance, les seules recherches en microscopie électronique effectuées chez P.vulgata sont dues à LACY et HORNE (1956), LACY et ROGERS (1956); elles ont trait aux ganglions pédieux, palléaux et viscéraux. Toutefois, selon NOLTE et Collaborateurs (1965) les granules décrits par LACY et HORNE, LACY et ROGERS seraient des cytosomes. La notion de cytosome est purement morphologique: elle a été établie pour désigner des granules qui se rencontrent dans des cellules nerveuses de Crepidula. Ces inclusions appartiendraient au paraplasme et auraient une existence transitoire. Selon ces auteurs, il est possible qu'ils remplissent des fonctions de lysosomes. En microscopie électronique, ils ont une structure semblable à celle des grains de lipofuchsine et se rencontrent dans d'autres cellules nerveuses d'Invertébrés et de Vertébrés. Chez P.vulgata en l'absence de résultat en microscopie électronique, il ne nous est pas permis d'affirmer que les éléments existant dans le contex cérébral sont neurosécréteurs.

#### II - DONNERS EXPERIMENTALES SUR LA NATURE ENDOCRINE DU TENTACULE.

Avant d'exposer les résultats obtenus par associations <u>in vitro</u>, de fragments de tentacules avec des gonades en phase mâle, nous envisagerons ceux relatifs à l'organe juxtaganglionnaire.

## A - Associations d'organes juxtaganglionnaires.

## 1 - Protocole expérimental

L'organe juxtaganglionnaire est appliqué contre le cerveau. Selon MARTOJA, il possède son développement maximum au début de la gamétogenèse; or, nous avons vu que c'est également à cette période que le cerveau présente une activité stimulatrice optimale. On pouvait donc se demander si c'est le ganglion cérébroïde lui même ou l'organe juxtaganglionnaire, généralement explanté avec le cerveau, qui est efficace.

Pour tenter de résoudre ce problème, des fragments de gonade ont été associés à un cerveau, dépourvu ou non d'organe juxtaganglionnaire ou à cet organe seul. Si ce dernier est localisable, in situ, d'après le repérage histologique, par contre, il est difficile à axciser car il est inclus dans un manchon fibro-glial entourant la base des nerfs du tentacule. Pour l'isoler du cerveau, on pratique une incision tangentielle affectant le perineurium et un petit fragment du cortex cérébral; d'autre part, le cône glial et les nerfs sont sectionnés un peu au delà de leur base. On isole ainsi un petit explant contenant l'organe juxtaganglionnaire et des lambeaux de tissu nerveux. Le contrôle histologique est pratiqué sur les explants fixés en fin de culture.

# 2 - Résultats.

Les associations ont été réalisées en périodes de repos génital et de gamétogenèse; les explants de gonade ont fait l'objet de comptages de mitoses.

Dans tous les cas, le fragment de gonade associé à un organe juxtaganglionnaire se comporte comme s'il s'était cultivé seul. Les mitoses goniales n'y sont pas plus abondantes. <u>In vitro</u>, l'organe ne présente pas de pycnose mais il ne semble pas avoir de rôle direct dans la maturation mâle. Par contre, la spermatogenèse est abondante en

présence du cerveau accompagné ou non de l'organe juxtaganglionnaire. Cette observation montre qu'il convient d'attribuer aux seuls ganglions cérébroïdes l'action dynamique vis à vis des gonies mâles.

Cependant, ces seules expériences ne sont pas suffisantes pour qu'on puisse infirmer l'hypothèse d'un rôle endocrine; une étude plus approfondie de cet organe glandulaire serait à envisager, notamment son ablation élective par thermocautère et son examen en microscopie électronique.

## B - Tentative de localisation du centre inhibiteur tentaculaire

#### 1 - Protocole expérimental

De nombreuses séries de cultures ont été effectuées pour tenter de localiser le centre inhibiteur tentaculaire, c'est à dire pour rechercher la portion de l'organe ayant le même rôle physiologique que le tentacule entier.

En considérant la morphologie et la structure du tentacule, nous avons divisé cet organe en trois parties :

- Le filament tentaculaire, partie effilée renfermant le bouton terminal glandulaire.
- Le bourrelet oculaire comprenant l'oeil et une partie de la base du tentacule, dans laquelle est notamment situé le bouton terminal du nerf tégumentaire.
- Le bourrelet basal correspondant au reste du tentacule et qui est richement innervé.

Nous considérons ainsi trois zones faciles à isoler et comprenant chacune des formations nerveuses ou glandulaires.

Du point de vue expérimental, trois séries d'associations ont été effectuées: soit avec l'un des tronçons isolés, soit avec le tentacule privé de l'un ou l'autre des tronçons tentaculaires.

Les cas d'associations autologues suivants ont été réalisés sur 23 séries de salières examinées. Les gonades sont prélevées chez des animaux en période de repos génital. A ce moment, la comparaison entre les tronçons tempers et ceux en culture est facile à établir. Il n'est pas nécessaire d'avoir recours à des comptages de mitoses.

- Fragment de gonade cultivé seul
- Fragment de gonade associé au tentacule entier
- Fragment de gonade associé au bourrelet oculaire
- Fragment de gonade associé au filament tentaculaire
- Fragment de gonade associé au bourrelet basal
- Tronçon de gonade cultivé seul
- Tronçon de gonade associé au tentacule entier
- Tronçon de gonade associé au tentacule privé de filament
- Tronçon de gonade associé au tentacule privé de bourrelet oculaire
- Tronçon de gonade associé au tentacule privé de bourrelet basal.
- Fragment de gonade cultivé seul
- Fragment de gonade associé au complexe entier
- fragment de gonade associé au complexe privé de bourrelet oculaire
- Fragment de gonade associé au complexe privé de filament tentaculaire
- Fragment de gonade associé au complexe sans filament ni bourrelet oculaire

# 2 - Résultats.

Ils sont consignés dans le tableau XX.

Il convient de préciser que les résultats ne portent que sur les animaux en phase mâle (19 séries de salières). Dans les quatre explants qui provenaient de femelles, nous n'avons observé aucune autodifférenciation en culture isolée. Rappelons également que le tentacule n'a pas de pouvoir inhibiteur sur les ovogonies.

Tableau XX : Evolution de la lignée mâle dans des fragments de gonade associés à des portions de tentacule ou de complexe céphalique.

Type de culture	Témoin	Gonade isolée	: + B.O.	: : + B.B.	: : + Tent	: + F.T.	+ Tent	+ Tent sans B.O s	+ Tent	Complexe énucléé	Complexe sans F.T	: Complexe : sans F.T : et B.O
Mitoses :		: +	: +	: +	: -	-	: +		- :	- 1	+	1

#### Il nous montre que :

- En présence du bourrelet oculaire ou du bourrelet basal ou du tentacule dépourvu de filament tentaculaire, la gonade évolue comme si elle était cultivée isolément. Les organes associés conservent une structure normale, aucun phénomène de dégénérescence n'y apparaît.

D'après les résultats obtenus, il ressort que le bourrelet du tentacule ne semble pas responsable de l'inhibition vis à vis de la lignée mâle.

- Lorsque le filament tentaculaire est intact, on ne constate aucune reprise d'activité génitale dans le tronçon de gonade qui lui est associé. Il convient de signaler que la survie est moins bonne que celle des autres parties du tentacule; on observe parfois un début de dégénérescence, affectant d'abord l'extrémité distale de l'organe. Cette pycnose s'accompagne de modifications survenant dans la gonade associée; les follicules tendent à redevenir actifs.

Par rapport aux autres tronçons, le début d'évolution gamétogenétique apparaît donc avec un certain retard correspondant sans doute au temps séparant le début de l'association de celui où commence la nécrose des tissus.

In vitro, le filament tentaculaire se comporte comme l'organe entier. Ces résultats sont en faveur de l'hypothèse suivante : il existerait dans la partie distale du tentacule, un tissu capable d'assumer le même rôle inhibiteur que l'ensemble de l'organe.

L'anatomie microscopique du tentacule nous a révélé l'existence d'amas glandulo-conjonctifs associés à des formations nerveuses. Les recherches expérimentales nous incitent à penser que le facteur inhibiteur n'est pas issu de l'organe sous-oculaire (prélevé avec le bourrelet oculaire) qui sans doute exerce une fonction purement sensorielle. Il ne semble présent ni au niveau du bouton terminal du nerf tégumentaire ni dans le renflement ganglionnaire de ce nerf puisque ces formations sont situées dans le bourrelet tentaculaire, incapable, in vitro, de bloquer la spermatogenèse.

Par contre, ce rôle inhibiteur pourrait être dévolu à l'amas glandulaire situé dans le filament. Sa structure rappelle celle du bouton terminal décrit par SANCHEZ (1962) chez Helix aspersa; son étude en microscopie électronique sera entreprise ultérieurement.

L'étude histologique et histochimique ainsi que les recherches en microscopie électronique sur le tentacule des Gastéropodes Prosobranches ont été peu abordées jusqu'à présent. Par contre, chez les Pulmonés, les travaux récents sont nombreux. TUZET, SANCHEZ et PAVANS de CECCATY (1957) décrivent, chez Helix aspersa Muller, un système neuroendocrine tentaculaire. PELLUET et LANE (1961) et PELLUET (1964) attribuent aux "collar cells" du tentacule d'Arion subfuscus Drap et d'Arion ater la fonction endocrine de cet organe. L'étude en microscopie électronique effectuée par BIERBAUER et TÖRÖK (1964,1968) confirme la nature neurosécrétrice de ces cellules. WAUTIER et Collaborateurs (1961, 1962) décrivent

un paraganglion tentaculaire chez <u>Gundlachia</u> sp; avec le ganglion cérébroïde, il constitue un complexe endocrine. L'organe de SEMPER a été lui aussi, considéré comme étant endocrine (LANE (1964).

Récemment, RENZONI (1968) étudie le tentacule du Pulmoné
Soléolifère Vaginulus borellianus Colosi. Il ne retrouve pas de complexe
endocrine du type de ceux décrits chez Helix, Arion et d'autres Stylommatophores. De plus, il considère l'organe SEMPER comme une glande
ayant la même structure que celle des glandes pédieuses, riches en mucus.
Ces quelques exemples montrent que, malgré les résultats parfois
contradictoires des auteurs, il semble que le tentacule des Pulmonés renferme des éléments neuroglandulaires qui aureient une fonction endocrine.
Une semblable investigation devra être entreprise chez les Prosobranches
et en particulier chez ceux qui ont fait l'objet de recherches expérimentales
montrant le rôle endocrine du tentacule (Calyptraea sinensis, Patella
vulgata).

#### CONCLUSION DU CHAPITRE

L'étude histologique du complexe céphalique de <u>P.vulgata</u> apporte des compléments relatifs à la connaissance de la structure du cerveau et des formations nerveuses du tentacule. En effet, à notre connaissance, il n'existait aucun travail d'ensemble dans ce domaine. La topographie cérébrale avait été peu étudiée et aucun schéma ne matérialisait le cheminement nerveux intratentaculaire.

Cette étude a permis de montrer que :

- Le cortex cérébral présente plusieurs catégories de neurones dont l'une est peut être de nature neurosécrétrice.
- L'organe juxtaganglionnaire décrit par MARTOJA (1965 a) existe également chez P.vulgata.
- Le tentacule est innervé par trois troncs principaux : les nerfs tentaculaires et optique ainsi que celui du bourrelet oculaire.

  L'extrémité de l'organe présente un amas de cellules glandulaires traversé par des fibres nerveuses, sa structure ressemble à celle du"bouton terminal" décrit par SANCHEZ chez Helix aspersa.

La recherche de la localisation du centre inhibiteur a été entreprise par association de fragments de la même gonade avec divers tronçons de tentacule : filament, bourrelet oculaire, partie basale ou avec l'organe entier privé de l'une de ces parties. Les résultats montrent que seul le fillament tentaculaire est capable d'assumer le même rôle inhibiteur que l'organe entier. Il semblerait que le tissu endocrine y soit situé, peut être au niveau du bouton terminal du nerf tentaculaire dont l'étude en microscopie électronique est nécessaire.

#### CHAPITRE IV

# ESSAI D'ANALYSE EXPERIMENTALE DES EFFETS PRODUITS FAR L'ABLATION DE TOUT OU PARTIE DU COMPLEXE CEPHALIQUE

Nos recherches sur le déterminisme de la sexualité chez P. vulgata ont été également abordées par l'expérimentation in vivo.

#### I - TECHNIQUES

#### A - Elevages

Nos expériences ont été réalisées essentiellement au Laboratoire maritime de Wimereux; quelques séries opératoires ont été effectuées également au Laboratoire de Lille.

## 1 - Elevages en circuit ouvert (eau de mer courante)

L'élevage en aquarium des patelles non opérées ne semble pas poser, à priori, de difficultés majeures : ce sont des animaux qui survivent bien sans soins particulier. En eau de mer courante, ils ne déplacent sur les pierres et la mortalité est très faible. D'autre part, comme ne sont pas des carnivores, le problème de l'alimentation ne semble pas être difficile à résoudre. En fait, il paraît plus facile de nourrir les Mollusques prédateurs ou ceux qui filtrent l'eau de mer pour en recueillir les particules que ceux qui, comme la patelle, broutent les microorganismes végétaux ou les stipes d'algues.

En effet, en élevage, les patelles se nourrissent peu comme le montrent les examens du contenu intestinal d'individus témoins ou opérés, bien que les pierres naturelles soient couvertes de <u>Fucus</u> et que l'eau de mer apporte des algues microscopiques.

De plus, des apports massifs de vase, consécutifs aux forts coups de mer, peuvent provoquer une infection bactérienne entraînant, surtout chez les opérés, un taux de mortalité parfois très élevé.

Comme nous le verrons plus loin, cette carence alimentaire entraîne un ralentissement de la croissance et une perturbation des phénomènes sexuels qui rend délicate la comparaison entre les lots d'opérés et de témoins.

Nous n'avons eu la possibilité de suivre nos élevages que pendant les périodes où nous pouvions. travailler au laboratoire marin ; les résultats les plus intéressants ont donc été obtenus au cours de nos séjours de printemps et surtout pendant l'été lorsque, pendant plusieurs mois, nous pouvions effectuer de nombreuses séries opératoires et surveiller régulièrement les élevages.

#### 2 - Elevages en milieu naturel

Il était intéressant et même nécessaire d'effectuer des séries opératoires et de replacer les patelles dans leur biotope naturel afin de comparer les résultats avec ceux obtenus pour des séries expérimentales d'animaux maintenus en aquariums.

Nous nous sommes heurtés à des difficultés inhérentes aux conditions opératoires. Les individus privés de ganglions cérébroïdes sont incapables de résister au flot ; ils adhèrent mal au substratum et sont emportés par le flux. Nous les avons placés dans des mares permanentes, notamment celles issues du creusement de blocs de grès dans les parties de rochers tournées vers le rivage, là où le choc des vagues est moins brutal ; même dans ces conditions bionomiques, aucun opéré ne s'est fixé solidement.

Seuls les témoins, les témoins opérés et les animaux privés de tentacules peuvent être maintenus dans leur biotope d'origine ; cependant, les derniers doivent être repris périodiquement pour subir une résection du régénérat tentaculaire. Les résultats obtenus dans l'étude de la régénération de cet organe (CHOQUET et IEMAIRE, 1969) mentrent en effet, que le tentacule régénère rapidement et que sa structure originelle réapparaît.

Les élevages en milieu naturel ne semblent donc pas être possibles pour tous les animaux opérés. Nous avons essayé de remettre sur le terrain les individus ayant subi l'ablation du cerveau et séjourné quelques semaines en aquariums ; ils n'ont pu se fixer sur le substratum.

## 3 - Elevages au laboratoire, en milieu confiné

Des séries opératoires ont été réalisées au laboratoire de Lille ; les animaux sont placés sur des pierres, dans des cuvettes en plastique. Nous les soumettons à une alternance d'immersions et d'émersions afin de reproduire sommairement les conditions naturelles de vie.

Nous avons tenté de nourrir les patelles en utilisant plusieurs types d'alimentation, sans obtenir toutefois un succès total. Plusieurs espèces d'algues ont été ajoutées aux bacs d'élevage; celles qui ont donné les meilleurs résultats, très insuffisants d'ailleurs, sont les jeunes pousses de <u>Fucus serratus</u>. Les adultes et surtout les très jeunes individus ont été également nourris par adjonction, à l'eau, de cultures pures de diatomées : <u>Phaeodactylum tricornutum</u> et <u>Chlorella sp.</u> dont les souches nous ont été fournies gracieusement par Mary PARKES du Laboratoire de Plymouth. Les cultures ont été réalisées en milieux liquides d'ERD SCHREIBER ou de MIQUEL ALLEN ; ce dernier donne d'excellents résultats et est plus facile à réaliser que le premier.

Des expériences ont été également effectuées en circuit fermé avec filtration et régénération de l'eau; les patelles souffrent davantage encore de carence alimentaire. L'adjonction de substances organiques telles que le lait en poudre provoque une pollution rapide du circuit et n'apporte pas d'amélioration sensible dans la nourriture des patelles qui ne filtrent pas l'eau de mer.

On constate donc que l'expérimentation in vivo présente des difficultés et que les conditions d'élevage ne sont pas satisfaisantes. Cela tient au fait que les animaux se nourrissent mal que, chez les opérés, l'infection bactérienne peut entraîner une mort rapide.

# B - Techniques opératoires

Plusieurs types d'opérations ont été réalisés : ablations unilatérale ou bilatérale du tentacule, du ganglion cérébroïde ou du complexe tentacule-cerveau.

Toutes les interventions ont été effectuées sans anesthésie préalable et les techniques opératoires varient en fonction des organes que l'on extirpe.

#### 1 - Ablations du tentacule ou du complexe

Ces opérations sont réalisables sans avoir recours à l'ouverture de la coquille.

La patelle est placée dans une poite de Pétri sur la platine de la loupe binoculaire, le pied vers le haut, la région céphalique vers l'avant. Cette position entraîne une réaction de redressement de l'animal à la recherche d'un point de fixation et provoque une extension de la tête rendant possible l'intervention chirurgicale. On maintient du doigt la coquille contre le fond de la boîte en appuyant sur le pied et à l'aide de ciseaux de Pascheff, on sectionne le tentacule au ras de la tête. Le ganglion cérébroïde est mis à nu et tend à faire saillie par l'ouverture. Lorsqu'on pratique l'ablation simultanée du tentacule et du cerveau, on sectionne les connectifs cérébro-pédieu, cérébro-palléal, cérébro-labial ainsi que la commissure cérébroïde. Le ganglion cérébroïde, ainsi isolé, est extrait à l'aide de pinces fines. L'opération est toujours longue car, à chaque intervention, la patelle se rétracte dans sa coquille, une nouvelle extension céphalique est alors favorisée par le dépôt de gouttes d'eau de mer à l'aide d'une pipette. Cependant, au cours de l'opération, les réactions de redressement de l'opéré deviennent plus rares ; nous avons eu recours à un procédé permettant d'achever l'ablation du second complexe. Au cours d'une extension de l'animal, on glisse un coin de liège entre la tête et la coquille et on le maintient du doigt, cet artifice permet d'achever la dissection.

Cette ablation des tentacules ou des complexes céphaliques s'opère donc sans léser la coquille et le manteau.

Nous avons essayé de suturer la blessure à l'aide d'agrafes en argent mais les résultats n'ont pas été satisfaisants, surtout chez les jeunes, car les tissus sont peu résistants et les frottements contre la coquille entraînent des déchirures de la paroi céphalique.

# 2 - Ablation élective des ganglions cérébroides

Cette intervention est celle qui nous a posé le plus de problèmes techniques. Nous n'avons pas pu la pratiquer par la méthode utilisée pour extirper le complexe entier. En effet, les ganglions cérébroïdes sont accessibles par la base dorsale du tentacule, position dont l'accès est difficile par la face ventrale de l'animal.

Nous avons eu alors recours à la technique suivante. A l'aide d'un disque d'émeri monté sur un tour de dentiste, on découpe une fenêtre triangulaire dont la partie supérieure est située sous l'apex de la coquille (fig. 29). Le trait de section inférieur se situe au dessus des branchies palléales qui sont respectées. On évite ainsi de léser le muscle pédieux.

Lorsqu'on découpe la coquille, il faut agir avec précaution pour ne pas déchirer le manteau et inciser la tête, les mouvements de la pièce à main du tour doivent être sans cesse contrôlés. Toutes les esquilles de calcite sont abrasées et le champ opératoire est nettoyé soigneusement par un jet d'eau de mer.

Le manteau, qui apparaît dans l'ouverture, est coupé transversalement dans la partie médiane de la fenêtre; la tête est ainsi démasquée. Lorsque, naturellement ou par excitation mécanique, la tête se rétracte, les tentacules viennent se bloquer dans la partie antérieure de l'ouverture. On pratique alors une petite incision médio-dorsale de la paroi céphalique, à la base du tentacule (fig. 30), on sectionne les connectifs et on extrait le cerveau à d'aide de pinces fines. Le manteau est ensuite rabattu sur la tête.

Grâce à cette technique, on lèse le moins d'organes possibles. La blessure est très localisée, ce qui permet une cicatrisation rapide ; les risques d'infection et de mortalité sont ainsi plus faibles.

# 3 - Témoins opérés

Ils subissent les premiers temps de l'opération : ouverture de la coquille, section transversale du manteau, incision de la paroi céphalique ; cette dernière n'est pas suivie de l'ablation du ganglion cérébroide.

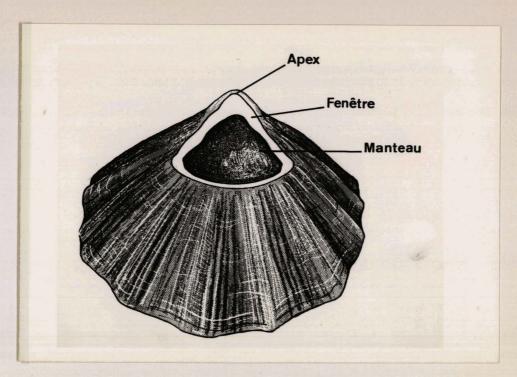


Fig. 29 - Ablation élective des ganglions cérébroïdes.

Premier temps de l'opération.

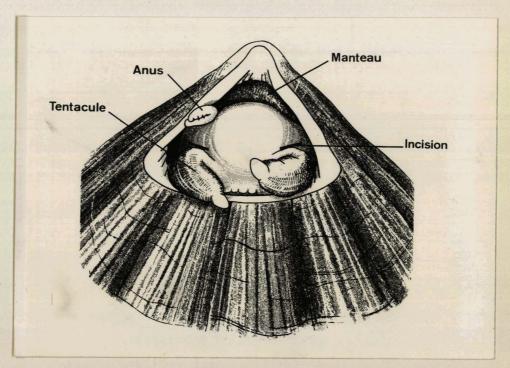


Fig. 30 - Ablation élective des ganglions cérébroïdes. Prélèvement des masses nerveuses.

#### II - RESULTATS

## A - Comportement post-opératoire. Nutrition. Croissance

Tous les animaux en expérience, y compris les témoins, sont placés dans des conditions de milieu identiques, le plus souvent sur des pierres disposées dans des bacs alimentés en circuit ouvert. L'eau, oxygénée artificiellement, a une température supérieure d'environ 1° C par rapport à celle des eaux côtières. Selon le type d'opération effectué, les patelles sont affectées d'un numéro de code gravé et peint sur la coquille.

## 1 - Activité motrice

- Les témoins non opérés quittent souvent les pierres et se fixent aux parois des bacs ; ils ont tendance à se grouper à la limite supérieure du niveau d'eau. Cette réaction est surtout marquée chez les adultes, elle l'est beaucoup moins chez les patelles juvéniles.
- Les opérés témoins ayant subi l'ouverture de la coquille et une incision céphalique, manifestent peu ou pas d'activité après le choc opératoire. Lorsque les blessures sont cicatrisées, les patelles se déplacent mais les mouvements sont toujours moins amples que ceux des témoins non opérés.
- Les animaux ayant subi l'ablation unilatérale du tentacule ont un comportement identique à celui des témoins non opérés.
- L'ablation bilatérale de cet organe entraîne une inactivité momentanée mais au bout de quelques jours, les patelles se déplacent sur les pierres et même sur les parois des bacs.
- L'ablation unilatérale ou bilatérale du complexe tentaculecerveau entraîne une inactivité prolongée qui peut être permanente chez de nombreux individus. Dans les cas où les animaux se meuvent, les déplacements sont peu importants ; aucune patelle ne quitte les pierres sur lesquelles elles ont été déposées après l'opération.
- Les exemplaires ayant subi l'ablation élective des ganglions cérébroïdes n'ont aucune activité motrice. Le manteau cicatrise au niveau de l'incision transversale initiale Dans délai de trois semaines, il a sécrété

une mince pellicule souple tendue entre les côtés de l'ouverture pratiquée au moment de l'opération. La coquille néoformée s'épaissit progressivement.

#### 2 - Nutrition

- Comme nous l'avons déjà souligné, les patelles en élevage se nourrissent peu, surtout les opérés ayant subi l'ablation des ganglions cérébroïdes. Les ganglions buccaux ne sont pas lésés mais leur déconnexion provoque, certainement, des troubles moteurs de la radula.
- L'examen du contenu intestinal révèle la présence de débris de diatomées. Toutefois, l'intestin est souvent presque vide alors que dans la nature, il est en état de réplétion. Un autre fait prouve que les patelles en élevage mangent peu, il est relatif au coefficient radulaire (R/C).

Rappelons tout d'abord que dans leur milieu naturel, les animaux ont un coefficient R/C compris entre 1,38 et 1,60 (première partie, chapitre I). Chez les patelles en élevage, les mesures effectuées chez de nombreux animaux ont montré qu'il atteint 1,72 chez les témoins, 1,83 chez les individus privés de tentacules et 2,04 chez ceux ayant subi l'ablation des ganglions cérébroïdes; le maximum enregistré étant 2,26.

Chez les animaux en élevage, la radula s'use peu, surtout chez les opérés. Les ablations et notamment celles du cerveau ont une influence néfaste sur la nutrition et par suite doivent avoir un retentissement sur le métabolisme général.

Notons également que les résultats des mesures du coefficient radulaire semblent confirmer l'hypothèse de JONES (1948), de BRIAN et OWEN (1952). Le coefficient radulaire peu élevé, observé chez les patelles des bas niveaux, serait dû au fait que, chez ces animaux, le temps consacré à la nourriture est plus long que chez les individus vivant sur des rochers fréquemment exondés.

#### 3 - Croissance

La croissance linéaire est très faible chez les patelles en élevage, même chez les juvéniles. Chez ces derniers, au cours de l'été, elle est de l'ordre de 1 mm en deux mois et demi chez les témoins ; elle peut tomber à 0,5 mm chez les animaux privés de tentacules. Elle est pratiquement nulle chez ceux ayant subi l'ablation des ganglions cérébroïdes. Pendant la même période, les patelles vivant dans leur biotope naturel subissent un accroissement de taille d'environ 5 mm.

Ces diverses observations biologiques montrent que les animaux en élevage ont un bilan nutritier anormalement bas, même chez les témoins. Il conviendra de tenir compte de ce fait au cours des discussions relatives aux résultats obtenus dans les diverses séries expérimentales.

## B - Ablations effectuées chez les patelles juvéniles

Dans le tableau XXI ont été rapportés les résultats relatifs aux diverses séries expérimentales effectuées sur des jeunes patelles dont la taille initiale est en moyenne de 13 mm. Les opérations ont été pratiquées au début de Juillet et les animaux sacrifiés deux mois et demi après l'intervention. De plus, des témoins de même taille que les opérés sont maintenus dans les mêmes conditions d'élevage et sacrifiés en même temps que les opérés. D'autre part, en début d'expérience, des exemplaires sont prélevés dans la nature et leur état génital déterminé; cet examen permet de connaître l'état sexuel de la population au moment où les opérations sont pratiquées. Enfin, on calcule les pourcentages de sexués et de jeunes patelles sexuellement indifférenciées d'un lot d'individus récoltés sur le terrain en fin d'expérience afin de comparer ces données avec celles obtenues chez des animaux témoins maintenus en aquarium.

Tableau XXI : Influence des conditions d'élevage et de diverses ablations céphaliques sur l'évolution génitale des patelles juvéniles.

TEMOINS	TEMOINS	Е	Témoins 20 septembre					
ET TYPES D'OPERATIONS	début Juillet	2 g	2T + 2 g	T + g	Т	: 2 T	dans la	élevés en aquarium
libre d'animaux examinés ou opérés	210	320	: 192	177	121	: : 250	240	170
Taille moyenne (en m.m)	12,9	13	12,3	13	13,5	13,1	13,1	13,2
Taux de mortalité	•	65 %	: 47 % :	25 %	20 %	: : 26 % :	-	12 %
Pourcentage de mâles	28 %	15 %	16 %	22 %	31 %	34 %	40 %	36 %
Pourcentage de neutres	72 %	85 %	84 %	78 %	69 %	: 66 %	52 %	64 %

A g : Ablation élective des deux ganglions cérébroides

2T + 2 g : Ablation bilatérale du tentacule et du cerveau

T + g : Ablation unilatérale du tentacule et du cerveau

T : Ablation unilatérale du tentacule

2 T : Ablation bilatérale du tentacule

## 1 - Mortalité

Elle est peu importante chez les témoins ; par contre beaucoup d'opérés meurent dans les deux semaines suivant l'intervention surtout lorsque le cerveau a été enlevé.

#### 2 - Résultats

a) Chez les patelles juvéniles vivant dans le milieu naturel, le taux d'animaux sexués (toujours mâles) passe de 28 % en Juillet à 48 % en Septembre ; les pourcentages de neutres subissent une diminution correspondante. Pendant le même temps, chez les animaux en aquariums, seuls 36 % des témoins ont atteint la maturité génitale. Les températures de l'eau étant à peu près identiques dans les deux cas, il est vraisemblable que ces différences observées entre les deux lots de patelles sont dues à une carence alimentaire perturbant la gamétogenèse. Chez les témoins en élevage, les sexués ont en général une gonade peu développée bien que le sexe soit déterminable macroscopiquement. Les glandes génitales au stade 2 sont rares, alors que chez les exemplaires prélevés dans la nature, la majeure partie des gonades a atteint ou dépassé ce stade.

b) L'ablation des tentacules chez les patelles juvéniles ne semble pas entraîner le déclenchement d'une spermatogenèse précoce car en fin d'expérience, le pourcentage d'animaux sexués reste voisin de celui observé chez les témoins maintenus dans les mêmes conditions d'élevage.

Par contre, chez les individus privés de ganglions cérébroïdes, existe un fort pourcentage de gonades indifférenciées (80 à 85 %). Les sexués, tous en phase mâle, présentent des glandes génitales peu développées. Le contrôle histologique, pratiqué sur certaines d'entr'elles, révèle l'existence de spermatogonies souches et de spermatozoïdes, l'absence de mitoses goniales et de spermatocytes.

#### 3 - Discussion

C'est cans le cas de l'ablation bilatérale des ganglions cérébroïdes que s'observe le plus fort pourcentage de neutres, que les tentacules soient présents ou non. Il semble donc que l'absence du cerveau soit responsable de ce fait. Or, les expériences d'associations <u>in vitro</u> ont montré que ce centre nerveux stimulait les mitoses goniales mais qu'il n'avait aucune action sur les gamètes. <u>In vivo</u>, l'ablation du cerveau empêcherait l'évolution normale de la lignée mâle chez les animaux atteignant la maturité sexuelle. Ceux qui, au terme de l'expérience, possèdent des gamètes seraient des patelles ayant commencé leur gamétogenèse au moment de l'intervention. L'ablation des tentacules n'entraîne pas, chez les jeunes animaux, un taux de sexualisation supérieur à la normale, bien que les ganglions cérébroïdes soient maintenus en place. Cette observation suggère que chez les patelles juvéniles, le tentacule est peu ou pas actif et que le cerveau deviendrait fonctionnel avant cet organe.

#### C - Ablations effectuées chez des patelles adultes

# 1 - Ablations des ganglions cérébroîdes chez des animaux en période de repos

Au début de juin, des patelles adultes, de toutes tailles, ont subi l'ablation unilatérale ou bilatérale des ganglions cérébroïdes. A cette époque, un relevé de population effectué dans le même biotope que celui où ont été prélevés les animaux destinés à l'expérimentation montre que le taux d'individus en repos génital est de 85 %. Toutefois, l'étude histologique du cycle sexuel naturel nous a révélé qu'à la fin du printemps, l'épithélium germinatif peut reprendre son activité mais celle-ci n'est pas décelable de visu.

Après un mois d'expérience, une partie des opérés ont été sacrifiés. Aucun ne présentait de gonade active alors que les témoins étaient en spermatogenèse.

Au bout de deux mois, les opérés ne présentaient aucune trace de gamétogenèse, sauf quatre individus de sexe femelle dont la gonade était au stade la avec ovocytes visibles extérieurement; les longueurs de coquille de ces patelles étant respectivement 22, 23, 34 et 35 mm. Les témoins, élevés en aquariums avec les opérés, avaient tous évolué, sauf cinq patelles de 15, 19, 21, 24 et 29 mm. Toutefois, les gonades des témoins n'étaient, le plus souvent, qu'au stade l alors que les animaux de même taille, prélevés dans la nature, sont aux stades 2 ou plus souvent 3 et 4.

Si on observe un retard dans l'évolution des patelles non opérées maintenues en aquarium, on constate également que les individus privés de système nerveux central n'évoluent pas, ce qui tend à confirmer le rôle joué par le cerveau dans la maturation génitale. Toutefois, comme nous l'avons déjà signalé, cette inactivité sexuelle pourrait être due à un jêune prolongé.

#### 2 - Ablation du cerveau au cours de la gamétogenèse

Les opérations ont été effectuées dans le courant du mois d'Août, sur des patelles dont la taille était supérieure à 15 mm. Les opérés et les témoins ont été maintenus en aquarium pendant 40 jours.

Les résultats sont consignés dans le tableau XXII.

Tableau XXII: Influence de l'ablation du système nerveux central sur l'évolution génitale des patelles en gamétogenèse.

d'individus		: Nombre de : survivants :	mâles	Pourcentage de : femelles :	neutres
Témoins	50	: 40	65 %	: 25 % :	10 %
Opérés	140	<b>:</b> 65	77 %	: 14 % :	9 %

Au moment où l'opération a été pratiquée, la majeure partie de la population est en gamétogenèse; seuls quelques individus sont en phase de repos. Quarante jours après l'opération, 90 % des patelles en élevage sont sexuées. Les différences statistiques entre les pourcentages d'animaux mâles et femelles ne sont pas très marquées entre opérés et témoins. Cependant, chez ces derniers, la gonade est à peu près normalement développée (stades 2 ou 3) alors que les patelles privées de cerveau présentent une glande génitale atrophiée. Macroscopiquement, elle ne dépasse pas le stade l et des plaques brunes apparaissent à sa surface comme cela s'observe en période de ponte. Cette régression est surtout manifeste chez les animaux en phase mâle. L'étude histologique montre que, chez ces derniers, l'épithélium germinatif est quiescent. Seuls subsistent des spermatogonies et des gamètes. Les femelles sont par contre à peu près normales.

#### Discussion

Si l'on fait abstraction des troubles du métabolisme provoqué par une carence alimentaire, on constate que l'ablation des ganglions cérébroïdes est néfaste au maintien d'une spermatogenèse normale : les patelles subissent un arrêt de la gamétogenèse et une émission plus précoce des produits génitaux. Cette dernière observation est à rapprocher de celle que LUBET (1959, 1964, 1966) a faite chez Mytilus edulis L. et Mytilus galloprovincialis Imk. Ces expériences liminaires donnent des résultats qui concordent avec ceux obtenus en culture organotypique : ils tendent à confirmer le rôle stimulateur du cerveau sur les mitoses spermatogoniales.

Les ablations pratiquées sur des adultes en fin de période de repos entraînent une stérilité; l'expérience n'a pu être poursuivie assez longtemps pour pouvoir affirmer s'il s'agit d'un retard de gamétogenèse ou au contraire d'une inactivité prolongée de l'épithélium germinatif.

Les opérations effectuées sur des femelles en ovogenèse se sont révélées inefficaces; elles semblent également confirmer que le cerveau n'est pas nécessaire au déroulement de la vitellogenèse, lorsque celle ci est commencée. De toute manière, il est impossible de connaître l'état génital initial et les cultures organotypiques ont montré que cette connaissance était importante pour la compréhension des mécanismes endocrines.

Il importe donc d'effectuer de nouvelles séries expérimentales. Cependant, la présence des ganglions cérébroïdes semble indispensable au déroulement normal du cycle sexuel. Leuraction, <u>in vivo</u> pourrait s'expliquer par deux hypothèses : stimulation directe de l'épithélium germinatif ou régulation du métabolisme ; les expériences effectuées <u>in vitro</u> semblent être en faveur de la première.

## 3 - Ablation des tentacules chez les adultes

Les ablations pratiquées en Juillet et Août, au cours de la période de gamétogenèse, n'entravent pas l'évolution des lignées mâle et femelle : un ou deux mois après l'opération, qui a été suivie de résections périodiques des régénérats, l'état génital des opérés est analogue à celui des témoins. Le tentacule ne semble donc jouer aucun rôle au cours de la période de reproduction puisque son ablation n'entraîne aucune perturbation dans la gonade.

Les expériences réalisées pendant la période de repos n'ont malheureusement pas pu être suivies au Laboratoire maritime. Les opérés et les témoins avaient été replacés dans leur milieu naturel et nous n'avons pu pratiquer des résections de régénérats qui doivent être faites fréquemment. SANCHEZ et SABLIER (1962) ont éprouvé des difficultés analogues chez le Pulmoné Helix aspersa Mill. Or, CHOQUET et LEMAIRE (1968) ont montré que toutes les formations nerveuses, épithéliales et glandulaires régénéraient.

Les séries opératoires devront donc être reprises en tenant compte des potentialités de régénération du tentacule qui faussent toute expérience d'ablation qui ne serait pas suivie de résections fréquentes.

#### CONCLUSION DU CHAPITRE

L'étude du déterminisme de la sexualité chez P. vulgata a été également entreprise in vivo. Nous avons mis au point les techniques opératoires permettant de pratiquer l'ablation élective des ganglions cérébroïdes ou des tentacules sans anesthésie préalable. Les opérés et les témoins sont maintenus dans les mêmes conditions de milieu pendant toute la durée de l'expérience (biotope naturel ou aquariums en circuit ouvert). Dans ce dernier cas, qui semble être le seul utilisable lorsque les patelles sont privées de système nerveux central, les conditions d'élevage se sont révélées défavorables et tous les animaux ont souffert d'une carence alimentaire. Cependant, certains résultats enregistrés, semblent en accord avec ceux obtenus en culture organotypique.

- L'ablation du cerveau entraîne un arrêt de la spermatogenèse et une vidange des acini. Le système nerveux central interviendrait donc dans le maintien d'une gamétogenèse normale.
- L'ablation des tentacules d'un individu en période de reproduction n'entraîne pas de perturbation de la lignée mâle; ces organes seraient donc inactifs pendant cette phase du cycle annuel.
- Chez les animaux juvéniles, le tentacule est inactif tandis que le cerveau devient fonctionnel à l'approche de la maturité sexuelle.

#### DISCUSSION GENERALE SUR LE DETERMINISME DE LA SEXUALITE CHEZ PATELLA VULGATA L.

Après avoir analysé les théories relatives à la détermination phénotypique ou génotypique du sexe chez les Mollusques hermaphrodites, nous tenterons de dégager les conclusions relatives aux corrélations endocrines intervenant au cours du cycle vital de <u>Patella vulgata</u> L. Nous comparerons enfin nos résultats avec ceux d'auteurs ayant effectué des recherches identiques chez d'autres Mollusques et Invertébrés.

## I - THEORIES RELATIVES AU DETERMINISME DU SEXE CHEZ LES MOLLUSQUES HERMAPHRODITES

On considérait jusqu'à maintenant que le déterminisme de l'hermaphrodisme protandre était d'origine génique.

#### 1 - Détermination phénotypique

Chez les Lamellibranches hermaphrodites, quelques cas susceptibles d'être interprétés comme détermination phénotypique ont été observés chez Crassostrea cucullata (AWATI et RAI, 1931), Ostrea gigas (AMEMIYA, 1935), Anodonta cygnea L. (BLOOMER, 1939), Ostrea virginica (COE, 1938 b). L'apparition de la phase femelle serait liée à des conditions physiologiques optimales alors que la séquence mâle pourrait être en rapport avec des conditions métaboliques précaires; cette théorie avait d'ailleurs été exposée par ORTON (1927 b) pour Ostrea edulis L.

L'action sexualisante de facteurs externes tels que humidité et nourriture a été démontrée chez certains Pulmonés comme <u>Limax laevis Müll</u> (ROSENWALD, 1926) et <u>Agriclimax agrestis</u> L. (RICHTER, 1935). Cette théorie rejoint celle émise par ANCEL (1903) pour <u>Helix pomatia</u> L.; selon cet auteur, les gonocytes mâles et femelles ont la même origine. Des facteurs trophiques (présence de cellules nourricières) les orientant vers l'un ou l'autre sexe; la sexualisation des cellules indifférentes serait induite par le milieu.

Les Patelles vivent dans la zone cotidale, exposée à des variations ambiantes plus importantes que celles susceptibles de se produire en milieu strictement marin. Si le déterminisme du sexe était soumis à des facteurs externes tels que température et salinité, les relevés de population effectués durant plusieurs cycles mettraient en évidence des variations annuelles de la

<u>sex-ratio</u>, ce qui n'est pas le cas. D'autre part, l'existence d'un tissu interstitiel au sein des gonades nous a incité à penser qu'il pouvait avoir une action féminisante; l'expérience a montré que les éléments somatiques de la glande génitale n'intervenaient pas dans le changement de sexe et que leur présence était indépendante de l'âge des individus. Ces résultats nous permettent d'affirmer que, chez <u>P. vulgata</u>, la détermination du sexe n'est pas phénotypique.

## 2 - Détermination génotypique

C'est la théorie qui a été la plus souvent proposée pour les Mollusques. D'une manière générale, on possède peu de renseignements caryologiques; citons cependant les travaux de PERROT (1930), STAIGER (1950), BURCH (1960), CHAGAS, PROCOPIO-VALLE et BARTH (1961). Selon ces auteurs, chez les Euthyneures et Streptoneures hermaphrodites, il n'existe pas de chromosomes sexuels; la détermination syngamique du sexe ne peut donc pas être envisagée.

Chez Patella coerulea, PELLEGRINI (1948) et BACCI (1949) émettent l'hypothèse d'une détermination génotypique du sexe, hypothèse que MONTALENTI (1950), MONTALENTI et BACCI (1951) et BACCI (1951 a, 1955, 1957, 1961, 1965) précisent, développent et appliquent à d'autres Mollusques et Invertébrés hermaphrodites. Ces auteurs introduisent la notion d'hermaphrodisme équilibré (type Calyptraea) ou non équilibré (type Patella). Dans le premier cas, les animaux auraient le même génotype et leur orientation sexuelle ultérieure serait due à des influences issues du milieu. Chez Patella, il existerait plusieurs génotypes et chacun d'eux participerait au changement de sexe en intervenant plus ou moins tôt au cours de la vie. Cette théorie de la détermination polyfactorielle du sexe permet d'expliquer l'apparence de phénotypes différents chez ce genre à hermaphrodisme non équilibré; elle est basée sur le fait que, chez P. Coerulea, quelques individus restent toujours mâles; certains changent de sexe très tôt, d'autres plus tard au cours du cycle vital, d'autres enfin sont femelles à la première maturation et le restent ensuite.

La durée de chaque phase sexuelle **résult**erait de la ségrégation mendélienne de huit paires de gènes avec caractères dominant mêle et récessif femelle. La recombinaison aboutirait à l'existence de mâles purs (génotype 8 D, 0 r), de femelles pures (0 D, 8 r) ou d'hermaphrodites dont les durées respectives des phases mâle et femelle varieraient en fonction de 1'importance relative des caractères dominants et récessifs. Les patelles qui possèderaient à la fois les potentialités mâle et femelle pourraient seules se développer en hermaphrodites.

Cette théorie, si elle semble expliquer de nombreux cas d'hermaphrodisme chez les Invertébrés, doit être envisagée avec prudence pour P.vulgata. Il convient d'abord de noter qu'elle a été établie d'après les travaux effectués chez P.coerulea et généralisée au type Patella. Or, DODD (1956) a montré que l'hermaphrodisme est rare chez P.aspersa et qu'il n'existe pas chez P.depressa. Ces deux espèces ouest-atlantiques sont en fait de vrais gonochoriques.

Chez P.coerulea, seule l'étude statistique a permis de déceler l'existence d'individus qui seraient femelles pendant toute leur vie. A notre connaissance, aucune recherche sur la croissance d'animaux marqués n'a été effectuée chez cette espèce. Les travaux que nous avons réalisés dans ce domaine, chez P.vulgata, ont montré que, selon la date d'éclosion au cours d'un même cycle reproducteur, la croissance variait en fonction du milieu et des saisons. Il en résulte que les individus femelles des classes de petite taille trouvés dans les relevés de population peuvent être pour la plupart considérés comme étant leur seconde gamétogenèse et être déjà passés par une phase mâle. Il est possible qu'un tel phénomène s'observe chez P.coerulea bien que cette espèce soit méditerranéenne, donc moins soumise aux variations climatiques que les espèces vivant sur les côtes de la Manche.

Une autre remarque, plus importante, est d'ordre cytologique : dans toutes les gonades, même celles d'animaux de grande taille en phase mâle, on constaté la présence d'ovogonies et de nids d'ovocytes. Une observation analogue a été faite par JEANTET ( résultats inédits) chez <u>P. coerulea</u>, espèce ayant servi de matériel de recherche aux auteurs italiens. Chez ces deux espèces (<u>P. coerulea</u> et <u>P. vulgata</u>), le conflit entre les deux tendances sexuelles paraît constant chez tous les individus en phase mâle. Il n'existe donc pas de mâle purs ( génotype 8 D, 0 r).

Selon BACCI et MONTALENTI, chez <u>Calyptraea</u>, l'orientation sexuelle serait due à des influences issues du milieu; or, les travaux de STREIFF (1967) ont montré que le cycle de la gonade était régi par des corrélations hormonales, ce qui infirme l'hypothèse génétique.

En l'abscence de donnée expérimentale, il convient donc d'être circonspect lorsqu'on envisage la théorie de la détermination polyfactorielle du sexe.

## 3 - Hypothèse relative au déterminisme hormonal

Etudiant le problème de la différenciation sexuelle chez les Mollusques, COE (1943 b, 1944) conclut qu'il n'existe pas de preuve relative à la différenciation phénotypique ou génotypique du sexe. Il considère alors que des facteurs internes pourraient être responsables du cycle sexuel ; il écrit : "Finally, the influence of internal secretions on sexuality may be considered." Dans une autre publication (COE, 1945), il émet l'hypothèse du déterminisme hormonal de l'hermaphrodisme protandrique : il existerait une distinction chimique entre spermatogonies et ovogonies ; l'organisme libèrerait d'abord une hormone spécifique pour laquelle seule la lignée mâle est sensible. Selon cet auteur, il est concevable qu'une seconde hormone soit libérée lorsqu'une certaine condition physiologique est atteinte ; ce facteur endocrine activerait alors les ovogonies. L'hermaphrodisme simultané résulterait d'une libération enncomitante des deux hormones et les types d'hermaphrodisme consécutifs, rythmiques ou non, dépendraient de la séquence hormonale intervenant entre deux périodes de reproduction.

Cette hypothèse a déjà été confirmée partiellement par des résultats expérimentaux acquis chez des Prosobranches et des Pulmonés; nous les envisagerons dans le paragraphe réservé à l'étude du déterminisme de la sexualité chez les Invertébrés. Auparavant, nous examinerons les conclusions relatives à nos expériences personnelles sur Patella vulgata.

# II - LES CORRELATIONS ENDOCRINES CHEZ P. VULGATA L.

La recherche expérimentale des facteurs internes régissant l'évolution de la gonade au cours du cycle vital a été réalisée essentiellement par la méthode des cultures organotypiques. Des séries d'ablations pratiquées in vivo confirment la nature endocrine des ganglions cérébroïdes.

#### A - Culture de gonades isolées

Des glandes génitales ont été prélevées sur des patelles récoltées aux différentes périodes du cycle annuel et cultivées isolément. Il convient de rappeler que pour les expériences effectuées pendant la période de repos, l'étude histologique du fragment témoin est nécessaire pour déterminer le sexe.

## 1) Gonades d'animaux en phase mâle

a) Dans les gonades explantées pendant la période de repos, on observe, <u>in vitro</u>, une autodifférenciation mâle marquée par l'apparition de spermatocytes au bout de 20 jours de culture et de quelques gamètes après un mois. On obtient des résultats identiques lorsque les gonades sont prélevées en fin de gamétogenèse : après la dégénérescence des gamètes, l'épithélium germinatif se remet à fonctionner.

Des expériences ont montré que cette reprise d'activité génitale précoce n'était due ni à la température ni aux conditions de milieu.

b) Lorsque les gonades sont prélevées au début de la ganétogenèse, on constate, par prélèvements fractionnés, qu'après la pycnose des éléments préexistants, apparaissent des gonies néoformées. Toutefois sette spermatogenèse est peu importante.

Ces résultats montrent qu'il est possible, expérimentalement, de rompre le stade de repos et de provoquer le déclenchement d'une spermatogenèse précoce (a). Il est également possible d'obtenir deux gamétogenèses successives en isolant la gonade in vitro (b); on supprime ainsi la période de repos. Ces résultats nous amènent à émettre l'hypothèse suivante : il existerait, chez la patelle, un facteur inhibiteur de l'autodifférenciation mâle ; il serait responsable de l'apparition et du maintien de la période de repos naturel.

Il convient de rappeler que, chez les patelles en phase mâle, existent des éléments ovogénétiques. Quelle que soit la période du cycle où la gonade est explantée, on n'observe pas d'évolution notable de la lignée femelle. Il ne semble donc pas exister de facteur inhibiteur de l'autodifférenciation ovarienne.

## 2) Culture de gonades d'animaux juvéniles

La dernière hypothèse est vérifiée par la culture de gonades juvéniles. En effet, leur isolement n'entraîne pas la suppression de la phase mâle. Après un ou deux mois de culture, les ovogonies restent quiescentes, on n'obtient pas d'inversion sexuelle précoce.

Chez les jeunes patelles, le comportement de la lignée mâle est variable : chez les animaux de moins de 10 mm, l'isolement de la gonade n'entraîne pas de spermatogenèse. Par contre, chez les individus un peu plus grands (10 à 14 mm de long), l'autodifférenciation mâle peut se produire.

Ces faits montrent que chez de très jeunes individus, le facteur inhibiteur de la spermatogenèse n'existe pas ou que les gonies n'y sont pas sensibles.

#### 3) Gonades de patelles en inversion

Rappelons que nous avons défini l'état de préinversion comme étant un stade d'évolution irréversible de la lignée femelle. A la fin d'une spermatogenèse, les éléments ovogénétiques prolifèrent considérablement et colonisent les parois folliculaires. En culture isolée, la gonade évolue peu et les gonies sont quiescentes, la lignée femelle n'a pas poursuivi l'évolution qui était décelable sur le fragment témoin initial. Ce résultat confirme l'absence de facteur inhibiteur de l'autodifférenciation ovarienne et montre d'autre part que la lignée femelle semble avoir besoin d'un facteur mitogène pour évoluer. In vitro, les ovocytes sont capables d'effectuer leur auxocytose et d'entrer en prévitellogenèse. Toutefois, en culture isolée, la vitellogenèse ne s'effectue pas ; il pourrait exister un facteur interne responsable du déclenchement de la synthèse vitelline.

Rappelons également qu'en culture isolée, on observe parfois la réapparition d'ilôts mâles. Cette constatation pose le problème du devenir de la lignée mâle au moment du changement de sexe.

#### 4) Gonades de femelles

Chez les femelles en début d'ovogenèse, les résultats des cultures isolées sont semblables à ceux obtenus dans des gonades de patelles en inversion. Dans les explants prélevés chez des individus en vitellogenèse et en ponte, les gros ovocytes dégénèrent, par contre les jeunes éléments, en petit accroissement, ne subissent pas de lyse.

En conclusion, les cultures isolées de gonades démontrent qu'il n'existe pas d'hormone inhibitrice de l'autodifférenciation ovarienne. Elles suggèrent par contre, l'existence d'un facteur inhibiteur de la spermatogenèse.

#### B - Rôle du tentacule

Le tentacule présente des relations nerveuses avec le ganglion cérébroïde; l'ensemble constitue ce que nous avons appelé le complexe céphalique. Son rôle endocrine a été démontré par PELLUET et LANE (1961), PELLUET (1964) et BADINO (1967) chez les <u>Arionidae</u> et par STREIFF (1967) chez <u>Calyptraea sinensis</u>.

## 1) Chez les animaux en phase mâle

Une gonade prélevée au cours du stade de repos et cultivée en association autologue ou homologue avec un tentacule ne subit pas de rupture de la période de repos. L'épithélium germinatif reste inactif. Lorsque l'association est effectuée pendant la spermatogenèse, les gonies en évolution dégénèrent. Cette pycnose n'est suivie d'aucune reprise d'activité. La gonade revient à un état quiescent.

Lorsqu'on cultive isolément une gonade prélevée en phase de repos mâle, on observe une autodifférenciation. Un tronçon de la même glande génitale associé à un tentacule d'animal en repos ou en en gamétogenèse fait retour au repos alors que le fragment qui reste isolé poursuit son évolution.

Ces résultats montrent qu'in vitro, les tentacules préviennent toute reprise de la spermatogenèse et maintiennent les explants en phase de repos.

## 2) Chez les patelles en inversion

L'association autologue des tentacules n'a aucun effet sur la lignée femelle. Il convient de signaler que les ilôts mâles n'apparaissent jamais. Cette constatation nous incite à penser que le tentacule semble garder son pouvoir inhibiteur au moment du changement de sexe. Cette hypothèse est vérifiée par les associations hétérologues : le tentacule d'un animal en inversion est capable de bloquer l'évolution d'une gonade en phase mâle et de prolonger la période de repos.

## 3) Chez les femelles

Les résultats des associations hétérologues pratiquées entre tentacules de femelles et gonades de patelles en phase mâle ne sont pas uniformes. Dans certains cas, les tentacules se comportent comme ceux d'un animal en inversion ; dans d'autres cas, ils sont inefficaces et incapables de bloquer l'évolution spermatogénétique. Les résultats négatifs ont été surtout enregistrés avec des explants provenant de femelles de grande taille. Cette observation nous incite à penser que le tentacule perd son rôle endocrine chez les femelles âgées où la lignée mâle semble ne plus exister ; histologiquement elle n'est plus décelable et expérimentalement, elle n'apparaît pas.

En conclusion, on pourrait penser que le tentacule est un organe endocrine qui entrerait en fonction au moment de la puberté. Son rôle essentiel serait d'instituer les phases de repos sexuel pendant la phase mâle et d'inhiber définitivement la lignée mâle au moment de l'inversion du sexe.

#### C - Rôle du cerveau

## 1) Chez les patelles en phase mâle

Un fragment de gonade explanté en période de repos et associé aux ganglions cérébroïdes du donneur est le siège d'une spermatogenèse plus intense que celle du tronçon de la même gonade cultivé isolément. Les mitoses y sont plus abondantes (fig. 21). Toutefois, même en présence de plusieurs cerveaux (associations homologues) la spermatogenèse est toujours moins abondante que celle d'une glande génitale prélevée en période de reproduction naturelle.

Ces résultats montrent que le cerveau stimule les mitoses mâles ; il libèrerait une gonadostimuline.

Les associations autologues réalisées en début de gamétogenèse montrent que le cerveau assure, <u>in vitro</u>, le maintien de l'activité génitale : les gonies ne se lysent pas, la spermatogenèse se poursuit. Le taux de mitoses est plus élevé que dans les explants prélevés en période de repos et cultivés en présence des ganglions cérébroïdes du donneur (fig. 21).

Ces résultats confirment l'existence d'un facteur mitogène cérébral et montrent que ce dernier est plus actif en début de gamétogenèse qu'en période de repos. Il semble donc exister un cycle sécrétoire qui se superpose au cycle annuel de la gonade.

#### 2) Chez les femelles

a) en début d'ovogenèse, nous avons vu que les ovaires cultivés isolément ne poursuivent pas leur évolution. En association autologue avec le cerveau, l'ovogenèse se déroule : les ovogonies se multiplient, les ovocytes primordiaux subissent la prophase hétérotypique.

Le cerveau des patelles femelles, comme celui des animaux en phase mâle, exerce donc une action mitogène sur les gonies. Existe-t-il deux gonadostimulines : l'une libérée par le cerveau des femelles, l'autre existant uniquement au début de la vie ? Au contraire, s'agit-il d'un même facteur cérébral capable d'agir sur les gonies des deux lignées ?

Les associations hétérologues montrent que le système nerveux central d'une femelle en début d'ovogenèse est capable de stimuler les mitoses mâles.

Il convient de signaler que ces associations n'induisent pas de changement de sexe. Inversement les ovogonies sont sensibles à l'action du cerveau d'un animal en spermatogenèse.

Ces résultats sont donc en faveur de la seconde hypothèse émise : il n'existe qu'une seule gonadostimuline.

L'évolution de la lignée femelle est donc sous la dépendance du facteur mitogène cérébral. Toutefois, l'entrée d'ovocytes en vitellogenèse est conditionnée par la présence, <u>in vitro</u>, du cerveau d'un animal en début d'ovogenèse. Les globules vitellins apparaissent dans le cytoplasme mais nous n'avons pas obtenu de vitellogenèse complète en culture. Comme STREIFF (1967), nous pensons qu'il existe un facteur cérébral apparaissant chez les femelles en début d'ovogenèse et qui est nécessaire à l'entrée en vitellogenèse.

- b) Chez les femelles en période de ponte, les associations autologues et hétérologues se sont révélées inefficaces. Il semble que le cerveau cesse toute activité endocrine et que, de plus, les ovogonies ne soient pas réceptives aux influences humorales.
- c) Chez les animaux en inversion, les résultats enregistrés en culture sont identiques à ceux obtenus chez une femelle en début d'ovogenèse.

Les expériences réalisées <u>in vitro</u> chez <u>P. vulgata</u> ont permis de démontrer l'existence d'une gonadostimuline cérébrale. Chez les animaux en phase mâle, ce facteur mitogène atteint son maximum d'activité en début de gamétogenèse, il assure alors le maintien de la spermatogenèse.

Les expériences d'ablation élective des ganglions cérébroïdes pratiquées in vivo au cours de la gamétogenèse montrent que l'absence du cerveau est néfaste au déroulement de la spermatogenèse. Les patelles opérées subissent un arrêt de la gamétogenèse et une émission plus précoce des produits génitaux. Ces résultats sont donc en concordance avec ceux enregistrés en culture.

Au cours de l'inversion et au début de l'ovogenèse, ce facteur mitogène s'exerce sur la lignée femelle permettant sa prolifération. Le déroulement normal de cette gamétogenèse serait conditionné par la libération d'un facteur cérébral de vitellogenèse. Chez les femelles en période de ponte, le cerveau est inactif.

Nous avons vu précédémment que, chez les individus en phase mâle, existe un facteur inhibiteur de la lignée spermatogénétique qui serait responsable de l'apparition des phase de repos sexuel. Te facteur, qui persiste au moment de l'inversion, est antagoniste de celui émis par le cerveau. <u>In vitro</u>, le cycle de la gonade est sous la dépendance de ces deux organes. Quels peuvent être alors les rôles respectifs du tentacule et du cerveau au cours de la vie ?

#### D - Associations avec le complexe tentacule-cerveau

Les fragments de gonade prélevés chez un animal en phase mâle, en période de repos, et cultivés avec le complexe du donneur se comportent comme s'ils étaient en présonce du seul tentacule : la lignée mâle n'évolue pas. Par contre, les ovogonies sont activées, des mitoses sont décelables. Les ovocytes peuvent poursuivre leur euxocytose ; toutefois, aucune synthèse vitelline ne s'y déroule.

Les associations autologues effectuées en début de spermatogenèse aboutissent à des résultats identiques à ceux obtenus en culture avec cerveau. Toutefois, aucune mitose ovogoniale n'est décelable.

Il convient de signaler que ces résultats sont conformes à ceux révélés par l'étude de la spermatogenèse naturelle (deuxième partie, Chapître I). Ces observations montrent qu'en période de repos, le tentacule a une action prépondérante alors qu'au cours de la spermatogenèse, l'influence du cerveau est déterminante.

Pendant la période de repos, la faible activité du cerveau (fig. 21) ne permet pas à ce dernier d'activer la lignée mâle bloquée par le tentacule. Comme le facteur mitogène subsiste, il s'exerce sur la lignée femelle ; cette constatation constitue un nouvel argument en faveur de l'existence d'une seule gonadostimuline.

Au début de la période de reproduction, l'activité cérébrale est intense, elle permet la prolifération de la lignée mâle.

Comme il n'existe qu'une gonadostimuline et que les deux lignées coexistent dans la gonade en phase mâle, pourquoi les éléments ovogénétiques ne deviennent-ils pas fonctionnels dès la puberté ? Pourquoi l'association d'une gonade en phase mâle avec le cerveau entraîne-t-elle une spermatogenèse intense sans ovogenèse concomitante ?

Il est possible qu'il existe un seuil de réceptivité des gonies aux stimuli cérébraux. Les éléments spermatogenétiques seraient plus sensibles que les ovogonies. Nous avons entrepris des expériences de destruction élective de la lignée mâle, à l'aide des R.X.; cette étude nous permettra peut-être d'apporter une réponse précise à ce problème.

# E - Les rapports entre tentacule et cerveau

Nous avons vu qu'au cours du cycle des patelles en phase mâle, existait un antagonisme entre le tentacule et le cerveau. Quels sont les rapports anatomiques et physiologiques entre ces deux organes ?

1) Nous savons que trois troncs nerveux issus du cerveau pénètrent dans le tentacule : le nerf tentaculaire, le nerf optique et le nerf du bourrelet (ou nerf tégumentaire). Du point de vue circulation, l'aorte antérieure atteint la tête et s'y résoud en un sinus céphalique situé au voisinage du cerveau. L'étude histologique du tentacule a montré d'autre part, qu'il existait des espaces sanguins particulièrement nombreux au voisinage de l'oeil et à l'extrémité du filament. Selon BOUTAN (1900), DAVIS et FLEURE (1903) le sang qui irrigue la région céphalique est repris par des sinus veineux qui

confluent dans la veine pédieuse. Cette dernière fait retour à l'oreillette. Il conviendra, dans l'avenir, de rechercher s'il n'existe pas un système neuro-hémal céphalique.

2) Quels sont les rapports physiologiques entre tentacule et ganglion cérébroïde ? Certaines expériences (associations de gonades en phase mâle avec le complexe entier) suggèrent l'existence d'une inhibition tentaculaire sur le cerveau. Cette hypothèse serait acceptable si le tentacule seul était incapable d'inhiber la lignée mâle ; or, les expériences <u>in vitro</u> nous prouvent le contraire. Il faut donc admettre que deux facteurs endocrines régissent le cycle de la gonade : l'un issu du tentacule, l'autre du cerveau.

Cependant, pour tenter de savoir si ces deux organes étaient autonomes, nous avons pratiqué des cultures de gonades en phase mâle, prélevées en période de repos, avec le complexe dissocié. Dans ce cas, le fragment de glande génitale est placé, sur le milieu, entre le tentacule et le cerveau. Les résultats ont montré que la lignée mâle peut évoluer dans les acini voisins du cerveau alcr; qu'elle reste quiescente dans les follicules contigus au tentacule. Il convient toutefois de signaler que la spermatogenèse est peu intense. Ces observations nous incitent à penser que les connexions nerveuses ou sanguines existant entre ces deux organes pourraient intervenir dans la réalisation des mécanismes régulateurs du cycle sexuel. Des expériences complémentaires s'avèrent nécessaires.

3) Quelle peut être l'origine des substances émises par le complexe céphalique? Le facteur inhibiteur semble être localisé dans le filament tentaculaire (troisième partie, chapître III). Nous ne pouvons par préciser actuellement quel est le tissu responsable de cette sécrétion. Les études cytochimiques ainsi que les recherches en microscopie électronique nous permettront, peut-être, de résoudre ce problème.

En ce qui concerne l'origine de la gonadostimuline, nous avons signalé, précédemment, que le cortex des ganglions cérébroïdes renferme des gros neurones. Ces derniers présentent des granulations Gomori positives à la fin de la période de repos et en début de gamétogenèse. Ils en paraissent dépourvus pendant le reste du cycle sexuel. Il est possible qu'il y ait une relation directe entre la présence de ces granulations et l'état d'activité du cerveau. Des recherches plus précises sont nécessaires car, en l'abscence de résultats

en microscopie électronique, il ne nous est pas permis de considérer ces cellules comme étant neurosécrétrices.

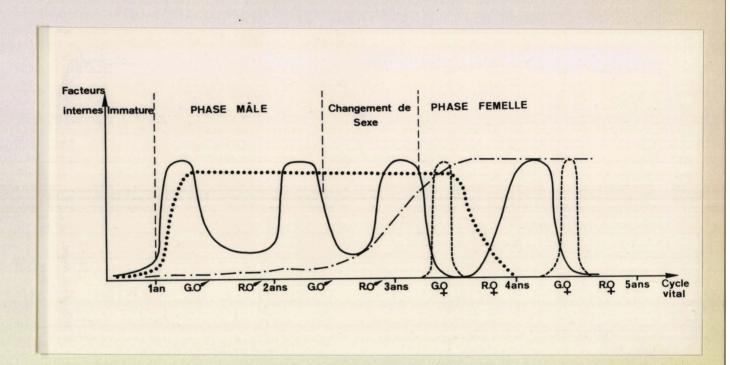


Fig. 31 - Schéma des mécanismes endocrines régissant le cycle de la gonade chez

# P. vulgata L.

G : Période de gamétogenèse

R : Période de repos

--- Gonadostimuline cérébrale

--- Facteur de vitellogenèse

... Hormone inhibitrice tentaculaire

-.- Evolution de la lignée femelle.

#### F - Conclusion

La figure 31 représente l'évolution des mécanismes endocrines régissant le cycle de la gonade chez <u>P. vulgata</u>. Il a été établi pour la durée de vie maximale de certains animaux des côtes du Boulonnais et en supposant que l'inversion sexuelle survienne après deux cycles spermatogénétiques. Nous avons vu en effet (deuxième partie, chapître II) que la durée relative des séquences mâle et femelle n'est pas identique pour tous les individus.

Le cycle vital a été divisé en quatre périodes : immature, phase mâle, changement de sexe, femelle. En abscisse ont été délimitées pour chaque cycle annuel les périodes de repos et de gamétogenèse. Quatre courbes ont été tracées : l'une en trait plein représente les variations du taux de gonadostimuline cérébrale ; celle en pointillé est relative au facteur inhibiteur tentaculaire. La courbe en trait discontinu correspond à la libération de l'hormone de vitellogenèse. Nous avons également matérialisé l'évolution progressive de la lignée femelle au cours de la vie (courbe en trait-point).

Les données essentielles apport, par cette figure correspondent aux résultats originaux obtenus :

- Jusqu'à l'approche de la puberté, la gonade n'est soumise à aucune influence endocrine. Il n'existe pas d'hormone inhibitrice de l'autodifférenciation ovarienne.

La maturité sexuelle mâle est caractérisée par une différenciation spermatogénétique maintenue par le facteur mitogène cérébral.

Au cours de la phase mâle existe un facteur inhibiteur tentaculaire responsable de la quiescence des spermatogonies pendant la période de repos.

La gamétogenèse semble déclenchée par une augmentation du taux de gonadostimuline cérébrale.

- Chez une patelle en phase mâle, au cours des périodes de repos, la lignée femelle prolifère.
- L'apparition du changement de sexe est conditionnée par la persistance de l'inhibition tentaculaire sur la lignée mâle. La gonade qui a atteint le stade de préinversion présente une prolifération des éléments ovogénétiques sous l'influence du facteur cérébrai. L'inversion sexuelle complète serait sous la dépendance d'une hormone de vitellogenèse libérée par les ganglions cérébroïdes.

- La phase femelle est régie par le cerveau. Le tentacule perd son pouvoir inhibiteur ; la lignée mâle semble d'ailleurs avoir disparu.

L'étude expérimentale du déterminisme du sexe chez <u>Patella vulgata</u> L. montre que deux organes à potentialités endocrines régissent le cycle de la gonade au cours de la vie : le tentacule et le cerveau.

Il nous a semblé nécessaire de comparer nos résultats avec ceux enregistrés par des auteurs ayant effectué des recherches similaires chez des Mollusques Gastéropodes hermaphrodites ou chez d'autres Invertébrés.

#### III - LE DETERMINISME DE LA SEXUALITE CHEZ LES INVERTEBRES

#### A - Etude expérimentale chez les Gastéropodes

Nous envisagerons successivement les travaux effectués chez les Arionidae, les Helicidae et les Calyptraeidae.

#### 1) Les Pulmonés

Chez <u>Arion subfuscus</u> Drap, <u>A. ater</u> et <u>Milax</u> sp, <u>PELLUET</u> et LANE (1961) et <u>PELLUET</u> (1964) ont effectué des expériences d'ablations et d'injections d'extraits et étudié, corrélativement, les variations du nombre d'ovules dans les acini de l'ovotestis. Nous avons réuni ces données dans le tableau XXIII.

#### TABLEAU XXIII

Variation du taux d'ovules dans les acini de la gonade d'Arion et de Milax en fonction du type d'intervention. (d'après les travaux de PELLUET et LANE)

( Type d'intervention (	Effet produit sur le taux d'ovules )
Ablation des tentacules optiques	Augmentation du nombre d'ovules
( Ablation tentaculaire + injec- ( tion d'extrait de tentacule	Maintien du nombre normal d'ovules
Injection d'extrait tentaculaire sur un animal intact	Maintien du nombre mormal d'ovules )
(Injection d'extrait de cerveau	: Augmentation du nombre d'ovules
Injection d'extrait mixte cerveau - tentacule	) Maintien du nombre normal d'ovules ) )

Selon ces auteurs, les tentacules inhiberaient l'ovogenèse et permettraient la prolifération de la lignée mâle; d'autre part, la production d'ovules serait sous le contrôle d'une hormone cérébrale. Chez la jeune limace, les deux hormones seraient libérées mais c'est le facteur tentaculaire qui serait produit le premier; il contrôlerait la formation des spermatozoïdes. Son action serait prédominante sur celle de l'hormone féminisante cérébrale; cette dernière ne pourrait donc intervenir sur la différenciation des ovules. L'hormone femelle devient active à la maturité sexuelle et détermine la phase ovogénétique. Chez l'adulte, il existerait un balancement entre les deux hormones et, si le facteur cérébral est plus puissant que l'influence tentaculaire, le nombre d'ovules produits peut être supérieur à la normale.

Ces résultats apportent une première contribution au déterminisme endocrine du sexe chez certains Pulmonés, mais cette étude nous amène à émettre quelques réserves. Elles tiennent essentiellement au fait que la spermatogenèse n'a pas été étudiée et que l'ablation élective du certeau n'a pas été pratiquée.

Récemment, BADINO (1967) reprend, <u>in vitro</u>, les expériences réalisées <u>in vivo</u> par PELLUET et LANE. Un fragment de gonade <u>d'Arion rufus</u> Drap. cultivé isolément présente une activité mâle normale et de gros ovocytes à cytoplasme acidophile. L'association du tentacule et du cerveau n'a aucune influence sur la spermatogenèse; par contre, elle entraîne un arrêt de l'évolution des ovocytes. Dans un tronçon cultivé en présence du ganglion cérébroïde seul, les éléments mâles ne subissent aucune prolifération mais le nombre des ovocytes en phase d'accroissement augmente. Enfin, le tentacule provoque, dans la gnnade qui lui est associée, une spermatogenèse active et le blocage de la croissance ovocytaire.

Ces résultats confirment l'existence d'une inhibition de la lignée femelle par le tentacule oculaire et celle d'un facteur cérébral nécessaire à la maturation des ovocytes. Chez A. rufus, qui est un hermaphrodite simultané, la lignée mâle évolue en l'abscence de toute influence interne, le cerveau n'aurait aucun rôle sur la spermatogenèse. Ces résultats sont en opposition avec ceux obtenus chez les Prosobranches C. sinensis et P. vulgata.

Ils sont également différents de ceux rapportés par GUYARD et GOMOT (1964), GOMOT et GUYARD (1964) chez <u>Helix pomatia</u> L. En effet selon eux, "Le complexe nerveux céphalique a une influence très nette sur la différenciation de la glande hermaphrodite des jeunes aminaux."

Ces auteurs ont d'abord remarqué que l'addition d'hémolymphe d'escargot au milieu provoque, dans la glande hermaphrodite, la croissance des ovocytes et la différenciation des spermatogonies en spermatozoïdes et que le même effet est produit par l'association de complexe nerveux céphalique (collier nerveux).

Poursuivant ses recherches, GUYARD (1967) a pu provoquer la féminisation de l'ovotestis juvénile en l'associant à des ganglions cérébroïdes d'animal adulte en période d'ovogenèse. L'apparition de l'onde ovogénétique est obtenue également en remplaçant le cerveau d'Helix aspersa par celui de la Paludine femelle: Vivipara vivipara L. qui est un Prosobranche Monotocarde gonochorique. Ces résultats, très prometteurs, sont en faveur de l'existence d'un déterminisme endocrine de la sexualité chez les Pulmonés. De plus, GUYARD souligne qu'"il semble que le comportement cérébral endocrine de l'hermaphrodite H. aspersa un période d'ovogenèse puisse être comparé à celui d'une femelle vraie appartenant à une espèce gonochorique."

2) <u>Chez les Prosobranches</u>, nous avons rapporté, au cours de notre travail, les résultats obtenus par STREIFF chez <u>Calyptraea sinensis</u>; ils présentent des analogies avec ceux que l'étude de <u>P. vulgata</u> nous fournit. Chez ces deux genres, très éloignés du point de vue organisation de l'appareil génital et qui présentent des cycles vitaux différents, existent des points communs quant au déterminisme du cycle de la gonade. Ils portent notamment sur l'existence d'une hormone cérébrale qui stimule les mitoses goniales. Dans ces deux cas, ce facteur est responsable du maintien de la spermatogenèse.

Chez Calyptraea existe une autodifférenciation ovarienne que nous ne retrouvons pas chez Patella vulgata; son existence, chez les Pulmonés n'a pas été démontrée bien que les recherches effectuées chez Helix permettent de l'envisager. Chez P. vulgata, l'évolution de la lignée femelle est progressive et contrôlée par un facteur cérébral; une telle influence du système nerveux sur les gonies se retrouve chez Helix .pomatia. Chez ces deux Gastéropodes, il existerait donc une véritable gonadostimuline cérébrale. D'autre part, l'apparition de la phase femelle fonctionnelle semble conditionnée par la libération d'une hormone émise par les ganglions cérébroïdes d'animal en inversion (Calyptraea, Patella) ou d'individu en ovogenèse (Helix, Calyptraea, Patella); le cerveau serait nécessaire pour que la vitellogenèse s'effectue. Ces résultats sont à rapprocher de ceux de PELLUET chez Arion subfuscus, A. ater et Milax sp. et BADINO chez A. rufus.

Le rôle endocrine du tentacule au cours du cycle de la gonade n'est mentionné que chez Arion et chez Patella. En effet, si, chez Calyptraea, il intervient dans l'évolution du tractus génital mâle, il ne semble avoir aucune influence sur la gonade, bien que STREIFF ne signale pas de cas d'association avec des glandes génitales. Chez P. vulgata, les expériences réalisées in vitro montrent que le tentacule se comporte comme un centre inhibiteur de la lignée mâle. Ces résultats sont en opposition avec ceux obtenus par BADINO chez Arion rufus.

Tous les auteurs sont unanimes pour admettre que chez les Gastéropodes hermaphrodites, il existe des organes neurocondocrines ou neuro-hémaux intervenant dans le comportement de la lignée germinale. Cependant, de l'ensemble des recherches expérimentales, se dégage une impression d'hétérogénéité des mécanismes internes régissant le cycle de la gonade. Il convient toutefois de rappeler que l'évolution des gonies mâle et femelle au cours de la vie présente des modalités différentes selon que l'on étudie des hermaphrodites simultanés (Pulmonés) ou protandres (Prosobranches). Il n'est pas improbable que les corrélations endocrines soient différentes dans les deux types sexuels.

# B - Etude expérimentale chez d'autres Invertébrés

Si, chez les Gastéropodes, la physiologie sexuelle semble essentiellement contrôlée par des organes neuro-endocrines, par contre, chez certains Invertébrés, d'autres facteurs sont susceptibles d'intervenir dans ce mécanisme.

# 1) Facteurs gonadiques

- a) Chez l'Hydre gonochorique stable Hydra fusca L., BRIEN (1963) pratique la greffe longitudinale d'individus de sexe différent. Dans le polype chimère, la gamétogenèse se déclenche plus rapidement sur la face génétiquement mâle. La face femelle paraît inhibée et elle se masculinise si l'ovogenèse n'a pas eu le temps de s'effectuer. Une substance élaborée dans la paroi mâle en gamétogenèse se répand dans la paroi femelle dont le sexe se trouve inversé.
- b) Chez la Némerte gonochorique <u>Lineus ruber</u> Müller, BIERNE (1967) réalise, par greffes, des chimères hétérosexuées. La partie mâle reste sexuellement stable, par contre, dans la partie femelle, apparaît une masculinisation de l'ovaire. Il existerait un facteur androgène d'origine testiculaire, agissant sur la région femelle et dont l'existence est confirmée par

les parabioses hétérosexuées (BIERNE, 1968). La localisation exacte de l'origine de ce facteur reste à préciser. D'autre part, BIERNE envisage l'existence d'un rapport éventuel avec l'hormone cérébrale inhibitrice de la maturation génitale femelle (BIERNE, 1966).

### 2) Facteurs cérébraux

Ainsi, chez les Némertes, il est possible que le cerveau intervienne dans la différenciation du sexe. Cet organe semble jouer un rôle important chez les Mollusques. En effet, chez <u>Patella vulgata</u>, les associations, <u>in vitro</u>, de gonades de sexe différent, ainsi que les cultures sur milieu contenant des extraits de glandes génitales, montrent qu'il n'existe pas de facteur hormonal génital.

D'autre part, aucun organe, physiologiquement homologue de la glande androgène des Crustacés, n'a été décrit chez les Mollusques. Les travaux expérimentaux réalisés chez des Pulmonés et des Prosobranches hermaphrodites montrent que le cerveau assure le maintien de la spermatogenèse et qu'il libèrerait un facteur responsable du déclenchement de la vitellogenèse. Il intervient donc dans le changement de sexe.

3) Rapports entre glandes androgènes et neurosécrétion

Chez certains Arthropodes, la différenciation sexuelle est sous la dépendance de glandes endocrines soumises à un contrôle d'origine cérébrale.

# a) Chez les Insectes

Chez le Coléoptère Lampyris noctiluca L., NAISSE (1966 a, b) constate que les gonades sont indifférenciées à la naissance. Au cours de l'organogenèse, apparaît, dans les follicules testiculaires, un tissu apical non germinal, dont elle démontre la fonction androgène. Elle décrit trois types de neurosécrétions cérébrales et pense que l'un d'eux interviendrait dans les processus de sexualisation mâle. La maturation femelle serait régie par les corps allates, sous le contrôle du cerveau. Par ablations (1966 c), par expériences de parabioses (1968 a) et de greffes (1968 b), NAISSE démontre que l'apparition du tissu apical, source d'hormone androgène, est influencée par les neurohormones sécrétées par le cerveau mâle.

Chez Lampyris noctiluca, le rôle du cerveau dans la différenciation

mâle a donc pu être démontré d'une manière irréfutable.

## b) Chez les Crustacés

Chez l'Amphipode Orchestia gammarella Pallas,
CHARNIAUX-COTTON (1954) a mis en évidence une glande androgène, annexée au
canal déférent et qui sécrète une hormone responsable de la différenciation
des caractères sexuels primaires et secondaires mâles. Cet organe existe également chez les Isopodes (LEGRAND, 1958) et chez d'autres Malacostracés (JUCHAULT,
1967).

Certains auteurs ont pu montrer en outre que le système nerveux intervenait également dans ce contrôle.

- Chez l'Isopode hermaphrodite protandre Anilocra physodes L., la gonade est indifférenciée à la naissance (JUCHAULT, 1966). Le pédoncule oculaire (organe de BELLONCI, sinus) et les cellules neurosécrétrices de la chaîne nerveuse des mâles sécrètent une neurohormone qui stimule la glande androgène JUCHAULT et LEGRAND, 1965). L'inversion sexuelle résulterait d'une diminution de la sécrétion neurohormonale qui se comporte comme une androstimuline.
- Chez <u>Porcellio dilatatus</u> Brdt, existent des individus intersexués; ils fonctionnent comme femelles mais présentent des caractères externes de type pseudo-hermaphrodite.
- Récemment, BERREUR-BONNENFANT (1968) a pu mettre en évidence, en culture organotypique, le rôle du cerveau sur la gamétogenèse de trois Peracarides : O. Gammarella, Talitrus saltator Mont et Meinertia oestroïdes Risso (Isopodes à hermaphrodisme protandre).

Chez ce dernier, elle a pu reproduire, <u>in vitro</u>, l'inversion sexuelle. La gonade des jeunes mâles présente des caractères hermaphrodites, ce qui n'est pas sans analogie avec ce que nous avons décrit chez <u>P. vulgata</u>.

Le cerveau mâle est nécessaire pour que la spermatogenèse se poursuive en culture. Les zones germinatives ne manifestent pas de signes de dégénérescence et la spermatogenèse se poursuit normalement. Ces résultats sont superposables à ceux que nous obtenons, in vitro, chez les P. vulgata en phase mâle.

Le cerveau mâle est capable d'arrêter la dégénérescence testiculaire amorcée dès le début d'inversion. D'autre part, le cerveau des femelles est incapable de favoriser l'activité testiculaire et accélère le changement de sexe.

Cette variation de l'activité cérébrale est sous la dépendance de la glande androgène. Celle-ci, au cours de la phase mâle, stimule le cerveau et l'amène à élaborer le facteur nécessaire à la zone germinative mâle. "Au moment de l'inversion, la glande androgène disparaît, le cerveau acquiert alors des caractères d'un cerveau de femelle."

Ces résultats obtenus chez des Invertébrés acoelomates et coelomates montrent que des facteurs hormonaux de la différenciation du sexe existent dans de nombreux groupes et que les mécanismes impliqués dans ce processus sont complexes et variés.

Les travaux que nous avons entrepris, chez <u>P. vulgata</u>, s'intègrent dans le cadre des recherches sur le déterminisme de la sexualité chez les Mollusques; toutefois, les résultats obtenus présentent certaines analogies avec ceux rapportés par BERREUR-BONNENFANT pour des Crustacés Peracarides.

De toute manière, chez les Gastéropodes, les résultats sont encore trop fragmentaires pour que l'on puisse en faire une synthèse. Remarquons cependant que les hypothèses de COE (1945) paraissent fondées : chez les Mollusques hermaphrodites, le déterminisme du sexe semble être régi par des facteurs endocrines.

En ce qui concerne <u>P. vulgata</u>, il semble que le rôle du cerveau sur l'activité mitotique de la gonade puisse être retenu définitivement ; celui du tentacule demande à être précisé. De nouvelles expériences, putrsuivies <u>in vitro</u> et <u>in vivo</u> et une étude en microscopie électronique du complexe céphalique doivent être entreprises.

#### RESUME

L'étude du cycle biologique et de l'inversion du sexe chez le Mollusque Gastéropode Prosobranche <u>Patella vulgata</u> nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

#### Première partie

- 1 L'utilisation de critères tels que l'étude biométrique du coefficient radulaire (R/C) et l'examen microscopique des dents pluricuspidées et unicuspidées de la radula nous a montré que seule l'espèce P. vulgata était présente sur la côte boulonnaise.
  Bien que spécifiquement homogène, la population présente des variations phénotypiques. On constate, en effet, une diminution du rapport R/C (longueur de la radula par rapport à celle de la coquille) entre les individus des hautes niveaux et ceux de la partie inférieure de la zone intercotidale.
- 2 L'étude du cycle reproducteur et de l'évolution de la sexualité a permis de montrer que la sex-ratio est caractérisée par la nette prépondérance du nombre des mâles sur celui des femelles. La plupart des animaux sont mâles à la première maturation. Le taux de mâles diminue avec l'augmentation de la taille ; inversement la proportion des femelles croît. Ces variations sont en relation avec l'existence d'un hermaphrodisme protandre. Le changement de sexe survient essentiellement pendant la phase d'inactivité sexuelle et peut se produire chez des animaux de taille variable.
- 3 L'étude de la croissance et de la longévité de P. vulgata, effectuée essentiellement par la technique des marquages d'animaux dans leur biotope naturel, nous a apporté les résultats suivants:

  La croissance annuelle dépend de la période d'éclosion et des conditions climatiques. Au cours du cycle annuel, elle est irrégulière et subit des variations saisonnières. L'accroissement de taille n'est pas homogène

pour l'ensemble de la population d'une station : il diminue en fonction directe de l'âge, il est perturbé au cours de la gamétogenèse et il est plus important chez les animaux vivant sous les <u>Fucus</u> que chez ceux peuplant les rochers dépourvus de couverture végétale.

La longévité possible est de 5 à 6 ans ; à cet âge, les patelles atteignent, sur nos côtes, une longueur d'environ 50 mm.

#### Deuxième partie

- 4 La gonade juvénile est bisexuée. Chez un individu de 3 mm, les cellules souches des deux lignées coexistent dans le follicule primordial puis dans les acini qui se forment au cours de la croissance somatique de la gonade.
  - A la maturité sexuelle, les ovogonies ne dégénèrent pas mais restent quiescentes ; par contre, les spermatogonies se multiplient et la phase mâle fonctionnelle apparaît.
- 5 Les éléments ovogénétiques existent chez tous les individus en phase mâle sous forme de nids d'ovogonies et d'ovocytes. Leur densité s'accroît au cours des périodes de repos sexuel pour atteindre finalement un stade que nous qualifions de préinversion. C'est alors que, sans doute sous l'influence d'une impulsion hormonale, la vitellogenèse se déclenche et entraîne le changement de sexe de la gonade.

### Troisième partie

6 - Les cultures isolées de gonades d'animaux en phase mâle montrent qu'il est possible, expérimentalement, de rompre le stade de repos et de provoquer une spermatogenèse précoce. Ce résultat permet de penser qu'il existe un facteur inhibiteur interne de la gamétogenèse mâle.

La maintien in vitro de gonades juvéniles ou de glandes génitales au stade de préinversion n'entraîne pas de prolifération ovogoniale. Il n'existe donc pas de facteur inhibiteur de l'autodifférenciation ovarienne.

- 7 In vitro, les tentacules préviennent toute reprise de la spermatogenèse et maintiennent les explants en phase de repos. Les associations autologues réalisées avec des gonades de patelles en inversion montrent que le tentacule n'a aucun effet sur la lignée femelle et qu'au moment du changement de sexe, il garde son pouvoir inhibiteur sur la lignée mâle. Son rôle essentiel serait d'instituer les périodes de repos sexuel pendant la phase mâle et d'inhiber définitivement la lignée spermatogénétique au moment de l'inversion.
- 8 Le cerveau stimule les mitoses mâles. Le facteur mitogène qu'il libère est plus actif en début de gamétogenèse qu'en période de repos. Les associations homologues et hétérologues montrent qu'il n'existe qu'une seule gonadostimuline exerçant une action dynamique sur les mitoses goniales. Toutefois, in vitro, l'entrée d'ovocytes en vitellogenèse est conditionnée par la présence du ganglion cérébroïde d'un animal en inversion ou en début d'ovogenèse. Ce facteur cérébral de vitellogenèse semble agir à la manière d'une impulsion car le cerveau devient inactif chez un animal mûr ou en période de ponte.
- 9 L'ablation élective des ganglions cérébroïdes entraîne un arrêt de la gamétogenèse et une émission plus précoce des produits génitaux. L'absence de cerveau est donc néfaste au déroulement de la spermatogenèse.
- 10 Les expériences d'associations de gonades en phase mâle avec le complexe céphalique (tentacule + cerveau) montrent qu'en période de repos, le tentacule a une action prépondérante alors qu'au cours de la spermatogenèse, l'influence du cerveau est déterminante.
- 11 L'étude histologique du complexe céphalique a permis de montrer que le cortex cérébral présente plusieurs catégories de neurones dont l'une est peut- être de nature neurosécrétrice et qu'il existe un organe juxtaganglionnaire plaqué contre chaque ganglion cérébroïde. L'extrémité du tentacule présente un amas de cellules glandulaires traversé par des

fibres nerveuses, sa structure ressemble à celle du "bouton terminal" décrit chez Helix aspersa.

12 - La recherche de la localisation du centre inhibiteur tentaculaire entreprise par associations de fragments de la même gonade avec divers tronçons
de tentacule a permis de constater que seul le filament tentaculaire est
capable d'assumer le même rôle que l'organe entier. Il semblerait que le
tissu endocrine y soit situé, peut être au niveau du bouton terminal dont
l'étude en microscopie électronique est nécessaire.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 ABE (N.)., 1932. The age and growth of the limpet Aemaea dorsuata. Sci. Rep. Tohoku Univ., 7, 347-363.
- 2 ALBANESE (M.P.)., 1964. Passagio di nucleoli attraverso la membrana nucleolare negli ovociti in accrescimento di <u>Patella ceorulea</u>. Experientia, Suisse, 20, 10, 550-553.
- 3 ALBANESE (M.P.) et DONATO (A.)., 1963. Aspetti citochimici del nucleo degli ovociti in accrescimento di <u>Haliotis lamellosa</u> Lamarck.

  Atti. Soc. Pelorit. Sc. Fis Mat, 10, 3, 219-227.
- ANCEL (P.)., 1903. Histogenèse et structure de la glande hermaphrodite d'Helix pomatia L.

  Arch. Biol., 19, 389-652.
- 5 ANKEL (W.E.)., 1926. Spermiczeugmenbildung durch atypische (apyrene) und typische Spermien bei Scala und Janthina.

  Verh. dtsch. Zool. ges., Zool. Arz, Suppl. 2, 193-202.
- 6 ANKEL (W.E.)., 1930. Die atypische Spermatogenese von <u>Janthina</u> (Prosobranchia, Pterioglossa).

  Z. Zellforsch., 11, 491-608.
- 7 ANKEL (W.E.)., 1936. Prosobranchia. In Grimpe, G et E. Wagler: Die Tierweld der Nord und Ost see. IX b l. Leipzig Akademische Verlagsgesellschaft.
- 8 ANSELL (A.D.)., 1961. Reproduction, growth and mortality of Venus striatula Da Costa in the Kames Bay, Millport.

  J. Mar. biol. Ass. U.K., 41, 191-215.
- 9 ANSELL (A.D.), LANDER (K.F.), COUCHLAN (J.) et LOOSMORE (F.A.)., 1964. Studies on the hard shell clam <u>Venus mercenaria</u> in British waters.

  I. Growth and reproduction in natural and experimental colonies.

  J. appl. Ecol, 1, 63-82.
- 10 AMEMIYA (J.)., 1935. Effect of gill excision upon the sexual differentiation of the oyster (Ostrea gigas).

  Rept. Jap. Ass. Adv. Sci., 10, 1023-1026.

- 11 ARVY (L.)., 1950. Données histologiques sur l'ovogenèse chez <u>Dentalium</u>

  <u>dentale</u> Deshayes.

  Arch de Biol., 61, 2, 187-196.
- 12 AWATI (P.R.) et RAI (H.S.)., 1931. Ostrea cucullata (The Bombay oyster.)
  Indian Zool. Memoir, n° 3. Lucknow.
- BACCI (G.)., 1947. L'inversione del sesso ed il ciclo stagionale della gonade in <u>Patella coerulea</u> L.
  Publ. Staz. Zool. Napoli, 21, 183-217.
- 14 BACCI (G.)., 1949. Osservazioni statistiche sulla determinazione dei sessi in <u>Patella coerulea</u>.

  Publ. **S**taz. Zool. Napoli, 22, 26-39.
- BACCI (G.)., 1950.- Alcuni problemi dell'ermafroditismo negli Invertebrati.
  Boll. Zool, 17, (Suppl.), 193-212.
- BACCI (G.)., 1951 a. Ermafroditismo e interssesualita nei Gastropodi e Lamellibranchi.

  Arch. Zool. Ital. (Suppl.) 7, 57-151.
- 17 BACCI (G.)., 1951 b. L'ermafroditismo di <u>Calyptraea chinensis</u> e di altre <u>Calyptraeidae</u>.

  Publ. Staz. Zool. Napoli, 23, 66-90.
- 18 BACCI (G.)., 1952. Osservazioni citologiche sulla inverzione sessuale nella Patella vulgata di Plymouth.

  Boll. Zool, 19, 57-63.
- 19 BACCI (G.)., 1955. La variabilità dei genotipi sessuali negli animali ermafroditi.

  Publ. Staz. Zool. Napoli, 26, 110-137.
- 20 BACCI (G.)., 1957. La variabilità sessuale nelle populazioni eterogoniehe.

  Rend. Acc. Naz. Lincei, 23, 8, 165-173.
- 21 BACCI (G.)., 1961. Recenti ricerche sulla determinazione polifattoriale del sesso.

  Boll. Zool, 28, 469-483.

- 22 BACCI (G.)., 1965. Sex determination. Pergamon Press. 306 p.
- 23 BADINO (G.)., 1967. I fattori della gametogenesi di Arion rufus studiati con il metodo della cultura in vitro.

  Arch. Zool. Ital., 52, 271-275.
- 24 BECCARI (N.)., 1924. Studi sulla prima origine delle cellule genitali nei vertebrati. III Ricerche nel <u>Bufo viridis</u>.

  Arch. It. Anat. Embr, 21, p. 332.
- 25 BELDING (D.L.)., 1910. A report upon the scallop fischery of Massachusets. The commonwealth of Massachusets, Dept. Fischery and Game, 1-150.
- 26 BERREUR-BONNENFANT (J.)., 1963. Autodifférenciation ovarienne dans les gonades mâles de Crustacés en culture <u>in vitro</u>.

  Bull. Soc. Zool. Fr., 80, 2-3, 235-238.
- 27 BERREUR-BONNENFANT (J.)., 1968. Action de la glande androgène et du cerveau sur la gamétogenèse de Crustacés Peracarides.

  Arch. Zool. exp. gén, 108, 4, 521-558.
- 28 BIANCO (S. Lo)., 1899. Notizie biologische riguardente specialmente il periodo di maturita sessuale degli animale del golfo di Napoli.

  Mitt. Zool. Stat. Naepel, 13, 448.
- 29 BIERBAUER (J.) et TÖRÖK (L.J.)., 1964. Cytological and neurosecretory investigations on the optic tentacle of Pulmonata.

  Acta biol. Acad. Sci. hung, 15, Suppl. 6, 39-40.
- BIERBAUER (J.) et TÖRÖK (L.J.)., 1968. Histophysiological study of the optic tentacle in Pulmonates. I. Histological examination of the optic tentacle with special regard to the morphology of the collar and lateral cells.

  Acta biol. Acad. Sci. hung, 19, 2, 133-143.
- BIERNE (J.)., 1966. Localisation dans les ganglions cérébroïdes, du centre régulateur de la maturation sexuelle chez la femelle de <u>Lineus ruber Müller</u> (Hétéronémertes).

  C.R. Acad. Sc. Paris, 262, 1572-1575.

- 32 BIERNE (J.)., 1967. Sur le contrôle endocrinien de la différenciation du sexe chez la Némerte <u>Lineus ruber</u> Müller. La masculinisation des ovaires de chimères hétérosexuées.

  C.R. Acad. Sc. Paris, 265, 447-450.
- 33 BIERNE (J.)., 1968. Facteur androgène et différenciation du sexe chez la Némerte <u>Lineus ruber</u> Müller. L'effet "free-martin" dans la parabiose hétérosexuée.

  C.R. Acad. Sc. Paris, 267, 1646-1648.
- 34 BLAINVILLE (H.D. de)., 1825. Manuel de Malacologie et de Conchyliologie, Paris.
- 35 BLOOMER (H.H.)., 1939. A note on the sex of <u>Pseudoanodonta and Anodonta</u>.

  Proc. Malac. Soc. London, 23, 285-297.
- BODDINGIUS (J.)., 1950. Verslag van de werkzaamheden gedurende haar verblijf aan het Biologich station te Roscoff.

  Versl. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch., Afd. Naturkunde, 69, 7, 97-101.
- 37 BOHNECKE (G.)., 1936. Atlas zum Temperatur, Salzgehalt und Dichte an der Oberfläch des Atlantischen ozeans.

  Wiss. Ergebn. "Meteor", 5, Atlas.
- 38 BOLOGNARI (A.)., 1960. Aspetti strutturali e citochimici dell'apparato nucleolare degli ovociti in accrescimento di <u>Patella coerulea</u> L. Acta histochem, 8, 504-523.
- 39 BOUTAN (L.)., 1899. La cause principale de l'asymétrie des Mollusques Gastéropodes.

  Arch. Zool. exp. Gen., 3° série, 7, 203-342.
- 40 BOUTAN (L.)., 1900. La patelle commune (<u>Patella vulgata</u> L.) Zoologie descriptive, 2, 343-380.
- BRAMBELL (F.W.R.)., 1924. The nature and origin of yolk. Experimental studies of the oocytes of <u>Helix aspersa</u> and <u>Patella vulgata</u>.

  British. J. exper. Biol, 1, 501-517.
- BRIAN (M.V.), OWEN (G.)., 1952. The relation of the radula fraction to the environment in Patella.

  J. Ecol, 21, 241-249.

- BRIEN (P.)., 1963. Contribution à l'étude de la biologie sexuelle chez les Hydres d'eau douce. Induction gamétique et sexuelle par la méthode des greffes en parabiose.

  Bull. Biol. France et Belgique, 97, 214-283.
- BURCH (J.B.)., 1960. Chromosomes studies of aquatic pulmonate snails. Nucléus, India, 3, 2, 177-208.
- 45 BURCH (J.B.) et HUBER (J.M.)., 1966. Polyploidy in mollusks.

  Malacologia, E.U, 5, 1, 41-43.
- 46 CHAGAS (W.A.), PROCOPIO-VALLE (J.) et BARTH (R.)., 1961. Sex chromatin in hermaphrodite and mono-sexual molluses.

  Exper. Cell Res, U.S.A, 24, 3, 555-558.
- 47 CHARNIAUX-COTTON (H.)., 1954. Découverte, chez un Crustacé Amphipode

  (Orchestia gammarella) d'une glande endocrine responsable de la différenciation des caractères sexuels primaires et secondaires mâles.

  C.R. Acad. Sc. Fr., 239, 780-782.
- 48 CHOQUET (M.)., 1964. Culture organotypique de gonades de <u>Patelle vulgata</u>
  L. (Mollusque Gastéropo'e, Prosobranche).

  C.R. Acad. Sc. Paris., 258, 1089-1091.
- 49 CHOQUET (M.)., 1965. Recherches en culture organotypique, sur la spermatogenèse chez Patella vulgata L. (Mollusque Gastéropode). Rôle des ganglions cérébroïdes et des tentacules.

  C. R. Acad. Sc. Paris, 261, 4521-4524.
- 50 CHOQUET (M.)., 1966. Biologie de <u>Patella vulgata</u> L. dans le Boulonnais. Cahiers de Biologie marine, 7, 1-22.
- CHOQUET (M.)., 1967. Gamétogenèse <u>in vitro</u> au cours du cycle annuel chez <u>Patella vulgata</u> L. en phase mâle. C. R. Acad. Sc. Paris, 265, 333-335.
- 52 CHOQUET (M.)., 1968. Croissance et longévité de <u>Patella vulgata</u> L. dans le Boulonnais.

  Cahiers de Biologie marine, 9, 4, 449-468.
- 53 CHOQUET (M.) et LEMAIRE (J.)., 1968. Etude histologique du complexe tentacule-ganglion cérébroïde de <u>Patella vulgata</u> L. ( Gastéropode Prosobranche).

  Bull. Soc. Zool. Fr. (sous presse).

- 54 CHOQUET (M.) et LEMAIRE (J.)., 1968. Contribution à l'étudé de la régénération tentaculaire chez <u>Patella vulgata</u> L. (Gastéropode Prosobranche). Arch. Zool. Exp. Gén, 93, 4, (sous presse).
- 55 COE (W.R.)., 1932. Development of the gonads and the sequence of the sexual phases in the California oyster (Ostrea lurida).

  Bull. Scripps Inst. Oceanogr, Tech. Ser. 3, 119-144.
- 56 COE (W.R.)., 1935. Sequence of sexual phases in <u>Teredo</u>, <u>Ostrea</u> and <u>Crepidula</u>.

  Anat. Rec, Suppl., 64, 81.
- 57 COE (W.R.)., 1936 a. Sequence of functional sexual phases in <u>Teredo</u>. Biol. Bull, 71, 122-132.
- 58 COE (W.R.)., 1936 b. Sex ratios and sex changes in mollusks.

  Mem. Mus. Hist. Nat. Belgique (2 sér.), 3, 69-76.
- 59 COE (W.R.)., 1938 a. Conditions influencing change of sex in mollusks.

  of the genus <u>Crepidula</u>.

  J. exp. Zool, 77, 401-424.
- 60 COE (W.R.)., 1938 b. Primary sexual phases in the oviparous oyster (Ostrea virginica).

  Biol. Bull, 74, 64-75.
- 61 COE (W.R.)., 1938 6. Influence of the association on the gastropods having protandric consecutive sexuality.

  Biol. Bull, 75, 274-285.
- 62 COE (W.R.)., 1942 a. The reproductive organs of the prosobranch mollusk

  Crepidula onyx and their transformation during the change from male
  to female phase.

  J. Morph, 70, 501-512.
- 63 COE (W.R.)., 1942 b. Influence of natural and experimental conditions in determining shape of shell and rate of growth in gastropods of the genus <u>Crepidula</u>.

  J. Morph, 71, 35-47.

- 64 COE (W.R.)., 1943 a. Development of the primary gonad and differentiation of sexuality in <u>Teredo navalis</u> and other pelecypod mollusks.

  Biol. Bull, 84, 178-186.
- 65 COE (W.R.)., 1943 b. Sexual differentiation in mullusks. I. Pelecypods.

  Quart. Rev. Biol, 18, 154-164.
- 66 COE (W.R.)., 1944 Sexual differentiation in mullusks. II. Gastropods,
  Amphineurans, Saphopods and Cephalopods.

  Quart. Rev. Biol, 19, 85-97.
- 67 COE (W.R.)., 1945. Development of the reproductive system and variations in sexuality in <u>Pecten</u> and other Pelecypods mollusks.

  Contr. Scripps Inst. of Oceanogr. Univ. California, new séries, n° 255, 673-700.
- 68 COE (W.R.)., 1947. Nutrition, growth and sexuality in the pismo clam

  Tivela stultorum.

  J. Exp. Zool, 104, 1-24.
- 69 COE (W.R.)., 1948. Nutrition and sexuality in protandric gastropods of the genus <u>Crepidula</u>.

  Biol. Bull, 94, 158-160.
- 70 COE (W.R.)., 1953. Influences of association, isolation and nutrition on the sexuality of snails of the genus <u>Crepidula</u>.

  J. exp. Zool, 122, 5-19.
- 71 COLE (H.A.)., 1942. Primary sex phases in Ostrea edulis.

  Quart. J. Micr. Sci, 83, 317-356.
- 72 COMFORT (A.)., 1957. The duration of life in mulluscs.

  Proc. Malac. Soc. London, 32, 219-241.
- 73 CONKLIN (E.G.)., 1897. The embryology of <u>Crepidula</u>.

  J. Morph, 13, 1, 1-226.
- 74 COOPER (L.H.N.)., 1958. Sea temperatures in Plymouth Sound.
  J. Mar. Biol. Ass. U. K., 37, 1-3.
- 75 CROFTS (D.M.)., 1955. Muscle morphogenesis in primitive gastropods and its relation to torsion.

  Proc. Zool. Soc. London, 125, 711-750.

- 76 CROZIER (W.J.)., 1918. Growth and duration of life in Chiton tuberculatus.

  Proc. Natl. Acad. Sci. I. S, 4, 11, 322-325.
- 77 CRISP (D.J.) et KNIGHT-JONES (E.W.)., 1955. Discontinuities in the distribution of shore animals in North Wales.

  Rep. Bardsey Observatory. Year, 1954, 29-34.
- 78 CRISP (D.J.) et SOUTHWARD (A.J.)., 1958. Distribution of intertidal organisms along the coasts of the English Channel.

  J. mar. Biol. Ass. U.X., 37, 157-208.
- 79 CUVIER (G.)., 1817. Mémoires pour servir à l'histoire et à l'anatomie des Mollusques. Paris.
- 80 DAKIN (W.J.)., 1912. <u>Buccinum</u>. L.M.B.C. Memoir, 20, London, Williams and Norgate.
- 81 DARBY (R.L.)., 1964. On growth and longevity in <u>Tegula funebralis</u>.

  The Veliger, 6, Supplt. 6-7.
- DAS (S.M.) et SESHAPPA (G.)., 1947. A contribution to the biology of

  Patella: on population distribution and sex proportions in Patella

  vulgata L. at Cullercoasts, England.

  Proc. Zool. Soc, 117, 653-662.
- DAUTZENBERG (Ph.)., 1887. Une excursion malacologique à Saint-Lunaire (I et V).

  Bull. Soc. d'études Scientifiques de Paris, IX.
- DAUTZENBERG (Ph.)., 1900. Faunule malacologique des environs de Saint-Malo.

  Feuille des Jeunes Naturalistes, n° 362.
- DAUTZENBERG (Ph.) et DUROUCHOUX (P.)., 1906. Supplément à la faunule malacologique des environs de Saint-Malo.

  Feuille des Jeunes Naturalistes, n° 423, p. 39-45; n° 424, p. 53-60; n° 425, p. 73-77.
- 86 DAUTZENBERG (Ph.) et DUROUCHOUX (P.)., 1913. Les Mollusques de la baie de Saint-Malo.

  Feuille des Jeunes Naturalistes, n° 514.
- 87 DAVIS (J.R.A.) et FLEURE (H.J.)., 1903. Patella (The Common Limpet).
  L.M.B.C. Memoirs, vol. 10.

- 88 DAWYDOFF (C.)., 1928. Traité d'embryologie comparée des Invertébrés.

  Masson. Paris. 930 p.
- 89 DEHNEL (P.A.)., 1964. Rates of growth of gastropods as a function of latitude.

  Physiol. Zool. 28, 115-144.
- 90 DODD (J.M.)., 1956. Studies on the biology of limpets. III. Hermaphroditism in the three British species of <a href="Patella.">Patella.</a>
  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 35, 327-340.
- 91 DODD (J.M.)., 1957. Artificial fertilisation, larval development and metamorphosis in <u>Patella vulgata</u> L. and <u>Patella coerulea</u> L. Publ. Staz. Zool. Napoli, 29, 172-186.
- DURCHON (M.) et SCHALLER (F.)., 1963. Application de la méthode de culture organotypique aux recherches endocrinologiques chez les Annélides Polychètes.

  C.R. Acad. Sci. Paris., 256, 5616-5617.
- 93 EBLING (F.J.), SLOANE (J.F.), KITCHING (J.A.) et DAVIES (A.M.)., 1962. The ecology of Lough Ine. XII: The distribution and characteristics
  of Patella species.
  J. Anim. Ecol, G.B., 31, 3, 457-470.
- 94 ESLICK (A.)., 1940. An ecological study of <u>Patella</u> at Port St Mary, Isle of Man.

  Proc. Linn. Soc. Lond, 152, Session, part 1, 45-58.
- 95 EVANS (R.G.)., 1947 a. The intertidal ecology of Cardigan Bay. J. Ecol, 34, 273-309.
- 96 EVANS (R.G.)., 1947 b. The intertidal ecology of selected localities in the Plymouth neighbourhood.

  J. Mar. Biol. Ass., U.K., 27, 173-218.
- 97 EVANS (R.G.)., 1947 c. Studies on the biology of British limpets. Part. I.

  The genus <u>Patella</u> in Cardigan Bay.

  Proc. Zool. Soc. Lond, 117, 411-423.
- 98 EVANS (R.G.)., 1953. Studies on the biology of British limpets. The genus Patella in the south coast of England.

  Proc. Zool. Soc. Lond, 132, 357-376.

- 99 EVANS (R.G.)., 1958. The genus <u>Patella</u> on the west coast of France. J. Conchyl, 98, 126-151.
- 100 FISCHER (P.)., 1865. Faune conchyliologique marine du département de la Gironde et des côtes Sud-Ouest de la France.

  Actes Soc. Linn. Bordeaux, 25, 3e ser., fasc. 5.
- 101 FISCHER-PIETTE (E.)., 1932. Répartition des principales espèces fixées sur les rochers battus des côtes et des îles de la Manche, de Lannion à Fécamp.

  Ann. Inst. Océanogr, 12, 105-213.
- 102 FISCHER-PIETTE (E.)., 1935. Systématique et biogéographie des Patelles d'Europe et d'Afrique du Nord.

  J. Conchyl, 79, 5-66.
- 103 FISCHER-PIETTE (E.)., 1936. Etude de la biogéographie intercotidale des deux rives de la Manche.

  J. Linn. Soc. Zool. 40, 181-272.
- 104 FISCHER-PIETTE (E.)., 1939. Sur la croissance et la longévité de <u>Patella vulgata</u> L. en fonction du milieu.

  J. Conchyl, 83, 303-310.
- 105 FISCHER-PIETTE (E.)., 1941 a. Croissance, taille maxima et longévité possible de quelques animaux intercotidaux en fonction du milieu.

  Ann. Inst. Océanogr, 21, 1, 1-28.
- 106 FISCHER-PIETTE (E.)., 1941 b. Observations biométriques sur les Patelles de la Manche.

  J. Conchyl, 84, 300-306.
- 107 FISCHER-PIETTE (E.)., 1943. Remarques biologiques sur un estuaire.
  Bull. Lab. marit. Dinard, 25, 44-48.
- 108 FISCHER-PIETTE (E.)., 1946 a. Nouvelles observations sur les Patelles à croissance rapide du milieu d'estuaire.

  Bull. Lab. marit. Dinard, 27, 22-26.
- 109 FISCHER-PIETTE (E.)., 1946 b. Analyse du travail d'ORTON.
  J. Conchyl, 87, 83-84.

- 110 FISCHER-PIETTE (E.)., 1948. Sur les éléments de prospérité des Patelles et sur leur spécificité.

  J. Conchyl, 88, 2, 45-96.
- 112 FRANK (A.)., 1951. Ovogenèse et évolution nucléolaire chez les Gastéropodes Prosobranches.

  Ann. Sc. Nat., Zool, lle série, 13, 135-144.
- 113 FRANK (P.W.)., 1965 a. The biodemography of an intertidal snail population. Ecology, 46, 6, 831-844.
- 114 FRANK (P.W.)., 1965 b. Growth of three species of Acmaea.

  The Veliger, 7, 3, 201-202.
- 115 FRANZEN (A.)., 1956. Comparative morphological investigations into the spermatogenesis among Mollusca.

  Zool. Bidr. Uppsala, 30, 399-456.
- 116 FROMMING (E.)., 1953. Uber die Variation der Gehäuse förbung bei Sumpfdeckelschnecken (<u>Viviparus</u>) innerhalb derselben Population. Arch. Hydrobiol, 48, 260-265.
- 117 FUJI (A.)., 1957. Growth and breeding season of the brackfishwater bivalve

  Corbicula japonica in Zyusamgata inlet.

  Bull. Fac. Fisheries, Hokkaido Univ, 8, 178-184.
- 118 GABE (M.)., 1965. La neurosécrétion chez les Mollusques et ses rapports avec la reproduction.

  VIE Symp. Endoc. Comp, Arch. Anat. micr. Morph. Exp, 54, 371-385.
- 119 GABE (M.) et PRENANT (M.)., 1949 Contribution à l'histologie de l'ovogenèse chez les Polyplacophores. La Cellule, 53, 1, 99-116.
- 120 GAILLARD (J.M.)., 1965. Aspects qualitatifs et quantitatifs de la croissance de la coquille de quelques espèces de Mollusques Prosobranches en fonction de la latitude et des conditions écologiques.

  Mem. Mus. Hist. Nat., 2, 38, 1-155.

- 121 GEMMIL (J.F.)., 1896. On some cases of hermaphroditism in the limpet (Patella) with observations regarding the influence of nutrition on sex in the limpet.

  Anat. Anz, 12, 392-395.
- 122 GIBSON (R.J.)., 1887. Anatomy and Physiology of <u>Patella vulgata</u>.

  Trans. R. Soc. Edimb, 32, 601-638.
- 123 GOMOT (L.) et GUYARD (A.)., 1964. Evolution en culture in vitro de la glande hermaphrodite de jeunes escargots de l'espèce Helix aspersa Müll.

  C.R. Acad. Sc. Paris., 258, 2902-2905.
- 124 GOODWIN (T.W.)., 1950. Carotenoid distribution in the gonads of the limpets Patella vulgata and Patella depressa.

  Biochem. J, 47, 249-251.
- 125 GOODWIN (T.W.) et TAHA (M.M.)., 1950. The carotenoids of the gonads of the limpets Patella vulgata and Patella depressa.

  Biochem. J, 47, 244-249.
- 126 GOULD (H.N.)., 1917 a. Studies on sex in the hermaphrodite Mollusc Crepidula plana. I: History of the sexual cycle.

  Journ. Exp. Zool, 23, 1, 1-69.
- 127 GOULD (H.N.)., 1917 b. Studies on sex in the hermaphrodite Mollusc Crepidula plana. II: Influence of environment on sex.

  Journ. Exp. Zool, 23,2, 225-250.
- 128 GOULD (H.N.)., 1919. Studies on sex in the hermaphrodite Mollusc

  Crepidula plana. III: Transference of the male-producing stimulus through sea-water.

  Journ. Exp. Zool, 29, 113-120.
- 129 GOULD (H.N.)., 1947. Conditions affecting the development of the male phase in <u>Crepidula plana</u>.

  Biol. Bull, 93, 194.
- 130 GOULD (H.N.)., 1949. Growth and sex development in the slipper limpet Crepidula plana.

  Bios, 20, 173-176.

- OULD (H.N.)., 1952. Studies on sex in the hermaphrodite Mollusc

  Crepidula plana. IV: Internal and external factors influencing growth and sex development.

  Journ. Exp. Zool, 119, 93-160.
- 132 GRAHAM (A.)., 1932. On the structure and function of the alimentary canal of the limpet.

  Trans. roy. Soc. Edim, 57, 287-308.
- 133 GRAHAM (A.)., 1954. Some observations of the reproductive tract on <a href="Ianthina janthina">Ianthina janthina</a> L.

  Proc. malac. Soc. Lond, 31, 1-6.
- J. Mar. Biol. Ass. U.K., 26, 590-601.
- 135 GUYARD (A.)., 1967. Féminisation de la glande hermaphrodite juvénile d'Helix aspersa Müll associée in vitro au ganglion cérébroïde d'Escargot adulte ou de Paludine femelle.

  C.R. Acad. Sc. Paris, 265, 147-149.
- 136 GUYARD (A.), et GOMOT (L.)., 1964. Survie et différenciation de la gonade juvénile d'Helix aspersa en culture organotypique.

  Bull. Soc. Zool. France, 89, 1, 48-56.
- 137 HAMAÏ (J.)., 1937 a. Relative growth of <u>Patelloidea conulus</u>.

  Zool. Mag. (Japan), 49, 140-141.
- 138 HAMAÏ (J.)., 1937 b. Some notes on relative growth with special reference to the growth of limpets.

  Sci. Rep. Tohoku Univ, 4, 12, 71-95.
- 139 HARANGHY (L.), BALAZS (A.) et BURG (M.)., 1965. Investigation on ageing and duration of life of mussels.

  Acta Biol. Hung, 16, 1, 57-67.
- 140 HASKIN (H.H.)., 1954. Age determination in molluscs.

  Trans. N.Y. Acad. Sci, 16, 300-304.
- 141 HATTON (H.)., 1936. Observations sur l'habitat et sur la croissance de Patella vulgata L.
  Bull. Labor. marit. Dinard, 15, 17-20.

- 142 HATTON (H.)., 1938. Essais de bionomie explicative sur quelques espèces intercotidales d'algues et d'animaux.

  Ann. Inst. Océanogr, 17, 241-348.
- 143 HOPKINS (H.S.)., 1941. Growth rings as an index of age in Venus mercenaria.

  Anat. Rec, 81, 4, 53-54.
- 144 ISELY (F.B.)., 1931. A 15 year growth record in fresh water mussels (Quadrula).

  Ecology, 12, 612-618.
- 145 ISHIKI (H.)., 1936. Sex changes in Japanese slipper limpets <u>Crepidula</u>

  <u>aculeata</u> and <u>Crepidula walshi</u>.

  J. Sci. Hiroshima Univ, Ser. B, Div 1, 3, 91-99.
- 146 ISHIKI (H.)., 1939. Histological studies on the sexual organs during sex changes of <u>Crepidula aculeata</u> and <u>Crepidula walshi</u>.

  J. Sci. Hiroshima Univ, 6, 103-113.
- 147 JEFFREYS (J.G.)., 1865. British Conchology, III.
- 148 JONES (N.S.)., 1946. Browsing of <u>Patella</u>.
  Nature, 158, 557.
- 149 JONES (N.S.)., 1948. Observations and experiments on the biology of <a href="Patella vulgata">Patella vulgata</a> at Port St Mary, Isle of Man.

  Proc. Lpool, Biol. Soc, 56, 60-77.
- 150 JORGENSEN (M.)., 1913. Morphologische Beïträge zum problem des eiwachstums.

  Arch. Zellforsch., 10, 1-126.
- 151 JUCHAULT (P.)., 1966. Contribution à l'étude de la différenciation sexuelle mâle chez les Crustacés Isopodes.

  Thèse de Doctorat. Poitiers S.F.I.L. et Imp. M. Texier, 143 pages.
- 152 JUCHAULT (P.)., 1967. Contribution à l'étude de la différenciation sexuelle mâle chez les Crustacés Isopodes.

  Ann. Biol, 6, 3-4, 191-212.
- 153 JUCHAULT (P.) et LEGRAND (J.J.)., 1963. Contribution à l'étude expérimentale des neurohormones dans le changement de sexe d'Anilocra physodes (Crustacé Isopode hermaphrodite).

  C.R. Acad. Sc. Paris., 260, 1783-1786.

- 154 KOCH (H.J.)., 1949. A review of the south African representatives of the genus Patella.

  Ann. Natal Mus, 11, 487.
- 155 LACY (D.) et HORNE (R.)., 1956. A cytological study of the neurons of Patella vulgata by light and electron microscopy.

  Nature, Lond, 178, 976-978.
- 156 LACY (D.) et ROGERS (G.E.)., 1956. Recent observations by light and electron microscopy on the cytoplasmic inclusions of the neurons of <a href="Patella vulgata">Patella vulgata</a>.

  J. roy. micr. Soc, 75, 173-175.
- 157 LANE (N.J.)., 1964. Semper's organ, a cephalic gland in certain Gastropods.

  Quart. J; micr. Sci, 105, 331-342.
- 158 LAURSEN (D.)., 1953. The genus <u>Janthina</u>.

  Dana. report, 38, 1-40.
- 159 LAVIOLETTE (P.)., 1954. Etude cytologique et expérimentale de la régénération germinale après castration chez <u>Arion rufus</u> L.

  Ann. Sc. Nat., Zool., lle série, 431-535.
- 160. LEBERT et ROBIN., 1846. Note sur les testicules et les spermatozoïdes des Patelles.

  Ann. Sc. Nat., Zôol, série 3, 5, 191.
- 161 LEBOUR (M.V.)., 1937. The eggs and larvae of the British Prosobranches with reference to those living in the plankton.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 22, 105-166.
- 162 LEBOUR (M.V.)., 1947. Notes on the inshore plankton of Plymouth.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 26, 527-547.
- 163 LEGRAND (J.J.)., 1952. Contribution à l'étude expérimentale et statistique de la biologie d'Anilogra physodes L.

  Arch. Zool. exp. gen, 89, 1-56.
- 164 LEGRAND (J.J.)., 1958. Mise en évidence histologique et expérimentale d'un tissu androgène chez les Oniscoïdes.

  C.R. Acad. Sc. Fr., 247, 1238-1241.
- 165 LOOSANOFF (V.L.)., 1937. Development of the primary gonad and sexual phases in <u>Venus mercenaria</u> L.

  Biol. Bull, 72, 389-405.

- 166 LUBET (P.)., 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés.

  Mem. Inst. Sc. Tech. Pêches Mar. Paris, 23, 396-558.
- 167 LUBET (P.)., 1964. Incidence de l'ablation bilatérale des ganglions cérébroïdes sur la gamétogenèse et le développement du tissu conjonctif chez la Moule Mytilus gallo-provincialis IMk.
- 168 LUBET (P.)., 1966. Essai d'analyse expérimentale des perturbations produites par les ablations de ganglions nerveux chez <u>Mytilus edulis</u> L. et <u>Mytilus galloprovincialis</u> LMK. (Mollusques Lammellibranches).

  Annales d'Endocrinologie, Paris, 27, 3 bis, supplt, 353-365.
- 169 LUDFORD (R.J.)., 1921. The behaviour of the nucleolus during oogenesis with special reference to the Mollusc Patella.

  J. Roy. Microscop. Soc, 62, 121-133.
- 170 LUSIS (0.)., 1961. Postembryonic changes in the reproductive system of Arion ater rufus L.

  Proc. zool. Soc. Lond, 137, 433-468.
- 171 LUSIS (0.)., 1966. Changes induced in the reproductive system of

  Arion ater rufus L. varying environmental conditions.

  Proc. malac. Soc. Lond, 37, 19-26.
- 172 Marine Biological Association., 1931. Plymouth Marine Faune 2nd Edition, Plymouth.
- 173 Marine Biological Association., 1957. Plymouth Marine Faune 3rd Edition, Plymouth.
- 174 MARTOJA (M.)., 1965 a. Sur l'incubation et l'existence possible d'une glande endocrine chez <u>Hydromyles globulosa</u> Rana (<u>Halopsyche gaudichardi</u> Keferstein) Gastéropode Gymnosome.

  C.R. Acad. Sc. Paris., 260, 2907-2909.
- 175 MARTOJA (M.)., 1965 b. Existence d'un organe juxtaganglionnaire chez Aplysia punctata Cuv. (Gastéropode Opisthobranche).

  C.R. Acad. Sc. Paris., 260, 4615-4617.
- 176 MARTOJA (M.)., 1965 c. Données relatives à l'organe juxtaganglionnaire des Prosobranches Distocardes.

  C.R. Acad. Sc. Paris., 261, 3195-3196.

- 177 MARTOJA (R.) et MARTOJA-PIERSON (M.)., 1959. Sur quelques caractères histochimiques du nucléole de l'ovocyte au cours de l'interphase de grand accroissement.

  Bull. Biol. Fr. et Belgique, 93, 335-354.
- 178 MASON (J.)., 1957. The age and growth of the scallop <u>Pecten maximus</u> L. in Man's waters.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 36, 473-492.
- 179 MILNE-EDWARDS., 1840. Observations sur les organes sexuels de Mollusques et Zoophytes.

  Ann. Sc. Nat., Zool., sér. 3, 13, 375.
- 180 MONTALENTI (G.)., 1950. Evoluzione della sessualita. I : problimi biologici della sessualita.

  Acc. Naz. Lincei Quad, 22, 80-102.
- 181 MONTALENTI (G.) et BACCI (G.)., 1951. Osservazioni e ipotesi sulla determinazione dell sesso negli ermafroditi.

  Scientia genetica, 4, 5-12.
- 182 MOORE (H.B.)., 1934 a. The biology of <u>Balanus balanoides</u> I.Growth rate and its relations to size, season and tidal level.

  J. mar. Biol. Ass. U.K., 19, 851-868.
- 183 MOORE (H.B.)., 1934 b. On "ledging" in shells at Port Erin. The relation of shell growth to environment in <u>Patella vulgata</u>.

  Proc. Malacol. Soc. Lond., 21, 217-222.
- 184 MORITZ (C.E.)., 1939. Organogenesis in the Gastropod <u>Crepidula adunca</u>
  Sowerby.
  Univ. Calif. Publ. Zool., 43, 217-248.
- 185 NAISSE (J.)., 1966 a. Contrôle endocrinien de la différenciation sexuelle de <u>Lampyris noctiluca</u> (Coléoptère Malacoderme).

  Arch. Biol. (Liège), 77, 139-201.
- NAISSE (J.)., 1966 b. Contrôle endocrinien de la différenciation sexuelle chez <u>Lampyris noctiluca</u> (Coléoptère Lampyride). II. Phénomènes neurosécrétoires et endocrines au cours du développement postembryonnaire chez le mâle et la femelle.

  Gén. comp. Endocrinol, U.S.A., 7, 1, 85-104.

- 187 NAISSE (J.)., 1966 c. Contrôle endocrinien de la différenciation sexuelle chez <u>Lampyris noctiluca</u> (Coléoptère Lampyride). III. Influence des hormones de la pars intercerebralis.

  Gén. comp. Endocrinol, U.S.A., 7, 1, 105-110.
- 188 NAISSE (J.)., 1968 a. Rôle des neurohormones dans la formation du tissu apical androgène chez <u>Lampyris noctiluca</u> L. révélé par des expériences de parabiose.

  C.R. Acad. Sc. Paris., 267, 1409-1411.
- 189 NAISSE (J.)., 1968 b. Rôle des neurohormones dans la formation du tissu apical androgène chez <u>Lampyris nocticula</u> L. révélé par des expériences de greffe.

  C.R. Acad. Sc. Paris., 267, 1471-1472.
- 190 NANSEN (F.)., 1886. The structure and combination of the histological elements of the central nervous system.

  Bergen Mus. Arsk, 29-215.
- 191 NOLTE (A.), BREUCKER (H.) et KUHLMANN (D.)., 1965. Cytosomale einschlüsse und neurosekret im nervengewebe von Gastropoden. Untersuchungen am schlundring von Crepidula fornicata L. (Prosobranchier, Gastropoda). Zeitschrifft für Zellforschung, 68, 1-27.
- 192 ORTON (J.H.)., 1909. On the occurence of protandric hermaphrodism in the mcllusc Crepidula fornicata L.

  Proc. roy. Soc, B, 81, 468-484.
- 193 ORTON (J.H.)., 1920. Sex phenomena in the common limpet (<u>Patella vulgata</u>).

  Nature, Lond., 104, 373-374.
- 194 ORTON (J.H.)., 1922. Phenomena and conditions of sex charge in the oyster (O. edulis) and Crepidula.

  Nature, 110, 212.
- 195 ORTON (J.H.)., 1923. On the significance of "rings" on the shells of

  Cardium and other mollusks.

  Nature, 112, 10.
- 196 ORTON (J.H.)., 1927 a. On the rate of growth of <u>Cardium edule</u>. Part I. Experimental observations.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 14, 239-279.

- 197 ORTON (J.H.)., 1927 b. A note on the physiology of sex and sex-determination.
  - J. Mar. Biol. Ass. U.K., 14, 1047-1055.
- 198 ORTON (J.H.)., 1928 a. On rythmic periods of shell growth in Ostrea edulis with a note on fattening.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 15, 365-428.
- 199 ORTON (J.H.)., 1928 b. Observations on <u>Patella vulgata</u>. Part I. Sex-phenomena, breeding and shell growth.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 15, 851-862.
- 200 ORTON (J.H.)., 1928 c. Observations on <u>Patella vulgata</u>. Part. II. Rate of growth of shell.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 15, 863-874.
- 201 ORTON (J.H.)., 1929. Observations on <u>Patelle vulgata</u>. Part III. Habitat and habits.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 16, 277-288.
- 202 ORTON (J.H.)., 1933. Studies on the relation between organisms and environment.

  Trans. Lpool Biol. Soc., 46, 1-16.
- 203 ORTON (J.H.)., 1946. Biology of Patella in Great Britain.
  Nature, 158, 173-174.
- 204 ORTON (J.H.) et SOUTHWARD (A.J.)., 1961. Studies on the biology of limpets.

  Part IV. The breeding of <u>Patella depressa</u> Pennant on the North

  Cornish Coast.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 41, 3, 653-662.
- 205 ORTON (J.H.), SOUTHWARD (A.J.) et DODD (J.M.)., 1956. Studies on the biology of limpets. II. The breeding of Patella depressa Pennant on the north cornish coast.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 35, 149-176.
- 206 PATTEN (W.)., 1885. Artificial fecundation in Mollusca.
  Zool. Anz., 8, 236-237.
- 207 PATTEN (W.)., 1886. The embryology of <u>Patella</u>.

  Arb. Zool. Inst. Wien, 6, 149-174.

- 208 PELLEGRINI (0.)., 1948. Ricerche statistiche sulla sessualita di <u>Patella coerulea</u>.

  Boll. Zool., 15, 115-121.
- 209 PELIEGRINI (0.)., 1949. Ermafroditismo proterandrico in <u>Calyptraea chi-nensis</u> L. (Gasteropoda Prosobranchiata).

  Boll. Zool., 16, 49-59.
- 210 PELLUET (D.)., 1964. On the hormonal control of cell differentiation in the ovotestis of slugs (Gastropoda: Pulmonata).

  Can. J. Zool., 42, 196-199.
- 211 PELLUET (D.) et LANE (N.J.)., 1961. The relation between neurosecretion and cell differentiation in the ovotestis of slugs (Gastropoda: Pulmonata).

  Can. J. Zool. 39, 789-805.
- 212 PELSENEER (P.)., 1911. Recherches sur l'embryologie des Gastéropodes.

  Mem. Acad. Royale Belgique, 2e série, 3, 1-167.
- 213 PELSENEER (P.)., 1926. La proportion relative des sexes chez les animaux et particulièrement chez les Mollusques.

  Acad. Roy. Belg., Sciences, 2e série, 8, 1-258.
- 214 PERROT (J.L.)., 1930. Chromosomes et hétérochromosomes chez les Gastéropodes pulmonés.

  Rev. Suisse de Zool, 37, 397-434.
- 215 PILSBRY., 1891, In: Tryon Manuel of Conchology, vol. 13.
- 216 PRATT (O.M.) et CAMPBELL (D.A.)., 1956. Environmental factors affecting growth in Venus mercenaria.

  Limnol. Oceanogr, 1, 2-17.
- 217 PROCOPIO-VALLE (J.), BARTH (R.) et CHAGAS (W.A.)., 1962. Estudios sôbre a identifição da cromatina sexuel em moluscos.

  Ann. Acad. bras. Ci, 34, 1, 165 170.
- 218 QUAYLE (0.B.)., 1952. The rate of growth of <u>Venerupis pullastra</u> at Millport, Scotland.

  Proc. Roy. Soc. Edimb, B, 64, 384-406.

- 219 RANZOLI (F.)., 1953. Osservazioni citometriche e citochimiche sul comportamento dei nucleoli nell' ovogenesi di <u>Patella coerulea</u>.

  Caryologia, 5, 2, 137-158.
- 220 RAVEN (Ch.P.)., 1960. Oogenesis.

  Pergamon Press New York and London.
- 221 RAY-LAKKESTER., 1867. On some indescribed points in the anatomy of the limpet.

  Ann. Mag. Nat. Hist, 120, 334.
- 222 RENZONI (A.)., 1968. Osservazioni istologiche, istochimiche ed ultrastrutturali sui tentacoli di <u>Vaginulus borellianus</u> Colosi (Gastropoda Soleolifera).

  Zeitschrifft für Zellforschung, 87, 350-376.
- 223 RICHTER (E.)., 1935. Der bau der Zwitterdrüsen und der Entstehung der geschlechtszellen bei Agriolimax agrestis.

  Jena Zeits. Naturwiss, 69, 707-744.
- 224 ROBERT (A.)., 1902. Recherches sur le développement des Troques. Arch. Zool. exp. gen, 3, 10, 269-538.
- 225 ROSE (M.) et HAMON (M.)., 1939 a. Sur l'action des hormones sexuelles de synthèse chez le Mollusque Gastéropode Murex trunculatus L. C.R. Soc. Biol, 131, 106-108.
- 226 ROSE (M.) et HAMON (M.)., 1939 b. Sur l'influence des hormones sexuelles de synthèse chez le Mollusque Gastéropode Pulmoné Milax gagates Drap. C.R. Soc. Biol, 131, 937-939.
- 227 ROSENWALD (K.)., 1926. Beeinflussung des Geschlechts von <u>Limax laevis</u>.

  Zeits. f. ind. Abs. u. Verer, 43, 238-251.
- 228 RUSSEL (E.S.)., 1907. Environmental studies on the limpet. Proc. Zool. Soc. Lond, 856-870.
- 229 RUSSEL (E.S.)., 1909. The growth of the shell of <u>Patella vulgata</u> L. Proc. Zool. Soc. Lond, 1, 235-253.
- 230 SAKSENA (S.P.)., 1950. Studies on sex in Ostrea edulis from the Bay of Naples.

  Publ. Staz. Zool. Napoli, 22, 3, 327-338.

- 231 SANCHEZ (S.)., 1962. Histophysiologie neuro-hormonale chez quelques Mollusques Gastéropodes. I. Complexes neuro-endocriniens.

  Bull. Soc. Zool. Fr, 87, 4, 309-319.
- 232 SANCHEZ (S.) et SABLIER (H.)., 1962. Histophysiologie neuro-hormonale chez quelques Mollusques Gastéropodes. II. Corrélations hormonales. Bull. Soc. Zool. Fr, 87, 4, 319-330.
- 233 SCHARRER (B.)., 1937. Über sekretorische tätige Nervenzellen bei wirbellosen tieren.

  Naturwiss, 25, 131-138.
- 234 SMITH (F.G.W.)., 1935. The development of <u>Patella vulgata</u> L. Phil. Trans. Roy. Soc, B, 225, 95-125.
- 235 SOUTHWARD (A.J.) et CRISP (D.J.)., 1954. The distribution of certain intertidal animals ground the Irish coast.

  Proc. R. Irish Acad, 57 (B), 1, 1-30.
- 236 SOUTHWARD (A.H) et ORTON (J.H.)., 1954. The effects of wawe action on the distribution and numbers of the commoner animals living on the Plymouth breakwater.

  J. Mar. Biol. Ass. U.K., 33, 1-19.
- 237 SPARK (R.)., 1936. On the relation between metabolism and temperature in some marine lamellibranches and its Zoogeographical significance.

  K. danske vidensk. Selsk, Biol. Medd, 13, 1-27.
- 238 SPOEL (S. van der)., 1958. Groei en ouderdom by <u>Viviparus contestus</u> en <u>Viviparus viviparus</u>.

  Basteria, 22, 77-90.
- 239 SPOEL (S. van der)., 1959. Age determination by winter rings. Basteria, 23, 3, 36-38.
- 240 STAIGER (H.)., 1950. Zur determination der Nähreier bei Prosobranchiern. Rev. Suisse Zool, 57, 496-503.
- 241 STEVENSON (J.A.) et DICKIE (L.M.)., 1954. Annual growth rings and rate of growth of the giant scallop <u>Placopecten magellanicus</u> in the Digby area of the Bay of Fundy.

  J. Fisheries Research Board. Can, 11, 660-671.

- 242 STREIFF (W.)., 1966. Autodifférenciation ovarienne chez un Mollusque hermaphrodite protandre <u>Calyptraea sinensis</u> L. C.R. Acad. Sc. Paris, 263, 539-542.
- 243 STREIFF (W.)., 1967. Recherches cytologiques et endocrinologiques sur le cycle sexuel de <u>Calyptraea sinensis</u> L. Mollusque Prosobranche hermaphrodite protandre. Thèse de Sciences, Toulouse, n° 294, 261 p.
- 244 STREIFF (W.) et PEYRE (A.)., 1963. Survie en culture <u>in vitro</u> d'organes de <u>Calyptraea sinensis</u> L. (Mollusque Prosobranche).

  C.R. Acad. Sc. Paris., 256, 292-294.
- 245 TUZET (0.)., 1930. Recherche sur la spermatogenèse des Prosobranches.

  Arch. Zool. Exp. Gen, 70, 95-229.
- 246 TUZET (O.), SANCHEZ (S.) et PAVANS DE CECCATY (M.)., 1957. Données histologiques sur l'organisation neuroendocrine de quelques Mollusques Gastéropodes.

  C.R. Acad. Sc. Paris., 244, 2962-2964.
- 247 WALNE (P.R.)., 1956. The biology and distribution of the slipper limpet

  Crepidula fornicata in Essex rivers.

  Fish. Invest. Lond (2), 20, 6, 1-50.
- 248 WAUTIER (J.) et PAVANS DE CECCATY (M.)., 1961. Note sur les complexes neuroendocriniens de <u>Gundlachia</u> sp.
  Bull. mens. Soc. Linn. Lyon, 30, 4, 79-87.
- 249 WAUTIER (J.), RICHARDOT (M.), BUISSON (B.) et HERNANDEZ (M.L.)., 1962. Histophysiologie des corrélations neuro-hormonales lors du cycle
  sexuel de <u>Gundlachia</u> sp.
  Bull. mens. Soc. Linn. Lyon, 31, 84-92.
- 250 WEYMOUTH (F.W.)., 1923. The life history and growth of the Pismo clam

  <u>Tivela stultorum.</u>

  Fish. Bulletin n° 7, Calif. Fish. and Game Commission.
- 251 WEYMOUTH (F.W.), MAC MILLIN (H.C.) et RICH (W.H.)., 1931. Latitude and relative growth in the razor-clam Siliqua patula Dixon.

  Bull. U.S. Bur. Fish, 41, 201-236.

- 252 WEYMOUTH (F.W.) et THOMPSON (S.H.)., 1931. The age and growth of the Pacific cockle <u>Cardium corbis</u> Marteyn.

  Bull. U.S. Bur. Fish, 46, 633-641.
- 253 WILCZYNSKI (J.Z.)., 1958. On sex behaviour and sex determination in <a href="Crepidula fornicata">Crepidula fornicata</a> L.
  Publ. Univ. Libanaise, Sc. Nat. 31 p.
- 254 WILLCOX (M.A.)., 1898. Zur anatomie von Acmaea fragilis.

  Jena. Z. Naturw, 32, 411-456.
- 255 WILSON (E.B.)., 1904. Experimental studies in germinal localisation.

  J. Exper. Zool, 1, p. 197.
- 256 WINCKWORTH (R.)., 1932. The British Marine Mollusca.
  J. Conchyl., 19, p. 211.
- 257 WOLFF (Et.) et HAFFEN (K.)., 1952. Sur une méthode de culture d'organes embryonnaires in vitro.

  Texas Rep. Biol. Hed, 10, 462-472.
- 258 WYATT (H.V.)., 1961. The reproduction, growth and distribution of Calyptraea chinensis L.

  J. animal Ecol., G.B., 30, 2, 283-302.

#### PLANCHE I

Ebauche de la gonade. Evolution chez les patelles juvéniles

- Fig. a Follicule initial de la gonade bisexuée (flèche)

  mp : muscle pédieux ; td : tube digestif

  Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.
- Fig. b Cloisonnement du follicule primordial.

  Les cloisons sont issues de la paroi ventrale (pv).

  pd : paroi dorsale

  Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.
- Fig. c Gonade d'animal prépubère.

  Les cellules souches des deux lignées coexistent dans les acini.

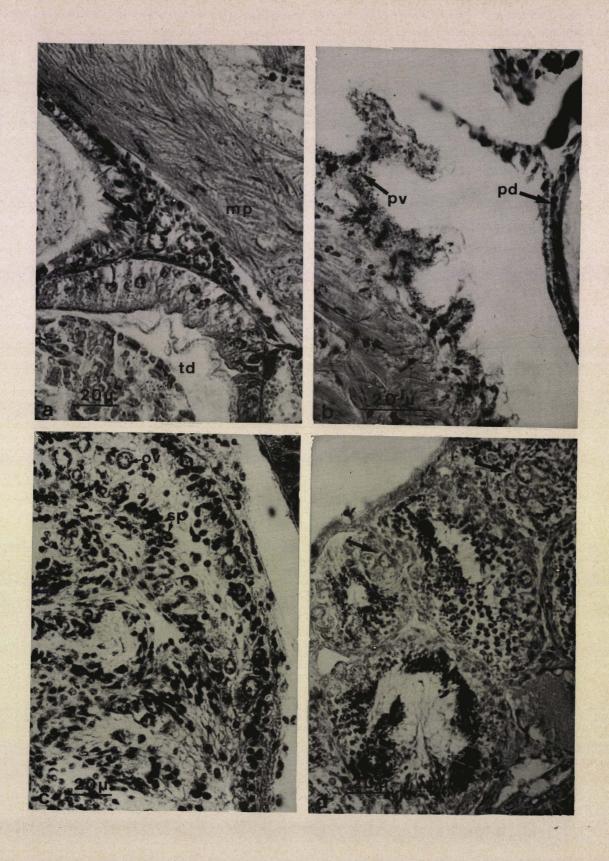
  ov : ovogonies ; sp : spermatogonies

  Bouin-Hollande. Hématoxyline de Heidenhain.
- Fig. d Patelle de 12 mm de long en première spermatogenèse.

  Les ovogonies souches demeurent intactes et quiescentes (flèches).

  La lignée mâle devient fonctionnelle.

  Carnoy. Feulgen.



# PLANCHE II

Evolution de la gonade en phase mâle au cours du cycle annuel. Bouin-Hollande, Glychémalun de Mayer (Fig.a, d). Hématoxyline de Heidenhain (Fig. b, c).

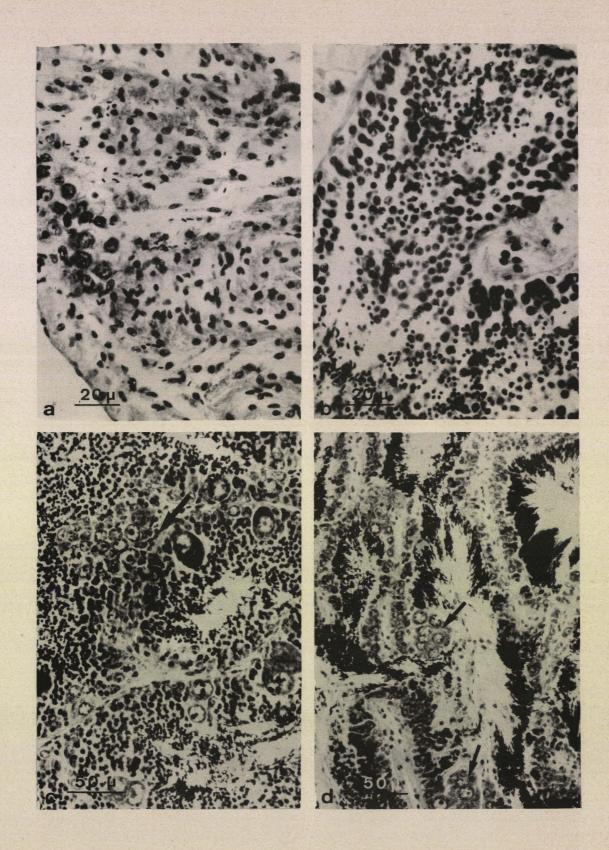
- Fig. a Période de repos génital.

  La paroi des acini ne présente que des spermatogonies souches. Noter la présence de spermatozoïdes qui n'ont pas été éliminés. A gauche, un ilôt d'ovogonies.
- Fig. b Gonade en début de spermatogenèse.

  Toutes les catégories de cellules germinales sont présentes mais les gamètes sont encore peu abondants.
- Fig. c- Glande génitale d'une patelle en spermatogenèse. Les spermatozoïdes sont nombreux dans la lumière des follicules. Remarquer l'existence d'ilôts ovogoniaux quiescents et d'ovocytes en auxocytose (flèche).
- Fig. d Gonade d'un animal en période d'éjaculation.

  Tout le sperme n'a pas encore été éliminé. Les gonies souches subsistent le long de l'épithélium germinatif mais sont quiescentes.

  Noter la présence de quelques ilôts ovogénétiques (flèches).



# PLANCHE III

Gonade femelle en période végétative. Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.

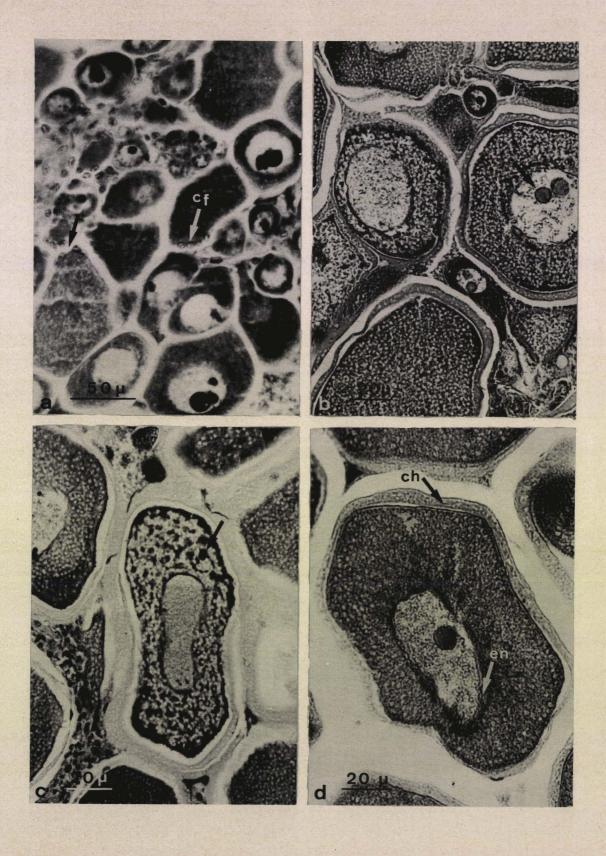
- Fig. a A côté des ovogonies et des jeunes ovocytes, existent des éléments en prévitellogenèse possédant des nucléoles accessoires. Remarquer la présence de cellules folliculaires plaquées contre la paroi des ovocytes (c.f, flèche).
- Fig. b Ovocytes en début de vitellogenèse.

  Noter la présence, dans l'ovocyte de droite, d'un nucléole primaire et d'un nucléole secondaire, compact, légèrement plus petit (flèche).
- Fig. c Ovocyte en début de vitellogenèse.

  Noter la présence, dans le cytoplasme, d'amas basophiles (flèche)

  et de plages claires, acidophiles.
- Fig. d Ovocyte en fin de vitellogenèse

  Le cytoplasme renferme des plaquettes vitellines. L'enveloppe nucléaire (en) est plissée, le nucléole primaire est encore présent. Un chorion (ch) entoure l'ovocyte.



# PLANCHE IV

Evolution de la gonade en phase femelle au cours du cycle annuel. Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.

- Fig. a Période de repos apparent (Stade 0).

  Les follicules renferment de nombreuses ovogonies et des jeunes ovocytes. Les mitoses sont abondantes.
- Fig. b Gonade au stade 1.

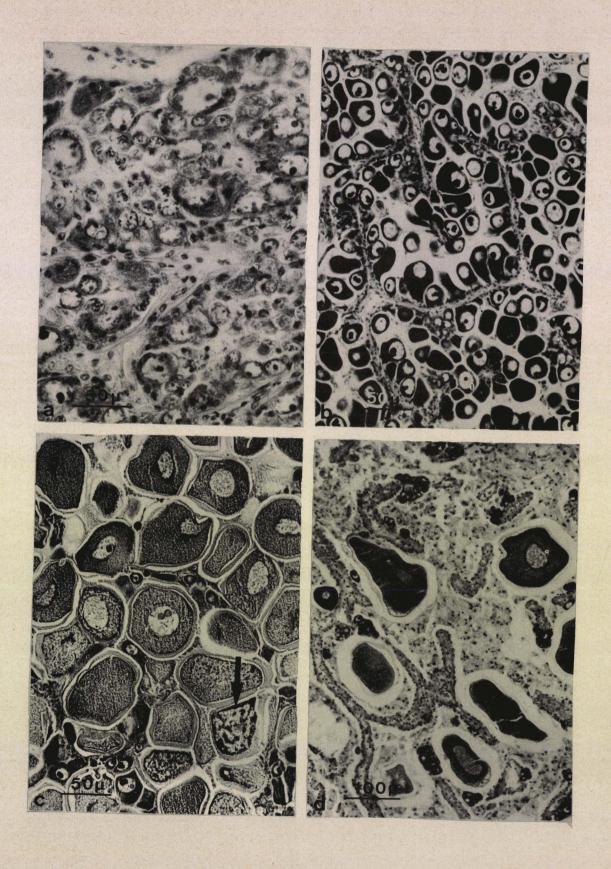
  Dans chaque acinus existent de nombreux ovocytes rattachés à la paroi par un pédoncule cytoplasmique.Noter l'absence d'éléments en vitellogenèse.
- Fig. c Glande génitale au stade 2.

  La plupart des ovocytes sont en vitellogenèse. Quelques cellules germinales sont en stade transitoire entre prévitellogenèse et phase d'élaboration vitelline (flèche).
- Fig. d Gonade en période de ponte.

  Quelques ovocytes n'ont pas été expulsés et dégénèrent in situ.

  Noter le développement considérable du tissu intertitiel. Des ovocytes en prévitellogenèse, issus des dernières cinèses oocytaires, subsistent dans la gonade sans subir de dégénérescence.

  Il est probable qu'ils ne reprendront leur évolution qu'à la gamétogenèse suivante.



## PLANCHE V

La lignée femelle chez les animaux en phase mâle. Bouin-Hollande. Hématoxyline de Heidenhain.

- Fig. a Etat des éléments ovogénétiques dans une gonade en période de repos post-spermatogénétique.

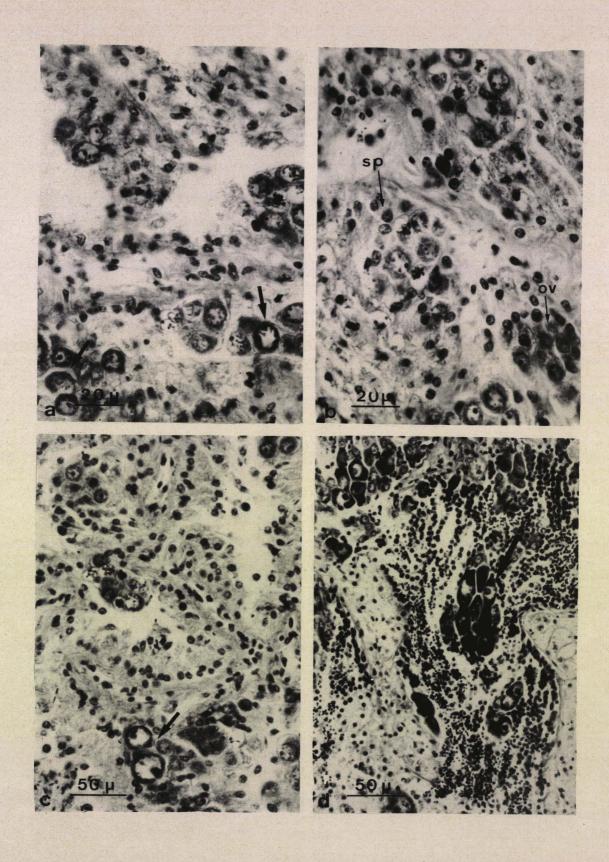
  Noter la présence d'ovocytes préméiotiques. Quelques ovocytes sont en début d'auxocytose (flèches).
- Fig. b Parmi les ovocytes en méiose, on observe des stades zygotène.

  Sur la photo, un ilôt d'ovogonies est visible (ov). La lignée

  mâle est présente sous forme de spermatogonies (sp.).
- Fig. c Gonade en phase mâle fixée au printemps.

  Remarquer l'existence d'ilôts femelles. Certaines cellules sont en division, d'autres en phase d'accroissement (flèche).
- Fig. d Etat de la lignée femelle dans une gonade en spermatogenèse.

  Noter la présence d'ilôts d'ovocytes en début de prévitellogenèse, mêlés aux spermatozoïdes, dans la lumière du follicule.



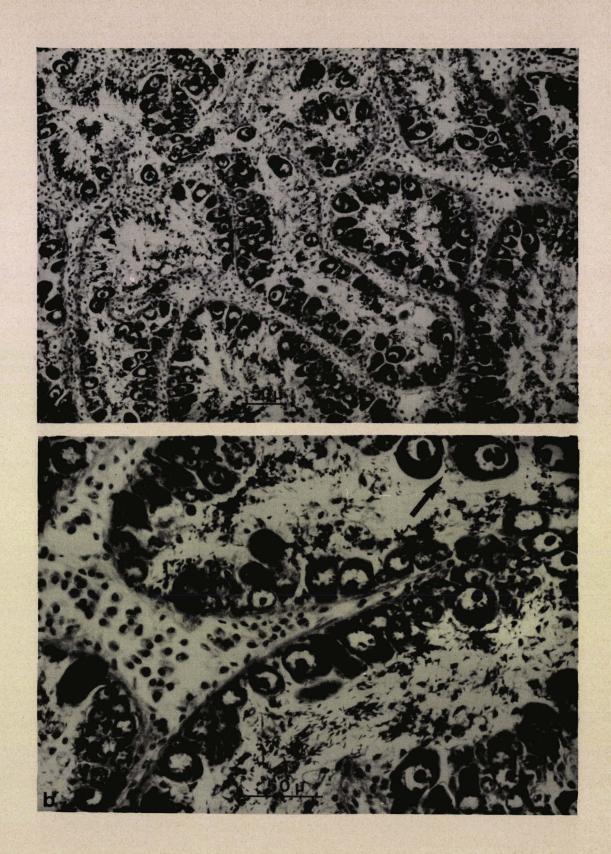
# PLANCHE VI

Gonade au stade de préinversion. Bouin-Hollande. Hématoxyline de Heidenhain.

- Fig. a Dans les acini, s'observent des spermatozoïdes non éliminés.

  Les gonies femelles se répartissent le long de l'épithélium germinatif.
- Fig. b Détail de plusieurs follicules contigus montrant la disposition des ovogonies et des ovocytes dans une gonade en préinversion.

  Certains ovocytes en prévitellogenèse possèdent des nucléoles secondaires (flèche).



## PLANCHE VII

Gonade prélevée au cours de la période de repos et cultivée seule. Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.

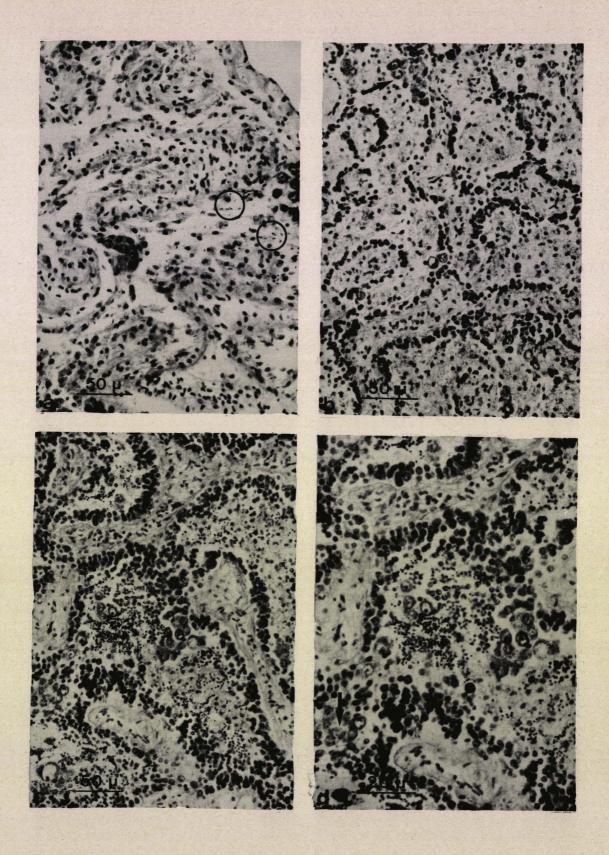
- Fig. a Etat de la gonade au moment de la mise en culture. L'épithélium germinatif est en repos et on observe quelques spermatozoïdes non éliminés (cercles).

  Patelle de 25 mm de long.
- Fig. b Fragment de la même gonade cultivée isolément pendant 20 jours.

  Les follicules renferment des spermatogonies alignées contre les parois.
- Fig. c Tronçon isolé, <u>in vitro</u>, pendant 40 jours.

  Des spermatocytes et quelques gamètes sont apparus dans la lumière des acini.
- Fig. d Détail d'un follicule de la même gonade. La spermatogenèse est peu abondante, très irrégulière. Il convient de comparer cette photo avec celle de la Pl. II, fig. c montrant un acinus de gonade en spermatogenèse naturelle.

  Remarquer que les ovogonies sont présentes, soit contre la paroi des follicules (flèche) soit dans la lumière. Elles sont disposées en ilôts épars et sont quiescentes.



# PLANCHE VIII

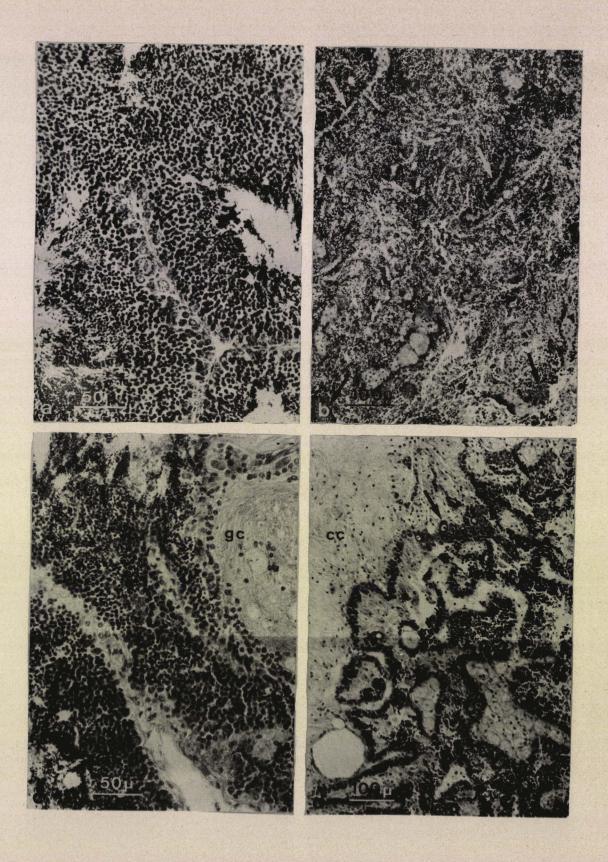
Gonade explantée chez une patelle en spermatogenèse et cultivée seule ou en présence du cerveau ou du complexe. Bouin-Hollande. Hématoxyline de Heidenhain.

- Fig. a Etat de la gonade au moment de la mise en culture. Toutes les catégories de cellules germinales sont présentes.
- Fig. b Tronçon isolé, <u>in vitro</u>, pendant trois semaines. La gonade est en dégénérescence, les spermatozoïdes, spermatides et spermatocytes sont en lyse. Les spermatogonies subsistent le long de la paroi des follicules (flèches blanches).

  Les ilôts d'ovogonies ne subissent aucune pycnose (flèches noires).
- Fig. c Fragment de la même gonade cultivé en association autologue avec le ganglion cérébroïdes (G.C), pendant le même temps. Noter que la spermatogenèse se poursuit.
- Fig. d Tronçon de la même gonade associé au complexe céphalique (C.C).

  Sur la photo, on n'observe que le bourrelet tentaculaire, le
  cerveau n'est pas visible.

  Ia lignée mâle évolue comme dans le cas de la fig. c.
  Les éléments ovogénétiques apparaissent en ilôts épars (flèches).



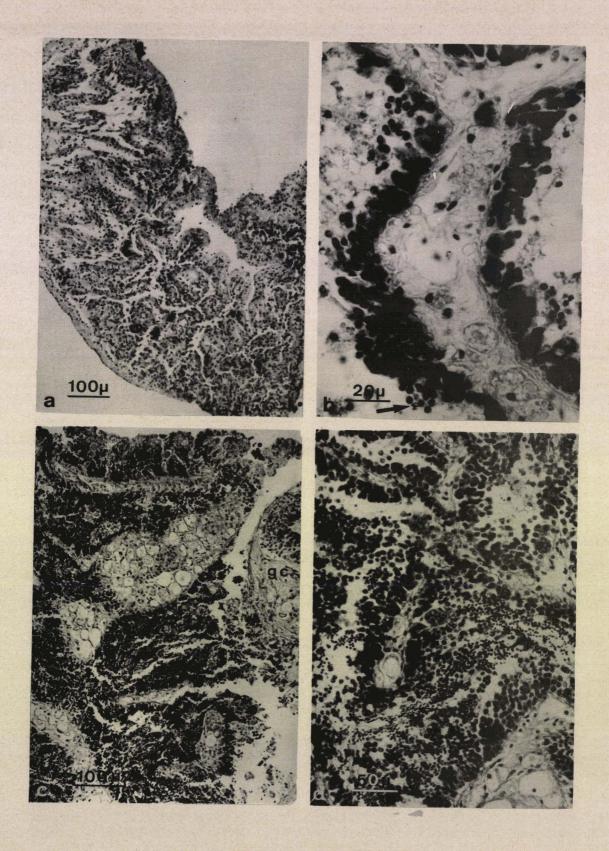
#### PLANCHE IX

Evolution de la lignée mâle dans une gonade isolée in vitro, ou associée au cerveau

Bouin-Hollande. Hématoxyline de Heidenhain.

- Fig. a Etat de la gonade au moment de la mise en culture. L'épithélium germinatif est en repos.
- Fig. b Aspect des parois folliculaires dans un fragment cultivé seul pendant trois semaines. On n'observe que des spermatogonies et des spermatocytes (flèche).
- Fig. c Tronçon de la même gonade cultivé en présence du ganglion cérébroïde (G.C), pendant le même temps. Dans tous les acini, la lignée mâle est abondante.
- Fig. d Détail de la photo précédente.

  Toutes les catégories de cellules germinales sont présentes.



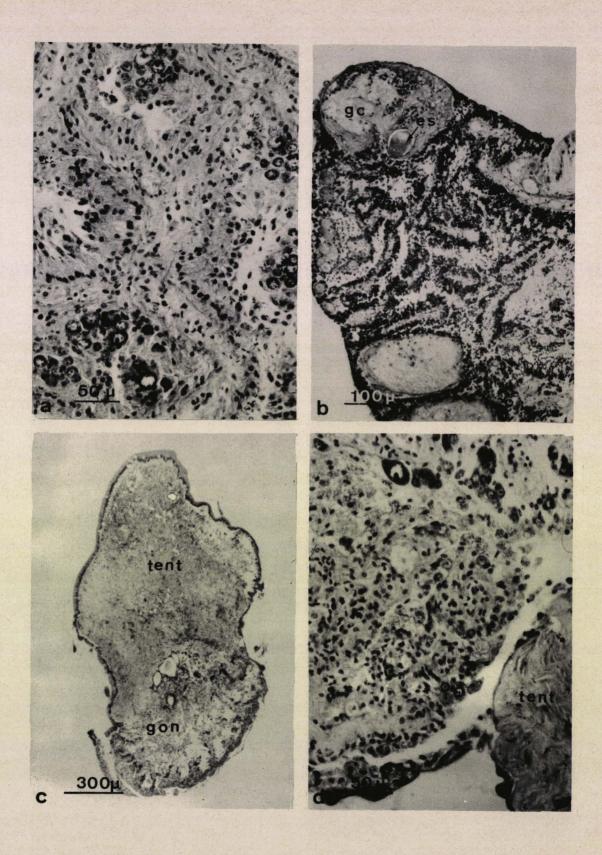
# PLANCHE X

Evolution d'une gonade en phase mâle en association autologue avec le cerveau ou le tentacule.

Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.

- Fig. a Etat de la gonade au moment de la mise en culture.

  L'épithélium germinatif ne présente aucune activité. Noter l'existence d'ilôts femelles.
- Fig. b Tronçon associé au ganglion cérébroïde (gc). La spermatogenèse est abondante et régulière. Remarquer l'existence d'un espace sanguin infracérébral (e.s).
- Fig. c Fragment de gonade (gon) associé au tentacule (Tent.). On ne constate aucune reprise d'activité génitale.
- Fig. d Détail de la figure précédente. L'aspect cytologique est voisin de celui de la gonade témoin (fig. a). Noter la présence d'un ovocyte en accroissement.



# PLANCHE XI

Culture de gonades juvéniles. Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.

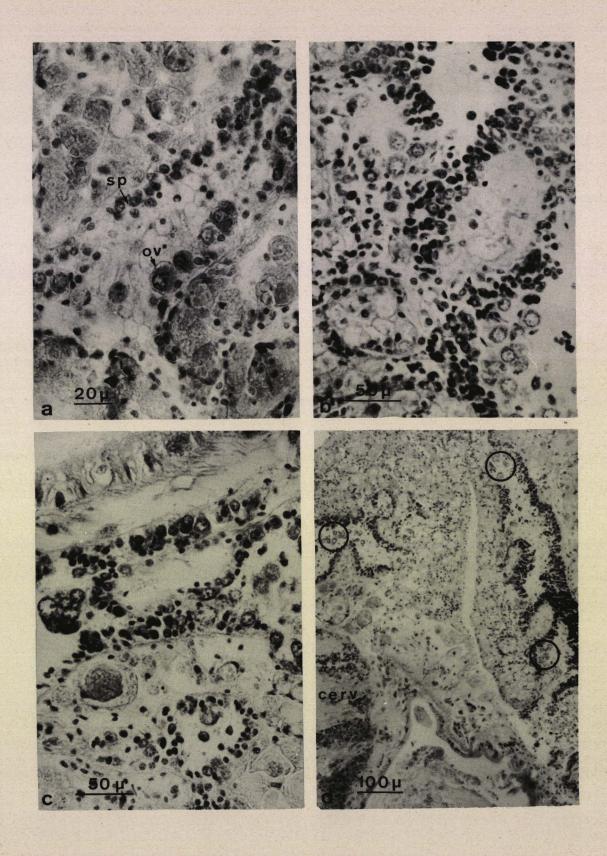
- Fig. a Epithélium germinatif d'une patelle de 10 mm de long cultivé seul pendant un mois.

  La gonade juvénile n'évolue pas aucune différenciation n'apparaît.

  Les spermatogonies (sp) et les ovogonies (ov) coexistent.
- Fig. b Gonade d'un animal de 12 mm cultivé isolément pendant 25 jours.

  La différenciation mâle est caractérisée par l'apparition de spermatocytes.

  Les ovogonies n'évoluent pas.
- Fig. c Glande génitale d'un exemplaire de 12 mm associée durant 20 jours avec le cerveau d'une femelle en début d'ovogenèse. Noter l'absence d'évolution de la lignée ovogénétique.
- Fig. d Gonade d'une patelle de 13 mm cultivée, <u>in vitro</u>, pendant un mois avec le cerveau d'une femelle en début d'ovogenèse (cerv.). La lignée mâle évolue. Plusieurs ilôts d'ovogonies et de très jeunes ovocytes sont décelables (cercles). Toutefois, ils ne prolifèrent pas, il n'y a pas d'ovogenèse précoce.



# PLANCHE XII

Culture de gonades juvéniles Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.

- Fig. a Glande génitale d'une patelle de 13 mm, cultivée isolément pendant 40 jours.

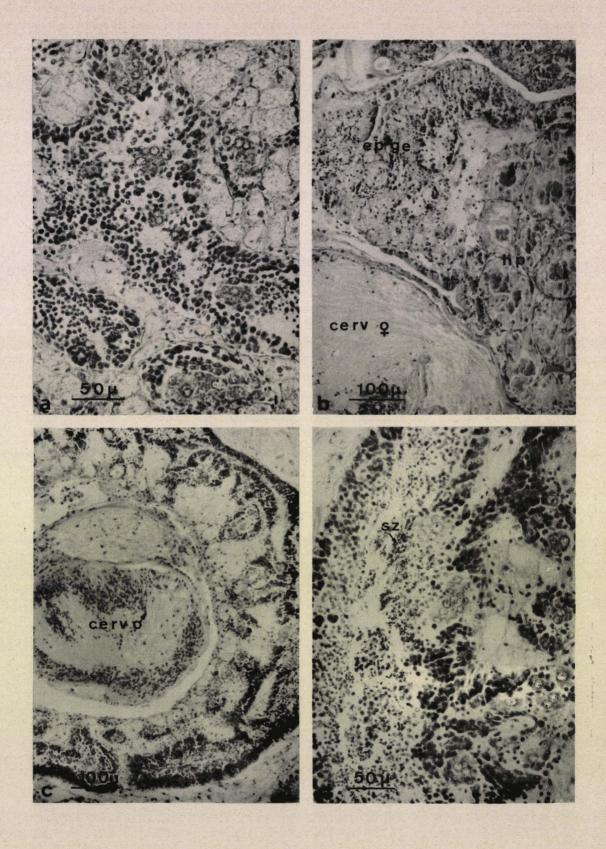
  Noter la présence de spermatogonies et de spermatocytes.
- Fig. b Epithélium germinatif (ep ge) d'un animal juvénile de 9 mm cultivé en présence du cerveau d'une femelle active (cerv. Q) pendant 25 jours.

  On ne constate aucune évolution.

  A droite de la photo apparaît un fragment d'hépatopancréas (hp) explanté avec la gonade.
- Fig. c Gonade d'un animal de 13 mm associé pendant 20 jours avec le cerveau d'un individu en gamétogenèse mâle (cerv. d). La spermatogenèse est abondante.
- Fig. d Détail de la photo précédente.

  Les spermatozoïdes sont présents (sz). Le cerveau associé semble être responsable de cette évolution.

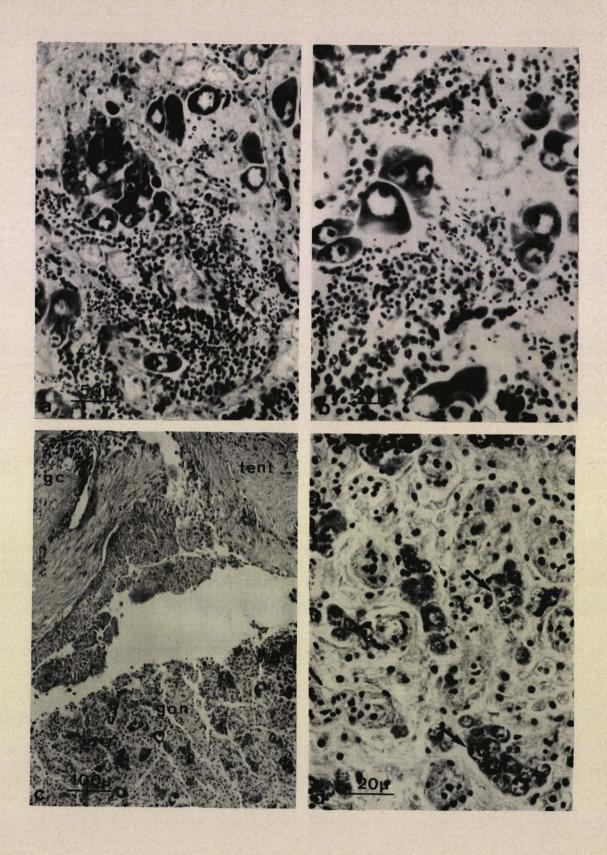
  Les ovogonies restent quiescentes.



## PLANCHE XIII

Evolution de la lignée femelle chez les individus en phase mâle Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer (fig. c, d). Hématoxyline de Heidenhain (fig. a, b).

- Fig. a Gonade explantée chez un animal en phase mâle en période de gamétogenèse et cultivée en présence du cerveau. Les ovogonies sont quiescentes. De nombreux ovocytes sont en prévitellogenèse mais aucun d'entr'eux ne présente de granules vitellins.
- Fig. b Glande génitale prélevée chez une patelle en spermatogenèse naturelle. Remarquer une similitude de structure avec la figure a.
- Fig. c Fragment de gonade (GON) en phase mâle prélevée en période de repos sexuel et associé avec le complexe céphalique (Tent.gc). On ne constate aucune différenciation spermatogénétique. La lignée femelle est répartie en ilôts. Des ovocytes en auxocytose sont présents.
- Fig. d Détail de la photo précédente montrant des ilôts d'ovogonies, certaines d'entr'elles étant en division (flèches).

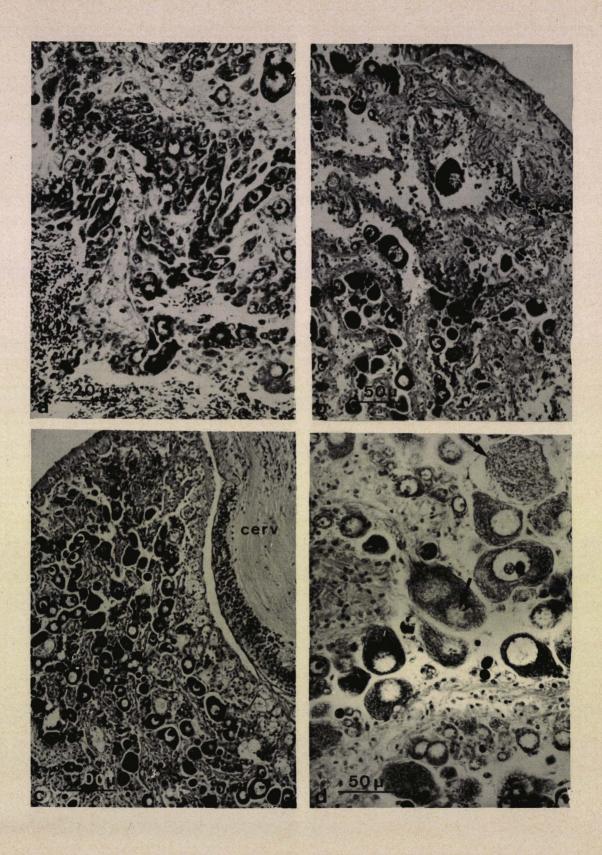


#### PLANCHE XIV

Culture de gonade en préinversion . Associations autologues. Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.

- Fig. a Etat de la gonade en préinversion au moment de la mise en culture. La lignée femelle est abondante, elle accupe la paroi des
  follicules.

  La lignée mâle n'est représentée que par des spermatozoïdes.
- Fig. b Fragment cultivé isolément pendant 30 jours. On observe des ovocytes en auxocytose mais la lignée femelle n'a pas évolué. L'inversion sexuelle ne se poursuit pas.
- Fig. c Tronçon de la même gonade maintenu en association avec le cerveau du donneur (cerv.). Les éléments ovogénétiques sont beaucoup plus nombreux.
- Fig. d Détail de la photo précédente montrant la présence d'ovocytes en début de vitellogenèse. Le cytoplasme renferme des globules vitellins (flèches).

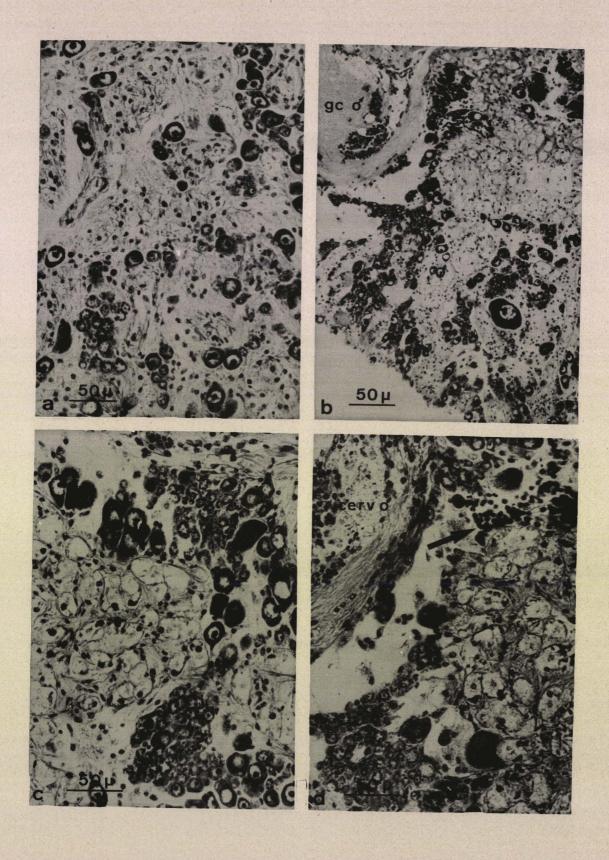


# PLANCHE XV

Culture de gonades en préinversion. Associations hétérologues. Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.

- Fig. a Etat de la gonade associée avec un cerveau de patelle juvénile de 10 mm de long.

  La lignée femelle n'évolue pas. Le cerveau d'un animal juvénile semble donc inactif.
- Fig. b Fragment de gonade cultivé en présence d'un ganglion cérébroïde d'un animal en spermatogenèse (gc d). Les ilôts ovogénétiques sont abondants.
- Fig. c Détail de la photo précédente. On constate de nombreuses ovogonies et des ovocytes en auxocytose. Toutefois, aucun élément n'est en vitellogenèse.
- Fig. d Association d'une gonade en préinversion avec un cerveau d'animal en phase mâle (cerv. d). On constate la présence d'un ilôt mâle constitué de spermatogonies et de spermatocytes (flèche).



# PLANCHE XVI

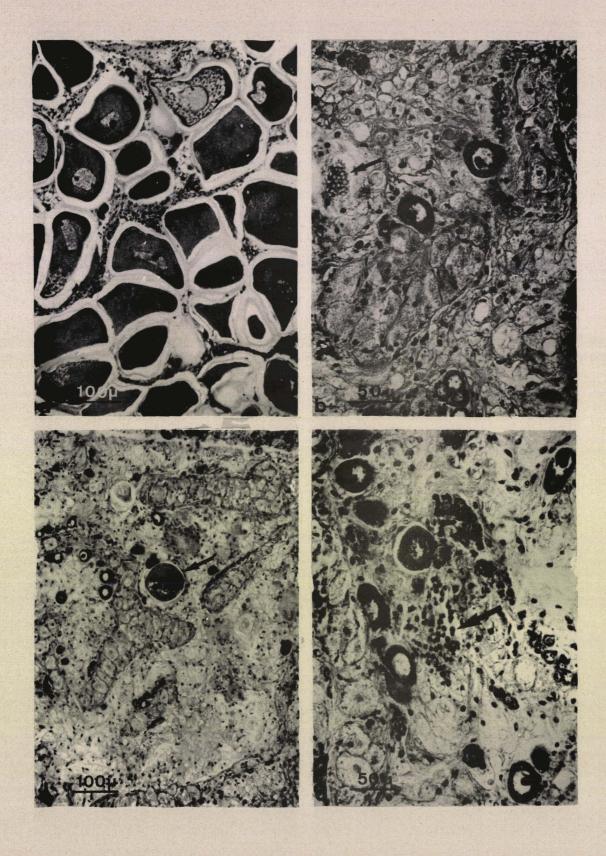
Culture de gonades femelles. Bouin-Hollande. Glychémalun de Mayer.

- Fig. a Aspect cytologique de l'explant au moment de la mise en culture.

  Les ovocytes sont mûrs ; les ovogonies et ovocytes jeunes sont peu nombreux.
- Fig. b Gonade cultivée seule pendant un mois. Les ovocytes en vitellogenèse ont dégénéré. Sur la photo, quelques amas vitellins subsistent encore (flèches). Un tissu phagocytaire envahit la lumière
  des acini ; les cellules se chargent de substances issues de la
  pycnose des ovocytes. Les jeunes éléments en auxocytose ne sont
  pas lysés mais n'entrent pas en vitellogenèse.
- Fig. c Fragment de gonade cultivé en association autologue avec le cerveau. Sa présence n'entraîne pas le maintien de l'ovogenèse.

  Quelques ovocytes en dégénérescence subsistent encore (flèche).

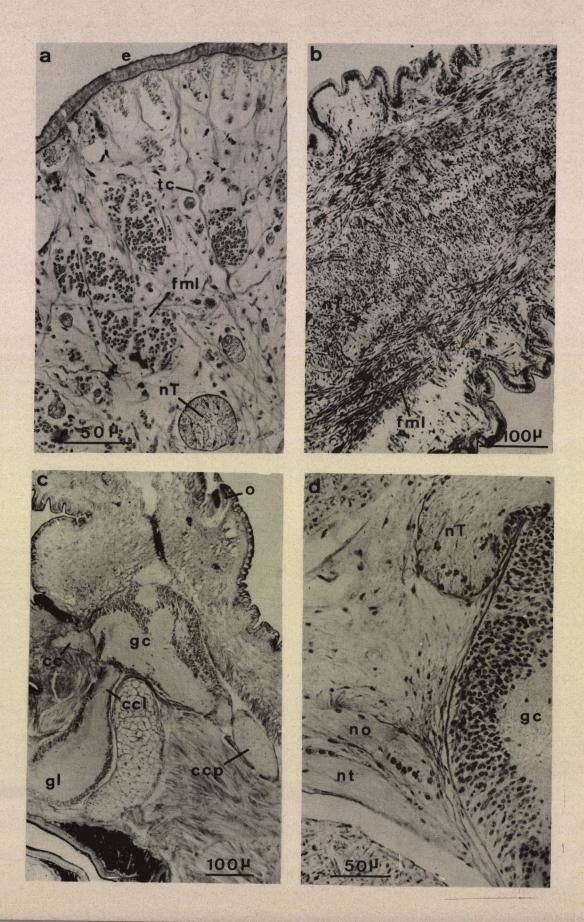
  Les ovocytes en prévitellogenèse ne subissent pas de pycnose mais ne présentent pas de globules vitellins.
- Fig. d Culture isolée de gonade femelle prélevée en période de vitellogenèse. Les ovocytes âgés ont dégénéré. Remarquer la présence d'un ilôt mâle (flèche).



#### PLANCHE XVII

Etude histologique du complexe tentacule-ganglion cérébroïde. BOUIN-HOLLANDE. Trichromique de Masson, variante de Goldner.

- Fig. a Détail d'une portion de filament tentaculaire en coupe transversale.
- Fig. b Coupe longitudinale du filament tentaculaire.
- Fig. c Position du ganglion cérébroïde.
- Fig. d Départ des trois troncs nerveux issus du cerveau et pénétrant dans le tentacule.
  - c.c : commissure cérébrale ; c.c.l : connectif cérébro-labial ;
    c.c.p : connectif cérébro-pleural ; e : épiderme ; f.m.l : faisceaux musculaires longitudinaux ; g.c : ganglion cérébroide ;
    g.l : ganglion labial ; n.o : nerf optique ; n.t : nerf tégumentaire ; n.T : nerf tentaculaire ; o : oeil ; t.c : tissu conjonctif.



## PLANCHE XVIII

Etude histologique du complexe tentacule-ganglion cérébroïde.

- Fig. a Zone corticale du ganglion cérébroïde montrant les neurones de type a et b. p : perineurium.

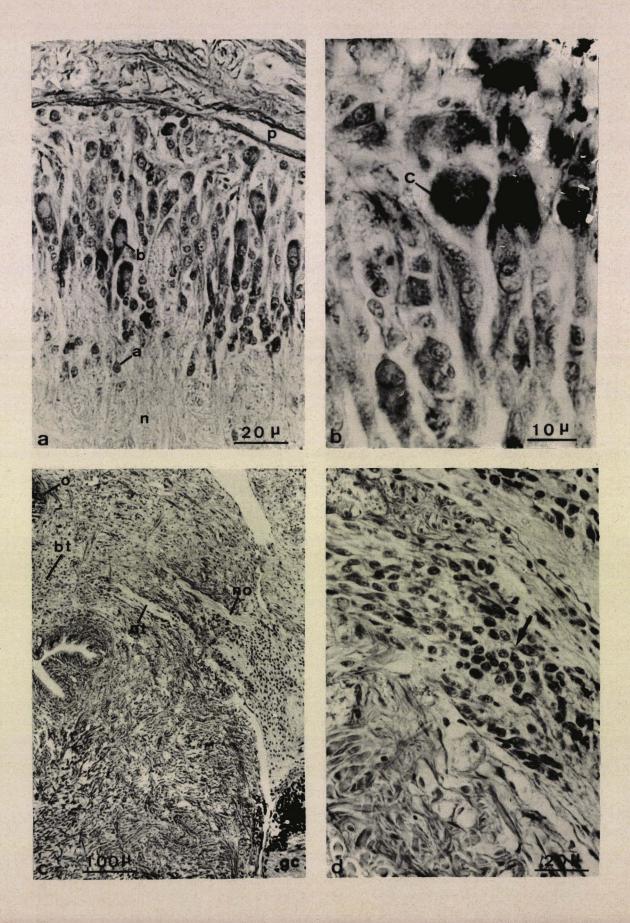
  Bouin-Hollande. Hématoxyline chromique de Gomori.
- Fig. b Cellule du type c dans le cortex cérébral.

  Bouin-Hollande. Hématoxyline chromique de Gomori.
- Fig. c Trajet des nerfs tégumentaire et optique, dans le bourrelet du tentacule.

  Bouin-Hollande. Triple coloration de Prenant.

  b.t : bouton terminal ; g.c : ganglion cérébroïde ; n : neuropile ; n.o : nerf optique ; n.t : nerf tégumentaire ; o : oeil.
- Fig. d Renflement ganglionnaire existant sur le trajet du nerf tégumentaire. Même coloration que pour la figure c. Remarquer qu'il existe de nombreuses petites cellules nerveuses (flèche)

  Bouin-Hollande. Trichromique de Masson.



#### PLANCHE XIX

Etude histologique du complexe tentacule-ganglion cérébroïde. Bouin-Hollande. Trichromique de Masson, variante de Goldner (Fig. b, c). Triple coloration de Prenant (Fig. a, d,e, f).

- Fig. a Extrémité du nerf tégumentaire, étalée en une large plage très riche en noyaux (flèche).
- Fig. b Coupe de l'oeil. Noter la présence d'un organe sous-oculaire (flèche).
- Fig. c Détail de l'organe sous-oculaire. a.e : amas éosinophiles ; e.s : espaces sanguins.
- Fig. d Organe juxtaganglionnaire (flèche) accolé au ganglion cérébroïde (g.c).
- Fig. e Détail de cet organe.
- Fig. f Tissu glial formant un manchon autour de la base du nerf tentaculaire (n.T).

