

50.376

1971

N° d'ordre

29-1

50376

1971

29_1

UNIVERSITÉ DES SCIENCES
ET TECHNIQUES
DE LILLE

THÈSE

présentée



A L'UNIVERSITÉ DE LILLE I
U. E. R. DE BIOLOGIE

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR
ÈS SCIENCES NATURELLES

par

JEAN-CLAUDE WISSOCQ

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MUSCULATURE
ET DE SON ÉVOLUTION AU COURS DE LA STOLONISATION DES
SYLLIDIENS ET DE L'ÉPITOQUIE DES NEREIDIENS
(ANNELIDES POLYCHÈTES)

Soutenu le *29 mars* 1971

devant la commission d'examen

MM. R. DEFRETIN, Président
M. DURCHON, Rapporteur
E. VIVIER, Examineur
R. COLTEAUX, Membre invité

SCD LILLE 1



D 030 307900 3

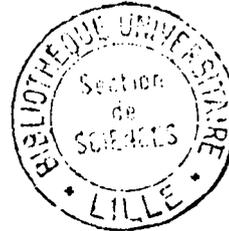
50.376
1971
N° d'ordre
29-1

50376
1971
29_1

UNIVERSITÉ DES SCIENCES
ET TECHNIQUES
DE LILLE

THÈSE

présentée



A L'UNIVERSITÉ DE LILLE I
U. E. R. DE BIOLOGIE

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR
ÈS SCIENCES NATURELLES

par

JEAN-CLAUDE WISSOCQ

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MUSCULATURE
ET DE SON ÉVOLUTION AU COURS DE LA STOLONISATION DES
SYLLIDIENS ET DE L'ÉPITOQUIE DES NEREIDIENS
(ANNELIDES POLYCHÈTES)**

Soutenue le 1971
devant la commission d'examen

MM. R. DEFRETIN,	Président
M. DURCHON,	Rapporteur
E. VIVIER,	Examineur
R. COUTEAUX,	Membre invité

UNIVERSITE DES SCIENCES
ET TECHNIQUES DE LILLE

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

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE : M. DEFRETIN.

PROFESSEURS HONORAIRES : M. ARNOULT, Mme BEAUJEU, MM. BEGHIN, BROCHARD, CAU, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, DEHEUVELS, DEHORNE, DEHORS, FAUVEL, FLEURY, P. GERMAIN, HEIM DE BALSAC, HOCQUETTE, KAMPE DE FERIET, KOURGANOFF, LAMOTTE, LELONG, Mme LELONG, MM. LIEBAERT, MARTINOT-LAGARDE, MAZET, MICHEL, NORMANT, PARISELLE, PASCAL, PAUTHENIER, PEREZ, ROIG, ROSEAU, ROUBINE, ROUELLE, WIEMAN, ZAMANSKY.

PROFESSEURS TITULAIRES :

M. ANGRAND Jean-Pierre	Géographie et Aménagement Spatial
M. BACCHUS Pierre	Astronomie et Calcul Numérique
M. BEAUFILS Jean-Pierre	Chimie Générale
M. BECART Maurice	I.U.T. Lille
M. BLOCH Vincent	Psychophysiologie
M. BIAYS Pierre	Géographie et Aménagement Spatial
M. BONNEMAN Pierre	Chimie Industrielle
M. BONTE Antoine	Géologie Appliquée
M. BOUGHON Pierre	Mathématiques
M. BOURIQUET Robert	Biologie végétale
M. CAPET Marcel-François	Institut de Préparation aux Affaires
M. CELET Paul	Géologie Générale
M. CONSTANT Eugène	Electronique
M. CORSIN Pierre	Paléobotanique
M. DECUYPER Marcel	Mathématiques
M. DEDECKER Paul	Mathématiques
M. DEFRETIN René	Biologie Animale .. Directeur de l'Institut de Biologie Maritime de Wimereux
M. DELATTRE Charles	Géologie Générale
M. DURCHON Maurice	Biologie Animale
M. FLATRES Pierre	Géographie et Aménagement Spatial
M. FOURET René	Physique
M. GABILLARD Robert	Electronique
M. GEHU Jean-Marie	Institut Agricole
M. GLACET Charles	Chimie Organique
M. GONTIER Gérard	Mécanique des Fluides

M. GUILLAUME Jean	Biologie Végétale
M. HEUBEL Joseph	Chimie Minérale
Mme LENOBLE Jacqueline	Physique
M. MONTREUIL Jean	Chimie Biologique
M. POUZET Pierre	I.U.T. Lille
Mme SCHWARTZ Marie-Hélène	Mathématiques
M. TILLIEU Jacques	Physique
M. TRIDOT Gabriel	Chimie Minérale Appliquée
M. VIDAL Pierre	Automatique
M. VIVIER Emile	Biologie Animale
M. WATERLOT Gérard	Géologie et Minéralogie
M. WERTHEIMER Raymond	Physique

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL :

M. BOUISSET Simon	Physiologie Animale
M. DELHAYE Michel	Chimie Physique et Minérale 1er Cycle
M. LEBRUN André	Electronique
M. LINDER Robert	Biologie Végétale
M. LUCQUIN Michel	Chimie Physique
M. PARREAU Michel	Mathématiques
M. PRUDHOMME Rémy	Sciences Economiques et Sociales
M. SAVARD Jean	Chimie Générale
M. SCHALLER François	Biologie Animale
M. SCHILTZ René	Physique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. BELET Jean	Physique
M. BODARD Marcel	Biologie Végétale
M. BOILLET Pierre	Physique
M. DERCOURT Jean Michel	Géologie et Minéralogie
M. DEVRAINNE Pierre	Chimie Minérale
M. LOMBARD Jacques	Sciences Economiques et Sociales
Mlle MARQUET Simone	Mathématiques
M. MONTARIOL Frédéric	Chimie Minérale Appliquée
M. PROUVOST Jean	Géologie et Minéralogie
M. VAILLANT Jean	Mathématiques

MAITRES DE CONFERENCES (et chargés des fonctions)

M. ADAM Michel	Sciences Economiques et Sociales
M. ANDRE Charles	Sciences Economiques et Sociales
M. AUBIN Thierry	Mathématiques Pures
M. BEGHIN Paul	Mécanique des Fluides
M. BILLARD Jean	Physique
M. BENOUCHE Rudolphe	Mathématiques
M. BOILLY Bénoni	Biologie Animale
M. BONNEMAIN Jean-Louis	Biologie Végétale
M. BONNOT Ernest	Biologie Végétale
M. BRIDOUX Michel	I.U.T. Béthune
M. BRUYELLE Pierre	Géographie et Aménagement Spatial
M. CAPURON Alfred	Biologie Animale
M. CARREZ Christian	Calcul Numérique
M. CHOQUET Marcel	I.U.T. Lille
M. CORDONNIER Vincent	Calcul Numérique
M. CORTOIS Jean	Physique
M. COULON Jean-Paul	Electrotechnique
M. DEBRABANT Pierre	Sciences Appliquées
M. ESCAIG Bertrand	Physique
Mme EVRARD Micheline	I.U.T. Lille
M. FAIDHERBE Jacques	Psychophysiologie
M. FONTAINE Jacques	I.U.T. Lille
M. FROELICH Daniel	Sciences Appliquées
M. GAMELIN André	Géographie et Aménagement Spatial
M. GOELOT Rémi	Mathématiques
M. GOSSELIN Gabriel	Sciences Economiques et Sociales
M. GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M. GRANELLE	Sciences Economiques et Sociales
M. GRUSON Laurent	Mathématiques
M. GUILBAUT Pierre	Physiologie Animale
M. HENRY Maurice	Physique
M. HUARD DE LA MARRE Pierre	Calcul Numérique
M. JOURNEL Gérard	Sciences Appliquées
Mlle KOSMANN Yvette	Mathématiques
M. LABLACHE-COMBIER Alain	Chimie Générale

M. LACOSTE Louis	Biologie Végétale
M. LANDAIS Jean	Chimie Organique
M. LAURENT François	Automatique
M. LAVAGNE Pierre	Sciences Economiques et Sociales
Mlle LEGRAND Solange	Mathématiques
M. LEHMANN Daniel	Mathématiques
Mme LEHMANN Josiane	Mathématiques
M. LENTACKER Firmin	Géographie et Aménagement Spatial
M. LEROY Jean-Marie	E.N.S.C.L.
M. LEROY Yves	I.U.T. Lille
M. IHENAFF René	Géographie et Aménagement Spatial
M. LOCQUENEUX Robert	Physique
M. LOUAGE Francis	Sciences Appliquées
M. LOUCHEUX Claude	Chimie Physique
M. MAES Serge	Physique
Mme MAILLET Monique	Sciences Economiques et Sociales
M. MAIZIERES Christian	Automatique
M. MALAUSSENA Jean-Louis	Sciences Economiques et Sociales
M. MESSELYN Jean	Physique
M. MIGEON Michel	Sciences Appliquées
M. MONTEL Marc	Physique
M. MONTUELLE Bernard	I.U.T. Lille
M. MUSSCHE Guy	Sciences Economiques et Sociales
M. NICOLE Jacques	E.N.S.C.L.
M. OUZIAUX Roger	Sciences Appliquées
M. PANET Marius	Electrotechnique
M. PAQUET Jacques	Sciences Appliquées
M. PARSY Fernand	Mécanique des Fluides
M. PONSOLLE Louis	Chimie (Valenciennes)
M. POVY Jean-Claude	Sciences Appliquées
M. RACZY Ladislas	Radioélectricité
Mme RENVERSEZ Françoise	Sciences Economiques et Sociales
M. ROUSSEAU Jean-Paul	Physiologie Animale
M. ROYNETTE Bernard	Mathématiques
M. SALMER Georges	Electrotechnique
M. SEGUIER Guy	I.U.T. Béthune
M. SIMON Michel	Sciences Economiques et Sociales

M. SMET Pierre	Physique
M. SOMME Jean	Géographie et Aménagement Spatial
M. THOMAS Daniel	Chimie Minérale Appliquée
M. TOULOTTE Jean-Marc	Sciences Appliquées
M. TREANTON Jean-René	Sciences Economiques et Sociales
M. VANDORPE Bernard	Sciences Appliquées
M. VILETTE Michel	I.U.T. Béthune
M. WATERLOT Michel	Géologie Générale
Mme ZINN JUSTIN Nicole	Mathématiques

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA MUSCULATURE
ET DE SON EVOLUTION AU COURS DE LA STOLONISATION DES SYLLIDIENS
ET DE L'EPITOQUIE DES NEREIDIENS (ANNELIDES POLYCHETES).

Jean-Claude WISSOCQ

Laboratoire de Biologie Animale
Centre de Recherches sur la Cellule et
Laboratoire Associé au CNRS, n° 148

AVANT-PROPOS

C'est avec un très grand plaisir que je tiens à exprimer à Monsieur le Professeur M. DURCHON, toute ma reconnaissance et mon profond attachement. Je lui dois ma vocation de chercheur. Je pensais, au début, que le Diplôme d'Etudes Supérieures, entrepris sous sa direction, me permettrait de préparer l'agrégation, Mais, très vite, j'ai été attiré irrésistiblement par l'enthousiasme, l'esprit rigoureux et intuitif, les méthodes expérimentales qu'il mettait en jeu pour aborder et cerner les multiples problèmes de recherches. Au cours du long chemin qui mène à la soutenance de Thèse, j'ai trouvé en lui un guide sûr, sachant, dans les moments difficiles, me redonner espoir et courage. Qu'il soit assuré que son exemple restera pour moi un stimulant pour la poursuite de ma carrière.

Il m'est particulièrement agréable de remercier Monsieur le Professeur R. DEFRETIN, Doyen de la Faculté des Sciences. Auteur d'un ouvrage de base sur l'évolution de la musculature des Néréidiens, il me proposa très aimablement d'étendre mes recherches à cette famille d'Annélides. Il ne cessa de s'intéresser à l'évolution de mon travail, de collaborer même à l'étude de certains problèmes, de me faire bénéficier de ses nombreuses connaissances. Au cours de mes fréquents séjours au Laboratoire de Biologie Maritime de Wimereux, il a toujours su prodiguer à mon égard de nombreuses facilités matérielles.

A Monsieur le Professeur E. VIVIER, j'exprime toute ma reconnaissance pour l'intérêt qu'il a toujours porté à mes recherches. Je lui dois l'essentiel de ma formation en microscopie électronique. Ses conseils judicieux, son esprit critique, son souci de la perfection ont contribué à améliorer sans cesse mon travail.

Monsieur le Professeur **COUTEAUX**, de la Faculté des Sciences de Paris m'a fait le grand honneur de s'intéresser à mes recherches et d'accepter d'en juger les résultats. Je me permets de lui exprimer ici ma sincère et respectueuse gratitude.

Je n'oublierai pas combien je suis redevable à Monsieur M. SAUSSEY, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de Caen, pour les nombreux Syllis qu'il m'a procurés. Je suis heureux de lui renouveler tous mes remerciements.

Mes collègues et amis A. BART, B. BOILLY, A. DHAINAUT, R. MARCEL et J. SCHREVEL ont souvent sacrifié un temps précieux pour me faire bénéficier de leurs conseils ou critiques, ou m'apporter d'utiles renseignements.

Monsieur G. HIMPENS, dessinateur au C.N.R.S. a mis son grand talent à ma disposition. Je lui en suis très reconnaissant. Je dois la qualité des reproductions photographiques à la compétence de Monsieur D. LAZARECKI et à l'aide de Madame OGER. Enfin, j'adresse mes plus vifs remerciements à Madame F. BONET, technicienne de Monsieur le Professeur DEFRETIN, qui m'a apporté l'aide la plus efficace tant sur le plan technique que matériel, dans l'élaboration de ce mémoire.

SOMMAIRE

<u>INTRODUCTION</u>	p. 1
<u>MATERIEL ET METHODES</u>	p. 3
I - Techniques opératoires et d'injection	p. 3
II - Techniques de microscopie photonique	p. 4
III - Techniques de microscopie électronique	p. 6

PREMIERE PARTIE

COMPARAISON ENTRE LES MUSCLES DES SYLLIS ET NEREIS IMMATURES ET CEUX DES STOLONS ET HETERONEREIS

<u>INTRODUCTION</u>	p. 10
<u>CHAPITRE I</u> - MUSCULATURE DES VERS IMMATURES	p. 11
A - Disposition des fibres musculaires longitudinales	p. 11
1 - Chez <u>S. amica</u>	p. 11
2 - Chez <u>N. irrorata</u>	p. 12
B - Forme et dimensions des fibres	p. 13
1 - <u>S. amica</u>	p. 13
2 - <u>N. irrorata</u>	p. 14
C - La structure des fibres	p. 15
I - Le matériel contractile	p. 15
1 - Fibres non contractées	p. 15
a) La double striation oblique. Les myofibrilles en microscopie optique	p. 15
b) Aspect des myofibrilles en microscopie électronique	p. 17
c) Les myofilaments	p. 17
. Longueur des filaments épais	p. 17
. Disposition des filaments épais et fins. Proportion des filaments fins par rapport aux filaments épais	p. 19
. Le diamètre et la structure des filaments	p. 20
d) La strie Z	p. 22
2 - Fibres contractées	p. 22
a) Aspect des fibrilles sur les fibres isolées de <u>N. pelagica</u> , après action de l'adénosine triphosphate	p. 22
b) Aspect, au microscope électronique, des fibres contractées par action du fixateur	p. 23

c) Aspect des fibres extraites au glycérol et soumises à l'action de l'ATP	p. 24
II - Le reticulum sarcoplasmique	p. 25
III - Autres éléments cytoplasmiques	p. 26
1 - Evaginations du sarcolemme chez <u>S. amica</u>	p. 26
2 - Prolongements de fibres et jonctions neuromusculaires .	p. 26
3 - Mitochondries	p. 27
IV - Le noyau	p. 28
 <u>CHAPITRE II</u> - MUSCULATURE LONGITUDINALE DES STOLONS ET VERS ERTOQUES .	p. 29
A - Disposition des fibres	p. 29
1 - Chez <u>S. amica</u>	p. 29
2 - Chez <u>N. irrorata</u>	p. 29
B - Forme et dimensions des fibres	p. 30
1 - Chez <u>S. amica</u>	p. 30
2 - Chez <u>N. irrorata</u>	p. 31
C - Structure des fibres	p. 31
I - Le matériel contractile	p. 31
1 - Etat de repos	p. 31
a) La striation oblique. Observation au microscope photonique	p. 31
b) Aspect des myofibrilles en microscopie électronique	p. 32
c) Les myofilaments	p. 32
. Longueur et orientation des myofilaments épais ...	p. 32
. Disposition des filaments épais et fins. Proportion des filaments fins par rapport aux épais.	p. 33
. Le diamètre et la structure des filaments	p. 34
d) La strie Z	p. 34
2 - La fibre contractée	p. 35
a) Aspect des fibrilles des fibres isolées de <u>N. pe-</u> <u>lagica</u> après action de l'ATP	p. 35
b) Aspect, en microscopie électronique, des fibres contractées par action du fixateur	p. 35
c) Aspect, en microscopie électronique, des fibres contractées par action de l'ATP	p. 35
II - Le reticulum sarcoplasmique	p. 36
III - Autres éléments	p. 36
1 - Evaginations du sarcolemme des fibres de <u>S. amica</u> . Prolongements et synapses neuro-musculaires	p. 36

2 - Mitochondries	p. 36
3 - Autres inclusions cytoplasmiques	p. 37
4 - Le noyau	p. 37
<u>CHAPITRE III - MUSCULATURE DU STOLON ET DE L'HETERONEREIS SENESCENTS</u> .	p. 38
<u>DISCUSSION DES CHAPITRES I, II et III</u>	p. 39
I - Le problème de l'orientation et de la disposition des filaments dans les fibres de <u>N. pelagica</u> , <u>N. irrorata</u> et <u>S. amica</u>	p. 39
II - La contraction	p. 42
III - L'innervation	p. 45
IV - Comparaison entre les fibres de type souche et stoloniales de <u>S. amica</u> et <u>N. irrorata</u>	p. 46
1 - Forme et dimensions des fibres	p. 47
2 - Le matériel contractile	p. 47
a) La disposition des filaments	p. 47
b) La proportion des filaments fins par rapport aux épais	p. 48
c) La longueur des filaments myosiniques et des sarcomères	p. 48
d) Le diamètre des filaments paramyosiniques	p. 49
3 - Le reticulum sarcoplasmique	p. 52
4 - Les mitochondries	p. 54
5 - Le glycogène	p. 55
<u>CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE</u>	p. 56

DEUXIEME PARTIE

EVOLUTION DE LA MUSCULATURE LONGITUDINALE DORSALE ET VENTRALE AU COURS DE LA STOLONISATION DE SYLLIS AMICA. LA DEDIFFERENCIATION ET LA DEGENERESCENCE.

<u>CHAPITRE IV - LA DEDIFFERENCIATION</u>	p. 59
<u>INTRODUCTION</u>	p. 59
<u>OBSERVATIONS</u>	p. 60
I - Les différents stades morphologiques de l'évolution stoloniale de <u>S. amica</u>	p. 60
II - Rappel de la répartition des fibres dans le <u>Syllis</u> immature et le stolon	p. 61

III - Les différents stades évolutifs	p. 62
- Stade 0	p. 62
- Stade 1	p. 62
- Stades 2 et 3	p. 63
- Stade 4	p. 65
- Stade 5	p. 66
- Stade 6	p. 67
- Stade 8	p. 68
IV - Incorporation de leucine tritiée	p. 68
V - Injection de thorotrast	p. 69
<u>DISCUSSION</u>	p. 71
A - Hypothèse de la formation <u>de novo</u> des fibres stoloniales	p. 71
B - Hypothèse de la formation des fibres stoloniales à partir de fibres anciennes, du type souche	p. 72
I - Bref rappel des principales observations ; origine des cellules stoloniales	p. 72
II - Les modalités de la transformation	p. 73
1 - Les mitochondries	p. 73
2 - Le glycogène	p. 74
3 - Les myofilaments	p. 76
4 - Les noyaux. Le problème des divisions des fibres	p. 78
III - La dédifférenciation	p. 79
<u>CONCLUSION</u>	p. 82
<u>CHAPITRE V - LA DEGENERESCENCE</u>	p. 83
I - La sarcolyse par disparition tardive des filaments	p. 83
II - La sarcolyse par élimination précoce du matériel contractile	p. 84
1 - Sarcolyse dans les fibres du type souche au cours de la stolonisation	p. 84
a) Les différents aspects de l'involution	p. 84
b) La répartition des fibres en dégénérescence dans la musculature longitudinale	p. 86
2 - La dégénérescence des fibres stoloniales	p. 86
<u>DISCUSSION</u>	p. 88
I - Les processus décrits dans la dégénérescence avec apparition d'une substance homogène ne correspondraient- ils pas à une dédifférenciation ?	p. 89

II - Comparaison entre les deux types de sarcolyse décrits chez <u>S. amica</u> et ceux mis en évidence, par l'histologie classique, chez d'autres espèces d'Annélides Polychètes ...	p. 90
III - Comparaison avec des phénomènes de dégénérescence musculaire décrits chez d'autres Invertébrés	p. 91
IV - La phagocytose	p. 91
V - Le déterminisme de la lyse musculaire	p. 92
<u>CONCLUSION</u>	p. 93
<u>CONCLUSION DE LA SECONDE PARTIE</u>	p. 94

TROISIEME PARTIE

EVOLUTION DE LA MUSCULATURE LONGITUDINALE ET PARAPODIALE AU COURS DE L'ÉPITOQUIE CHEZ N. IRRORATA

<u>CHAPITRE VI</u> - EVOLUTION DES MUSCLES LONGITUDINAUX	p. 96
<u>INTRODUCTION</u>	p. 96
<u>OBSERVATIONS</u>	p. 97
A - L'évolution vers la formation des fibres hétéronéridiennes ...	p. 97
I - Bref rappel de la disposition et de la structure des fibres dans les <u>Nereis</u> immatures	p. 98
II - Etude de l'évolution musculaire en microscopie optique	p. 98
III - Injection de leucine tritiée	p. 101
IV - Fibres isolées de <u>N. irrorata</u> préépitoques	p. 101
V - Aspect général de l'évolution musculaire en microscopie électronique	p. 102
VI - Evolution des structures cellulaires	p. 104
1 - Les filaments de myosine et d'actine	p. 104
2 - Les mitochondries	p. 105
3 - Le glycogène	p. 106
4 - Autres inclusions ou organites cytoplasmiques	p. 107
5 - Le noyau	p. 108
B - L'évolution vers la dégénérescence	p. 109
I - La destruction avec persistance des filaments	p. 109
II - La sarcolyse avec disparition précoce des filaments	p. 109
1 - Description des processus dégénératifs	p. 109
2 - Emplacement des cellules en dégénérescence	p. 110

<u>DISCUSSION</u>	p. 111
I - Origine et principales phases évolutives des fibres hétéronéréidiennes	p. 111
1 - Hypothèse de la formation <u>de novo</u>	p. 111
2 - Hypothèse de la formation à partir des fibres néréidiennes	p. 112
II - Evolution des différents organites cellulaires	p. 113
1 - Les myofilaments	p. 113
2 - Les mitochondries	p. 114
3 - Le glycogène	p. 115
4 - Les autres organites cytoplasmiques	p. 117
5 - Le noyau	p. 117
III - Le problème de la dédifférenciation	p. 118
IV - La dégénérescence	p. 120
V - La comparaison entre nos résultats et ceux obtenus en microscopie photonique par Defretin	p. 122
<u>CONCLUSION</u>	p. 123
<u>CHAPITRE VII - LA NEOFORMATION DORSALE</u>	p. 125
<u>INTRODUCTION</u>	p. 125
<u>RESULTATS</u>	p. 126
I - Origine et évolution de la néoformation	p. 126
- Stade 1 - <u>N. pelagica</u>	p. 126
- Stade 2a - <u>N. irrorata</u>	p. 126
- Stade 2b - <u>N. irrorata</u>	p. 127
II - Structure de la néoformation au stade ultime de sa différenciation	p. 128
<u>DISCUSSION</u>	p. 130
I - Origine de la néoformation	p. 130
1 - Observations personnelles. Essai d'interprétation	p. 130
2 - Comparaison entre nos résultats et ceux de Charrier et Defretin	p. 132
II - Evolution des cellules constitutives de la néoformation ...	p. 133
III - Structure des fibres de la néoformation chez l' <u>Heteronereis</u>	p. 134
IV - Rôle de la néoformation	p. 135
<u>CONCLUSION</u>	p. 136

<u>CHAPITRE VIII</u> - LES MUSCLES PARAPODIAUX HETERONEREIDIENS	p. 137
<u>INTRODUCTION</u>	p. 137
<u>OBSERVATIONS</u>	p. 138
I - Evolution des fibres parapodiales	p. 138
1 - Les cellules périvasculaires	p. 138
2 - Dédifférenciation d'un certain nombre de fibres néréidiennes. Apparition de cellules indifférenciées ..	p. 139
a) Microscopie photonique	p. 139
b) Microscopie électronique	p. 140
3 - Apparition du massif de prolifération. Myofibrillogenèse	p. 141
a) Microscopie optique	p. 141
b) Microscopie électronique	p. 141
. Caractéristiques générales	p. 142
. Myofibrillogenèse	p. 142
II - Structure définitive des fibres	p. 143
III - Dégénérescence des fibres, chez des <u>Heteronereis</u> sénescents	p. 145
<u>DISCUSSION</u>	p. 146
I - Origine des fibres hétéronéréidiennes parapodiales	p. 146
II - Le problème de l' amitose	p. 148
III - La genèse des filaments	p. 149
1 - Les microtubules	p. 149
2 - Les ribosomes	p. 150
3 - Les filaments. Les éléments Z et du reticulum	p. 151
IV - La dégénérescence	p. 152
<u>CONCLUSION</u>	p. 153

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION

I - La fibre "atoque" ou du type souche et la fibre "épitoque" ou du type stolonial	p. 156
1 - Similarité de structure	p. 156
2 - Différences structurales entre la fibre "atoque" et la fibre "épitoque"	p. 159

II - L'évolution de la musculature au cours de la stolonisation et de l'épitoquie p. 160

- 1 - Musculature longitudinale. Formation des cellules hétéronéréidiennes ou stoloniales p. 160
- 2 - La néoformation dorsale des Néréidiens p. 162
- 3 - La musculature parapodiale hétéronéréidienne p. 162
- 4 - La dégénérescence des fibres chez les Syllidiens et Néréidiens p. 163

III - Comparaison avec les transformations de la musculature des Insectes, au cours de la métamorphose, la reproduction et la diapause p. 164

- 1 - Description des phénomènes et comparaison avec les Annélides p. 164
- 2 - Déterminisme des transformations musculaires p. 166

INTRODUCTION

Au moment de la reproduction, certaines Annélides Polychètes, telles que les Néréidiens et les Syllidiens, subissent de profondes transformations somatiques. Leurs segments postérieurs modifiés, munis de soies natatoires, contiennent les produits génitaux. Chez les Néréidiens, l'ensemble de ces transformations, ou épitoque, aboutit à la formation d'Heteronereis, capables d'essaimer en pleine mer. Chez la plupart des Syllidiens, par contre, la région postérieure transformée constitue un stolon qui se détache des segments antérieurs inchangés et formant la souche. Cette évolution des Syllidiens est désignée par le terme de stolonisation. Ces modifications externes s'accompagnent de profondes transformations internes. La plupart des tissus sont le siège de remaniements importants. C'est le cas, en particulier, de la musculature.

Chez les Néréidiens, un certain nombre de travaux d'histologie et de cytologie (CHARRIER, 1920 ; DEHORNE, 1922, 1926 ; DEFRETIN, 1949) ont porté sur l'évolution de la musculature au cours de l'épitoque. De l'ensemble des résultats obtenus, principalement par DEFRETIN (1949), deux points fondamentaux sont à dégager :

- 1 - La fibre musculaire hétéronéréidienne a un aspect très différent par rapport à la fibre atoque ; elle présente un cortex fibrillaire, contractile, alors que son axe renferme un contenu granuleux. La nature mitochondriale de ces granulations, établie par DEHORNE (1922) puis DEFRETIN (1949) a été confirmée, à l'aide du microscope électronique, par LINDNER et FISCHER (1964) chez Platynereis dumerilii Aud. et M.E. et par DEFRETIN (1964) chez Nereis irrorata Malmgren.

- 2 - Selon CHARRIER (1920) et surtout DEFRETIN (1949), les fibres hétéronéréidiennes de la musculature longitudinale proviennent des fibres anciennes, atokes, par suite de la transformation de ces dernières. Une différenciation suivie d'une redifférenciation interviennent au sein de la bulle.

Chez les Syllidiens, en raison vraisemblablement de la faible dimension des cellules musculaires, leur évolution n'a fait l'objet d'aucune étude précise. MALAQUIN (1893) et GIDHOLM (1965) signalent seulement que les fibres des stolons présentent un axe pointillé, finement granuleux, comme les fibres hétéronéréidiennes.

Il s'avérait donc indispensable de reprendre l'étude de ces problèmes en microscopie électronique et en utilisant d'autres techniques modernes. Pour les Syllidiens, une seule espèce a été étudiée : Syllis amica Quatrefages. Quant aux Néréidiens, nos observations ont principalement porté sur Nereis irrorata Malmgren et, dans quelques rares cas, sur Nereis pelagica Linné.

Dans une première partie, nous comparerons, à la fois chez S. amica et N. irrorata ou N. pelagica, les deux aspects extrêmes de la cellule musculaire : la fibre de type souche et atoque des vers immatures et la fibre stoloniale et épitoque (ou hétéronéréidienne) des individus en reproduction.

Dans une seconde partie, nous aborderons le problème de la différenciation et de la dégénérescence des cellules musculaires longitudinales de S. amica.

Enfin, la dernière partie de cette thèse sera consacrée à l'étude de l'évolution musculaire chez N. irrorata, au cours de laquelle seront envisagés non seulement les fibres longitudinales mais encore les muscles parapodiaux et la néoformation dorsale.

MATERIEL ET METHODES

Les Syllis amica proviennent de la baie de Nacqueville, près de Cherbourg. Les Nereis irrorata ont été récoltées près des Laboratoires de Biologie Marine de Wimereux (Pointe aux Oyes) et de Luc-sur-Mer (Ile de Quihot). Les Nereis pelagica ont été prélevées dans les crampors de Laminaires du Fort de Croy (en face du Laboratoire de Wimereux).

Toutes ces Annélides ont été isolées en boîtes de Pétri ou cristalliscirs et élevées à jeun, à la température constante de 15° C, pour les Nereis, 18° C pour les Syllis, dans de l'eau de mer filtrée, renouvelée toutes les semaines. Nous avons utilisé de l'eau de mer tyndallisée (3 chauffages à 60° C, au bain marie, pendant 3 jours consécutifs) pour les exemplaires opérés.

I - TECHNIQUES OPERATOIRES ET D'INJECTION

Les vers sont anesthésiés avant chaque opération. Les anesthésiques utilisés sont :

- le chlorure de magnésium à 77,7 g par litre d'eau distillée, pour S. amica et N. irrorata.
- le MS 222 (Sandoz) dilué à 1/1000 dans l'eau de mer, pour N. irrorata et N. pelagica.

1 - Ablations

On peut provoquer la stolonisation chez S. amica par l'ablation élective du proventricule pharyngien. L'épitoque des Néréidiens peut également être induite expérimentalement par ablation du prostomium. Ces techniques ont été mises au point et décrites par DURCHON (1952, 1959).

2 - Injection intracoelomique de colchicine chez S. amica et N. pelagica.

La faible dimension des Syllidiens nécessite l'emploi d'une microseringue Hamilton. L'injection de 7 à 8 µl est réalisée dans une dizaine de métamères environ. Chez les Néréidiens, le volume injecté est d'environ 0,25 ml.

La concentration de colchicine s'élève à 0,02 mg/ml (d'après les données de FLICKINGER et COWARD, 1962, chez la Planaire Dugesia dorotocephala). Cette substance est injectée chez des Syllis et Nereis du stade 0, avant les premiers symptômes évolutifs. Nous avons également ajouté de la colchicine, à la même concentration de 0,02 mg/ml, dans l'eau de mer d'un certain nombre d'individus ayant subi l'injection.

3 - Injection intracoelomique de "thorotrast" (1) pur chez S. amica.

En raison de la viscosité assez élevée du "thorotrast" (suspension colloïdale de dioxyde de Thorium stabilisée par la dextrine) nous n'avons pu utiliser les microseringues Hamilton. Nous avons donc fabriqué des microseringues en verre, à l'aide d'une microforge de DE FOMBRUNÉ. L'injection a été réalisée par l'intermédiaire du micromanipulateur mécanique de Leitz.

Le "thorotrast" est injecté dans une dizaine de segments environ. L'injection est arrêtée lorsque les métamères sont distendus par le produit. Bien que la quantité de thorium injecté n'ait pu être déterminée, celle-ci s'élève vraisemblablement aux environs de 8 à 10 μ l.

II - TECHNIQUES DE MICROSCOPIE PHOTONIQUE

a) Technique d'isolement des fibres musculaires

Grâce à l'extraction par la glycérine, selon la méthode de HUXLEY et HANSON (1957) il nous a été possible d'isoler des fibres musculaires de Syllis et de Nereis. Les vers ou tronçons à étudier sont plongés dans une solution de glycérol (glycérol : 50 vol ; eau distillée : 40 vol ; tampon phosphate 0,067 M : 10 vol) renouvelée deux fois en 48 h, à 4°C. Puis, ils sont conservés à -20° C pendant six semaines en général.

Pour la dilacération proprement dite, nous immergeons pendant une heure environ les tronçons de Nereis ou Syllis dans une solution saline standard (0,1 M KCl, 0,001 M MgCl₂, 0,0067 M tampon phosphate pH 7) additionnée d'un peu de glycérol, puis dans la solution saline seule. La cuticule et l'épiderme sont enlevés à l'aide de pinces fines ; une dilacération en plusieurs faisceaux de fibres est ensuite réalisée grâce à deux aiguilles de tungstène

(1) Produit fabriqué par TESTAGAR and C°, Détroit (Michigan - USA)

affinées après passage dans le nitrite de soude bouillant. Pour obtenir des fibres intactes, le meilleur procédé est d'agiter vigoureusement les faisceaux de fibres dans une goutte de solution saline standard. Ces opérations de dilacération sont suivies à la loupe binoculaire. Les observations et photographies sont faites au microscope à contraste de phase Zeiss.

b) Frottis et coloration à l'hématoxyline de fibres isolées

Dans les fibres stoloniales de S. amica, les fibrilles n'apparaissent pas nettement en contraste de phase, à cause de l'abondant chondriome axial.

Nous avons donc eu recours à la technique de frottis à l'hématoxyline selon GRASSE (1926) décrite dans le traité de GABE (1968). Nous avons mordancé à l'alun de fer à 3 % pendant 10 mn et coloré par une solution à 1 % d'hématoxyline pendant le même laps de temps. La différenciation a été faite par une solution d'alun de fer à 1 % pendant 30 secondes.

c) Techniques histologiques

- Inclusions à la paraffine.

Nous avons utilisé les fixateurs de Holly (Zenker-formol), de Bouin Hollande, de Carnoy.

Les colorations les plus fréquemment employées ont été : l'hémalun-éosine, le Cleveland-Wolfe, la triple coloration de PRENANT, l'hématoxyline selon HEIDENHAIN, la fuchsine d'ALTMANN, le Feulgen.

↳ Inclusions à l'Epon ou l'Araldite

Des coupes semi-fines d'échantillons inclus dans les résines Epon ou Araldite ont été réalisées à l'aide d'un ultramicrotome (Porter Blum ou LKB) pour des observations morphologiques. Un certain nombre d'entre elles ont été observées au microscope à contraste de phase Zeiss, mais la plupart ont été colorées au bleu de toluidine à 0,2 % dans une solution de carbonate de sodium anhydre (Méthode rapide de J.A. LYNN, 1965).

d) Autoradiographie

La leucine (L-leucine ^3H , 145 mCi/mM) à la dose de 15 μCi par gramme de poids frais a été utilisée comme précurseur des synthèses de protéines.

La technique d'injection intra-coelomique chez N. pelagica et S. amica est identique à celle décrite pour la colchicine.

Les vers sont fixés par le Carnoy après une durée de 24 h d'incorporation du précurseur tritié. Après déparaffinage, les coupes sont traitées à l'acide perchlorique à 1 % (4° C) pour éliminer les traces de précurseur non incorporé.

Les lames sont recouvertes par l'émulsion Gel Ilford F 5, selon la technique de FICQ (1961). Les lames sont révélées au D 19 b Kodak et colorées par le rouge solide-picro-indigo-carmin.

III - TECHNIQUES DE MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

1 - Techniques d'observation morphologique

a) Coupes ultrafines

- Musculature non contractée.

Les vers ont été anesthésiés par le MS 222 ou le chlorure de magnésium avant leur fixation. Nous avons employé les fixateurs suivants :

1. L'acide osmique à 2 % -tampon phosphate (MILLONIG, 1962) pendant 30 à 60 mn, selon la dimension des pièces, à la température du laboratoire.

2. Le glutaraldéhyde à 3 % dans le tampon phosphate (0,2 M) (SABATINI et Col., 1963) à froid (4° C) pendant 1, 2 ou 3 h, suivi d'un passage assez rapide dans le liquide de lavage contenant du sucre, puis une postfixation à l'acide osmique-tampon phosphate 0,1 M ou 0,2 M pendant 1 h à froid (4° C). Parfois du sucre a été ajouté au glutaraldéhyde à 3 %.

Les inclusions ont été faites dans l'Epon, l'Araldite ou encore le mélange Epon-Araldite. La coloration des coupes a été réalisée par l'acétate d'uranyle en solution alcoolique pendant 3 à 4 minutes, suivi par le citrate de plomb selon REYNOLDS (1963).

Les observations ont été faites sur microscope électronique Siemens Elmiskop I A.

- Musculature contractée.

Les Nereis n'ont pas été anesthésiées lorsque nous désirions obtenir des contractions de fibres musculaires.

Mais, nous avons aussi provoqué la contraction de faisceaux de fibres préalablement extraites au glycérol. Dans ce cas, les cellules musculaires sont transférées de la solution saline standard dans une solution de contraction (selon KAMYIA ^{et KURODA, 1965} à base d'ATP, ayant la composition suivante :

1 ml KCl, 1 M ; 50 ml ATP, 0,01 M ; ^{1 ml} MgCl₂·6H₂O, 0,1 M ; 20 ml tampon Tris, 0,05 M ; 28 ml eau bidistillée.

Après le passage dans cette solution de contraction, les muscles sont fixés par le glutaraldéhyde à 3 % suivi de l'acide osmique-tampon phosphate.

b) Problèmes dus à la fixation chez S. amica

Le glutaraldéhyde donne de bons résultats sur le tissu musculaire en général, et il est le plus couramment employé pour l'étude du muscle. Cette fixation a été utilisée pour des travaux sur des muscles de Polychètes (Syllis : BOULIGAND, 1966 ; Glycera : ROSENBLUTH, 1968 ; Nereis : nous-mêmes). Chez S. amica, le glutaraldéhyde ne préserve pas toujours les filaments secondaires, mais provoque surtout une dilatation importante des fibres, corrélatrice de fréquentes ruptures des membranes. En outre, il peut provoquer la formation de figures d'aspect myélinique dans les fibres en début d'évolution. D'une façon générale, ce fixateur ne s'est pas révélé favorable à l'étude des fibres en cours de transformation ou de celles du stolon. L'addition de sucrose n'a pas supprimé les inconvénients précités, aussi avons-nous réalisé la plupart de nos coupes sur pièces fixées à l'acide osmique - tampon phosphate (MILLONIG), qui a le grand avantage de respecter la forme des fibres et la plupart des structures. Toutefois, les filaments fins disparaissent après fixation osmique.

Pour la mise en évidence de ces filaments, nous avons eu recours au traitement à la glycérine des muscles, suivi de la fixation au glutaraldéhyde. Grâce à cette technique, non seulement les filaments apparaissent plus nettement, chez Syllis comme chez Nereis, mais encore la disposition régulière des filaments myosiniques est mise en évidence.

c) Filaments isolés

La technique d'isolement des filaments a été mise au point par HUXLEY (1963). Nous n'en donnons ici que les étapes principales. Le début est identique au protocole décrit pour l'isolement des fibres. Ensuite, les faisceaux de fibres, plongés dans une solution saline standard additionnée d'EDTA et de chlorure de magnésium subissent une homogénéisation puis deux centrifugations (650 g pendant trois minutes). Enfin, de l'ATP est ajouté à la solution précédente et une homogénéisation suivie d'une centrifugation sont réalisées. La solution surnageante contient les filaments.

L'observation des filaments en microscopie électronique a été faite suivant la technique de coloration négative décrite par HUXLEY et ZUBAY (1960). Les grilles de cuivre, destinées à recevoir les filaments, sont recouvertes de films de parlodion et de carbone. La coloration est réalisée par l'acétate d'uranyle en solution aqueuse à 3 % pendant 2 à 3 secondes.

Pour une observation à haute résolution, nous avons suivi les indications de HUXLEY et ZUBAY. En particulier, l'astigmatisme doit être réglé d'une façon très précise, avec le diaphragme objectif (50 μ) en place.

2 - Techniques de cytochimie ultrastructurale

Nous n'avons utilisé que la coloration par la thiocarbohydrazide-protéinate d'argent (technique de SELIGMAN et Col., 1965, modifiée par THIERY, 1967) pour la mise en évidence du glycogène. Les coupes subissent une oxydation préalable par l'acide périodique à 1 %. Elles sont ensuite déposées à la surface de la thiocarbohydrazide pendant 2 à 3 h. Après un rinçage prolongé à l'eau acétique, les coupes sont transférées sur le protéinate d'argent à 1 % pendant 30 minutes.

PREMIERE PARTIE

COMPARAISON ENTRE LES MUSCLES DES SYLLIS ET NEREIS

IMMATURES ET CEUX DES STOLONS ET HETERONEREIS



INTRODUCTION

Nous rappellerons tout d'abord qu'une grande partie des résultats, obtenus chez S. amica, a été publiée (WISSOCQ, 1967-1970). En ce qui concerne la fibre de type souche, nous avons confirmé et complété les observations de BOULIGAND (1966) sur Haplosyllis depressa Aug., relatives surtout à la disposition des myofilaments dans la fibre. Les cellules stoloniales de la musculature longitudinale sont également très comparables à celles décrites récemment par MATTISSON (1969) dans les muscles parapodiaux d'un Autolytus (Syllidien) en stolonisation. Chez les Néréidiens, quelques points importants de la structure des fibres atoques et épitoques ont été publiés par DEFRETIN et nous-mêmes (1969) chez N. irrorata.

Nous décrirons la musculature des S. amica et N. irrorata immatures en envisageant successivement la disposition, la forme et les dimensions des fibres, leur structure en microscopie électronique, à l'état de repos ou de contraction. Nous reprendrons ce même plan pour la description de la musculature des vers épitoques ou des stolons. Nous envisagerons dans un troisième paragraphe l'aspect particulier que prennent les fibres à la fin de la vie du stolon ou de l'Heteronereis.

CHAPITRE I

MUSCULATURE DES VERS IMMATURES

A - DISPOSITION DES FIBRES MUSCULAIRES LONGITUDINALES

1 - Chez S. amica

Les cellules musculaires de S. amica sont disposées en plusieurs couches, qui apparaissent nettement sur coupes transversales (Pl. 1, figs c et d).

Ventralement, on peut compter au moins quatre couches de fibres (Pl. 1, fig. d) qui forment deux faisceaux de part et d'autre de la chaîne nerveuse (Pl. 1, fig. a).

Dorsalement, les muscles sont moins épais mais sont plus étendus, car ils forment un arc de cercle épousant le contour arrondi de la partie dorsale du segment, et ils se terminent latéralement, vers le milieu des parapodes (Pl. 1, fig. a). Dans l'axe du ver, le nombre de fibres est faible et, de part et d'autre du mésentère dorsal, on n'en trouve plus qu'une seule couche (Pl. 1, fig. b). Plus latéralement, les fibres sont réparties sur deux ou trois couches environ (Pl. 1, fig. c). Parmi les sections de fibres, on distingue des prolongements plus clairs de cellules mésodermiques de la pariétopleure, qui envoient, entre les cellules musculaires, des ramifications qui peuvent atteindre la basale (Pl. 1, fig. c). Aux extrémités latéroventrales de l'arc musculaire dorsal, le nombre de strates de fibres augmente généralement.

Mais, qu'il s'agisse de la musculature longitudinale dorsale ou ventrale, on constate que la couche de fibres la plus externe, celle qui est la plus proche de l'épiderme, est la plus fine. En effet, les sections des fibres qui la constituent sont en moyenne beaucoup plus faibles que les autres (Pl. 1, figs c et d). Cette couche externe, à cellules de petites dimensions, représenté, selon nous, une zone de jeunes cellules. Les fibres, au fur et à mesure de leur vieillissement seraient repoussées vers le coelome, et seraient remplacées par des éléments jeunes, sous-jacents. Les fibres les plus volumineuses, les plus âgées, sont d'ailleurs toujours situées dans la couche la plus interne. De plus, certaines figures de dégénérescence (sarcolytes) sont parfois rencontrés au niveau de la strate interne.

2 - Chez N. irrorata

Dorsalement, les fibres sont réparties en deux faisceaux situés de part et d'autre du vaisseau dorsal et se terminant vers le milieu des parapodes. A l'inverse de S. amica, ces deux masses musculaires laissent subsister un étroit espace dans lequel se situe le vaisseau dorsal (comparez les figs a et c, Pl. 2 aux figs a et b Pl. 1).

Ventralement, on observe également deux faisceaux de chaque côté de la chaîne nerveuse. Le bord opposé au cordon nerveux de chacun des faisceaux se replie en deux lames cellulaires, séparées par une mince cloison conjonctive, qui se poursuivent dans le coelome parallèlement au faisceau ventral, jusqu'au voisinage de la chaîne nerveuse (figs a et e, Pl. 2). Cette formation, de même épaisseur que le faisceau ventral, a été appelée double repli ventral, et est caractéristique des Néréidiens.

Les fibres sont disposées en plusieurs couches, mais leur nombre est nettement plus considérable que chez S. amica. On peut dénombrer au moins une dizaine de strates de cellules chez des exemplaires relativement âgés (Pl. 3, fig. a). Parfois, ce nombre est plus faible, mais il s'agit alors de jeunes vers ou de tronçons en régénération. Par ailleurs, il est bon de préciser que le terme couche ou strate ne signifie nullement que les fibres sont réparties en rangées bien parallèles et nettement délimitées. Les cellules musculaires des Néréidiens sont au contraire beaucoup plus irrégulièrement disposées que chez les Syllidiens. Elles apparaissent également plus ou moins isolées les unes des autres, surtout celles qui sont au voisinage du coelome (Pl. 3, figs a et c et Pl. 4, fig. b). Ce manque de contiguïté des fibres musculaires de N. irrorata est peut-être dû, comme nous le verrons plus loin, à l'absence de dispositifs d'ancrage, rencontrés à la surface des fibres de S. amica.

Comme chez S. amica, les cellules appartenant aux couches les plus externes, vers l'épiderme, sont les moins larges (Pl. 3, fig. a et Pl. 4, fig. a). Les fibres les plus internes sont les plus volumineuses, surtout en largeur et longueur (Pl. 3, fig. c et Pl. 4, fig. b). Cette différence de taille existe aussi au niveau du double repli ventral. De part et d'autre de la cloison conjonctive, se trouvent des sections de fibres très étroites. Au fur et à mesure de l'éloignement, soit vers le faisceau ventral, soit vers l'intestin, les cellules sont de plus en plus larges. DEFRETIN (1949), avait remarqué cette différence entre les fibres les plus externes et les autres.

Il en avait déduit qu'il s'agissait des extrémités effilées des fibres se dirigeant obliquement dans les faisceaux. Nous pensons plutôt que ce sont des cellules de petites dimensions, relativement jeunes, car nous avons observé, à l'inverse de DEFRETIN, des noyaux appartenant à ces fibres. A. PRENANT (1929) avait aussi fait la même constatation que DEFRETIN, mais chez d'autres Annélides Polychètes. Il avait émis l'hypothèse que cette couche représentait une assise génératrice. Notre opinion est donc proche de celle de PRENANT, mais le terme assise génératrice nous semble quelque peu erroné.

Enfin, chez N. irrorata, il n'est pas possible de détecter des ramifications ou prolongements appartenant à des cellules pariéto-pleurales, et qui s'insinuent entre les fibres. Il n'existe pas en effet d'épithélium coelomique tapissant les faisceaux musculaires longitudinaux comme chez S. amica. Cependant, en certains endroits, sur les faces coelomiques des faisceaux dorsaux, on peut rencontrer un certain nombre de cellules mésodermiques munies de cils vibratiles et appartenant à l'organe cilio-phagocytaire, bien étudié, en microscopie optique, par A. MEYER (1927-1929).

B - FORME ET DIMENSIONS DES FIBRES

1 - S. amica

Grâce à la technique de dilacération, précédemment décrite, il nous a été possible d'isoler des fibres entières (Pl. 5, fig. a).

Il convient de préciser que les parapodes des tronçons de vers glycerinés ont été sectionnés avant dilacération, afin que la forme et les dimensions des fibres indiquées ci-dessous correspondent pour la plupart à celles des fibres longitudinales dorsales et ventrales. Certaines cellules musculaires parapodiales semblent en effet avoir une taille plus grande que les longitudinales (Pl. 5, fig. b).

La fibre musculaire de S. amica correspond à une sorte de long ruban effilé aux extrémités (Pl. 5, figs a et g). Elle est uninucléée et correspond bien à une cellule. Aucune preuve véritable n'ayant encore été donnée de l'existence d'un seul noyau dans la fibre de S. amica, cette observation n'est pas sans intérêt.

En ce qui concerne les dimensions des fibres, nous avons considéré à la fois la longueur, la largeur et l'épaisseur de celles-ci (Fig. 1). Les calculs concernant les deux dernières dimensions ont été effectués sur

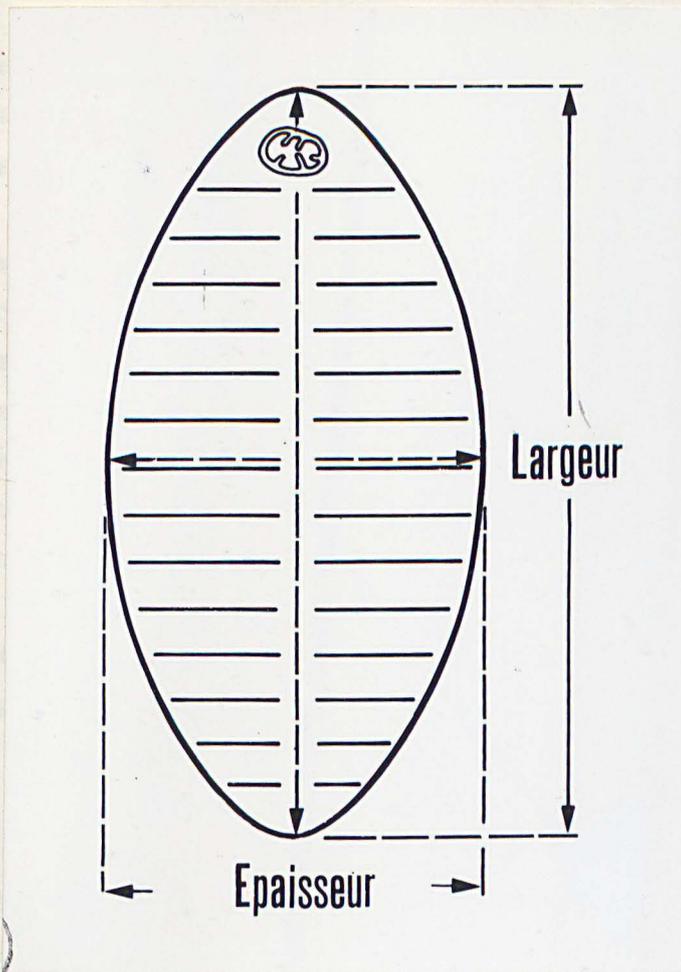


Figure 1 - La section transversale d'une fibre musculaire de Syllis pouvant être plus ou moins assimilée à une ellipse, on considèrera que la largeur correspond au grand axe et l'épaisseur au petit axe de l'ellipse.

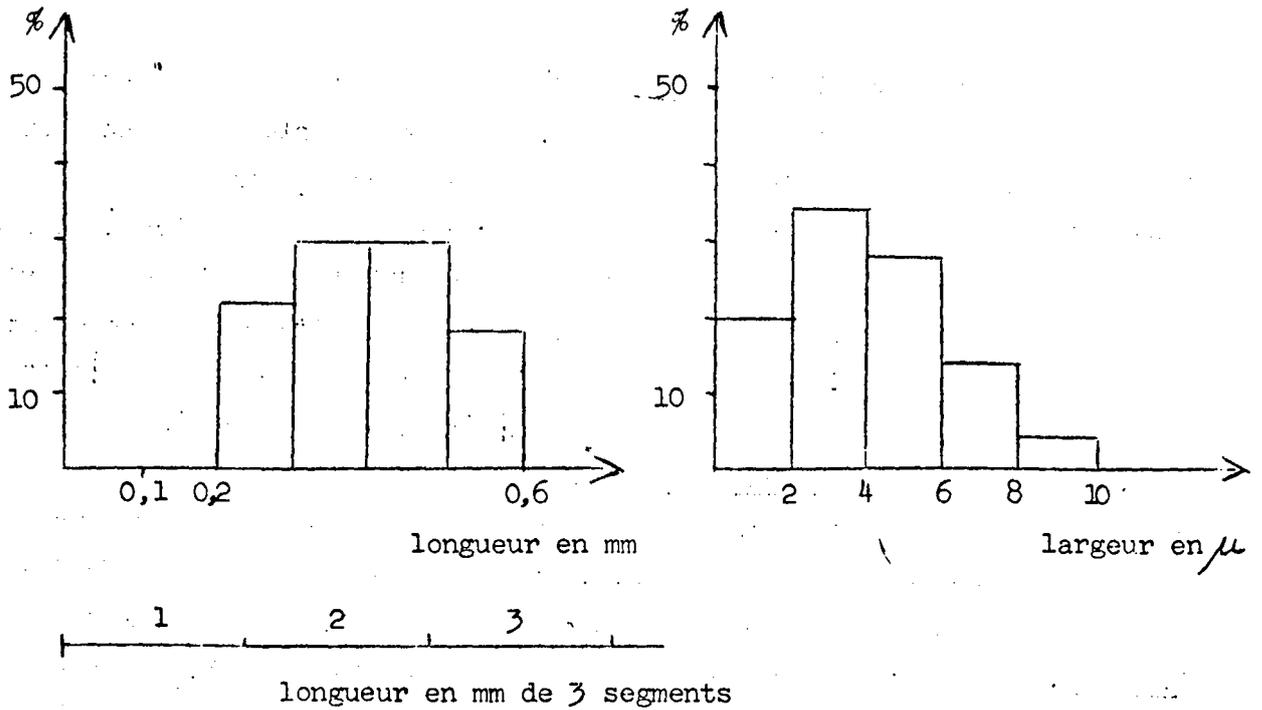


Figure 2 - Histogrammes de la longueur et de la largeur des fibres musculaires des Syllis immatures.

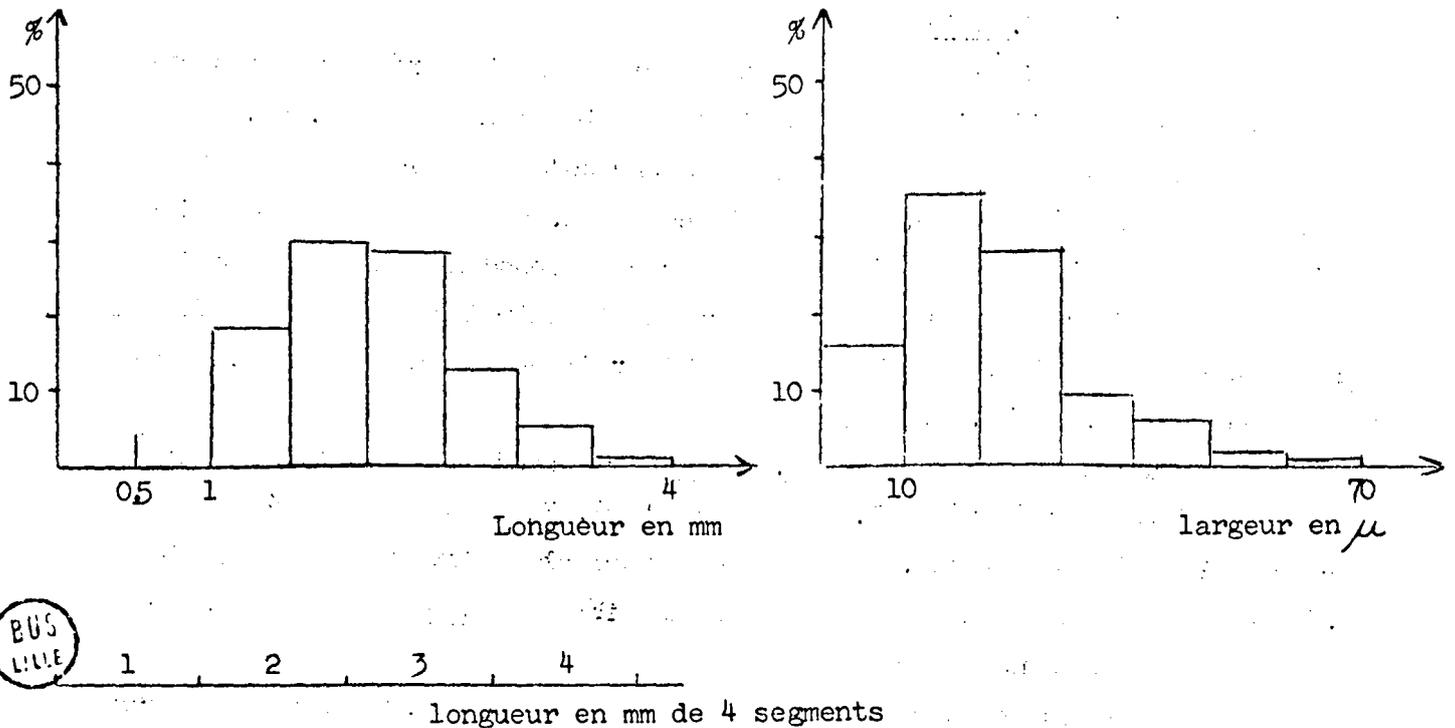


Figure 3 - Histogrammes de la longueur et de la largeur des fibres musculaires des faisceaux longitudinaux néréidiens.

coupes au microscope électronique. Les résultats obtenus pour la longueur et la largeur sont consignés dans les histogrammes de la figure 2. Pour la longueur, celle-ci est comprise entre 0,20 et 0,60 mm. Comme la longueur d'un segment de Syllis est d'environ 0,20 à 0,25 mm, la plupart des fibres s'étendent sur plus d'un segment. Mais, certaines d'entre-elles, les plus longues, peuvent se rencontrer dans trois métamères successifs (Fig. 2). La longueur moyenne est de 0,40 mm environ. La largeur (Fig. 2), de 4 à 5 μ en moyenne, est relativement faible. Les calculs portant sur la largeur ont été faits sur coupes de muscle dorsal. S'ils avaient été effectués sur des fibres du muscle ventral, cette moyenne aurait été vraisemblablement plus élevée, car on trouve, dans ce muscle, un plus grand nombre de fibres de grande largeur. Quelques cellules musculaires ont une largeur de 8 à 10 μ (Fig. 2). Des fibres isolées, de largeur supérieure, ont cependant été rencontrées (Pl. 5, fig. b). Nous pensons qu'il s'agit de fibres parapodiales. Enfin, l'épaisseur des fibres est de 1,5 μ en moyenne. Aux environs de 1 μ pour les cellules musculaires les plus petites, sous l'épiderme, elle n'atteint guère plus de 2 μ dans les fibres les plus larges, situées vers le coelome.

La fibre musculaire s'accroît donc surtout en longueur et en largeur, mais très peu en épaisseur.

2 - N. irrorata.

Nous avons également éliminé les parapodes des vers avant dilacération des fibres longitudinales.

La fibre a une forme semblable à celle des Syllidiens, c'est-à-dire qu'elle est rubannée et effilée aux extrémités. De même elle ne possède qu'un seul noyau. HANSON (1957) a aussi montré l'existence d'un seul noyau sur fibres isolées de Lumbricus terrestris. Chez les Annélides Polychètes et Oligochètes, les fibres musculaires semblent donc être des cellules uninucléées.

Mais les dimensions des fibres de N. irrorata sont différentes de celles de S. amica, surtout en ce qui concerne la longueur, et, à un degré moindre, la largeur. Les calculs portant sur ces deux dimensions ont été établis sur fibres isolées. L'épaisseur correspond, comme nous l'avons déjà indiqué (Fig. 1), au petit axe de l'ellipse à laquelle nous avons assimilé la section transversale d'une fibre. Cette dimension a été calculée uniquement sur coupes au microscope électronique.

Les résultats concernant la longueur et la largeur des fibres de N. irrorata ont été consignés dans les deux histogrammes de la figure 3.

La longueur est beaucoup plus importante que celle de S. amica, ce qui n'est pas surprenant en raison des dimensions de la Nereis. Ainsi, les plus courtes mesurent entre 0,5 et 1 mm et les plus longues peuvent atteindre 4 mm. Comme la longueur d'un métamère de N. irrorata est d'environ 1 mm (chez des animaux de deux ans environ) les fibres les plus longues peuvent s'étendre sur quatre segments. La grande majorité des fibres mesurent entre 1,5 et 2,5 mm. et se trouvent dans deux à trois métamères successifs (Fig. 3). La largeur peut également atteindre des valeurs élevées : 50 à 70 μ . Mais la grande majorité des cellules musculaires présente une largeur comprise entre 10 et 30 μ . Chez S. amica, rappelons que les plus grosses fibres atteignaient seulement 10 μ . Chez N. irrorata, il est assez rare de rencontrer des fibres inférieures à 5 μ de large. Les fibres de la classe comprise entre 0 et 10 μ (16 %) correspondent très certainement à celles de l'assise externe sous-épidermique. De plus, elles possèdent un noyau latéral (Pl. 5, fig. e). Les fibres des autres classes (de 10 à 70 μ) ont au contraire un noyau axial pour la majorité d'entre-elles (Pl. 5, fig. f). Cette observation laisse supposer que le noyau des fibres de N. irrorata est peu à peu recouvert par les deux couches de fibrilles et devient axial au fur et à mesure du vieillissement de la cellule (Fig. 4). Enfin, nous avons aussi calculé, pour un certain nombre de fibres, la largeur et la longueur simultanément. Les résultats, consignés dans le tableau 1, montrent que les fibres les plus étroites sont les plus courtes et inversement. Autrement dit, les fibres augmentent de taille à la fois en longueur et en largeur. Par contre, en ce qui concerne l'épaisseur, celle-ci ne varie pas beaucoup. Elle oscille entre 1,5 μ pour les cellules les moins larges et 3,5 μ pour les plus volumineuses. La moyenne se situe aux environs de 2 μ .

C - LA STRUCTURE DES FIBRES

I - LE MATERIEL CONTRACTILE

1 - Fibres non contractées.

a) La double striation oblique. Les myofibrilles en microscopie optique

Les muscles de S. amica et de N. irrorata correspondent à la catégorie des muscles à double striation oblique ou hélicoïdaux, décrits depuis longtemps par divers auteurs, en particulier SCHWALBE (1869), ROHDE (1885), FRENANT (1929) chez les Annélides, ENGELMANN (1881), BALLOWITZ (1892)

TABLEAU 1

Distribution, en fonction de la longueur et de la largeur, des fibres de type atoque chez *N. irrorata*.

Les chiffres de chaque case représentent le nombre de fibres. Ce tableau met en évidence un rapport de proportionnalité directe entre la longueur et la largeur des fibres de *Nereis* : plus la fibre est longue, plus elle est large, et inversement.

longueur en mm (largeur en μ)	0,6-1	1,1-1,5	1,6-2	2,1-2,5	2,6-3	3,1-3,5	3,6-4
0 - 10	3	3	5	2			
11 - 20	1	13	8	5			
21 - 30		6	14	2			
31 - 40			6	7	3		
41 - 50			2	11	6	3	1
51 - 60				1	4	2	1
61 - 70					1	1	1

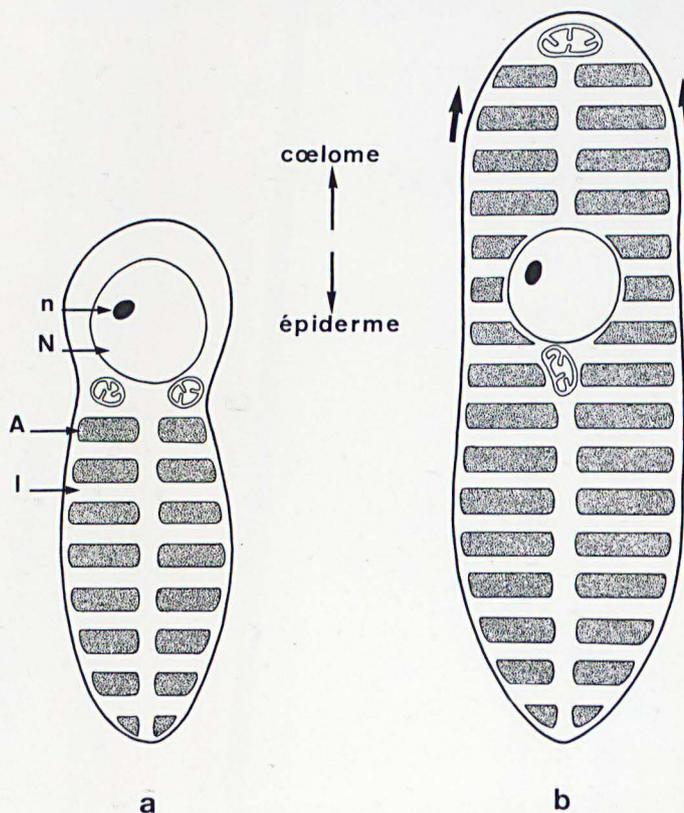


Figure 4 - a : Schéma d'une jeune fibre néréidienne à noyau latéral.

b : Accroissement en largeur d'une fibre, vers le bord coelomique (flèches). Le noyau devient axial.

A, bande A ; I, bande I ; n, nucléole ; N, noyau.

Figure 5 - Schémas des deux possibilités d'agencement des myofibrilles dans les fibres à double striation oblique.

- a : Les deux couches de fibrilles (f) sont indépendantes : les fibrilles d'une face ne sont pas en continuité avec celles de l'autre face (flèches).
- b : Les fibrilles sont en continuité et ont un trajet hélicoïdal (la flèche montre le passage d'une fibrille d'une face à l'autre).

Figure 6 - a : Dans les fibres hélicoïdales, les fibrilles ou bandes A et les bandes I, par suite de leur obliquité, apparaissent en alternance en coupe transversale.

b et c : La coupe transversale d'une fibrille de muscle strié transversalement ne peut au contraire intéresser qu'une bande A (b) ou I (c).

Figure 5

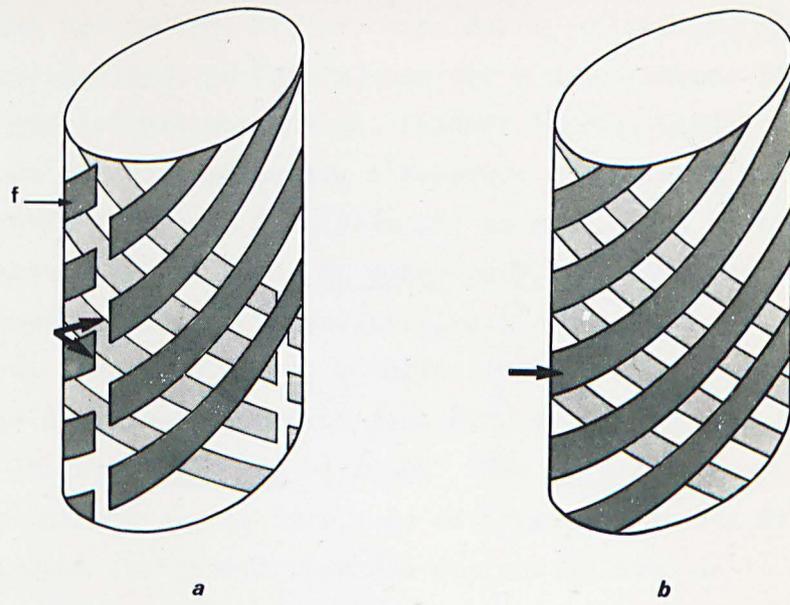
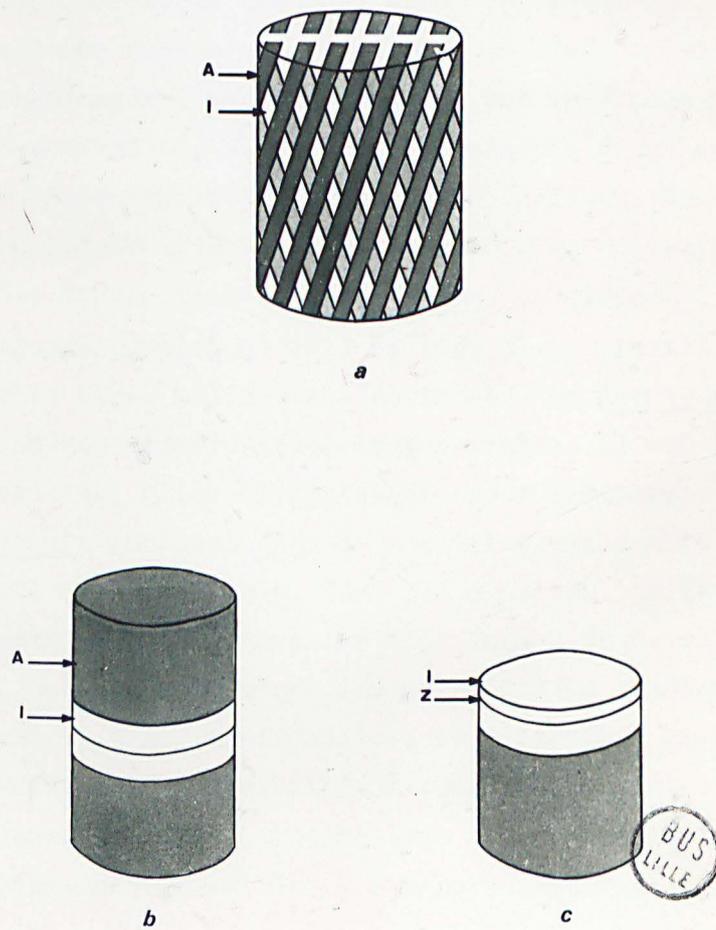


Figure 6



MARCEAU (1905-1908) chez les Mollusques, ROSKIN (1925) et HLENK (1924, 1925) chez l'*Ascaris*. Les fibres présentent un réseau de losanges dus à l'entrecroisement de deux systèmes de stries, appelées myofibrilles, d'obliquité inverse. Cette structure peut parfois s'observer sur des coupes longitudinales d'Annélides, en microscopie optique (A. PRENANT (1929), DEFRETIN (1949)).

Mais cet aspect particulier s'observe, d'une façon indiscutable, sur fibres isolées extraites à la glycérine, au microscope à contraste de phase. Qu'il s'agisse de fibres de *S. amica* ou *N. irrorata*, on distingue toujours deux systèmes de stries ou myofibrilles d'obliquité inverse (Pl. 5, figs b, c et d ; Pl. 6, figs a, b et c). L'angle compris entre l'intersection de deux myofibrilles d'obliquité inverse peut être évalué sur ces fibres isolées : il s'élève à 10-15° chez *S. amica* et 20-25° chez *N. irrorata* et *N. pelagica*. Il est aisé de constater que la valeur de cet angle n'est pas fixe, mais peut varier, en appliquant des forces opposées sur chaque bord de la fibre à l'aide d'aiguilles montées sur un micromanipulateur (Pl. 6, fig. d). On peut alors déplacer les deux systèmes de myofibrilles de manière à ce qu'ils s'entrecroisent perpendiculairement. D'autre part, il est encore permis de se demander si, dans ces fibres, les deux systèmes de fibrilles sont indépendants l'un de l'autre. On obtiendrait ce que nous avons représenté sur la figure 5-a, où les fibrilles d'une face n'ont aucun rapport avec celles de l'autre face. Au contraire, comme nous l'avons schématisé sur la figure 5-b, si les deux systèmes sont en continuité, ils sont la résultante d'une série de fibrilles parcourant un trajet hélicoïdal le long de la fibre. Or, nous avons pu constater la continuité des fibrilles d'une face avec celles de l'autre face, notamment sur des fibres isolées de *S. amica*, colorées à l'hématoxyline, et observées au microscope photonique (Pl. 5, fig. f). Il serait donc préférable de désigner par le terme hélicoïdal les fibres des *Nereis* et *Syllis*.

Enfin, sur coupes histologiques transversales, il est possible de distinguer les myofibrilles. Elles apparaissent assez fréquemment sur les coupes de pièces de *Nereis* incluses dans la paraffine, mais très rarement chez les Syllidiens. Il est préférable, dans les deux cas, de faire l'observation sur coupes semi-fines de pièces incluses dans l'Epon, colorées au bleu de toluidine. Il apparaît alors une fausse striation transversale, comprenant des stries sombres : les myofibrilles, en alternance avec des stries claires. Comme A. PRENANT (1929) l'avait déjà constaté, il est souvent facile de différencier les deux couches de myofibrilles (les deux systèmes d'obliquité inverse) car une ligne claire, axiale, les sépare nettement (Pl. 3, fig. c et Pl. 4, fig. a).

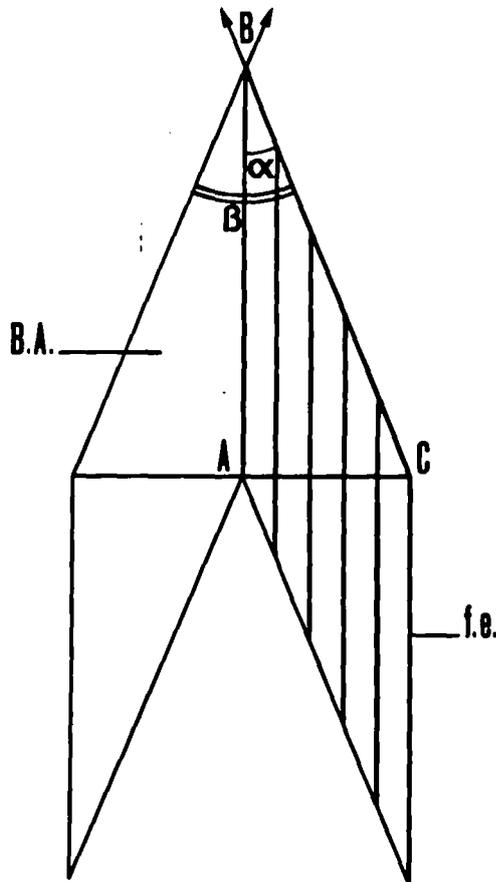


Figure 7 - Mesure de la longueur d'un myofilament AB par le calcul de la largeur d'une myofibrille ou bande A (côté AC) et le calcul de l'angle α , que l'on peut estimer sur fibres isolées, à partir de l'angle β , formé par l'intersection de deux fibrilles d'obliquité inverse. f.e, filament épais. B.A, bande A.

b) Aspect des myofibrilles en microscopie électronique

Sur coupes transversales ou longitudinales, les stries sombres ou myofibrilles apparaissent constituées par deux sortes de filaments : des épais de 300-350 Å de diamètre et des fins de 70-80 Å (Pl. 6, fig. c ; Pl. 7, figs a et b ; Pl. 8, fig. a). Les stries claires, entre les myofibrilles, ne contiennent que des myofilaments fins et des structures médianes que nous décrirons ultérieurement. Les myofibrilles correspondent donc aux bandes A des muscles striés transversalement, et les stries claires, en alternance, sont homologues des bandes I. Comme la direction de ces bandes est oblique, on obtient, sur une coupe transversale, une alternance de bandes I et A (Pl. 6, fig. a ; Pl. 7, figs a et b) alors que pour un muscle strié transversalement, le plan de coupe intéresse seulement une des deux bandes (Fig. 6, b et c). D'autre part, la myofibrille n'a pas la même signification dans les deux types de muscles (Fig. 6). Dans la fibre hélicoïdale, elle représente la bande A.

Chez N. irrorata, sur coupes transversales, il est facile de distinguer les deux systèmes de bandes A, d'obliquité inverse. Un espace très étroit, dans lequel on rencontre parfois une mitochondrie ou des tubules du réticulum sarcoplasmique, sépare nettement les deux couches de bandes A (Pl. 7, figs a et b ; Pl. 8, fig. a). Par contre, chez S. amica, si l'on peut parfois distinguer les deux systèmes, même en microscopie photonique (Pl. 6, fig. a), le plus souvent les bandes A des ^{deux} couches apparaissent soudées au niveau de l'axe de la fibre (Pl. 1, figs c et d ; Pl. 6, fig. c) comme s'il n'y avait qu'une seule série de bandes A. Rappelons aussi que dans certaines fibres, une bande A peut être en liaison avec deux bandes A opposées (WISSOCQ, 1967). BOULIGAND (1966) l'a également constaté chez Haplosyllis depressa.

c) Les myofilaments.

. Longueur des filaments épais.

Elle peut être calculée directement, à partir de coupes longitudinales ou sur des filaments isolés, grâce à la technique d'HUXLEY décrite précédemment, ou indirectement si l'on connaît l'angle exact d'obliquité des bandes A. On peut en effet considérer qu'un filament épais quelconque représente un côté de l'angle droit d'un triangle rectangle dont l'autre côté correspond à la largeur de la bande A et l'hypoténuse à l'obliquité de cette bande A (Fig. 7). Donc, si l'on connaît l'angle α compris entre l'hypoténuse et le côté correspondant au filament épais et la largeur de la bande

A (côté AC), il est facile de calculer le côté AB, c'est-à-dire la longueur d'un filament épais, selon la formule $AB = \frac{AC}{\text{tg}\alpha}$. Or, l'angle α peut être facilement estimé à partir des fibres isolées, et le côté AC peut être calculé d'après les coupes transversales.

Chez S. amica, nous n'avons pu isoler les filaments, car la technique nécessite un volume musculaire trop important pour la quantité de Syllis dont nous disposons. D'autre part, les Syllidiens sont trop petits pour que l'on puisse isoler parfaitement les faisceaux de fibres. Nous nous sommes donc basés sur les photographies de coupes longitudinales. Dans ce cas, la longueur est assez difficile à préciser, car il est exceptionnel que le filament soit sectionné sur toute sa longueur. Néanmoins, dans certains ^{cas} favorables (Pl. 6, fig. b), on peut constater une longueur d'au moins 4μ . Par la méthode indirecte de calcul, on trouve une valeur de 2 à $2,3 \mu$ environ, car la largeur de la bande A est de $0,2 \mu$ et l'angle α d'obliquité s'élève à $5-6^\circ$, puisque les fibres observées au contraste de phase présentaient un angle β (angle compris entre deux bandes A d'obliquité inverse (Fig. 7) de 10° au minimum (Pl. 4, figs b et c)). Cette longueur est donc plus faible de moitié en comparaison de celle calculée sur coupes. Nous reviendrons sur ce point ultérieurement.

Chez N. irrorata et N. pelagica, nous avons aussi utilisé cette méthode indirecte pour calculer la longueur des myofilaments épais. Comme chez S. amica, l'angle α d'obliquité, calculé d'après les fibres isolées est au moins de 6° et peut s'élever jusqu'à 12° (Pl. 5, figs a, b et c). La largeur d'une bande A est de $0,25 \mu$ environ. Si l'on prend l'angle le plus faible, 6° , on aura donc la valeur maximum de la longueur d'un filament épais, c'est-à-dire $\frac{0,25}{\text{tg } 6^\circ} = 2,4 \mu$, valeur semblable à celle obtenue chez S. amica. Cependant, nous avons pu calculer directement la longueur des filaments après leur isolement. Nous avons réalisé cet isolement chez N. irrorata, mais surtout chez N. pelagica, en raison de l'abondance de ce matériel. Auparavant, nous avons pu constater que les valeurs de la largeur des bandes A et de l'angle d'obliquité étaient tout à fait comparables chez ces deux espèces de Néréidiens. La longueur des filaments isolés est de l'ordre de 5μ environ pour les deux espèces (Pl. 14, figs a et b).

En conclusion, chez les Syllidiens et Néréidiens étudiés, on aboutit à deux résultats très différents suivant que l'on applique la méthode directe ou indirecte. Dans les deux cas, la différence est du simple au double. Puisque l'on ne peut mettre en doute la valeur obtenue par le calcul direct, il reste à expliquer la différence enregistrée par la méthode indirecte.

Deux hypothèses peuvent être formulées :

1- Les filaments sont réellement parallèles à l'axe de la fibre et l'angle d'obliquité réel est différent, la largeur de la bande A ne pouvant varier (sauf s'il y a contraction, mais le degré de variation est faible).

2- La valeur de l'angle est exacte, et dans ce cas les myofilaments seraient eux-mêmes obliques par rapport à l'axe de la fibre.

Pour trancher en faveur de l'une de ces hypothèses, il est nécessaire de connaître l'aspect et la structure des fibres après contraction, aussi reporterons-nous l'ensemble de cette question dans la discussion de ce chapitre.

. Disposition des filaments épais et fins. Proportion des filaments fins par rapport aux filaments épais.

Chez S. amica, sur les coupes transversales de fibres musculaires, les filaments épais sont assez irrégulièrement disposés et il n'est pas possible de détecter de figures géométriques dans la disposition des filaments primaires (Pl. 6, fig. c). La seule régularité approximative résiderait dans la distance qui sépare les filaments épais entre eux et qui s'élève le plus souvent à 400-500 Å (Pl. 6, fig. c). Nous avons également observé des sections transversales de muscles traités à la glycérine. Dans ce cas, il est difficile de constater une disposition filamentaire régulière (Pl. 9 et Pl. 10, fig. a), mais il faut souligner que les photographies de ces planches représentent des fibres contractées. Or la contraction provoque le déplacement des deux types de filaments (ROSENBLUTH, 1967 ; HEUMANN et ZEBE, 1967).

Chez les Néréidiens, la disposition des filaments épais semble beaucoup plus régulière. Cette différence résulte peut-être de la meilleure fixation de ce matériel, en comparaison de S. amica, comme nous l'avons déjà signalé. Mais, la mise en évidence d'une régularité dans l'agencement des filaments épais a été faite sur des muscles de Nereis préalablement traités au glycérol. A l'inverse de S. amica, les fibres n'apparaissent pas contractées (Pl. 11). Dans ces conditions, la disposition géométrique des filaments ne peut être mise en doute. On observe donc un alignement des sections de filaments épais suivant deux directions d'obliquité inverse. Chaque filament épais se situe à l'intersection de deux lignes d'obliquité inverse. On peut alors relier l'ensemble des filaments épais d'une bande A par un réseau losangique Fig. 8, Pl. 11 et Pl. 12, figs a et b). La distance entre les filaments est légèrement supérieure au diamètre des filaments eux-mêmes : 300-350 Å. L'angle α (fig. 8) est en moyenne de 50-60°. S'il est parfois possible de tracer un réseau de ce type dans chacune des bandes A d'une même

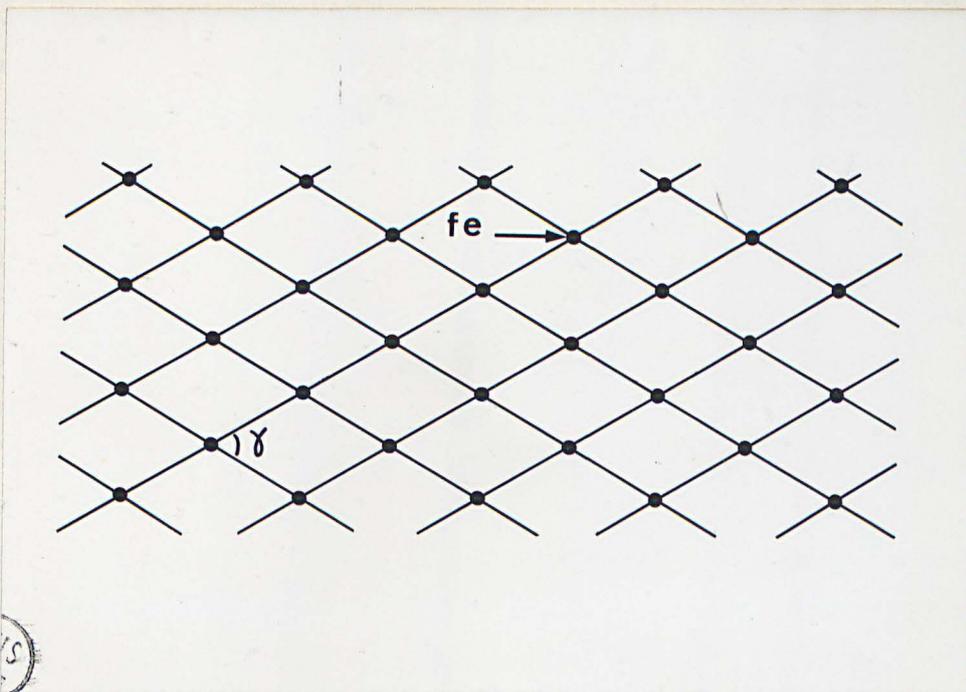


Figure 8 - En coupe transversale, les myofilaments épais (f.e) de fibres musculaires de Nereis traitées au glycérol sont disposés suivant un réseau losangique. L'angle γ est d'environ 60° .

fibre, le plus souvent le réseau ne s'applique que sur certaines bandes A d'une fibre. Il est vraisemblable qu'il faille incriminer l'action du fixateur dans la désorganisation des filaments épais. Par ailleurs, il est fréquent de rencontrer des fibres situées dans l'assise externe, dont l'agencement des filaments épais est très irrégulier (Pl. 8, fig. b). Ces cellules renferment des filaments primaires beaucoup plus larges que ceux des autres fibres. Il s'agit de fibres particulières sur lesquelles nous reviendrons ultérieurement.

Chez les Néréidiens et les Syllidiens, la disposition des filaments fins n'est pas géométrique. Ils sont disposés en orbite autour des filaments épais. Leur nombre, pour un filament épais, n'est pas fixe. Chez S. amica, on dénombre le plus souvent huit à douze filaments fins autour d'un épais, ce qui donne une proportion de six-sept pour un, comparable à celle d'Haplosyllis depressa (BOULIGAND (1966) : 5 à 7 pour 1). Chez N. pelagica, les chiffres les plus fréquents oscillent entre dix et quinze filaments fins par orbite, mais la proportion est semblable à celle de S. amica : six à sept pour un. Chez Syllis et Nereis, la plupart des filaments secondaires appartiennent à deux orbites voisines (Pl. 10, fig. a et Pl. 11). Souvent, les orbites de filaments fins apparaissent incomplètes (Pl. 10, fig. a et Pl. 12, figs a et b) notamment au niveau de la zone H. Elles comprennent alors quatre à huit filaments secondaires. On peut aussi rencontrer des filaments fins isolés, n'appartenant à aucune orbite (Pl. 10, fig. b). Ils ne peuvent être assimilés à des extrémités de filaments épais puisqu'on peut les trouver au milieu des bandes A. Chez N. pelagica, après traitement à la glycérine, les filaments fins sont absents dans les bandes I (Pl. 11, Pl. 12, fig. a). Il est possible que cette absence soit due à la disparition des éléments Z sur lesquels s'insèrent les filaments fins (Pl. 11). Cette disparition résulte du traitement au glycérol.

. Le diamètre et la structure des filaments.

Le diamètre des filaments fins est constant et de l'ordre de 70 à 80 Å. Les filaments épais n'ont pas le même diamètre suivant leur position. Sur le bord des bandes A, leur diamètre est de 100 à 150 Å environ, alors qu'au milieu, il s'élève à 280-320 Å. Les filaments primaires sont donc effilés à leurs extrémités (Fig. 9), comme dans tous les muscles à double striation oblique décrits. Mais, d'autres fibres, en faible quantité, généralement situées dans les assises externes des muscles, possèdent des filaments épais beaucoup plus gros : 550 Å environ de diamètre (Pl. 8, fig. b). Ces fibres,

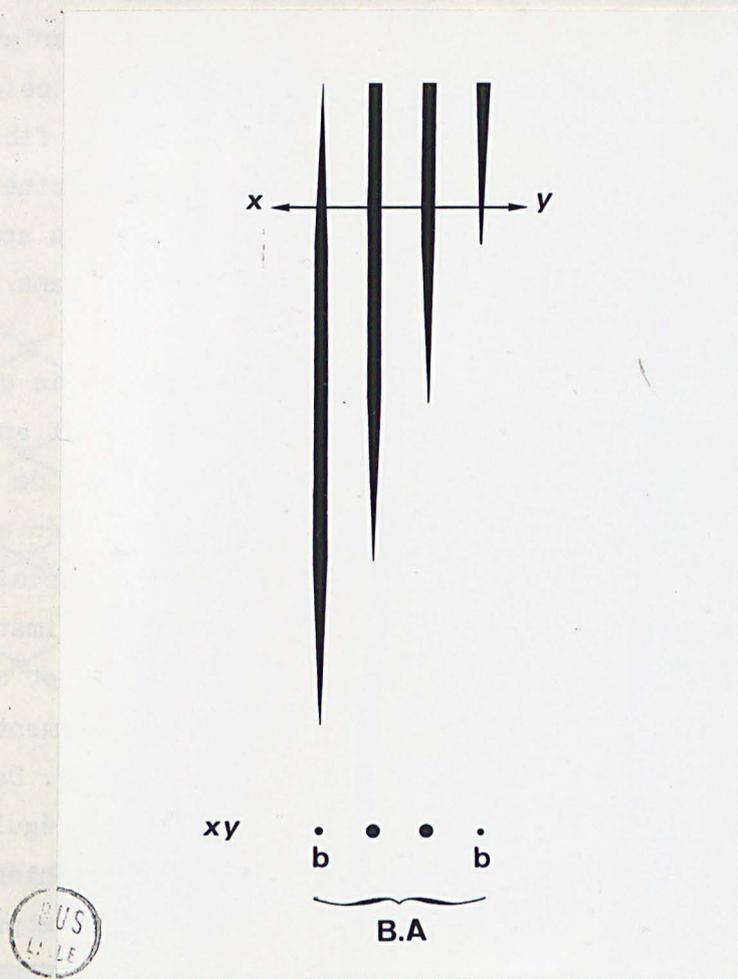


Figure 9 - Les filaments myosiniques des fibres de Syllis ou de Nereis, en section transversale xy , ont des diamètres différents suivant la position qu'ils occupent dans la bande A. Leurs extrémités effilées et leur étagement permet de comprendre cette particularité : les sections des filaments des bords latéraux (b) des bandes A (B.A.) correspondent aux extrémités effilées des filaments et sont donc plus étroites.

comme nous l'avons déjà signalé, présentent une organisation moins nette de leurs bandes A et I, sur coupes transversales. Des fibres de cet aspect ont également été observées chez Glycera dibranchiata (ROSENBLUTH, 1968).

Les myofilaments épais des muscles fixés au glutaraldéhyde et, surtout des muscles glycélinés, présentent, en coupe transversale, à fort grossissement, un nombre assez élevé de sous-unités plus ou moins arrondies, de 25 Å environ de diamètre (Pl. 10, fig. b ; Pl. 13, figs a et b). La quantité de ces sous-unités est variable suivant le diamètre des sections de myofilaments. Plus le diamètre est élevé, plus le nombre de sous-unités est important. Les sous-unités sont donc moins abondantes aux extrémités effilées qu'au milieu des filaments.

L'isolement des filaments et leur coloration négative par l'acétate d'uranyle nous a permis de mieux connaître leur forme et leur structure. Ils mesurent environ 5 µ de long. Comme les coupes transversales le laissent présager, ils sont effilés aux extrémités (Pl. 14, figs a et c). Chez N. irrorata, ces filaments présentent une série de bandes denses obliques, constituées en réalité de petites taches (Pl. 14, fig. d). HANSON et LOWY (1964) ont montré que ces taches denses se répétaient à des intervalles de 5 x 145 Å (Fig. 10) et étaient caractéristiques des filaments du type paramyosinique. des muscles toniques de nombreux Mollusques tels que le muscle rétracteur antérieur du byssus de moule et la partie opaque de l'adducteur de l'huître (ELLIOTT, 1964). Il faut toutefois souligner que ce système régulier de taches est plus ou moins net et qu'il n'est pas toujours visible sur toutes les fibres colorées négativement. Mais les filaments paramyosiniques présentent aussi des stries transversales parallèles séparées par un intervalle de 145 Å. Cette périodicité a souvent été mise en évidence sur des filaments isolés de N. irrorata et N. pelagica (Pl. 15, figs b, c et d). Il est à remarquer qu'une périodicité semblable mais légèrement plus faible (125 Å) se rencontre parfois dans les filaments de fibres sectionnées longitudinalement (Pl. 15, fig. a). Les filaments isolés renferment également des microfilaments d'environ 25 Å de diamètre, qui correspondent très certainement aux sous-unités globuleuses décrites précédemment à l'intérieur des sections transversales des filaments épais, puisque leur diamètre est identique. HANSON et LOWY (1964) ont également montré que les filaments paramyosiniques portaient des projections régulièrement disposées et similaires à celles rencontrées à la surface des filaments de myosine des muscles squelettiques de Vertébrés (HUXLEY, 1963). Si l'existence de sortes de ^{petites} expansions semble réelle, dans

notre matériel, néanmoins nous n'avons que très rarement constaté une régularité dans leur répartition (Pl. 16, fig. c).

Les filaments fins ont aussi été isolés et colorés négativement. Ils correspondent parfaitement aux filaments d'actine décrits par HANSON et LOWY (1963). Ils sont constitués de deux fibres torsadées d'unités globuleuses (α -actin) de 55 Å de diamètre. La distance entre chaque point d'entrecroisement des deux hélices est d'environ 350 Å (Fig. 11). Les filaments fins isolés de Nereis montrent bien une configuration hélicoïdale (Pl. 14, fig. e). Nous avons calculé une distance d'environ 335 Å entre deux points d'entrecroisement. Les filaments fins de Nereis peuvent donc être assimilés à de l'actine.

d) La strie Z

Chez S. amica comme chez N. pelagica ou irrorata, la strie Z est discontinue. Elle est représentée par une série d'éléments denses aux électrons, situés au milieu des bandes I (Pl. 6, fig. c ; Pl. 8, fig. a). Primitivement désignés sous le terme de "particules J" par KAWAGUTI et IKEMOTO (1957) et "corps denses" par HANSON et LOWY (1961), il est préférable de désigner ces structures par le terme éléments Z, comme l'a suggéré BOULIGAND (1966).^{Car} c'est à leur niveau que s'insèrent les filaments d'actine (Pl. 9 ; Pl. 16, fig. c). Ils sont régulièrement espacés et alternent avec les éléments du réticulum sarcoplasmique (Pl. 6, fig. b ; Pl. 16, figs b et c). Les éléments Z sont parfois discernables en microscopie à contraste de phase, sur fibres isolées. On peut alors distinguer une sorte de striation transversale dans les espaces clairs, entre les myofibrilles (Pl. 4, fig. e). Sur coupe transversale, en microscopie optique, on remarque parfois une fine ligne dans l'axe des stries claires. Beaucoup d'anciens cytologistes ont également observé ces stries intercalaires chez l'Ascaris (APATHY (1892), PLENK (1924-1925), ROSKIN (1925)) et chez les Annélides Polychètes (A. PRENANT, 1929). Elles correspondent vraisemblablement aux stries Z.

2 - Fibres contractées

a) Aspect des fibrilles sur les fibres isolées de N. pelagica après action de l'adénosine-triphosphate

Nous avons montré précédemment que les fibrilles de fibres isolées de N. irrorata ou N. pelagica faisaient entre elles un angle de 20 à 25°. Mais, cet angle varie suivant l'état de contraction ou de relâchement de la fibre. Dès 1881, ENGELMANN avait bien observé ce phénomène et

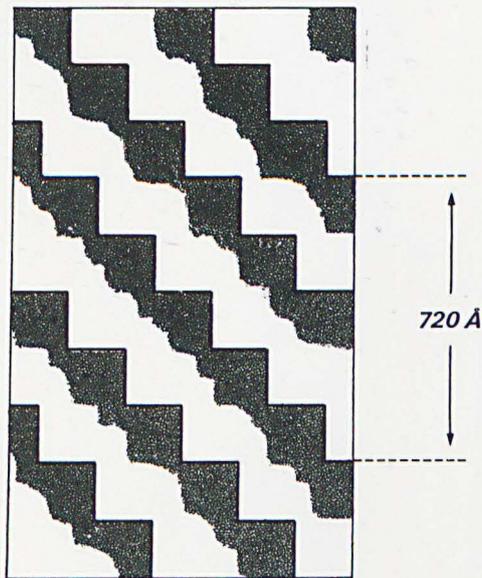


Figure 10

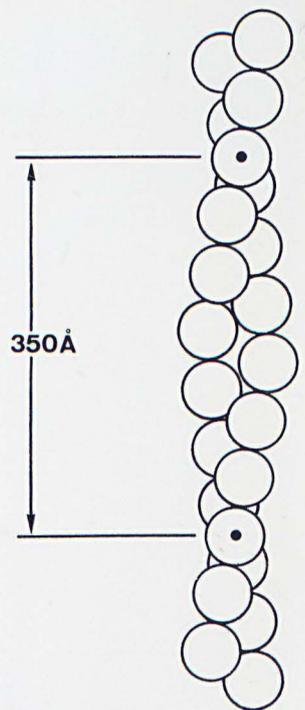


Figure 11

Figure 10 - Aspect schématique de la surface d'un filament de paramyosine, coloré négativement. On observe un système de taches sombres disposées obliquement, d'une périodicité de 720 \AA ($5 \times 144 \text{ \AA}$).

Figure 11 - Disposition des sous-unités globuleuses de 55 \AA (G-actine) dans un filament d'actine (d'après HANSON et LOWY, 1963). Il y a deux files hélicoïdales de sous-unités. Les flèches indiquent les points d'entrecroisement des deux files (350 \AA). Le nombre de sous-unités par tour d'hélice est de 13.

prétendait même que les fibrilles longitudinales dans la fibre en complète extension, devenaient obliques dans les fibres contractées. A. PRENANT (1929) adopte le même point de vue. Grâce à l'isolement des fibres de Lumbricus, par le traitement à la glycérine, HANSON (1957) a montré que l'angle compris entre les deux systèmes de fibrilles était de 20° dans le muscle en extension et de 60° dans les fibres contractées par l'ATP (Fig. 12). Nous avons obtenu des résultats similaires avec les fibres de N. pelagica et N. irrorata. L'action de l'ATP sur des fibres isolées provoque une augmentation assez considérable de l'angle qui passe de $20-25^\circ$ à $70-75^\circ$ (Pl. 17, figs a et b). Evidemment, une telle obliquité des spires fibrillaires n'est vraisemblablement pas réalisée dans une contraction normale chez l'animal vivant. Les fibres isolées ne sont pas freinées dans leur raccourcissement par des connections avec d'autres fibres et d'autres tissus, et le phénomène de redressement des spires est certainement exagéré. HANSON (1957) a également montré que l'espace entre les fibrilles était de $0,3 \mu$ dans les fibres en extension et $0,5 \mu$ dans les fibres en contraction. Il y a donc, lors de la contraction, un élargissement de la distance entre les fibrilles. De même, chez N. pelagica, l'écartement entre les fibrilles passe de $0,35 \mu$ dans les fibres relâchées à $0,65 \mu$ dans les fibres contractées (Pl. 17, figs a et b). Cette distance de $0,35 \mu$ entre les fibrilles dans les cellules non contractées devrait correspondre en principe à la largeur des bandes I. Toutefois, de nombreuses mesures faites sur coupes, au microscope électronique, nous montrent que les bandes I ne sont jamais supérieures à $0,1 \mu$. D'autre part, le calcul de la largeur des fibrilles révèle des différences dans les deux cas : dans les fibres relâchées, la largeur est d'environ $0,40 \mu$ et de $0,25 \mu$ dans les fibres contractées. Dans le premier cas, la largeur de $0,40 \mu$ est supérieure de $0,15 \mu$ à celle calculée sur micrographies électroniques. Nous essaierons de donner une explication à ces différences dans la discussion de la première partie.

b) Aspect, au microscope électronique, des fibres contractées par action du fixateur

Sur des sections transversales de fibres contractées, on observe un certain nombre de différences par rapport aux fibres en état de repos. Le sarcolemme apparaît plus ou moins festonné (Pl. 17, fig. c) et les vésicules sous-sarcolemmiques ont une forme plus arrondie. Mais la caractéristique essentielle est la disparition presque totale des bandes I. Les bandes A sont élargies au détriment de ces dernières et, entre les séries

Figure 12 - (d'après HANSON) Les observations de HANSON ont été faites sur fibres de Lombric extraites au glycérol. La contraction a été obtenue par action d'ATP.

a : Dans le muscle en extension, l'angle compris entre les fibrilles d'obliquité inverse est de 20° (l'angle d'obliquité, compris entre l'axe de la fibre et la fibrille, s'élève donc à 10°).

b : Dans la fibre contractée, l'angle est de 60° (angle d'obliquité : 30°). La largeur de la fibre s'est accrue.

Figure 13 - (d'après ROSENBLUTH)

Schéma permettant d'expliquer la variation de l'angle d'obliquité des fibrilles au cours de la contraction. Le degré d'obliquité dépend du degré de chevauchement des filaments épais (représentés par les traits) pendant la contraction ou l'extension. En 1 et 4, contraction et extension maxima mais théoriques.

Figure 12

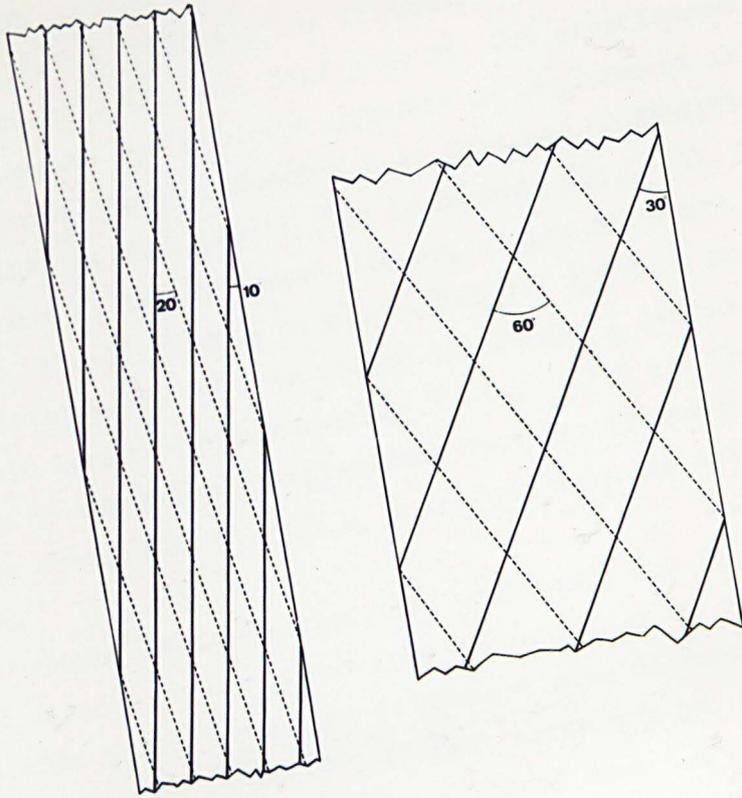
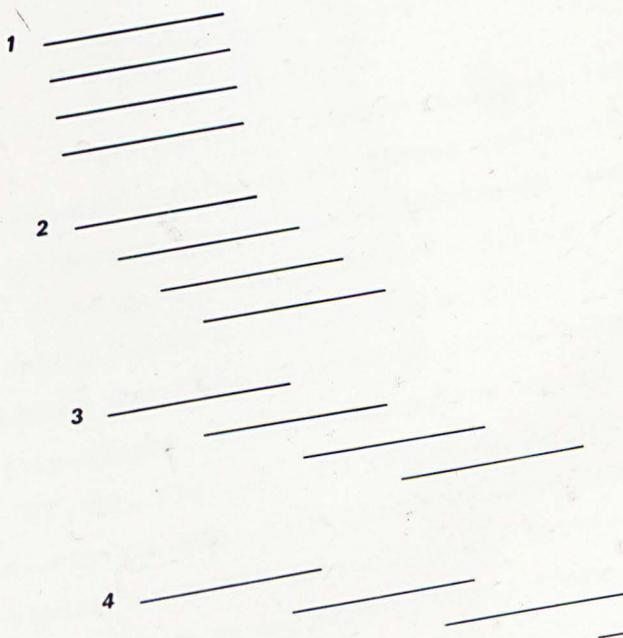


Figure 13



d'éléments Z et du reticulum sarcoplasmique (R.S.) marquant le milieu des anciennes bandes I, se situent un plus grand nombre de rangées de filaments épais : de cinq à sept au lieu de quatre à cinq, donc deux rangées supplémentaires en moyenne (Pl. 18, fig. a). Les filaments épais viennent donc au contact des éléments Z et du R.S. (Pl. 18, figs a et b). Cet accroissement du nombre de sections de filaments épais laisse supposer un déplacement de ceux-ci. Ce déplacement a été parfaitement démontré à la fois par ROSENBLUTH (1967) chez l'*Ascaris* et HEUMANN et ZEBE (1967) chez le *Lombric* (Fig. 13). Les zones H, au milieu des bandes A, ont également disparu et les filaments se trouvent à tous les niveaux (Pl. 18, figs a et b). ROSENBLUTH (1968) a montré, chez *Glycera*, que l'intervalle entre le milieu des bandes I (en coupes transversales) augmentait lors de la contraction (de 0,2 à 0,3 μ). Chez *Nereis*, nous n'observons pas de véritable élargissement dans les fibres contractées. La largeur oscille entre 0,25 et 0,35 μ à la fois dans les cellules étirées ou raccourcies.

Sur coupes longitudinales, les extrémités des filaments épais des bandes A sont situées au niveau même des éléments Z et du reticulum (Pl. 19, figs a et b). Les bandes I ne sont évidemment plus discernables (comparer les figs a des planches 16 et 19). Il faut noter que les filaments épais ont un trajet à peu près rectiligne et ne semblent donc pas avoir subi de torsion ou raccourcissement. Les éléments Z et du R.S. qui alternent régulièrement tout au long des bandes I se sont rapprochés les uns des autres (Pl. 18, figs a et b).

c) Aspect des fibres extraites au glycérol et soumises à l'action de l'ATP

Des sections transversales de telles fibres montrent un aspect très comparable à celui des fibres contractées par le fixateur. Les bandes I ont complètement disparu et le nombre de rangées de filaments épais a augmenté (Pl. 20, fig. a). Dans certaines fibres plus fortement contractées, l'intervalle compris entre le milieu des bandes I s'est accru un peu. Ce fait s'explique aisément par l'observation de coupes longitudinales. Les filaments apparaissent plus séparés les uns des autres et ont des trajets plus ou moins sinusoïdaux (Pl. 20, fig. c). En raison de la forte contraction de la fibre, les filaments ont subi un déplacement plus important. Les structures axiales des bandes I forment obstacle à une partie des filaments qui viennent buter contre elles et se plient. Mais, comme nous l'avons déjà dit,

la strie Z est discontinue, et certains filaments épais parviennent à pénétrer un peu dans le sarcomère voisin (Pl. 20, fig. c). On observe donc, sur coupe transversale, un grand nombre de sections de filaments épais au niveau des éléments Z et tubules du R.S. (Pl. 20, fig. b).

Nous avons montré que les filaments myosiniques des fibres glycé-
rinées de Nereis présentaient une disposition très régulière. Ils formaient une sorte de réseau losangique (Pl. 11). Or, des fibres glycé-
rinées puis sou-
mises à l'action de l'ATP présentent une irrégularité importante dans la dis-
position de leurs filaments épais (Pl. 20, figs a et b).

Quant aux filaments fins, leur présence au niveau des zones H mon-
tre qu'ils subissent aussi un déplacement, comme dans le cas des muscles
striés transversalement (HUXLEY et HANSON, 1960). Le nombre de filaments fins
sur fibres contractées à l'ATP est semblable à celui des fibres normales. Si
les filaments d'actine forment toujours des orbites autour des épais, ils
apparaissent beaucoup moins nettement sur coupes transversales, car leur
trajet est plus irrégulier (Pl. 20, fig. b).

Enfin, selon KAWAGUTI et IKEMOTO (1959), la disparition des struc-
tures Z par suite du traitement au glycérol empêcherait la contraction. Nous
ne le pensons pas, puisque des fibres sans éléments Z peuvent se contracter
par action de l'ATP.

II - LE RETICULUM SARCOPLASMIQUE

Dans les muscles d'Annélides, en particulier de S. amica et
N. irrorata, il n'y a pas de système transverse. Le sarcolemme ne donne pas
naissance à des invaginations tubulaires. Sous la membrane, on observe des
vésicules sous-sarcolemmiques (Pl. 6, fig. c ; Pl. 8, fig. a). Elles sont as-
sociées à la portion de sarcolemme qu'elles recouvrent, formant de véritables
dyades. Souvent, la portion cytoplasmique, comprise entre le sarcolemme et la
vésicule, est plus dense aux électrons (Pl. 12, fig. c). Les vésicules sous-
sarcolemmiques sont en relation avec des saccules du R.S. (Pl. 16, fig. b).
Plusieurs saccules peuvent être en liaison avec une vésicule sous-sarcolem-
mique (Pl. 16, fig. b). Ils sont situés au milieu des bandes I et alternent
avec les éléments Z (Pl. 6, fig. b ; Pl. 16, figs b et c). Chez N. irrorata,
dans l'axe de la fibre, les saccules du R.S. appartenant à chacun des systè-
mes de bandes d'obliquité inverse, se chevauchent parfois à leur extrémité
interne (Pl. 8, fig. a). Souvent plusieurs d'entre eux, appartenant à des
bandes I d'un même système confluent dans un long saccule axial (Pl. 16,
figs b et c). Ce dernier peut également être en liaison avec des tubules de

bandes I du système opposé (Pl. 16, fig. b). Il y a ainsi des réseaux de saccules appartenant aux deux systèmes d'obliquité opposée. Une liaison de ce type, entre tubules du R.S., ne semble pas exister chez S. amica.

III - AUTRES ELEMENTS CYTOPLASMIQUES

1 - Evaginations du sarcolemme chez S. amica

Des évaginations du sarcolemme, en forme de doigt de gant, de $0,4 \mu$ de long sur 200 \AA de large en moyenne, s'observent sur coupes transversales (Pl. 21, fig. a). Ces dispositifs serviraient à maintenir la cohésion entre les fibres musculaires. Nous n'avons pas observé ces sortes d'agrafes chez les Néréidiens. Or, les fibres apparaissent souvent séparées les unes des autres (Pl. 3, figs a et c).

2 - Prolongements de fibres et jonctions neuromusculaires

Chez Syllis, comme chez Nereis, sur le bord opposé à celui du noyau, on peut distinguer sur fibres isolées, au microscope à contraste de phase, un certain nombre d'étroits prolongements, plus ou moins sinueux, de longueur égale pour une même fibre (Pl. 4, figs b et h et Pl. 5, fig g et h). Mais d'une fibre à l'autre, leur longueur est très différente : elle s'élève à 7μ pour les plus petits, à 42μ pour les plus longs. Il faut souligner que beaucoup de fibres ne possèdent pas ces prolongements. Nous avons observé, au microscope électronique, sur coupes transversales, des fibres présentant une étroite expansion, toujours située vers l'extérieur et se dirigeant jusqu'à la basale (Pl. 21, fig. c). Il n'est pas douteux qu'il s'agit là des prolongements décrits sur fibres isolées. Les expansions contiennent de fins filaments que l'on peut assimiler à des tonofilaments, car ils rejoignent des épaissements comparables à des hémidesmosomes, au niveau de la basale (Pl. 21, fig. d et Pl. 22, figs c et d). Ces fins filaments peuvent se poursuivre à l'intérieur de la fibre, entre les bandes A et I d'une part, et le sarcolemme d'autre part (Pl. 6, fig. c).

Sous la basale, au niveau de l'extrémité des prolongements, on distingue parfois des terminaisons nerveuses, contenant de nombreuses vésicules synaptiques de 350 à 400 \AA environ de diamètre, à contenu clair, limitées par une membrane parfois des amas sous la membrane (Pl. 21, fig. d ; Pl. 22, figs c et d). Chez N. irrorata, nous avons non seulement rencontré quelques vésicules beaucoup plus larges, de 800 à 1200 \AA environ, à contenu

dense (Pl. 22, figs c et d), dans la terminaison nerveuse, mais aussi des vésicules de 350 Å, claires, dans le prolongement lui-même, près de la basale (Pl. 22, fig. c). Nous pensons qu'il s'agit de synapses neuromusculaires, car nous n'avons jamais vu d'axones le long des fibres musculaires de S. amica ou N. irrorata. Cette observation est à rapprocher de celle de DHAINAUT-COURTOIS et WAREMBOURG (1969) qui constatent, chez le Polychète Nereis pelagica, la présence de fibres nerveuses et de terminaisons axonales, uniquement dans les zones où le muscle est en contact avec la basale.

Les cellules musculaires jeunes, situées contre la basale, ne semblent pas posséder de prolongements (Pl. 4, fig. a et Pl. 5, fig. e). La synapse se situerait au niveau d'une zone d'épaississement semblable à celle observée dans la planche 21, figure e. Il est à remarquer que des filaments rejoignent aussi un épaississement sous la basale, comme dans le cas des prolongements.

3 - Les mitochondries

Tout au long du bord interne de la fibre musculaire glycérinée et isolée, à l'intérieur d'une fine lame cytoplasmique, on distingue un alignement de masses ovoïdes (Pl. 4, fig. c) qui sont des mitochondries. En effet, des sections transversales de fibres, au microscope électronique, présentent toujours du même côté une, deux, parfois trois mitochondries, rarement plus, entourées d'une fine couche de sarcoplasme (Pl. 1, figs c et d et Pl. 7, fig. a). On n'en trouve qu'exceptionnellement sur le bord opposé. De plus, le bord mitochondrial de la cellule musculaire est toujours dirigé vers l'intérieur de l'Annélide, du côté coelomique (Pl. 1, figs c et d et Pl. 7, fig. a). Chez les Nereis, il est aussi fréquent de rencontrer des mitochondries dans l'axe même des fibres, entre les deux couches de fibrilles (Pl. 7, fig. b).

Le diamètre des mitochondries est de 0,20 μ chez S. amica. Chez N. irrorata, il peut s'élever à 0,4 μ . Leur longueur est difficile à préciser. Sur fibres isolées, elles sont gonflées et leur longueur en est certainement diminuée.

IV - LE NOYAU

Chez S. amica, il est situé latéralement, vers le milieu de la fibre (Pl. 4, fig. a). Chez N. irrorata, il est aussi médian ; mais, s'il peut être latéral (Pl. 5, fig. e ; Pl. 22, fig. b), il est le plus souvent axial (Pl. 5, fig. f et Pl. 22, fig. a), c'est-à-dire placé entre les deux couches de fibrilles et à mi-distance des deux bords latéraux de la fibre. Comme nous l'avons signalé, ce sont les fibres de la couche externe, les plus fines et, certainement, les plus jeunes qui possèdent un noyau latéral. Le noyau devient axial lors du vieillissement de la cellule (Fig. 4).

Ses dimensions sont faibles. Chez S. amica, sa largeur est de $3,5 \mu$, sa longueur de 5μ en moyenne. Chez N. irrorata, il fait 3μ de large sur 8μ de long. Cependant, ses dimensions dépendent de la taille des fibres : de 2μ de large sur 7μ de long chez les plus petites (Pl. 5, fig. e), il peut atteindre 6μ de large sur 18μ de long chez les plus grandes fibres (Pl. 5, fig. f). Un petit nucléole de $0,5$ à 1μ environ est souvent présent (Pl. 4, figs b et d). Comme les mitochondries, le noyau, lorsqu'il est latéral, est toujours situé du côté du coelome. La fibre a donc une orientation précise. Elle présente sa mince lame de cytoplasme mitochondrial et son noyau vers le coelome.

Le cytoplasme périnucléaire est très mince et ne contient ^{que} quelques mitochondries (Pl. 21, fig. f et Pl. 22, figs a et b). Il est à remarquer, chez S. amica, que le noyau est souvent situé à l'extrémité d'une sorte de long pédoncule sarcoplasmique, contenant quelques mitochondries (Pl. 21, fig. f). Nous avons retrouvé de telles fibres, à noyau éloigné, après glycération et dilacération (Pl. 21, fig. c). Ces fibres se trouvent le plus fréquemment dans les faisceaux ventraux, où les couches sont plus nombreuses. Mais leur portion contractile est située au niveau de la couche externe, et présente de faibles dimensions. Nous pensons donc que ces cellules musculaires, pédonculées, peuvent être considérées comme des éléments jeunes. Mais cette affirmation ne signifie pas que toutes les fibres jeunes aient un noyau à l'extrémité d'un pédoncule, car on peut rencontrer des fibres de faibles dimensions (supposées jeunes) avec un noyau accolé à la portion contractile (Pl. 4, fig. d).

L'appareil de Golgi, le réticulum endoplasmique, les inclusions cytoplasmiques diverses (gouttelettes lipidiques, glycogène, vacuoles) sont pratiquement inexistantes.

CHAPITRE II

MUSCULATURE LONGITUDINALE DES STOLONS ET VERS EPITOQUES

A - DISPOSITION DES FIBRES

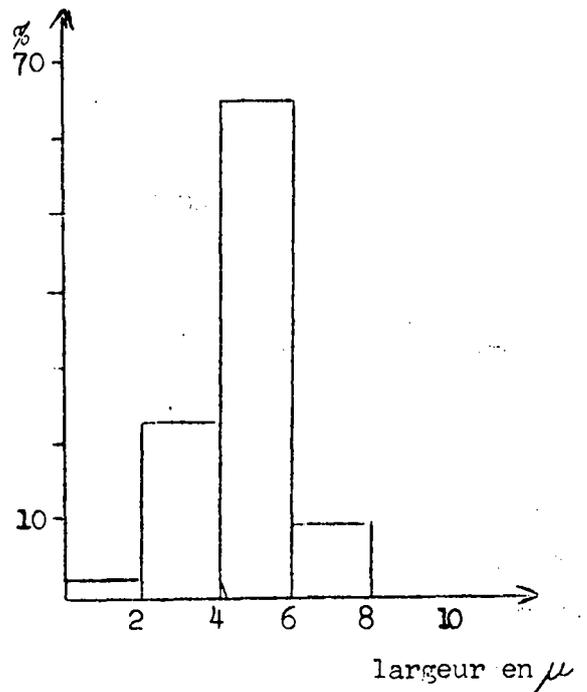
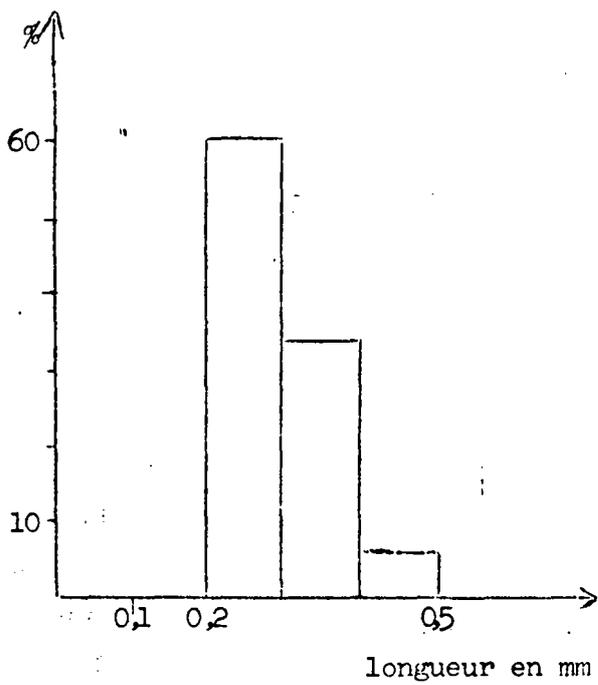
1 - Chez S. amica

Alors que les fibres dorsales longitudinales formaient un arc de cercle complet chez les vers immatures (Pl. 1, fig. a), les fibres du stolon n'occupent que deux zones symétriques latérodorsales (Pl. 25, fig. a). La région axiale et les extrémités de l'arceau dorsal renferment toujours des fibres typiques des Syllis immatures. De même, ventralement, les deux faisceaux présentent, à leurs extrémités, des fibres de type souche. Cette disposition résulte du fait que les transformations n'affectent pas toute la musculature longitudinale mais seulement certaines parties. Il existe donc des zones où l'on peut trouver côte à côte des fibres des deux types (Pl. 32, fig. a).

D'autre part, chez la plupart des Syllis enfin de stolonisation, les fibres du type souche qui persistent sont beaucoup moins nombreuses qu'à l'origine. On l'observe bien dans la figure a de la planche 25, où l'on ne distingue plus qu'une fine couche musculaire en comparaison de la figure a (planche 1). Cela signifie qu'un certain nombre de fibres ont disparu au cours de la stolonisation. Ces constatations importantes : fibres stoloniales dans certaines zones seulement et fibres de type souche disparues, nous montrent que les phénomènes intervenant lors de la stolonisation sont plus complexes qu'on aurait pu le supposer de prime abord. Nous ne discuterons pas de ces problèmes dans ce chapitre ; nous y reviendrons au cours de la seconde partie.

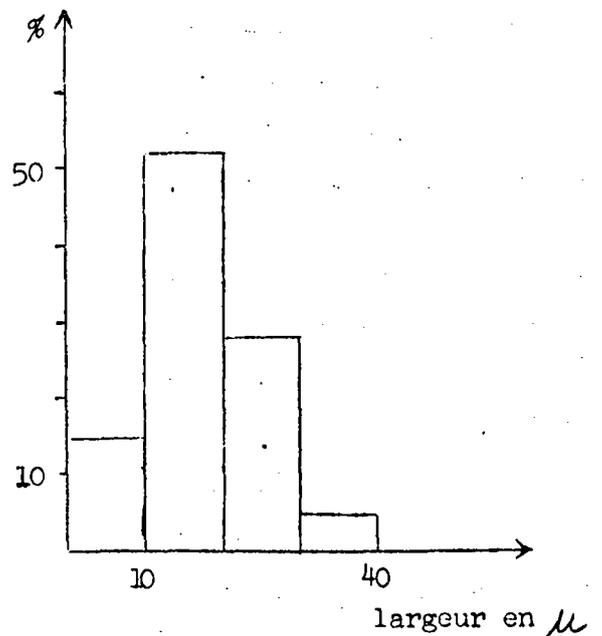
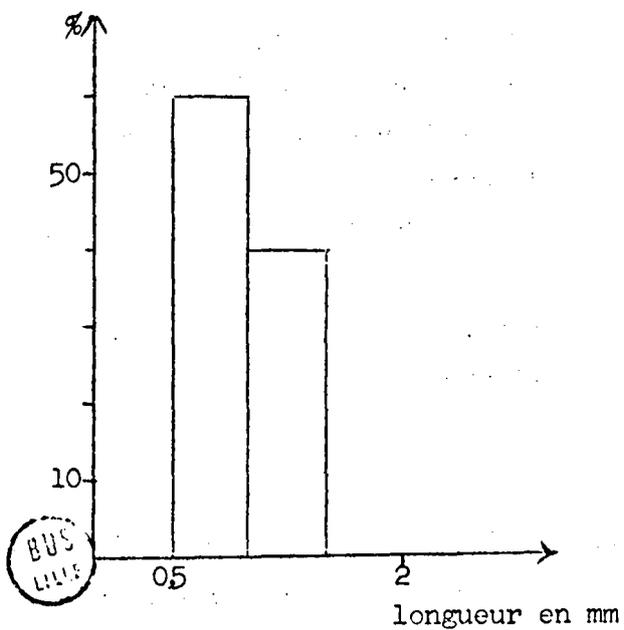
2 - Chez N. irrorata

Les fibres de la musculature longitudinale dorsale, à l'inverse de S. amica, sont intégralement remplacées par les fibres transformées hétéronéréidiennes. Dans l'axe, au niveau du vaisseau dorsal, il apparaît une formation nouvelle, de nature musculaire (Pl. 2, figs b et d) décrite par CHARRIER (1920) chez Nereis fucata et par DEFRETIN (1949) chez d'autres Néréidiens sous le nom de néoformation dorsale ; elle ne se trouve que dans les métamères transformés de l'Heteronereis. Cette formation est constituée



1 2 3
Longueur en mm de 3 segments

Figure 14 - Histogrammes de la longueur et de la largeur des fibres musculaires stoloniales



1 2 3
Longueur en mm de 3 segments

Figure 15 - Histogrammes de la longueur et de la largeur des fibres hétéronéréidiennes.

par l'accolement de deux bandelettes musculaires qui prolongent vers l'intérieur du coelome les extrémités des faisceaux longitudinaux droit et gauche (Pl. 2, fig. d). Les deux lames de la néoformation sont séparées l'une de l'autre par une basale conjonctive. Le vaisseau dorsal, primitivement situé entre les deux extrémités des faisceaux longitudinaux (Pl. 2, fig. a) est alors, (appendu à la néoformation, refoulé en profondeur. Elle forme une lame continue, blanchâtre, qui parcourt dorsalement l'ensemble des segments hétéronéréidiens. Après traitement à la glycérine, les éléments de la néoformation ne se dissocient pas sans ruptures ou déchirements. Nous verrons que cette particularité est due à la présence de desmosomes intercellulaires. Nous étudierons la structure très particulière des fibres de la néoformation dans la troisième partie.

Quant aux fibres de la musculature ventrale, si l'on excepte le double repli ventral, elles laissent place presque totalement à des fibres de type épitoque. Il ne subsiste plus qu'une petite zone de fibres "atoques" contre la chaîne nerveuse. Ces cellules sont très semblables à celles de la néoformation dorsale et avaient été remarquées par CHARRIER (1920) et DEFRETIN (1949). Mais, le double repli ne renferme, à aucun moment, de fibres transformées. Comme l'a montré DEFRETIN (1949), ce double repli de cellules "atoques" reste important dans la région antérieure néréidienne et dans la première moitié de la zone hétéronéréidienne, mais se réduit fortement ensuite. (Pl. 2, figs b et f). Il faut donc admettre qu'une partie des fibres du double repli dégénèrent dans les segments les plus postérieurs du ver.

B - FORME ET DIMENSIONS DES FIBRES

1 - S. amica

La forme générale de la fibre n'a pas changé. Il s'agit toujours d'une cellule allongée, aux extrémités effilées, au noyau situé latéralement et vers le milieu de la fibre (Pl. 24, figs a et b).

Par contre, les dimensions sont différentes. La fibre stoloniale est plus petite en longueur. Celle-ci ne dépasse pas 0,50 mm alors que les fibres de type souche peuvent atteindre 0,60 mm (Fig. 14). Par ailleurs, la majorité d'entre elles ont une longueur de 0,20 à 0,30 mm, la moyenne se situant aux environs de 0,30 mm. En ce qui concerne la largeur, on ne trouve pratiquement pas de fibres stoloniales comprises entre 0 et 2 μ , ni supérieures à 8 μ (fig. 14). La majorité de la population (65 %) présente une largeur

de 4 à 6 μ . 34 % seulement de la population des fibres des immatures était situé dans cet intervalle de grandeur. Enfin, l'épaisseur est plus variable que chez les fibres de type souche. Les fibres stoloniales, en coupe transversale, ont une forme plus irrégulière et plus arrondie. Leur épaisseur est, de ce fait, légèrement plus élevée : 2 μ en moyenne.

2 - N. irrorata

La forme de la fibre est semblable à celle de la Nereis atoque. Le changement important réside dans la position du noyau, toujours situé latéralement dans les fibres hétéronéréidiennes.

Comme chez S. amica, on enregistre des différences importantes dans les dimensions de la fibre hétéronéréidienne. Elle est aussi plus étroite et moins longue (Fig. 15). La plus grande partie (52 %) des fibres a entre 10 et 20 μ de large (36 % pour les fibres néréidiennes) et les plus grosses ne dépassent pas 40 μ de large (les fibres "atoques" les plus grosses atteignent 70 μ). Quant à la longueur, nous n'observons plus que deux classes de fibres : entre 0,5 et 1 mm et entre 1 et 1,5 mm, mais les calculs de longueur sont vraisemblablement imprécis, en raison des ruptures fréquentes des fibres "épitoques" lors de leur dissociation. Il est très probable qu'il existe des fibres d'une longueur supérieure à 1,5 mm. Néanmoins l'histogramme montre qu'il y a eu diminution importante de la longueur puisque la plupart n'excèdent pas 1,5 mm (75 % des fibres des Nereis atoques étaient supérieures à 1,5 mm). Mais, il faut noter aussi que la longueur des segments a aussi diminué puisqu'elle passe de 1 mm à 0,6 mm en moyenne. En conséquence, les fibres hétéronéréidiennes s'étendent sur deux ou trois segments (Fig. 15). L'épaisseur s'élève, en moyenne, à 2,5 μ .

C - STRUCTURE DES FIBRES

I - LE MATERIEL CONTRACTILE

1 - Etat de repos

a) La striation oblique. Observation au microscope photonique

Sur les fibres, extraites à la glycérine et observées au contraste de phase, la striation est assez difficile à observer en raison de la présence d'un grand nombre de granulations qui se trouvent dans toute la région axiale de la fibre (Pl. 23, fig. b ; Pl. 25, fig. c). Ces granulations correspondent aux mitochondries qui caractérisent les fibres stoloniales et

hétéronériennes. Chez S. amica, le seul moyen de bien mettre en évidence les fibrilles est d'utiliser la technique à l'hématoxyline, selon GRASSE, décrite précédemment (Matériel et méthodes). Elles apparaissent alors sous forme de deux couches de stries parallèles et d'obliquité inverse (Pl. 23, figs a et b). Chez N. irrorata, il n'est pas nécessaire d'avoir recours à l'hématoxyline, car les stries sont bien visibles en contraste de phase (Pl. 24, figs a et c). En raison de la forte densité mitochondriale, il est impossible d'observer en même temps les deux systèmes de fibrilles (Pl. 24, figs a, b et c). Comme chez Syllis, les fibrilles appartenant à l'une des couches s'entrecroisent avec celles de l'autre. L'angle compris entre ces deux systèmes est d'environ 15 à 25° chez Nereis et 12 à 15° chez Syllis. Ces données sont comparables à celles obtenues avec les fibres de type souche. La continuité entre les fibrilles des deux faces est aussi observable, ce qui démontre la nature hélicoïdale de leur trajet.

Sur coupes transversales histologiques, les deux couches opposées de myofibrilles sont nettement séparées l'une de l'autre par le chondriome axial considérablement développé (Pl. 3, figs b, d). Chez S. amica, les fibrilles forment une couche continue, très mince, sous le sarcolemme (Pl. 25, fig. b). Chez N. irrorata, comme les fibres sont beaucoup plus grosses, il est possible d'observer une fine striation, qui correspond à la section transversale des myofibrilles (Pl. 3, fig. d). Sur coupes longitudinales, les images en chevrons, caractéristiques de la double striation oblique, apparaissent nettement (Pl. 3, fig. e).

b) Aspect des myofibrilles en microscopie électronique.

Sur coupes transversales, on retrouve la même alternance entre bandes A (myofibrilles) et I (Pl. 25, fig. d ; Pl. 26, fig. a). Les deux couches sont bien séparées l'une de l'autre par les mitochondries qui occupent l'axe cellulaire. La structure des fibres parapodiales d'Autolytus (MARTINSON, 1969) est très comparable.

Sur des sections longitudinales, selon le plan de coupe, on observe soit une striation transversale (Pl. 26, fig. b), soit une striation oblique formant des figures en chevrons, comme dans les fibres de type souche (Pl. 33, fig. b).

c) Les myofilaments

. Longueur et orientation des myofilaments épais

Chez S. amica, la longueur des filaments épais des fibres stoloniales, calculée d'après certaines coupes longitudinales favorables, s'élève à 2 μ . Par la méthode indirecte, basée sur $AB = \frac{AC}{\text{tg } \alpha}$, nous

avons également obtenu une longueur de 2μ . La largeur d'obliquité d'une bande A est en effet proche de $0,2\mu$ et l'angle α , s'élève à 6° environ (Pl. 23) sur fibres isolées.

Par contre, chez N. irrorata, par la méthode indirecte, la longueur obtenue est d'environ $2,5\mu$ puisque la largeur d'une bande A est de $0,25\mu$ et l'angle d'obliquité de 6° au minimum. Cependant, les filaments épais isolés à partir de muscles épitoques, extraits à la glycérine, sont beaucoup plus longs, puisque nous avons calculé des longueurs de 5μ .

Il y a donc une différence importante entre les deux méthodes de calcul, comme dans le cas de la fibre néréidienne. Les deux hypothèses formulées au sujet de cette dernière sont donc applicables ici, mais nous reviendrons sur cette question au cours de la discussion.

. Disposition des filaments épais et fins. Proportion des filaments fins par rapport aux épais.

Chez S. amica, de même que pour les fibres de type souche, il n'est pas possible de détecter une distribution régulière des myofilaments épais, même après traitement au glycérol (Pl. 27, fig. c ; Pl. 28, fig. b). Par contre, ce même traitement permet de mettre nettement en évidence les filaments fins qui disparaissent toujours après fixation osmique et souvent après l'utilisation de glutaraldéhyde. Le nombre approximatif de filaments fins pour un épais est de quatre à cinq (Pl. 28, figs a, b et c). On compte généralement de huit à dix filaments ^{fins} autour d'un épais. Mais comme pour les fibres des immatures, il est fréquent de rencontrer des orbites incomplètes même en dehors de la zone H (Pl. 28, fig. b).

Chez N. pelagica, la fixation glutaraldéhydrique préserve beaucoup mieux l'intégrité de la fibre, et il est possible de conserver les filaments fins (Pl. 29, fig. a). L'extraction au glycérol des muscles épitoques permet de respecter encore mieux les filaments d'actine (Pl. 29, fig. b). Les orbites renferment neuf à treize filaments, ce qui est très comparable aux chiffres obtenus pour les fibres du type souche. La proportion oscille entre six et sept pour un. D'autre part, toujours chez Nereis, les filaments myosiniques ont une disposition assez régulière après extraction au glycérol. Il est en effet possible de tracer un réseau losangique permettant de relier tous les filaments épais entre eux (Pl. 30, fig. a). La distance entre les filaments de myosine est de 250 \AA environ et l'angle γ (Fig. 8) s'élève à 60° . Le réseau est parfois moins régulier dans certaines bandes A que dans d'autres (Pl. 30, figs a et b) Nous pensons cependant que la disposition réelle est géométrique comme dans les fibres de type souche.

. Le diamètre et la structure des filaments

Chez S. amica, les myofilaments épais ont un diamètre de 200 à 250 Å environ. Il y a donc une réduction importante de l'épaisseur des filaments primaires par rapport à ceux des muscles des immatures, puisqu'elle est de 80 à 100 Å environ. On remarque nettement cette différence de diamètre lorsque les fibres du type souche et du type stolonial sont situées sur la même coupe (Pl. 28, fig. c et Pl. 32, fig. d). De même, une comparaison entre la figure b (Pl. 10) et la figure a (Pl. 28) permet de constater l'amincissement des filaments primaires.

Chez N. irrorata et N. pelagica, la différence apparaît moins nettement (Pl. 12, fig. b et Pl. 30, fig. b), car le diamètre des filaments épais des fibres "atoques" est de 280-320 Å, alors que celui des filaments des fibres "éptoques" est de 220-240 Å, ce qui donne une différence de 60 Å environ. Les sections transversales de filaments myosiniques sont plus faibles sur les bords des bandes A. Les extrémités des filaments sont donc effilées.

L'isolement des filaments nous a permis de confirmer cette déduction et de constater une structure identique à celle des filaments des fibres néréidiennes. Après coloration négative, nous avons pu mettre en évidence une périodicité de 144 Å, caractéristique de la paramyosine (Pl. 15, fig. d) ainsi que la présence de microfilaments parallèles, de 25 Å environ de large, diamètre tout à fait comparable à celui des granulations observées à l'intérieur des filaments de fibres hétéronéréidiennes, sur coupe transversale (Pl. 28, fig. a pour S. amica ; Pl. 30, fig. b pour N. pelagica).

Si l'existence de petites expansions n'a pu être décelée sur les filaments paramyosiniques isolés, la présence de ponts entre les filaments d'actine et de myosine peut parfois être constatée sur coupes longitudinales au microscope électronique (Pl. 30, fig. c).

Les filaments fins ont aussi la même structure que ceux des fibres néréidiennes. On retrouve les deux composants filamentaires torsadés, dont les points d'entrecroisement sont distants d'environ 230 Å. Il s'agit donc de filaments d'actine.

d) La strie Z

Elle est fragmentée en éléments Z, présents au milieu des bandes I (Pl. 29, figs a et b). Sur coupes longitudinales, ils sont régulièrement espacés et alternent avec les tubules du R.S. (Pl. 30, fig. c ;

Pl. 27, fig. b ; Pl. 33, figs a et b). Chez N. irrorata, DEFRETIN et nous-mêmes (1969) avons constaté que les éléments Z avaient même orientation que les filaments eux-mêmes. L'insertion des filaments fins sur ces éléments Z est évidente (Pl. 27, fig. b et Pl. 30, fig. c).

2 - La fibre contractée

a) Aspect des fibrilles des fibres isolées de N. pelagica après action de l'A.T.P.

Les résultats obtenus sur les fibres hétéronéréidiennes sont tout à fait comparables à ceux des fibres néréidiennes. On observe une accentuation très nette de l'obliquité des fibrilles (Pl. 31, figs e et f). L'angle d'obliquité s'élève à 40° au moins alors qu'il oscillait entre 12 et 25° dans les fibres hétéronéréidiennes non contractées (Pl. 24, figs a et c). Toutefois, la largeur des myofibrilles a diminué puisqu'elle passe de 0,35-0,40 μ à 0,2 μ . L'intervalle entre les myofibrilles reste le même : 0,30-0,35 μ , à l'inverse des fibres néréidiennes.

b) Aspect, en microscopie électronique, des fibres contractées par action du fixateur

Comme pour les fibres néréidiennes, il y a disparition des bandes I, mais la largeur comprise entre le milieu des bandes I n'augmente pas. Elle reste aux environs de 0,20-0,25 μ , dans les fibres relâchées ou contractées. On observe seulement un accroissement du nombre des sections de filaments épais.

c) Aspect, en microscopie électronique, des fibres contractées par action de l'A.T.P.

Les images sont comparables à celles obtenues pour la fibre néréidienne. On distingue donc :

1- une augmentation de la densité filamentaire dans l'axe des bandes I (Pl. 31, fig. b). Les filaments des sarcomères voisins viennent buter contre les éléments Z et du R.S.

2- Une désorganisation très nette de la disposition des filaments épais. En coupe transversale, le réseau losangique a complètement disparu.

3- Une répartition beaucoup plus irrégulière des filaments fins. Les orbites ne sont plus très visibles (Pl. 31, figs b et c).

II - LE RETICULUM SARCOPLASMIQUE

Comme dans les muscles des Syllis et Nereis immatures, le système transverse est absent, et le réticulum sarcoplasmique est représenté par des vésicules sous-sarcolemmiques en relation avec des tubules ou saccules (Pl. 27, fig. a). Cependant, il est apparu un certain nombre de saccules du R.S., situés contre les faces internes des myofibrilles, entre elles et les mitochondries (Pl. 27, fig. a ; Pl. 29, fig. a et Pl. 30, fig. a). Ce nouveau système interne, que nous avons déjà observé (WISSOCQ, 1967) est en liaison avec les éléments du réticulum des bandes I (Pl. 27, fig. a et Pl. 29, fig. a). Les tubules du R.S. alternent ~~avec~~ avec les éléments Z (Pl. 27, fig. b ; Pl. 33, figs a et b).

III - AUTRES ELEMENTS

1 - Evaginations du sarcolemme des fibres de S. amica Prolongements et synapses neuromusculaires

Chez S. amica, nous n'avons pas retrouvé entre les fibres stoloniales les dispositifs d'ancrage représentés par les évaginations en doigt de gant du sarcolemme.

Si les prolongements et synapses neuromusculaires n'ont pas été observés chez S. amica, il n'en est pas de même chez N. irrorata. Certaines fibres isolées, "épitoques" de ce Néréidien présentent des prolongements minces, comparables à ceux des fibres "atoques" (Pl. 24, fig. e). Des jonctions neuromusculaires existent également.

2 - Mitochondries

Alors que ces organites étaient en quantité extrêmement faible dans les cellules musculaires normales (0,5 % du volume de la fibre), leur nombre s'est accru si fortement qu'ils occupent à présent environ 47 % du volume de la fibre. La mise au point du microscope à contraste de phase sur l'axe des fibres isolées permet de mettre en évidence une grande quantité de granulations correspondant aux mitochondries (Pl. 24, figs b et d et Pl. 25, fig. c).

En microscopie électronique, des sections transversales et longitudinales montrent que l'axe des fibres est entièrement occupé par les mitochondries (Pl. 25, fig. d et Pl. 26, figs a et b). Les mitochondries sont le plus souvent allongées, mais chez N. irrorata, elles peuvent avoir des formes annulaires (DEFRETIN et WISSOCQ, 1969) (Pl. 33, fig. e). DEFRETIN (1949) a

signalé que certaines d'entre elles peuvent atteindre une longueur de 40 μ . Chez S. amica, ces organites sont à peine plus larges que ceux des fibres de type souche (0,25 à 0,30 μ , au lieu de 0,20 μ). Chez N. irrorata, il en est de même (0,5 à 0,6 μ de large au lieu de 0,4-0,5 μ).

3 - Autres inclusions cytoplasmiques

L'appareil de Golgi, presque inexistant dans les muscles des immatures, est bien développé dans le sarcoplasme périnucléaire (Pl. 32, fig. b).

De nombreuses particules de glycogène sont apparues à l'intérieur des fibres stoloniales et hétéronéréidiennes. Mais, chez S. amica, le glycogène apparaît toujours sous la forme particulière β (selon la terminologie de DROCHMANS, 1962), de 180 à 240 Å environ (Pl. 32, fig. b), alors que, chez N. irrorata, il se présente sous la forme β et surtout α , en rosettes, de 600 à 700 Å (Pl. 29, fig. a). Le glycogène envahit tous les espaces intermitochondriaux, à la fois dans la médulla (Pl. 25, fig. d ; Pl. 26, fig. b) et dans le sarcoplasme périnucléaire (Pl. 32, fig. b).

Enfin, nous avons rencontré, seulement chez N. irrorata, des formations particulières dans certaines fibres hétéronéréidiennes, constituées par la juxtaposition de tubules, dilatés par endroits, de 800 Å de largeur moyenne (Pl. 34, fig. a). Leur contenu est clair. Ils sont le plus souvent situés dans le sarcoplasme axial, entre les mitochondries, mais peuvent aussi se localiser dans la région périnucléaire.

4 - Le noyau

Chez S. amica, il est placé latéralement, au milieu de la fibre, comme dans les fibres des immatures (Pl. 23, figs a et b ; Pl. 25, fig. c). Sa taille est un peu plus faible (3/4,5 μ) et son nucléole plus développé (2 μ).

Chez N. irrorata, nous avons vu que la plupart des fibres néréidiennes renfermaient un noyau axial, enfermé entre les deux lames de fibrilles. Or toutes les fibres hétéronéréidiennes ont un noyau latéral, comme l'avaient constaté CHARRIER (1920), A. PRENANT (1929) et DEFRETIN (1949) (Pl. 24, figs f, g, h ; Pl. 33, fig. d). Les dimensions moyennes de ce noyau sont respectivement : 10 μ de long pour 6 μ de large. Le volume du noyau s'est donc légèrement accru (Pl. 24, figs f, g, h). Le sarcoplasme périnucléaire est plus développé que dans les fibres du type souche (Pl. 24, fig. b et Pl. 32, fig. b).

CHAPITRE III

MUSCULATURE DU STOLON ET DE L'HETERONEREIS SENESCENTS

Nous consacrons un chapitre particulier à cette fibre qui, au cours des derniers jours de son existence, subit encore une évolution équivalente à une sorte de sénescence rapide de la cellule avant sa mort. A ce moment-là, le stolon et l'Heteronereis sont animés de mouvements sinusoïdaux très rapides, interrompus par de courtes périodes de repos. Les cellules musculaires sont encore fonctionnelles à ce stade, mais leurs mitochondries ont subi une rapide et considérable augmentation de volume. Le diamètre moyen des mitochondries est alors de 0,8 à 1 μ chez S. amica (Pl. 35), de 1 μ à 1,2 μ chez N. irrorata (Pl. 34, fig. b). Quoique le nombre de crêtes mitochondriales soit encore important, il peut parfois devenir beaucoup plus faible dans des mitochondries à matrice moins dense (Pl. 36, fig. a). En outre, on observe parfois des sortes de taches denses entre les crêtes (Pl. 36, fig. b). Le matériel contractile est encore bien organisé (Pl. 35 et Pl. 34 fig. b) et on retrouve tous les éléments de la fibre stoloniale ou hétéronéréidienne.

Le glycogène a considérablement diminué en quantité. Ces fibres ne tardent pas à dégénérer, dès que le stolon ou l'Heteronereis ont expulsé leurs gamètes. Chez S. amica, nous avons observé cette dégénérescence, avant la mort du stolon. Les myofilaments, avant de disparaître, se désorganisent, et les mitochondries ne restent plus confinées à la zone axiale mais se répartissent dans toute la fibre, par suite de l'élimination du cortex contractile (Pl. 36, fig. c). Les éléments du R.S. sont également éliminés.

DISCUSSION DES CHAPITRES I, II, III.

Nous commencerons par discuter d'une série de résultats communs aux fibres de type souche et stoloniales et d'une portée plus générale : nous envisagerons donc successivement la disposition et l'orientation des filaments, la contraction et l'innervation. Enfin, nous comparerons les deux types de fibres de S. amica et N. irrorata.

I - LE PROBLEME DE L'ORIENTATION ET DE LA DISPOSITION DES FILA-
MENTS DANS LES FIBRES DE N. PELAGICA, N. IRRORATA ET S. AMICA.

Comme nous l'avons vu, il est évident que les fibres de Nereis et Syllis appartiennent à la catégorie des muscles à double striation oblique ou hélicoïdaux connus depuis longtemps (MARGO, (1860) chez les Mollusques et METTENHEIMER (1860) chez l'Arénicole). Si la structure de ces muscles a fait l'objet de nombreuses interprétations, la majorité des auteurs s'accordait à reconnaître que la double striation résultait de la vision simultanée des fibrilles des deux faces (FOL, 1888 a et b ; ROULE, 1888 ; BALLOWITZ, 1892 ; MARCEAU, 1908 ; TURCHINI, 1921 ; A. PRENANT, 1929 ; DEFRETIN, 1949) et que ces muscles appartenaient à la catégorie des muscles lisses. Nous avons vu qu'il s'agissait bien d'un système hélicoïdal de fibrilles puisqu'on pouvait suivre le trajet de certaines fibrilles d'une face à l'autre de la fibre.

Récemment, plusieurs études en microscopie électronique ont été faites sur ces muscles : la partie translucide du muscle adducteur de l'huitre Crassostrea (HANSON et LOWY, 1961), la musculature longitudinale d'Ascaris (ROSENBLUTH, 1963, 1965, 1967), d'Eisenia foetida (IKEMOTO, 1963 ; CHAPRON et VALEMBOIS, 1967) de Lumbricus terrestris (HANSON, 1957 ; KAWAGUTI, 1962 ; STAUBESAND et KERSTING, 1964 ; HEUMANN et ZEBE, 1967 ; LANZAVECCHIA, 1968), de certaines Annélides Polychètes (KAWAGUTI et IKEMOTO, 1958 ; BOULIGAND, 1966 ; ROSENBLUTH, 1968 ; DEFRETIN et WISSOCQ, 1969 ; WISSOCQ, 1970), des Hirudinées (PUCCI et AFZELIUS, 1962 ; RÖHLICH, 1962), de la musculature de la Planaire Dugesia (MAC RAE, 1963 ; MORITA, 1965). Les premières observations (HANSON, 1957 ; KAWAGUTI et IKEMOTO, 1958) confirmèrent la nature lisse des fibres hélicoïdales. Les filaments décrits à l'intérieur semblaient en effet avoir une direction parallèle à l'axe de la fibre (Fig. 16). Mais en raison

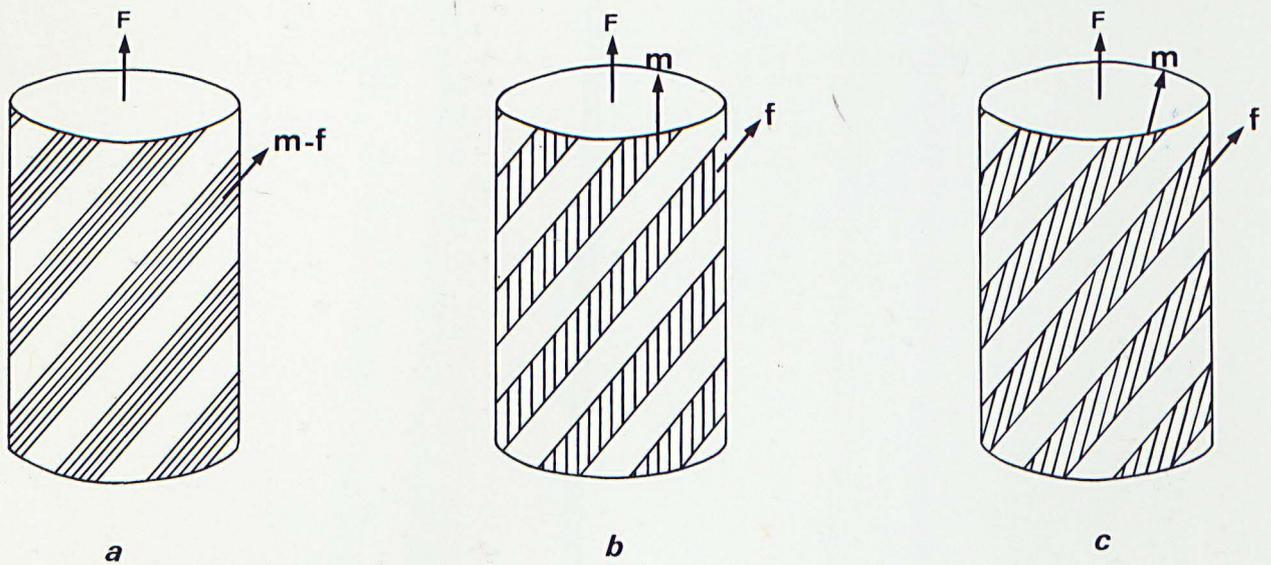


Figure 16 - a : Les fibres sont de type lisse : les filaments sont parallèles à l'axe des fibrilles.
 b : Les fibres sont réellement striées : les filaments sont parallèles à l'axe de la fibre.
 c : Les fibres sont striées, mais les filaments ne sont pas parallèles à l'axe de la fibre, ni à l'axe des fibrilles.
 —→ F, axe de la fibre ; —→ m, axe des myofilaments ;
 —→ f, axe des fibrilles.

de l'amélioration des techniques, il s'avéra par la suite, que les fibres hélicoïdales étaient striées, car les filaments étaient parallèles à l'axe de la fibre et étagés le long des fibrilles ou bandes A (Fig. 16). Les micrographies électroniques de coupes longitudinales bien orientées laissent supposer cette disposition (Pl. 6, fig. b, chez S. amica ; Pl. 13, fig. a, chez N. irrorata).

Toutefois, à la suite de nos calculs portant sur la longueur des filaments d'une part, l'angle d'obliquité d'autre part, si l'on considère que les filaments sont bien parallèles à l'axe de la fibre, il y a une incompatibilité entre les valeurs obtenues. Si la longueur des filaments: 5μ ne peut être mise en doute puisque celle-ci a été calculée directement, il faut soit admettre que l'angle d'obliquité est faux, et les filaments sont parallèles à l'axe, soit admettre que sa valeur est exacte et les filaments doivent être obliques (Fig. 16). On sait que l'angle d'obliquité varie : plus la contraction est forte, plus l'angle est obtus. Il est donc possible que l'angle d'obliquité (Fig. 7) de 6° trouvé chez S. amica et N. irrorata ou N. pelagica, rende compte d'une légère contraction de la fibre. Nous ne le pensons pas pour plusieurs raisons. En premier lieu, il s'agit de la valeur la plus faible rencontrée dans les fibres (12° pour l'angle β compris entre les deux systèmes de fibrilles : Fig. 7). Dans la plupart des cas l'angle d'obliquité s'élève à 10° (soit 20° pour l'angle β). Des sections de ces fibres, en microscopie électronique, ne montrent pas d'image de contraction. Les bandes I sont bien individualisées et ont une largeur normale. Enfin, même si les fibres étaient contractées, avec un angle de 6° , la longueur des filaments serait encore incompatible avec le parallélisme par rapport à la fibre. Le côté AC (Fig. 7) n'atteint guère jamais plus de $0,35 \mu$. Dans ce cas, la longueur d'un filament ne devrait pas excéder : $\frac{0,35}{\text{tg}6^\circ} = 3,3 \mu$. Selon nous, l'angle d'obliquité de 6° rend compte du relâchement, de la longueur de repos (resting length des auteurs anglo-saxons) de la fibre.

Une comparaison entre nos résultats et ceux obtenus par d'autres chercheurs sur des muscles hélicoïdaux, vient renforcer notre hypothèse (tableau 2). Il est bon de préciser que leurs calculs portant sur la longueur des filaments épais et l'angle d'obliquité ont été établis d'après des sections étudiées au microscope électronique. La seule exception est l'observation de l'angle d'obliquité des fibrilles sur fibres isolées de Crassostea et Lumbricus, par HANSON et LOWY (1961) et HANSON (1957). Il existe donc, au départ, un pourcentage d'erreurs assez élevé. Les résultats obtenus chez

TABLEAU 2

Comparaison entre les diverses valeurs obtenues à la fois pour les angles d'obliquité et les longueurs des filaments épais de muscles à double striation oblique appartenant à diverses espèces. Toutes les longueurs de filaments myosiniques, sauf pour Nereis, ont été calculées à partir de micrographies électroniques. H, HANSON ; H et Z, HEUMANN et ZEBE ; L, LANZAVECCHIA.

	Mollusques	Annélides	Oligochètes	Annélides	Polychètes	Nématodes
	<u>Crassostea</u>	<u>Lumbricus</u>	<u>Eisenia</u>	<u>Glycera</u>	<u>N.irrorata</u> , <u>N.pelagica</u>	<u>Ascaris</u>
	HANSON et LOWY (1961)	HANSON (1957) HEUMANN et ZEBE (1967) LANZAVECCHIA (1968)	KAWAGUTI et IKEMOTO (1957)	ROSENBLUTH (1968)	WISSOCQ	ROSENBLUTH (1967)
Angle d'obliquité Fibre relâchée (F. isolée)	10°	10° (H)	10°	-	6°	-
Angle d'obliquité Fibre contractée par ATP (F. isolée)	30°	30° (H)	30°	-	35°	-
Largeur de la bande A. Fibre relâchée	0,3 μ	0,2 μ (H et Z) 0,15 μ (L)	0,2 μ	0,1 μ	0,25 μ	0,45 μ
Largeur de la bande A Fibre contractée	-	0,3 μ (H et Z) 0,4 μ (L)	-	0,25 μ	0,35 μ	1,3 μ
Longueur des filaments myosiniques	3 μ	6 μ (L)	4 μ	3 μ	5 μ	6 μ
Angle calculé (Fibre relâchée)	6°	<2° (L)	3°	2°	3°	4°
Angle calculé de fibres contractées		<4° (L)		5°	4°	12°

diverses espèces sont consignés dans le Tableau 2. Or, les mêmes incompatibilités entre les valeurs de l'angle d'obliquité et de longueur filamentaire apparaissent aussi nettement que dans notre matériel, sauf peut-être pour l'*Ascaris*. Chez *Crassostrea* et *Eisenia*, l'angle d'obliquité, estimé à 10°, devrait être abaissé respectivement à 6° et 3° compte tenu des longueurs de 3 et 4 μ . Il y a tout lieu de penser aussi que la longueur de 3 μ obtenue chez l'huître est certainement inférieure à la normale. Chez le Lombric, il est intéressant de noter que la valeur de la longueur évaluée à 6 μ par LANZAVECCHIA (1968) n'est plus compatible avec l'angle d'obliquité de 10° observé par HANSON sur fibre isolée. LANZAVECCHIA estime donc que l'angle n'est que de 2° (déterminé par le calcul $\text{tg}\alpha = \frac{AC}{AB}$). Mais, dans le cas de la contraction, l'angle passe seulement à la valeur de 4° alors qu'il peut s'élever jusqu'à 30° ! ROSENBLUTH (1968) considère que l'angle d'obliquité de 2° seulement dans les fibres en extension du *Glycere*, passe à 5° dans les fibres contractées. Ses calculs sont basés sur l'examen de filaments mesurant 3 μ , d'après des photographies de coupes longitudinales. Nous pensons que cette longueur est trop faible. Enfin, le même auteur donne, pour l'*Ascaris*, les valeurs d'angle suivantes : 4° et 12° pour des filaments myosiniques mesurant 6 μ . Dans ce dernier cas, les estimations semblent proches de la réalité. On s'aperçoit donc que dans tous les cas examinés, sauf peut-être pour celui de l'*Ascaris*, les auteurs sont obligés de donner des valeurs d'angle d'obliquité très faibles pour que le schéma d'orientation des filaments dans les fibres hélicoïdales soit respecté. Ils se basent en outre sur des longueurs de filaments inférieures vraisemblablement de 1 ou 2 μ à la réalité. Les valeurs d'angle devraient donc encore diminuer. Nous pensons que les filaments ne sont pas parallèles à l'axe de la fibre mais sont quelque peu obliques (Fig. 16 c). On peut estimer qu'ils ont une obliquité de 3° environ s'ils mesurent 5 μ et si l'angle d'obliquité est de 6°.

Quant à l'agencement des filaments de myosine, il n'est pas irrégulier, comme nous le pensions auparavant (WISSOCQ, 1970), mais s'inscrit dans un réseau géométrique de losanges. Jusqu'à présent, aucune observation n'a encore été faite sur cette disposition régulière des filaments dans les fibres à double striation oblique. Nous pensons que l'absence de régularité dans la disposition résulte de la fixation qui bouleverse l'architecture filamentaire. Par contre, le traitement au glycérol la sauvegarderait. Néanmoins, il faut rappeler que toutes les fibres traitées au glycérol ne conservent pas toujours une distribution filamentaire régulière. Nous avons aussi indiqué

que, pour une même fibre, il peut y avoir des différences entre bandes A. Selon PEACHEY (1968), la régularité dans la disposition des filaments correspondrait à une adaptation à de hautes vitesses de contraction. Cet auteur pense toutefois à des muscles présentant une disposition régulière des deux types de filaments, comme les muscles alaires des Insectes. Dans les fibres d'Annélides, les filaments d'actine n'ont pas de répartition hexagonale, mais constituent des orbites autour des filaments de myosine. Le nombre de filaments fins par orbite n'est pas fixe. De plus, on peut distinguer la présence de filaments d'actine en dehors des orbites, à l'intérieur même des bandes A.

En conclusion, d'après nos résultats obtenus chez Nereis, les fibres à double striation oblique renfermeraient des filaments obliques par rapport à leur axe, et par rapport à l'axe des fibrilles. En outre, les filaments épais ne semblent pas irrégulièrement répartis, comme on le pensait jusqu'à présent, mais ont une disposition losangique, tout au moins dans les fibres relâchées.

II - LA CONTRACTION

Nous avons vu que la contraction des fibres hélicoïdales se caractérisait par une augmentation de l'angle inscrit entre les deux systèmes de fibrilles. L'obliquité des tours de spires des fibrilles s'accroît. Cette modification de la valeur angulaire était connue depuis longtemps. ENGELMANN (1881), A. PRENANT (1929) et DEFRETIN (1949) avaient bien observé ce rapport direct entre la pente des fibrilles et l'état de contraction. Ils avaient même considéré que chaque fibre contenait deux couches de fibrilles parallèles à son axe et que les fibrilles s'orientaient obliquement, dans une direction inverse pour chacune des couches, au moment de la contraction. En réalité, les fibrilles ne sont jamais parallèles à l'axe, comme nous avons pu le constater sur fibres isolées.

En microscopie électronique, nous avons distingué plusieurs modifications dans l'agencement du matériel contractile des fibres contractées. Les bandes I disparaissent. Le nombre de sections de filaments myosiniques augmentent dans les intervalles entre les milieux des bandes I, c'est-à-dire dans les sections transversales de sarcomères. Les zones H ne sont plus visibles. L'explication de ces modifications a été fournie à la fois par ROSENBLUTH (1967) chez l'Ascaris et HEUMANN et ZEBE (1967) chez le Lombric. Lors de la contraction d'une fibre hélicoïdale, il y a non seulement déplacement, dans le même plan, des filaments fins (disparition des zones H) mais encore des

Figures 17 et 18 - Schémas d'HEUMANN et ZEBE.

Figure 17 - Schéma de la disposition des éléments contractiles dans une fibre hélicoïdale relâchée (1) et contractée (2)

Lors de la contraction, les filaments fins et épais se déplacent. L'angle d'obliquité des bandes A augmente et les éléments Z et du R.S. se rapprochent les uns des autres.

Figure 18 - Coupes transversales xy dans la fibre relâchée (en 1), dans la fibre contractée (en 2). Dans le schéma n° 2 le nombre de sections de filaments est plus élevé, et l'intervalle entre le milieu des bandes I (largeur du sarcomère) s'est accru.

Figure 19 - Variation de la distance entre les filaments myosiniques suivant l'état de contraction.

a : Filaments d'une fibre relâchée.

b : Filaments d'une fibre hypercontractée : l'intervalle a augmenté.

Figure 17

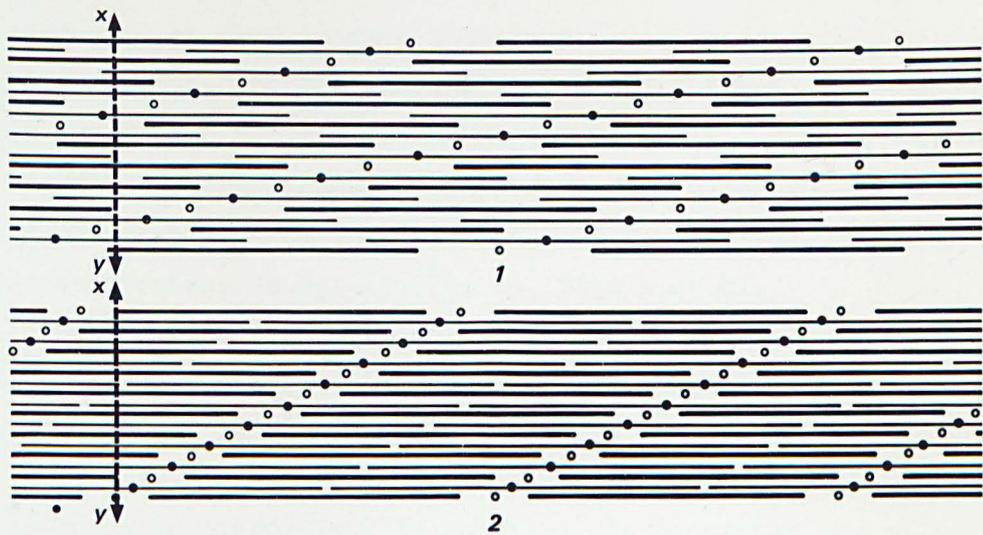


Figure 18

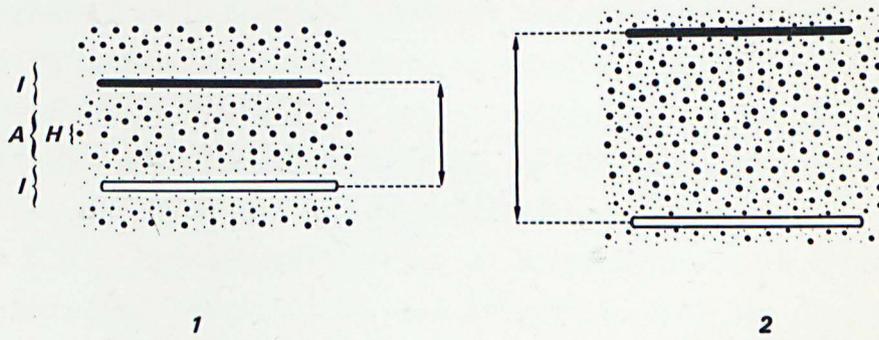
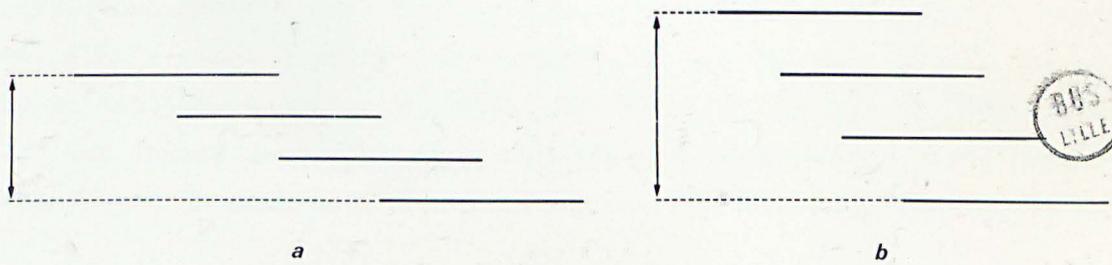


Figure 19



filaments myosiniques (accroissement du nombre des sections de filaments épais dans la coupe transversale d'un sarcomère) (Fig. 17). Comme les filaments épais sont étagés, plus la contraction est forte, plus ils se chevauchent sur une grande longueur, et plus l'angle d'obliquité des faisceaux de filaments augmente. Ce schéma de contraction rend compte des changements d'obliquité des fibrilles sur fibres isolées. Comme nous pouvons le constater sur la figure 17, ce déplacement des filaments provoque aussi le rapprochement des éléments Z et du R.S. C'est bien ce que l'on constate dans les coupes longitudinales de fibres contractées de Nereis (Pl. 19, figs a et b).

Le schéma de contraction proposé par ROSENBLUTH (1967) et HEUMANN et ZEBE (1967) semble donc donner une explication satisfaisante des faits enregistrés. Il est aussi valable dans le cas où les filaments sont légèrement obliques par rapport à l'axe de la fibre. Cependant, il subsiste un point important de discussion. Il est aisé de constater que si les filaments épais se déplacent dans le même plan et restent parallèles entre eux, les intervalles entre les milieux des bandes I (largeur des sarcomères) apparaîtront plus larges, en coupe transversale (Fig. 18). C'est ce qu'a effectivement observé ROSENBLUTH chez l'Ascaris et le Glycère. Dans ce dernier cas, les largeurs de sarcomères passent de 0,2 à 0,3 μ . LANZAVECCHIA (1968) chez le Lombric signale que la distance séparant les axes des bandes I passe de 0,25-0,30 μ à 0,30-0,45 μ dans les fibres contractées (Tableau 2). Cette différence de largeur des sarcomères, en coupe transversale, n'est pas évidente sur les micrographies électroniques. De plus, HEUMANN et ZEBE (1967), chez le Lombric aussi, ne signalent pas de modifications de largeur, qui s'élève toujours à 0,3 μ , quelque soit l'état de contraction de la fibre. Nous avons également toujours enregistré la même intervalle dans les fibres relâchées ou contractées de Nereis. Nous pensons que ce fait mérite d'être élucidé par de nouvelles recherches.

HANSON (1957) a montré que la largeur de la fibre augmentait lors de la contraction par l'ATP. Lorsque l'angle d'obliquité est à 30-35°, nous avons aussi constaté cet accroissement de la largeur de la fibre. Dans ce cas, il faut supposer que les filaments sont plus écartés les uns des autres (Fig. 19). Nous pensons que dans une contraction normale, sur des fibres non isolées, il n'y a pas écartement des filaments les uns par rapport aux autres. Les fibres isolées, soumises à l'ATP, sont en effet des fibres hypercontractées, et des angles de 30-35° entre fibrilles n'apparaissent certainement pas dans des fibres en contraction normale. Quand les fibrilles font entre elles

un angle de 30-35°, on constate d'ailleurs une inversion de striation. Les bandes A deviennent plus claires par rapport aux bandes I. Il est facile de constater que les fibres ^{isolées} acquièrent dans leur ensemble une densité optique plus importante au moment de leur contraction par l'ATP. La striation devient plus difficile à distinguer. Il est nécessaire d'aplatir plus fortement la fibre pour mettre en évidence les stries. Les coupes de ces fibres, en microscopie électronique, nous permettent d'expliquer ce phénomène. D'une part, sur coupes transversales, on observe un grand nombre de sections de filaments au niveau des éléments axiaux (Elements Z et du R.S.) des bandes I (Pl. 20, fig. b). Les filaments viennent buter contre les structures axiales et certains pénètrent un peu dans les sarcomères adjacents (Pl. 20, fig. c). Il y a donc une densité plus forte d'éléments au niveau de l'axe des bandes I. D'autre part, la plupart des filaments épais des bandes A ont tendance à se plier, à s'écarter les uns des autres, car les éléments Z et du R.S. forment obstacle, ce qui a pour effet de diminuer la densité à l'intérieur des bandes A. Comme on peut le constater, de telles images prouvent qu'il y a hypercontraction. L'inversion de striation permet aussi de donner une explication à la variation de largeur des fibrilles. Chez N. irrorata et N. pelagica, au moment de la contraction, la largeur des fibrilles des fibres néridiennes et hétéronéridiennes passe respectivement de 0,40 à 0,25 μ et de 0,35-0,40 à 0,20 μ . La largeur enregistrée dans les fibres contractées est plus faible puisqu'elle correspond à une densification au niveau des bandes I, plus étroites.

Enfin, le fait que la disposition en losanges des filaments épais disparaisse dans les fibres contractées nous semble très intéressant. Ceci prouve que les filaments ne subissent pas seulement des déplacements dans des plans parallèles, mais dans les trois dimensions.

Les phénomènes intervenant au cours de la contraction des fibres hélicoïdales semblent donc très complexes. Il y a déplacement de l'ensemble des filaments. Comme l'ont montré ROSENBLUTH (1967) et HEUMANN et ZEBE (1967), le modèle d'HUXLEY, concernant le glissement des filaments fins par rapport aux épais, peut s'appliquer ici. Les mécanismes entrant en jeu dans la contraction des fibres à double striation oblique ne sont donc pas fondamentalement différents de ceux impliqués dans les fibres striées transversalement. Mais beaucoup d'études biophysiques ou biochimiques sont encore nécessaires pour mieux comprendre la physiologie de ces fibres, de structure très particulière, assez peu répandues dans le règne animal.

III - L'INNERVATION

Sur certaines fibres isolées, on observe la présence, à partir de leur bord externe, d'une série de pédoncules, étroits et de longueur semblable pour une fibre donnée. Nous avons retrouvé, en microscopie électronique, ces prolongements et avons constaté qu'ils se dirigeaient jusqu'à la lame basale, sur laquelle ils s'attachaient par une sorte d'hémidesmosome. Sous la lame conjonctive, au niveau de ces prolongements, se trouvent très souvent des terminaisons nerveuses. Chez N. irrorata, elles renferment deux sortes de grains : les uns de 400 à 500 Å sont à contenu clair, les autres sont denses, avec un bord clair, et ont un diamètre compris entre 1 000 et 1 200 Å. Il ne fait guère de doute qu'il s'agit de terminaisons axonales et de jonctions neuromusculaires, comparables à celles décrites chez N. pelagica par DHAINAUT-COURTOIS et WAREMBOURG (1969). Comme ces auteurs, nous pensons que le contact synaptique se réalise au niveau du conjonctif et non sur le muscle. Nous n'avons en effet jamais trouvé de terminaisons nerveuses parmi les sections de fibres musculaires. Les jonctions se feraient par l'intermédiaire de prolongements musculaires partant du bord externe des fibres. Ces prolongements ne sont pas sans analogie avec ceux de l'Ascaris. Chez ce Nématode, les étroites expansions, provenant de la partie fibrillaire, interne, de la fibre musculaire, rejoignent les nerfs dorsaux et ventraux. Plusieurs prolongements, sans mitochondries, contenant des filaments, entrent^{en} contact avec un axone, au niveau d'une membrane basale de 350 à 500 Å de large (REGGER, 1965 ; ROSENBLUTH, 1965 ; AUBER-THOMAY, 1964). Chez S. amica et N. irrorata, cette membrane intersynaptique, de 450 à 600 Å environ, est du même ordre de grandeur que chez l'Ascaris. Toutefois, une différence importante est à noter : chez Syllis et Nereis, les prolongements partent du bord externe, opposé au noyau, alors que chez l'Ascaris, ils sont issus du bord interne, nucléaire.

Mais, toutes les fibres ne possèdent pas ces prolongements. On peut se demander comment se fait leur innervation. Pour certaines d'entre elles, les plus jeunes, le contact synaptique se ferait directement, puisqu'elles sont situées juste au-dessous de la basale. Par contre, de nombreuses cellules des couches internes, de grande taille, ne possèdent pas de tels prolongements. Il est impossible de savoir, pour le moment, comment est réalisée leur innervation.

Enfin, nous pensions (WISSOCQ, 1970) qu'il y avait disparition des prolongements des fibres de type souche, car nous ne les avons plus retrouvés chez les fibres stoloniales de S. amica. Leur présence chez les fibres hétéronéréidiennes infirme cette première hypothèse et montre qu'il n'y a pas de changements fondamentaux en ce qui concerne l'innervation de la fibre normale ou transformée.

En conclusion, la mise en évidence de jonctions neuromusculaires tout à fait particulières, dans les muscles à double striation oblique de Syllis et Nereis, est d'autant plus intéressante que l'on pouvait vainement rechercher dans les travaux sur ce type de fibres, une description portant sur les jonctions neuromusculaires. L'absence de documents sur ce sujet nous semble être la preuve que l'innervation des fibres hélicoïdales des autres espèces d'Annélides et Mollusques ne se réalise pas au niveau du sarcolemme des fibres, mais par l'intermédiaire de prolongements étroits, au niveau d'une lame conjonctive basale, comme chez les Néréidiens et Syllidiens.

IV - COMPARAISON ENTRE LES FIBRES DE TYPE SOUCHE ET STOLONIALES DE S. AMICA ET N. IRRORATA

Les Syllis immatures, de même que les Nereis atokes, sont relativement lents dans leurs déplacements. Par contre, la stolonisation, comme l'épitoque, les transforment en individus à mouvements très rapides et soutenus. Le stolon ou l'Heteronereis en essaimage est agité de mouvements sinusoïdaux frénétiques et prolongés. La plupart des fibres musculaires à contractions lentes (slow) au départ, ont laissé place à des fibres du type rapide (twitch-fast).

A l'heure actuelle, grâce à de nombreuses études sur la musculature de divers Vertébrés et Invertébrés, on a pu faire des rapprochements entre la structure et la physiologie de la fibre musculaire. Mais il est difficile de dégager des faits suffisamment généraux. Le critère essentiel pour reconnaître une fibre "rapide" d'une "lente" réside-t-il dans le réticulum sarcoplasmique, le système T, les myofilaments, les jonctions myonourales ou l'ensemble? Malgré des études comparatives récentes (PEACHEY et HULLLEY, 1962 ; PAGE, 1965 ; NISHIHARA, 1966 ; COHEN et HESS, 1967 ; FAITRENBACH, 1967 ; HOYLE et McNEILL, 1967 ; JAHROMI et ATWOOD, 1967, 1969 a et b ; REEFER, 1967 ; REEFER et COOPER, 1967) sur ce problème et la mise en évidence d'un certain nombre de faits d'intérêt général, il est impossible de connaître la base morphologique essentielle de la "rapidité" ou de la "lenteur" d'une fibre. Encore faut-il

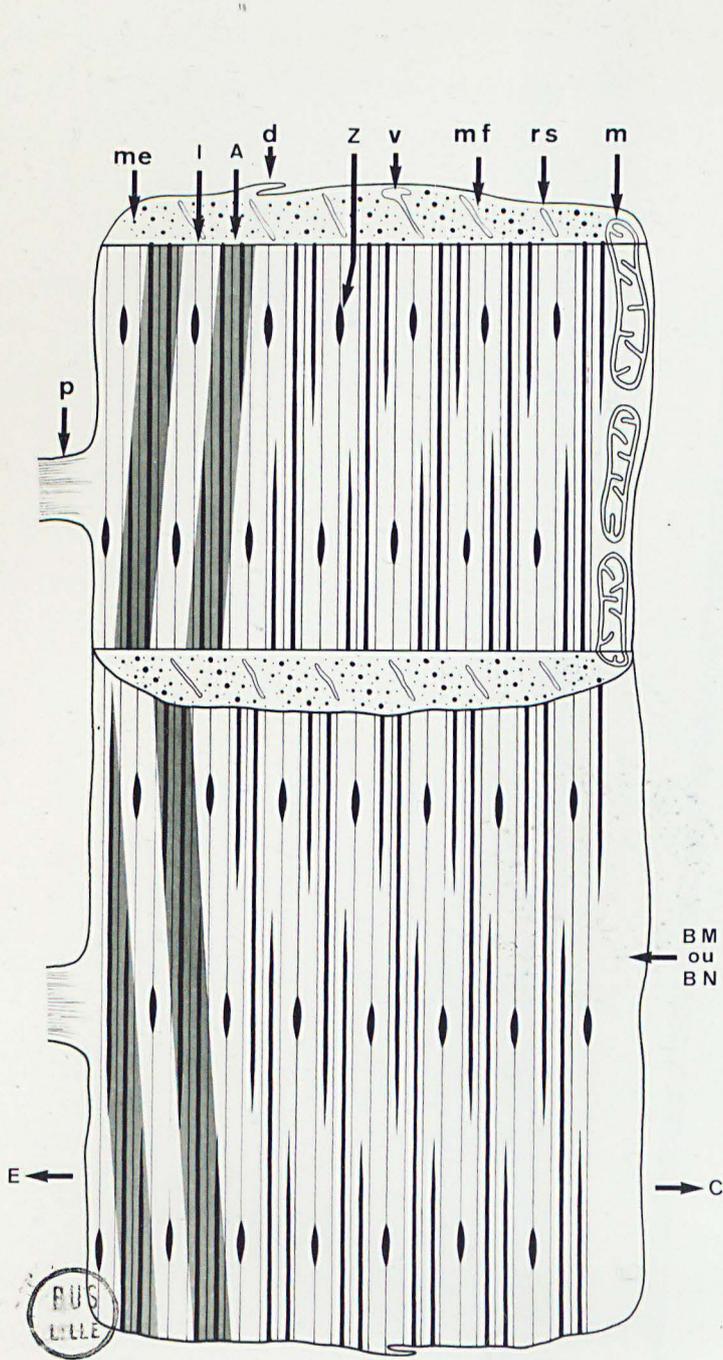


Figure 20 Schéma d'une portion de fibre musculaire du type souche
p, prolongement à tonofilaments; *m* θ , myofibril épais;
mf, myofibril fin; *l*, bande I; *A*, bande A; *d*, évagination
 en doigt de gant; *Z*, élément Z; *v*, vésicule sous-sarco-
 lemme; *rs*, réticulum sarcoplasmique; *m*, alignement
 de mitochondries sur le bord mitochondrial ou nucléaire
 (*BM* ou *BN*), vers le colome (*C*). Le bord opposé est
 dirigé vers l'épiderme (*E*).

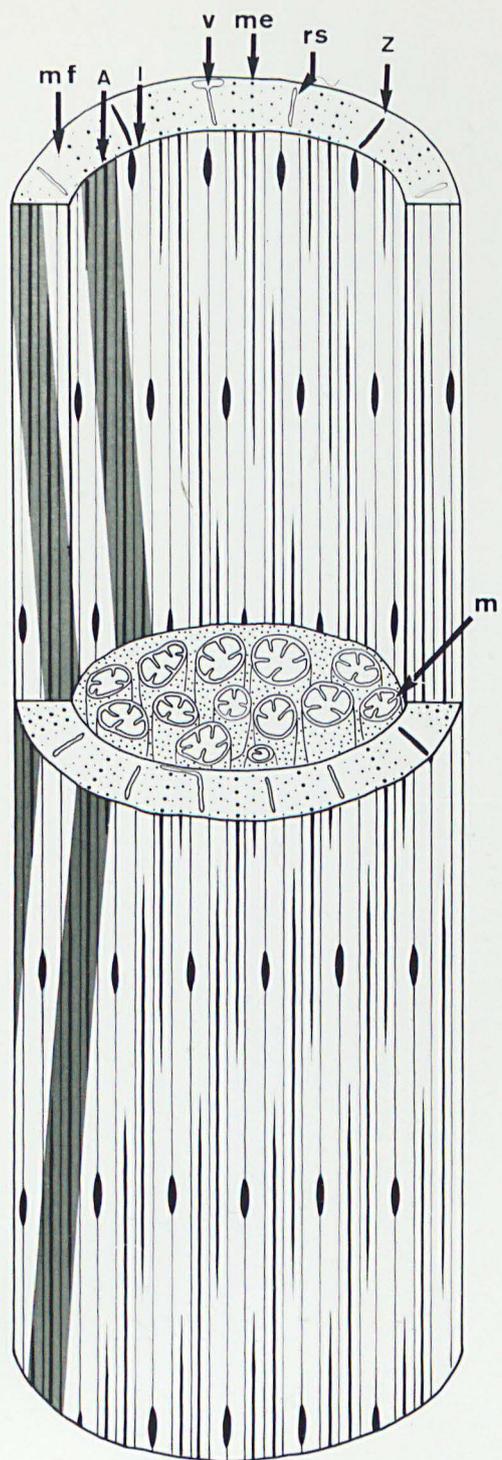


Figure 21 Schéma d'une portion de fibre
 musculaire stoloniale. Mêmes
 remarques et abréviations que
 pour la Figure 20. Le pointillé
 entre les mitochondries axiales
 représente les particules de
 glycogène.

Comparaison entre les fibres musculaires de S. amica et N. irrorata immatures et en reproduction (stolons, Heteronereis).

rappeler, en outre, qu'il existe toute une gradation entre les fibres très toniques, comme les adducteurs de Mollusques, et les fibres à contractions extrêmement rapides, comme les muscles alaires des Insectes.

L'intérêt de notre matériel réside dans le fait que le même muscle passe d'un état "lent" à un état "rapide".

Pour plus de clarté, et avant de reprendre, point par point, chaque organite de la fibre, nous avons consigné dans le Tableau 3 les principales analogies et différences existant entre les cellules musculaires du ver immature et celles du stolon. De même avons-nous représenté deux schémas (Figs 20 et 21) de portion de fibres de type souche et stolonial de S. amica pour faciliter les comparaisons.

1 - Forme et dimensions des fibres

Nous avons vu que la forme générale des fibres ne changeait pas au cours de la stolonisation et de l'épitoque. Toutefois, les dimensions varient très fortement. En général, les fibres stoloniales ou "épitoques" sont beaucoup moins longues et moins larges que les fibres de type souche. Il est d'ailleurs à noter que la longueur des segments stoloniaux et hétéronéréidiens diminue aussi nettement. Nous verrons que la réduction de largeur des fibres est due en partie à de profonds changements de structure de la portion interne, mitochondriale, des fibres.

Enfin, le noyau, souvent axial dans les fibres atiques de N. irrorata, est toujours latéral chez les fibres transformées.

2 - Le matériel contractile

a) La disposition des myofilaments

Nous pensions primitivement que la disposition des filaments était irrégulière, tant chez les muscles de Syllis immatures que chez ceux du stolon (WISSOCQ, 1970). Nos récentes observations, sur les muscles glycerinés de N. irrorata et N. pelagica, nous obligent au contraire à considérer la disposition losangique des filaments comme fondamentale, l'irrégularité provenant des procédés de fixation. Il serait intéressant d'entreprendre des études semblables sur les muscles hélicoïdaux des autres Annélides et Mollusques.

Caractéristiques	<u>S. amica</u>		<u>N. irrorata</u>	
	Fibres de type souche	Fibres stoloniales	Fibres néréidiennes	Fibres hétéronéréidiennes
Longueur moyenne d'une fibre	0,40 mm	0,25 mm	2 mm	1 mm
Largeur moyenne d'une fibre	4 μ	5 μ	22 μ	12 μ
Épaisseur moyenne d'une fibre	1,5 μ	2 μ	2-2,5 μ	2,5 - 3 μ
Épaisseur du matériel contractile	1,5 μ	0,5 μ	2 μ	1 μ
Myofilaments épais Diamètre	300 à 350 Å	200 à 250 Å	280 à 320 Å	220 à 240 Å
Myofilaments épais Diamètre des sous-unités	25 Å	25 Å	25 Å	25 Å
Myofilaments fins Diamètre	70 à 80 Å	70 à 80 Å	70 à 80 Å	70 à 80 Å
Longueur Myofilaments épais	4 μ ?	2 μ ?	5 μ	5 μ
Nombre de filaments fins pour un épais	6 - 7	4 - 5	6 - 7	6 - 7
	Orbites complètes : 10-12	Orbites complètes : 8-10	Orbites complètes : 10-15	Orbites complètes : 10-15
Pourcentage de la fibre occupé par le matériel contractile	95,5 %	50 %	95 %	40-45 %
Pourcentage de la fibre occupé par les mitochondries	0,5 %	47 %	0,5 %	40 %
Mitochondries : Nombre moyen de sections transversales par fibre	1 à 2	20	1 à 3	20
Mitochondries : Diamètre moyen	0,20 μ	0,25 à 0,30 μ (0,8 à 1 μ pour les filaments du stolon sénéscent)	0,30 μ	0,50 μ (1 à 1,2 μ pour les fibres de l' <u>Heteronereis</u> sénéscente)
Noyau	3,5/5 μ	3/4,5 μ	3/8 μ	6/10 μ
Nucléole	1 μ	2 μ	1 μ	2 μ
Appareil de Golgi	-	+	-	+
Glycogène	-	++ particules β	-	++ particules β et surtout α

Cependant, la disposition des filaments fins est irrégulière. Selon PEACHEY (1968), les muscles d'Invertébrés à disposition irrégulière des filaments sont lents, contrairement à ceux dont la disposition hexagonale des filaments épais et fins est régulière, comme les fibres à striation transversale des Chaetognathes, des ailes d'Insectes, et des Vertébrés. Selon cet auteur, la régularité des filaments fins surtout serait une adaptation à de hautes vitesses de contraction.

b) La proportion des filaments fins par rapport aux épais

La plupart des muscles lents d'Invertébrés présentent des orbites de neuf à douze filaments fins autour des épais (proportions 5/1 et 6/1), alors que les muscles alaires des Insectes et les muscles squelettiques de Vertébrés ont des orbites de six filaments fins (proportions 3/1 et 2/1). Chez les Insectes, les fibres viscérales, "lentes", appartiennent à la première catégorie (6/1) (SMITH, GUPTA et SMITH, 1966 ; HAGOPIAN, 1966, 1968), alors que les fibres alaires correspondent à la seconde (HUXLEY et HANSON, 1957, 1960 ; SMITH, 1961 a et b ; SHAFIQ, 1963 a). AUBER (1967) constate que dans les muscles alaires de Diptères ou de Lépidoptères, comme Abraxas, chaque filament primaire est entouré par six secondaires. Mais, dans les muscles alaires d'autres Insectes, comme les papillons Pieris et Vanessa, il y a des orbites de sept à neuf filaments d'actine. Or, la fréquence des battements alaires est, chez ces deux espèces, cinq à six fois moindre que chez d'autres Lépidoptères et vingt fois moindre que chez Calliphora. Chez les Crustacés, les muscles squelettiques, "rapides", ont une proportion de 3/1 (BOULIGAND, 1962, 1964 ; FAHRENBACH, 1963). Certains muscles, comme ceux du pédoncule oculaire (HOYLE et McNEILL, 1968), les muscles viscéraux (JAHROMI et ATWOOD, 1967, 1969) ont une proportion de 6/1 (muscles "lents"). Ceci est également net pour une même espèce de Crustacé (fibre de la patte ambulatoire du crabe : Cancer magister (FAHRENBACH, 1967)).

c) La longueur des filaments myosiniques et des sarcomères

Dans la plupart des cas, la longueur des sarcomères, et, corrélativement celle des filaments myosiniques est beaucoup plus faible dans les muscles "rapides" que dans les muscles "lents". Il apparaît donc que plus un muscle a des propriétés de tonicité élevées, plus la longueur de ses filaments épais est forte, tout au moins chez les Invertébrés. Chez les Vertébrés, il ne semble pas que ce soit le cas général. Par exemple, les sarcomères de muscles de grenouille ont à peu près la même longueur dans les fibres "lentes" et "rapides" (PEACHEY et HUXLEY, 1962).

Chez les Syllidiens, les filaments épais semblent plus courts (2μ) dans les fibres stoloniales que dans les fibres du type souche (4μ). Nous écrivions, dans une publication antérieure (WISSOCQ, 1970) qu'il était nécessaire d'isoler les filaments pour confirmer ou infirmer cette observation. En raison de la faible quantité de cellules musculaires et de la difficulté à isoler les filaments chez les Syllidiens, nous avons entrepris l'isolement à partir de fibres musculaires de N. irrorata et N. pelagica. L'absence de différence de longueur entre les filaments paramyosiniques des fibres "atoques" et hétéronéréidiennes nous laisse supposer qu'il en est de même chez S. amica. Aussi ne semble-t-il plus possible d'invoquer une réduction de longueur des filaments épais et des sarcomères dans l'augmentation de rapidité des contractions des fibres transformées.

d) La diamètre des filaments paramyosiniques

La modification la plus importante concerne la réduction, plus forte chez Syllis ($80-100 \text{ \AA}$) que chez Nereis ($60-80 \text{ \AA}$), du diamètre des filaments primaires dans les fibres stoloniales. Il s'agit bien d'une différence réelle puisque nous avons toujours comparé des muscles fixés par le même fixateur : l'acide osmique ou la glutaraldéhyde après traitement à la glycérine. On sait en effet que le glutaraldéhyde a tendance à accroître la diamètre des filaments de myosine, tandis que le tétr oxyde d'osmium le réduirait quelque peu (HUXLEY, 1964 ; FRANZINI-ARMSTRONG et PORTER, 1964).

En comparant les muscles "rapides" aux muscles "lents" chez les Invertébrés et les Vertébrés, on constate que les filaments primaires des muscles toniques sont plus épais que ceux des muscles "rapides". L'épaississement peut atteindre des valeurs considérables dans certains muscles paramyosiniques : 600 \AA dans la partie translucide, hélicoïdale (HANSON et LOWY, 1961), $1\ 500 \text{ \AA}$ dans la partie opaque lisse (ELLIOTT, 1964) de l'adducteur de l'huître.

Mais il est aussi intéressant de remarquer une différence nette de diamètre dans les deux types de fibres à l'intérieur d'une même espèce. Ainsi, chez le Crabe, les fibres "rapides" du fléchisseur accessoire ont des filaments de 190 \AA de diamètre, alors que les "lentes" ont des filaments de 250 \AA (FAHRENBACH, 1967). Chez les Insectes, la différence est aussi frappante entre les muscles alaires et les muscles viscéraux, beaucoup plus lents (SMITH, 1961 b ; 1962 ; SMITH, GUPTA et SMITH, 1966 ; HAGOPIAN, 1966, 1968 ; REGER et COOPER, 1967). Les muscles du manteau de Loligo, à contractions très rapides,

à mitochondries centrales, comme les muscles du stolon et de l'Heteronereis, ont des filaments épais à diamètre très faible (HANSON et LOWY, 1957). Par contre, chez les Vertébrés, la réduction du diamètre ne semble pas intervenir (PEACHEY et HUXLEY, 1962).

On peut donc supposer qu'il existe un rapport entre l'épaisseur des filaments myosiniques et la tension supportée par ceux-ci. Ainsi, les muscles adducteurs des Mollusques peuvent supporter des tensions jusqu'à 100 fois plus élevées que le sartorius de grenouille par exemple (HANSON, 1966). Or, ces muscles sont parmi ceux qui possèdent les filaments (paramyosiniques) les plus gros : 600-1 500 Å. Comme l'ont suggéré HANSON et LOWY (1961), un tel épaissement les renforce, afin qu'ils puissent supporter l'effet de tension transmis par les nombreux ponts d'actomyosine. Ces ponts sont d'autant plus nombreux que les filaments paramyosiniques sont très longs et entourés d'un nombre élevé de filaments d'actine.

Dans les muscles à paramyosine, la fonction de soutien est dévolue à la tropomyosine A ou tropomyosine insoluble dans l'eau, qui occuperait l'axe du filament, alors que la myosine recouvrirait la surface. La tropomyosine A, à fonction mécanique passive, n'a pas d'activité ATPasique et est incapable de se lier à l'actine (RÜEGG, 1957). Dans les muscles d'Oligochètes, à filaments épais de 300-350 Å de diamètre, ainsi que chez l'Arénicole, il a été trouvé de la tropomyosine A. Elle existe très certainement aussi dans les filaments du type paramyosinique des Nereis ou Syllis. On peut penser qu'elle est présente dans l'axe des filaments. Dans ce cas, l'amincissement des filaments primaires dans le muscle du stolon ou de l'Heteronereis, qui reflèterait un affaiblissement de la tonicité de ce muscle, s'expliquerait par la disparition d'une certaine quantité de protéine axiale, à rôle de soutien, peut-être la tropomyosine A. Cette hypothèse pourrait quelque peu s'appuyer sur l'examen à fort grossissement de sections transversales de filaments épais. Nous avons montré que les filaments épais des fibres "atoques" et "épitoques" semblaient être constitués de sous-unités de 25 Å environ de diamètre (Pl. 13, figs a et b et Pl. 28, fig. a). Certains filaments isolés et colorés négativement laissaient aussi entrevoir la présence de microfilaments de 25 Å de large (Pl. 15, fig. c). Dans certains cas favorables, pour les sections les plus grosses, nous avons pu compter environ 40 à 50 sous-unités dans les filaments des cellules musculaires "atoques" et 30 à 35 dans les filaments des fibres transformées. Ces sous-unités sont donc en nombre inférieur dans les filaments plus étroits des muscles du stolon ou de l'Heteronereis. Il en est

d'ailleurs de même au niveau des extrémités effilées des filaments. Signalons au passage que nous n'avons pas vu de filaments myosiniques tubulaires chez Syllis ou Nereis, à l'inverse de MATTISSON (1969) dans les fibres parapodiales d'Autolytus. Nous pensons que cet aspect tubulaire est un artefact de fixation, car les images obtenues par MATTISSON sont de qualité médiocre. De même, le chiffre de neuf sous-unités, que BACCETTI (1965) a montré à l'aide notamment de la méthode de rotation optique (MARKHAM et col., 1963 ; GACHET et THIERY, 1964) dans les filaments épais de Perinereis cultrifera, semble tout à fait inexact. On sait d'ailleurs qu'il faut utiliser cette méthode avec la plus grande prudence (FRIEDMAN, 1970). Des sous-unités d'environ 25 à 35 Å ^{ont été décrites} dans les myofilaments épais de divers muscles d'Invertébrés (GILEV, 1966 ; ANDERSON et ELLIS, 1967 ; REGER, 1967) et de Vertébrés (Rana pipiens) (SJÖSTRAND et ANDERSON-CEDERGREN, 1957). D'autre part, on sait que la partie filamenteuse (L-meromyosine) de la molécule de myosine a un diamètre d'environ 20 Å (COHEN et HOLMES, 1963 ; LOWEY, KUCERA et HOLTZER, 1963). Il est donc possible que les sous-unités observées dans les filaments épais de Syllis et Nereis correspondent aux molécules de myosine et tropomyosine A. La diminution du nombre de sous-unités dans les filaments épais des fibres stoloniales ou "épitoques" correspondrait peut-être à une réduction de la quantité de molécules de myosine de soutien : la tropomyosine A.

Il ressort de ces comparaisons que la tonicité des muscles semble être une propriété des myofilaments. L'expérience de COSTANTIN, PODOLSKY et TICE (1967) a démontré cette propriété : des fibres "lentes" de grenouille, privées de sarcolemme et plongées dans des solutions de calcium, ont des contractions lentes. De même, JEWELL et RÜEGG (1966), en immergeant dans un milieu approprié contenant du calcium et de l'ATP, des fibres alaires asynchrones de punaise (Hémiptère) ont constaté que celles-ci subissaient des modifications de longueurs oscillatoires et prolongées. Or, le reticulum était détruit.

En conclusion, la stolonisation, comme l'épitoque, permettent d'observer des différences entre fibres d'un même muscle, alors que ces comparaisons portent habituellement sur deux types de muscles de la même espèce ou d'espèces très différentes.

3 - Le réticulum sarcoplasmique

Nous avons souligné précédemment que les muscles d'Annélides en général, de Syllis et Nereis en particulier, ne possédaient pas de système T. La stolonisation, comme l'épitoquie, ne provoque pas l'apparition de ce système T. Mais, l'épaisseur d'une fibre de Syllis et Nereis est faible: 1,5 μ et 2 μ . Par contre, dans les muscles de Vertébrés, les fibres ont entre 10 et 100 μ d'épaisseur, celles des ailes d'Insectes ont entre 100 et 150 μ de large. Les muscles de Crustacés possèdent des fibres de 100 à 500 μ de diamètre. Ces cellules musculaires, dont les fibrilles ont entre 1 et 5 μ de large, possèdent en général un réseau de tubules transverses (système T) très développé, permettant à l'onde de dépolarisation de parvenir rapidement jusqu'aux sites de stockage du calcium : les vésicules du R.S. Dans les fibres d'Insectes ou de Vertébrés, une distance d'1 μ sépare les tubules du système T du centre du matériel fibrillaire (SMITH, GUPTA et SMITH, 1966). Cette distance est presque égale à celle qui sépare le sarcolemme du centre de la fibre musculaire de Syllis et Nereis (épaisseur de la fibre : 1,5 μ en moyenne pour Syllis ; 2 μ chez Nereis) Autrement dit, le système T est représenté par le sarcolemme lui-même, et les vésicules sous-sarcolemmiques avec le sarcolemme sus-jacent sont homologues des dyades. Dans le muscle du stolon et de l'Heteronereis, l'épaisseur du matériel contractile est respectivement de 0,5 μ et 1 μ . Le système T est donc représenté par le sarcolemme qui forme avec les vésicules sous-sarcolemmiques des sortes de dyades. Nous avons également mis en évidence dans l'espace compris entre les vésicules et le sarcolemme un matériel dense parfois condensé en une ligne parallèle et médiane (Pl. 12, fig. c). Or, D.E. KELLY (1969) signale des condensations linéaires de matériel, qui possèdent des propriétés adhésives, dans les espaces intermembranaires des triades de muscles d'Amphibiens. Cet auteur les compare aux densités intermédiaires observées dans les desmosomes. D'autre part, l'espace entre les membranes opposées du tubule T et des citernes du R.S. s'élève à 100-150 Å environ dans les triades (D.E. KELLY, 1969 et WALKER et SCHRODT, 1966). On constate une valeur semblable entre la face externe des vésicules et le sarcolemme chez les Nereis (100 à 150 Å). Il n'y a pas de jonction intime (tight junctions) des membranes comme HOYLE (1965) l'a montré dans les dyades d'Insectes. L'analogie entre l'ensemble vésicule sous-sarcolemmique - sarcolemme et la dyade semble d'autant mieux établie par ces observations.

Dans les fibres du stolon et de la Nereis épitoque, il se forme en outre un certain nombre de saccules du R.S. sur les faces internes des myofibrilles. Ils sont en relation avec les éléments situés au milieu des bandes I et ont vraisemblablement pour rôle de raccourcir la distance de diffusion et de reprise du calcium favorisant ainsi la rapidité de contraction et de relâchement.

Enfin, chez N. irrorata seulement, nous avons observé des paquets de tubules axiaux, à l'intérieur de certaines fibres. Comme nous l'avons déjà indiqué (DEFRETIN et WISSOCQ, 1969), cette prolifération anarchique n'est pas sans rappeler les observations de GORI (1968) sur des muscles de rats hypertrophiés par suite de leur dénervation. S'agit-il, chez les Nereis, de fibres qui auraient perdu leurs connexions nerveuses ? Nous ne pouvons l'affirmer pour le moment. Néanmoins, la formation de paquets de tubules est certainement en relation avec une hypertrophie, quelque peu exceptionnelle, du R.S.

En général, on assiste aussi à un accroissement des éléments du système T et du R.S. dans les muscles à contractions rapides. Le calcium libéré atteindrait les filaments plus vite dans les fibres "rapides", en raison du taux élevé de R.S. par rapport au matériel contractile. Ce serait l'inverse pour les fibres "lentes". Ainsi, chez les Insectes, les muscles alaires (SMITH, 1961 a et b, 1965, 1966) ont un système T et un R.S. plus développés que les muscles viscéraux par exemple (SMITH et Coll., 1966). De même, chez les Crustacés, les fibres distales "rapides" du fléchisseur accessoire du crabe (FAHRENBACH, 1967 ; COHEN et HESS, 1967) ont un R.S. abondant alors que les fibres proximales du même muscle ont un R.S. plus réduit. Récemment, ROSENBLUTH (1969) a décrit un R.S. particulièrement développé dans le muscle synchrone "remoteur" de la seconde antenne du homard. Ce muscle est très rapide car il est responsable de la production de sons à des fréquences de 100 à 130 cycles par secondes. Chez les Vertébrés, le cricothyroïde de Chauve-Souris (REVEL, 1962), à fréquence de contractions extrêmement élevée, présente un développement considérable du R.S.

L'accroissement du R.S. dans les muscles du stolon de Syllis et de l'Heteronereis, dû à l'apparition d'un système interne, serait donc lié aussi à l'augmentation de fréquence des contractions.

4 - Les mitochondries

L'apparition d'un grand nombre de mitochondries dans la medulla de la fibre musculaire du stolon ou de l'Heteronereis est le phénomène le plus frappant. L'abondance du chondriome confère un aspect granuleux à l'axe des fibres du stolon ou de la Nereis épitoque (CLAPAREDE (1870) ; MALAQUIN (1893) ; CHARRIER (1920)). A l'aide de techniques cytologiques spécifiques, DEHORNE (1926) puis DEFRETIN (1949) ont prouvé la nature mitochondriale de ces granulations.

L'augmentation du volume du chondriome n'est pas dû à un accroissement du volume des mitochondries elles-mêmes, mais, au contraire, à une élévation considérable de leur nombre. Le volume de la mitochondrie n'augmente fortement qu'à la fin de la vie du stolon ou de l'Heteronereis, lorsqu'il est proche de la période d'essaimage ou de l'évacuation des produits génitaux. Cette hypertrophie précède donc la dégénérescence de la fibre. Chez la mouche Lucilia, un gonflement des mitochondries a été observé (GREGORY, LENNIE et BIRT, 1968) dans le muscle alaire en début de dégénérescence.

Le développement important du chondriome est lié très vraisemblablement à la capacité que possèdent les muscles du stolon ou de l'Heteronereis de soutenir pendant de longs moments un rythme de contractions élevé. Chez les Céphalopodes, les cellules musculaires, à double striation oblique du manteau, sont très actives. Or, elles ont une structure très semblable à celle des fibres stoloniales ou "épitoques" (HANSON et LOWY, 1957). On trouve également de nombreuses et volumineuses mitochondries, encore appelées sarcosomes, dans les muscles alaires des Insectes. Le rapport du volume mitochondrial/volume du matériel contractile est proche de 1. L'oxygène est consommé en grande quantité par ces muscles, et leurs sarcosomes contiennent des taux élevés de cytochromes. Chez les Vertébrés, les fibres cardiaques, à hautes capacités oxydatives, possèdent de nombreuses mitochondries. Le chondriome des muscles de grenouille est plus abondant dans les fibres "rapides" que dans les "lentes" (PEACHEY et HUXLEY, 1962). Le cricothyroïde de Chauve-Souris (REVEL, 1962) renferme aussi de nombreuses mitochondries. Mais, les fibres rouges de certains poissons contiennent une plus grande quantité de mitochondries que les fibres blanches, plus "rapides" (FRANZINI-ARMSTRONG et PORTER, 1964 ; NAKAJIMA, 1969). En réalité, comme NAKAJIMA (1969) et HENNEMAN et OLSON (1965), nous pensons que l'abondance des mitochondries est en liaison avec un taux élevé de contractions, et non en rapport avec la "rapidité" des fibres.

Enfin, nous n'avons jamais constaté, à l'inverse de MATTISSON (1969) de mitochondries à paroi interrompue du côté des myofilaments. L'observation d'une ouverture dans la paroi mitochondriale résulte très vraisemblablement du plan de coupe, tangentiel par rapport à cet organite.

5 - Le glycogène

Comme les mitochondries, le glycogène, qui était presque inexistant dans la fibre "atoque", devient très abondant dans la fibre "épitoque". L'apparition d'une grande quantité de glycogène avait déjà été mise en évidence chez les Néréidiens épitoques à l'aide de techniques histo-chimiques spécifiques (DEFRETIN, 1949). Nous avons confirmé cette observation chez N. irrorata (DEFRETIN et WISSOCQ, 1969). Chez cette espèce, le glycogène est plus abondant que chez Syllis, et, d'autre part, il se présente sous les formes β et surtout α , en rosettes. Chez Syllis, par contre, le glycogène a l'aspect de granulations de 200 Å de diamètre correspondant aux granules élémentaires ou particules β .

L'abondance du glycogène est souvent corrélative de celle du chondriome (MELLEGREN et MATHISEN, 1966, chez la Myxine ; HENNEMAN et OLSON, 1965 ; GAUTHIER et PADYKULA, 1966, pour certains muscles de Mammifères). Il est facile de comprendre que la grande fréquence de contractions de ces fibres nécessite une réserve élevée d'énergie, représentée par le glycogène. Dans les fibres sénescents du stolon, la rareté des granulations de glycogène suggère d'ailleurs que ce dernier a été utilisé pendant la période d'assaimage, au moment où les mouvements sinusoïdaux du ver sont les plus violents et les plus prolongés.

D'autre part, l'accumulation de glycogène est souvent corrélative d'une différenciation musculaire, par exemple dans les myotubes de Mammifères (COUTEAUX, 1941 ; BOYD, 1960 ; ENGEL, 1961 ; BERGMAN, 1962 ; HEUSON-STIENNON et DROCHMANS, 1967), dans les fibres d'embryons de poulet (ALLEN et PEPE, 1965 ; DESSOUKY et HIBBS, 1965). L'abondance du glycogène semble donc liée à un stade précoce du développement des fibres musculaires, lorsqu'elles sont en différenciation. Or chez S. amica et N. irrorata, nous verrons que lors de la stolonisation ou de l'épitoque, les cellules musculaires retrouvent des caractéristiques embryonnaires.

L'accumulation de glycogène dans les fibres de type épitoque de Syllis ou Nereis serait donc d'abord liée à la différenciation et redifférenciation des fibres et serait nécessaire ensuite pour assumer l'élévation du taux des contractions.

CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE

Contrairement à l'hypothèse généralement admise, il semble que les filaments ne soient pas parallèles à l'axe des fibres, mais légèrement obliques. D'autre part, les filaments paramyosiniques s'inscrivent dans un réseau losangique régulier, qui serait le plus souvent bouleversé par les techniques de fixation. La contraction des fibres "atoques" et "épitoques" se réalise par le déplacement simultané, dans le même plan, des filaments de paramyosine et d'actine. Le modèle de contraction proposé par ROSENBLUTH (1967) et HEUMANN et ZEBE (1967) semble donc général pour les muscles à double striation oblique. La présence de ponts entre les deux types de filaments laisse présager un mécanisme de contraction semblable à celui proposé par HUXLEY pour les muscles striés transversalement. Enfin, nous avons montré que l'innervation se réalisait en des points éloignés des fibres, par l'intermédiaire de prolongements émis par les cellules musculaires. Les nerfs ne s'insèrent pas dans les faisceaux de fibres, mais restent sous la lame basale et les jonctions myoneurales se situent dans des régions sous-épidermiques. Les relations entre fibres et nerfs chez les Nereis et Syllis ne sont pas sans rappeler celles qui existent chez l'Ascaris, dont les muscles sont aussi hélicoïdaux. L'absence d'images de jonctions neuromusculaires dans la plupart des travaux consacrés aux muscles à double striation oblique d'Annélides Polychètes et Achètes, de Mollusques, de Trématodes, plaide en faveur des jonctions du type rencontré chez les Néréidiens et Syllidiens.

L'étude des fibres musculaires de Syllis ou Nereis immatures d'une part, des fibres stoloniales ou hétéronéréidiennes d'autre part nous a permis de mettre en évidence un certain nombre de faits d'importance générale pour la physiologie musculaire. Les résultats obtenus sont d'autant plus intéressants qu'il portent sur un même muscle qui passe d'un état de "lenteur" relative à un état plus "rapide", lors de la sexualisation de l'Annélide.

La fibre hétéronéréidienne ou stoloniale, à matériel contractile moins abondant, se caractérise par la diminution du diamètre des filaments de paramyosine. Cette diminution de la largeur des filaments épais résulterait de la réduction du nombre de leurs sous-unités, correspondant peut-être aux molécules de myosine et de tropomyosine A. Il est donc vraisemblable que la "lenteur" ou la "rapidité" d'une cellule musculaire soit liée à la structure même de ses filaments myosiniques, comme certaines expériences l'ont déjà

suggéré. On assiste d'autre part à une augmentation des structures du R.S. (R.S. interne) dans les fibres transformées. Or, on sait que le R.S. joue un rôle dans la régulation de la vitesse de contraction. Enfin, l'abondance du chondriome et du glycogène permet aux fibres des stolons ou des Heteronereis d'entretenir un rythme de contractions élevé pendant de longues périodes. Ces résultats peuvent être rattachés à de nombreuses autres observations sur divers muscles d'Invertébrés ou de Vertébrés.

DEUXIEME PARTIE

EVOLUTION DE LA MUSCULATURE LONGITUDINALE DORSALE ET
VENTRALE AU COURS DE LA STOLONISATION DE SYLLIS AMICA.
LA DEDIFFERENCIATION ET LA DEGENERESCENCE.



Des processus de dédifférenciation et redifférenciation d'une part, de dégénérescence d'autre part, affectent la musculature longitudinale des Syllis en stolonisation. Les modalités de ces transformations musculaires sont très différentes, aussi nous a-t-il paru préférable de les traiter séparément.

CHAPITRE IV

LA DEDIFFERENCIATION

INTRODUCTION

Nous venons de comparer les deux types de fibres longitudinales de S. amica : les fibres de l'animal immature, les fibres transformées du stolon. Nous avons vu qu'elles présentaient entre elles de profondes différences de dimensions, de structure et de physiologie.

Quelles sont les modalités de cette transformation cellulaire ?

Deux hypothèses peuvent être formulées.

1. Les fibres du stolon sont des fibres entièrement nouvelles provenant d'éléments souches indifférenciés (myoblastes), disséminés dans la musculature.

2. Les fibres stoloniales proviennent des fibres du type souche. Il faut admettre dans ce cas que les anciennes cellules musculaires se sont dédifférenciées, puis redifférenciées en cellules typiques du stolon.

Chez les Néréidiens, plusieurs études histologiques réalisées sur l'évolution de la musculature au cours de l'épitoque (CHARRIER, 1920 ; DEFRETIN, 1949) tendent à démontrer que les fibres hétéronéréidiennes ont pour origine des fibres anciennes dédifférenciées.

Chez les Syllidiens, par contre, aucun travail n'a porté sur ce problème. Seuls, nous-mêmes (WISSOCQ, 1967, 1970 : publication en cours), chez S. amica, avons entrepris une étude approfondie de cette évolution à l'aide de la microscopie électronique.

Cette étude permet de préciser les différentes phases évolutives de la fibre musculaire au cours de la stolonisation, et apporte un certain nombre d'arguments en faveur de la seconde hypothèse, c'est-à-dire celle de la dédifférenciation.

OBSERVATIONS

Les observations ont été faites sur des Syllis en stolonisation naturelle ou expérimentale. Rien ne nous a permis de constater une quelconque différence entre ces deux types de stolonisation pour les deux sexes. Afin de mieux suivre les étapes de l'évolution musculaire, nous avons décomposé la stolonisation en différents stades, faciles à repérer par leurs caractéristiques morphologiques et anatomiques. Nous caractériserons d'abord ces différents stades, puis nous rappellerons la répartition des fibres chez les Syllis immatures, avant de décrire les stades évolutifs des cellules musculaires. Enfin, nous donnerons les résultats relatifs aux injections de leucine tritiée et de "thorotrast" chez S. amica en cours de stolonisation.

I - LES DIFFERENTS STADES MORPHOLOGIQUES DE L'EVOLUTION STOLONIALE DE S. AMICA.

Nous avons fixé des vers à diverses étapes de leur évolution. Pour les caractériser, nous nous sommes basés à la fois sur la forme des néphridies, les gamètes, la tête du stolon. La stolonisation de S. amica se caractérise en effet par la formation d'une tête de stolon sur la partie antéro-dorsale du segment situé devant la zone sexuée. Cette céphalisation a lieu durant le processus de stolonisation, avant le détachement du stolon de la souche (Stolonisation paratomique, DURCHON, 1959). La tête néoformée est du type ioda (MALAQUIN, 1893).

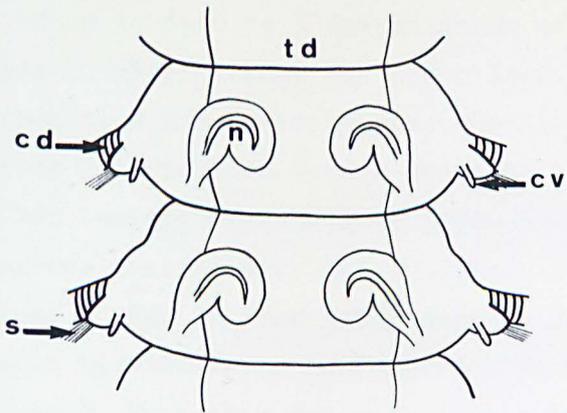
Pour suivre l'évolution des remaniements musculaires, nous avons procédé à des fixations échelonnées dans le temps, en nous basant sur des critères morphologiques. Le choix de ces derniers, utile pour mieux analyser les phénomènes, est évidemment arbitraire. Certains individus, pour un stade donné, montrent en effet une évolution musculaire plus ou moins rapide. Par ailleurs, il existe des différences pour un même individu, suivant le niveau de section : la partie caudale évolue plus rapidement que la zone antérieure du stolon. En conséquence, pour rendre ces résultats homogènes, nous avons prélevé des segments situés à des niveaux semblables (vers les 130^e - 150^e segments).

Les différentes étapes de l'évolution stoloniale, schématisée dans la Fig. 22, peuvent donc être caractérisées comme suit :

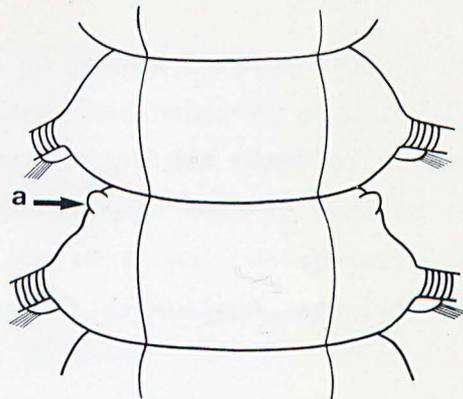
Figure 22 - Schémas des différents stades de l'évolution stoloniale chez

S. Amica.

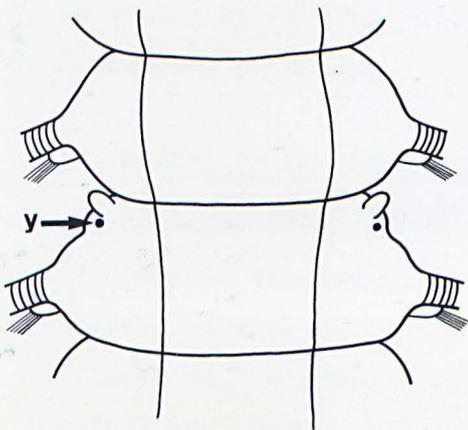
- 1 et 2 : Aspect des néphridies hypertrophiées (n) vues par transparence sur la face ventrale. c.d. et c.v, cirres dorsal et ventral ; s, soies parapodiales ; t.d, tube digestif.
- 3 : Antennes (a) apparues sur le bourrelet céphalique.
- 4 : Formation de la première paire d'yeux antérieurs (y).
- 5 : Apparition des palpes (p) et des yeux postérieurs (y.p).
a, antennes ; y.a, yeux antérieurs.
- 6 : Hypertrophie des yeux.
- 7 : Stolon détaché. Des deux paires d'yeux, une seule est visible (y) dorsalement, l'autre étant passée en position ventrale. a, antennes ; p, palpes.



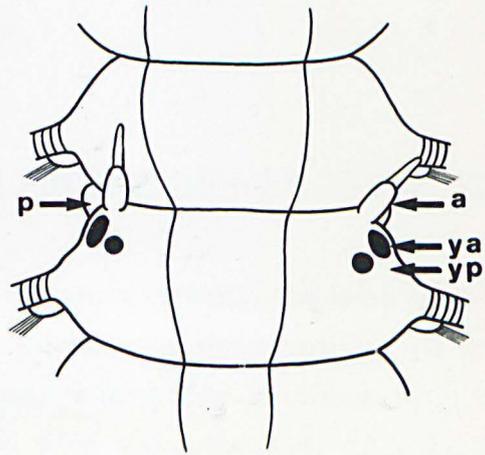
1-2



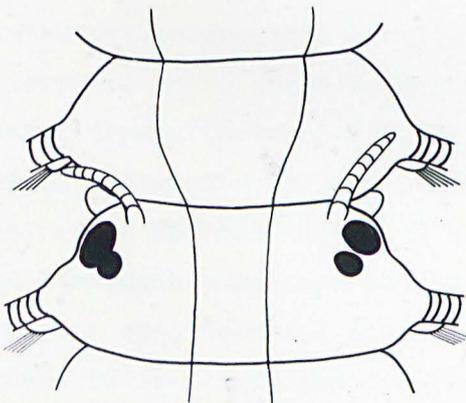
3



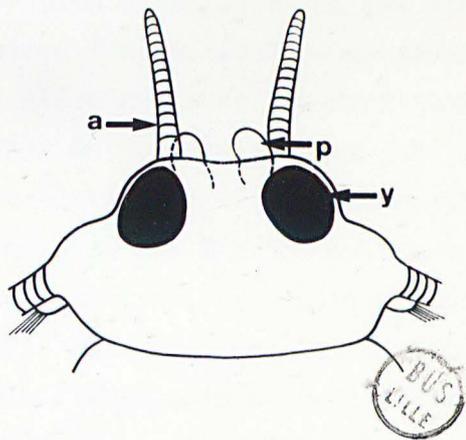
4



5



6



7

- Stade 0 (pour la stolonisation expérimentale uniquement). Période qui s'étend de la date de l'opération au stade 1.
- Stade 1. Hypertrophie des néphridies dans la partie la plus caudale du ver. Apparition des spermatoocytes chez les mâles, des ovocytes chez les femelles.
- Stade 2. Extension vers l'avant de l'hypertrophie des néphridies. Chez les mâles les spermatoocytes et spermatides envahissent tout le coelome des métamères postérieurs. Les ovocytes, chez les femelles, ont augmenté de taille.
- Stade 3. Sur la face antérodorsale du segment céphalique, apparaît un bourrelet tégumentaire. Néof ormation de deux antennes.
- Stade 4. Formation des yeux (une paire antérieure et une paire postérieure) Allongement des antennes.
- Stade 5. Apparition des palpes. Accroissement du diamètre oculaire.
- Stade 6. Apparition des soies natatoires.
- Stade 7. Le stolon se détache de la souche.
- Stade 8. Sénescence du stolon.

II - RAPPEL DE LA REPARTITION DES FIBRES MUSCULAIRES DANS LE SYLLIS IMMATURE ET LE STOLON

Chez le ver immature, dans le muscle dorsal, on peut distinguer environ trois couches de fibres : une couche sous-épidermique, où les sections de fibres sont étroites, une moyenne, à sections beaucoup plus larges, une interne, coelomique, à fibres un peu plus volumineuses. (Pl. I, fig.c). Dans la musculature ventrale, on observe un nombre plus important de strates, mais la plus externe comprend toujours des sections de fibres extrêmement fines (Pl. 1, fig. d).

En outre, les sections de fibres les plus externes n'ont pas toujours une structure comparable à celle des autres fibres. Au lieu de présenter une alternance nette entre bandes A et I, elles montrent des myofilaments disposés assez irrégulièrement (Pl. 37, fig. a). On pourrait penser que la couche externe représente la juxtaposition des extrémités effilées des fibres musculaires, comme DEFRETIN (1949) l'a envisagé pour les Néréidiens, chez lesquels on distingue aussi une couche de fines sections. Cependant, l'observation de noyaux appartenant à ces sections (Pl. 38, figs a et b ; Pl. 40, fig. b) prouve qu'il s'agit non d'extrémités de fibres mais de cellules musculaires de faible largeur. Il est possible qu'elles correspondent à de jeunes éléments destinés à remplacer les cellules plus vieilles des couches profondes.

Chez le stolon, comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, les fibres de type stolonial ne se retrouvent pas dans toutes les zones où il existait des fibres de type souche. En effet, pour le muscle dorsal, les fibres stoloniales sont concentrées en deux bandes latéro-dorsales et, pour la musculature ventrale, elles sont visibles dans l'axe des anciens faisceaux (Fig. 23). Dans les autres régions, les fibres restent du type souche.

III - LES DIFFERENTS STADES EVOLUTIFS

- Stade 0.

Vers la fin de ce stade, l'étude des préparations histologiques révèle parfois l'existence, dans chaque segment, de deux petites masses cellulaires latéro-ventrales, à l'origine des éléments germinaux, qui entourent chacune un vaisseau génital (MALAQUIN, 1893).

En ce qui concerne la musculature, aucune modification n'est décelable, par rapport à celle de l'individu asexué.

- Stade 1. Hypertrophie des néphridies et apparition des produits génitaux.

Des coupes transversales histologiques dans des Syllis de ce stade ne révèlent pas de modifications (Pl. 37, fig. a).

En microscopie électronique cependant, il est possible de déceler certains changements.

Les premières manifestations d'une transformation se situent au sein de deux bandes latérodorsales de l'arceau musculaire dorsal, et dans le ventre des deux faisceaux ventraux, zones où l'on trouve des fibres transformées chez le stolon (Fig. 23). Pour éviter les périphrases, nous désignerons ces zones par le terme de zones ou régions évolutives.

Les premières modifications consistent en l'apparition d'un nombre plus important de mitochondries dans le sarcoplasme du bord interne de la fibre (bord coelomique). Alors que les cellules musculaires de type souche, sur coupes transversales, ne présentent qu'une ou deux sections de mitochondries, d'autres fibres en renferment cinq ou six (Pl. 38, figs a et b). Ces organites cellulaires apparaissent également en plus grande abondance dans le sarcoplasme périnucléaire (Pl. 38, fig. a ; Pl. 39, figs a et b).

Parmi les mitochondries des fibres en début d'évolution apparaissent des granulations β (selon la terminologie de DROCHMANS, 1962) de glycogène, de 120 à 150 Å de diamètre (Pl. 38, fig. b).

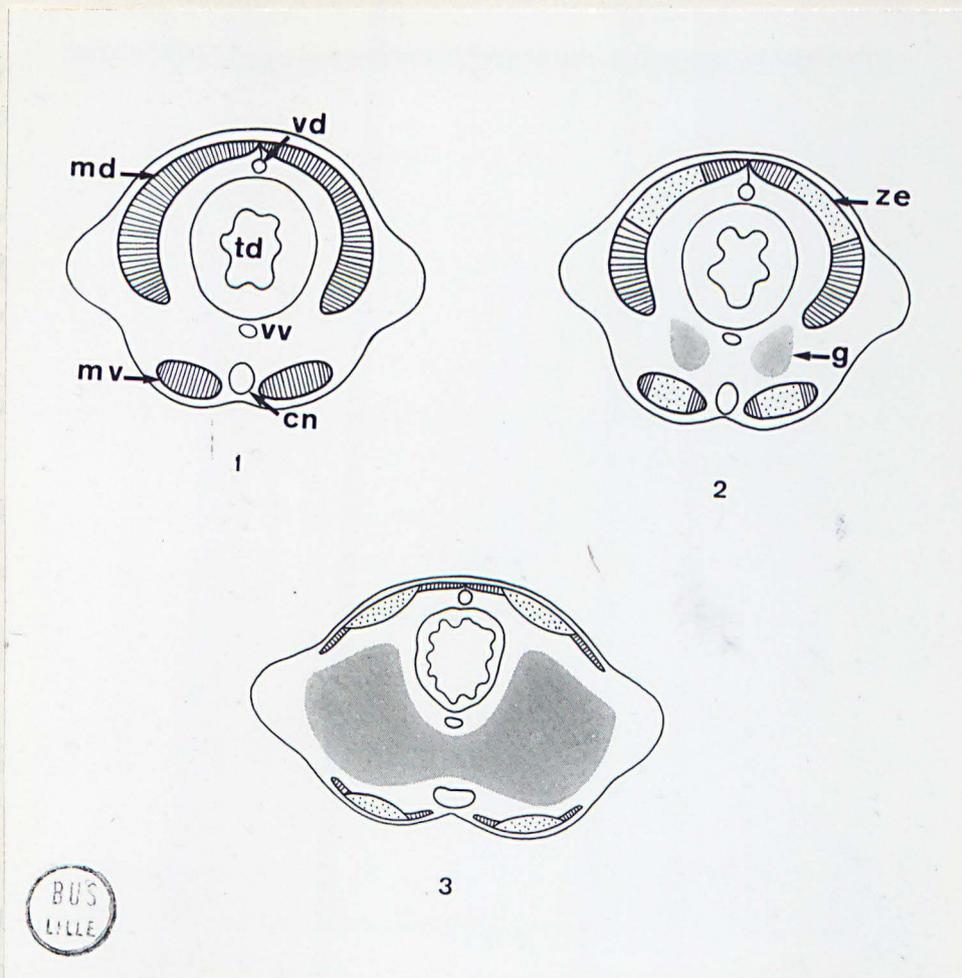


Figure 23 -- Schémas de sections transversales montrant l'emplacement des fibres longitudinales chez *S. amica* au cours de la stolonisation.

- 1 : Musculature longitudinale dorsale (md) et ventrale (mv) de *Syllis* immature. t.d, tube digestif ; c.n, chaîne nerveuse ; v.d, vaisseau dorsal ; v.v, vaisseau ventral.
- 2 : Emplacement des fibres en transformation (en pointillé) dans les zones évolutives (z.e) lors de la stolonisation. g, gamète.
- 3 : Stolon. Les fibres stoloniales sont situées dans les zones pointillées. Il subsiste toujours, mais en nombre réduit, des fibres du type souche (zones hachurées). On remarque la réduction du tube digestif dont les cellules dégèrent, et l'élargissement assez important du coelome rempli de gamètes (g).

Enfin, comme autres manifestations d'une évolution musculaire stoloniale, il faut mentionner l'augmentation de volume du nucléole des noyaux des fibres en transformation (Pl. 39, fig. b) et l'apparition de volumineuses inclusions, de nature vraisemblablement lipidique, dans le sarcoplasme périnucléaire (Pl. 39, fig. b) ou dans l'axe de certaines fibres.

Quant au matériel contractile des cellules en évolution, il ne semble pas modifié.

Les premiers signes de la transformation musculaire sont donc caractérisés par la multiplication des mitochondries, l'apparition des particules β de glycogène et d'inclusions de nature lipidique, et l'augmentation de volume du nucléole à l'intérieur d'un nombre restreint de fibres.

Mais il est important de souligner que les cellules en début d'évolution sont presque toujours situées dans la couche externe, sous-épidermique (Pl. 38, figs a et b).

- Stade 2. Croissance des gonades \leftrightarrow

- Stade 3. Formation du bourrelet céphalique et des antennes.

En microscopie optique, on distingue, dans la couche externe des faisceaux musculaires ventraux et dorsaux, quelques cellules dont l'axe est granuleux et généralement plus sombre après coloration au bleu de toluidine sur coupes semi-fines (Pl. 34, figs d et e).

Au sein de la couche externe on assiste en effet, d'une part à l'apparition d'un plus grand nombre de cellules en début de transformation, d'autre part à l'accentuation des phénomènes de multiplication mitochondriale à l'intérieur de certaines fibres.

Quelques fibres de la couche externe présentent, en microscopie électronique, un bord interne envahi par de nombreuses mitochondries (Pl. 40, fig. a). On remarque que la partie contractile de deux fibres à nombreuses mitochondries ne montre pas une alternance nette entre bandes A et I (Pl. 40, fig. a). Mais, cette caractéristique se retrouve dans certaines sections étroites de fibres du type souche, dans la couche externe (Pl. 40, fig. a). Dans la plupart des cas, les mitochondries se développent le long du bord interne, coelomique, mais aussi dans le sarcoplasme périnucléaire (Pl. 38, fig. a). Cependant, certaines fibres ont une ou deux mitochondries dans l'axe même du matériel contractile (Pl. 40, fig. b ; Pl. 41, fig. b).

Dans certains cas, on observe un long pédoncule entre le sarcoplasme à mitochondries et la portion contractile peu développée, située dans l'assise externe (Pl. 41, fig. a). Nous pensons qu'il s'agit du sarcoplasme périnucléaire (le noyau n'étant pas intéressé par le plan de coupe) d'une

cellule pédonculée, comme celles que nous avons décrites précédemment chez les Syllis immatures. Nous en avons conclu que ces cellules étaient très jeunes. Cependant il peut exister des fibres jeunes dont le sarcoplasme périnucléaire est accolé aux myofilaments, comme en témoigne la figure b de la planche 41. Les faibles dimensions en largeur et en épaisseur de cette cellule, de même que sa position (au sein de la couche externe) plaident en faveur de sa relative jeunesse.

Parmi les mitochondries, on relève toujours la présence de nombreuses particules β de glycogène (Pl. 40, figs a et b). Afin de confirmer la nature glycogénique de ces particules et de les différencier des ribosomes, nous avons utilisé la technique de SELIGMAN et col. (1965) modifiée par THIERY (1967). Nous avons donc pu non seulement mettre en évidence de nombreuses granulations β dans le sarcoplasme du bord interne, mitochondrial (Pl. 42, figs a et b) mais encore distinguer des plages de particules β réparties sur le pourtour et sous le sarcolemme de fibres apparemment normales (Pl. 42, fig. a). Enfin, le plus souvent dans le sarcoplasme périnucléaire, les granulations de glycogène apparaissent étroitement mêlées aux ribosomes (Pl. 42, fig. c). Mais, en général, les ribosomes sont peu nombreux et ne semblent exister que dans la région périnucléaire. Dans le sarcoplasme du bord coelomique et dans l'axe ou sous le sarcolemme des fibres, on ne décèle que des particules β de glycogène à des stades très précoces. Il nous semble intéressant de noter que les particules β de glycogène, de 120 à 150 Å, mises en évidence par la technique de SELIGMAN-THIERY, apparaissent formées par un certain nombre de sous-unités de 30 Å de diamètre, relativement denses, au sein d'une trame beaucoup plus pâle (Pl. 42, figs b et c).

Les noyaux des fibres en évolution contiennent le plus souvent un volumineux nucléole (Pl. 37, figs b et c ; Pl. 43, figs a et b). Sur coupes longitudinales, en microscopie photonique, il n'est pas rare de rencontrer, souvent vers le coelome, des séries de deux ou plusieurs noyaux à nucléole volumineux (Pl. 37, figs b et c), noyaux appartenant vraisemblablement à des fibres en évolution. En microscopie électronique, il est aussi fréquent de distinguer, sur coupes longitudinales, des rangées de noyaux appartenant à des cellules musculaires distinctes (Pl. 43, fig. a) ou, sur coupes transversales, deux fibres voisines dont les noyaux sont situés dans le même plan (Pl. 43, fig. b). Il est à souligner que nous n'avons jamais fait d'observations similaires dans la musculature de Syllis immatures. Il est donc permis de penser que des mitoses aient pu se réaliser.

Il convient enfin de remarquer que nous n'avons pas retrouvé des figures d'aspect myélinique, ni certains aspects de fibres différenciées décrits antérieurement (WISSOCQ, 1967) chez des Syllis en cours de stolonisation et fixés au glutaraldéhyde. Comme nous l'avons d'ailleurs indiqué (Matériel et méthodes) ce fixateur provoque des artefacts (figures myéliniques) et des dilatations assez considérables dans la musculature de S. amica, aussi n'avons-nous plus tenu compte de ces résultats antérieurs.

En conclusion, cette étape évolutive se caractérise par une accentuation des phénomènes observés dans la précédente. Si la plupart des cellules en cours d'évolution sont encore situées dans l'assise externe, certaines peuvent néanmoins se rencontrer dans la couche moyenne (Pl. 40, fig. a).

- Stade 4. Formation des yeux.

Le nombre de mitochondries s'accroît dans des proportions très importantes. En outre la quantité des fibres en transformation s'élève considérablement.

Des coupes histologiques transversales permettent de montrer, dans les zones évolutives dorsales ou ventrales, un nombre accru de cellules transformées, à médulla sombre et à cortex mince et moins coloré (Pl. 37, figs f et g). Ces cellules ne sont plus limitées à la couche externe, mais se rencontrent aussi dans les strates les plus internes.

De nombreuses sections de fibres présentent des mitochondries non seulement sur le bord interne, mais encore dans la zone centrale (Pl. 44). Les mitochondries ont toujours le même diamètre moyen que dans le muscle normal. Cependant elles sont vraisemblablement plus longues et plus ou moins ramifiées, si l'on en juge par les nombreuses sections tangentielles sur coupes transversales (Pl. 44).

En coupe transversale, de nombreuses fibres ont une très grande largeur au niveau de leur sarcoplasme périnucléaire (Pl. 41). Le nombre de sections de mitochondries est très élevé et les myofilaments ne sont visibles que dans une portion relativement faible située dans la couche externe. Il est très vraisemblable que ces fibres, à zone contractile peu développée, proviennent de cellules semblables à celles décrites dans la figure a de la planche 38, dont l'étroit pédoncule aurait été progressivement envahi par les mitochondries.

Mais, en dehors de la région périnucléaire, comment peut-on expliquer la présence de mitochondries centrales entourées de tous côtés par les

myofibrilles (Pl. 44) ? Les mitochondries axiales proviendraient de la région de prolifération primitive, située dans le sarcoplasme du bord coelomique interne de la fibre (Pl. 45, fig. a). A partir de cette zone, le chondriome pénétrerait à l'intérieur du matériel fibrillaire (Pl. 45, fig. b). L'envahissement se ferait principalement dans l'axe de la fibre, dans la zone de séparation entre les deux couches de bandes A et I. Il n'est pas exclu qu'une dégénérescence et une disparition des filaments les plus proches des faces internes se réalisent. Au départ, la pénétration mitochondriale dans l'axe de la fibre se ferait d'une manière assez irrégulière, comme en témoignent les figures b de la planche 45 et a de la planche 46, où l'on voit des mitochondries non seulement dans l'axe, mais encore à la périphérie des fibres. Toutefois, il est assez étonnant de constater que les myofibrilles ne semblent pas désorganisées. Ensuite, les mitochondries se concentrent dans l'axe de la fibre, entre les deux couches de fibrilles qui s'écartent l'une de l'autre (Pl. 46, fig. a). Les myofilaments myosiniques de ces fibres ont un diamètre compris entre 300 et 350 Å et sont donc du type souche (Pl. 45, fig. b et Pl. 46, fig. a).

Le glycogène continue à s'accumuler dans les espaces intermitochondriaux (Pl. 44).

Au cours de ce stade, on assiste donc à l'évolution d'un nombre de plus en plus élevé de fibres musculaires. Les cellules en transformation ne sont plus seulement localisées dans la couche externe, mais aussi dans les couches internes. Corrélativement, la proportion des fibres du type souche diminue fortement dans les zones évolutives. Les mitochondries envahissent l'axe des cellules et les myofilaments épais périphériques sont encore de largeur normale.

- Stade 5. Apparition des palpes et accroissement des yeux.

L'aspect général est très semblable à ce que l'on trouve dans le stolon. Un grand nombre de fibres transformées et quelques rares fibres du type souche constituent les régions évolutives. Les cellules transformées présentent une médulla à mitochondries, un cortex contractile, dont les myofilaments épais ont un diamètre plus faible que ceux des fibres du type souche (Pl. 46, figs b et c ; Pl. 47, figs a et b). Ce diamètre oscille entre 220 et 250 Å pour les sections les plus larges, au milieu des bandes A. Une largeur de 200 à 250 Å avait été calculée pour les myofilaments primaires des muscles du stolon (chapitre II).

Parfois, mais très rarement, nous avons rencontré des fibres dont l'axe était occupé par des mitochondries, mais dont la périphérie présentait des filaments épais non organisés, ne permettant pas de distinguer les bandes A et I (Pl. 47, fig. a). Dans ce cas là, le reticulum sarcoplasmique et les éléments Z apparaissent moins développés. Ces cellules musculaires montrent sans doute un remaniement à l'intérieur de leur matériel contractile. Leurs filaments épais ont un diamètre semblable à celui des cellules stoloniales, puisqu'il s'élève à 220-250 Å. D'autres cellules, restées normales, ont des filaments myosiniques de 300-320 Å de diamètre (Pl. 47, fig. a).

De nombreuses particules β de glycogène entourent les mitochondries (Pl. 47, figs a et b).

Dans la région périnucléaire, la densité mitochondriale est encore plus élevée que précédemment. On y rencontre aussi des dictyosomes (Pl. 48). Le noyau renferme un gros nucléole (Pl. 48).

En résumé, on peut affirmer que l'essentiel des transformations est réalisé à ce stade, caractérisé surtout par la présence des filaments épais d'un diamètre inférieur à celui des filaments de la fibre du type souche.

- Stade 6. Apparition des soies natatoires.

La mise en place des fibres stoloniales est pratiquement terminée. Les aspects sont comparables à ceux décrits dans le stolon détaché (chapitre II).

Les zones évolutives, en microscopie photonique, apparaissent donc uniquement formées par des cellules stoloniales (Pl. 37, figs h et i). Les bords latéraux des faisceaux musculaires longitudinaux renferment des cellules du type souche (Pl. 37, fig. h)(Fig. 23).

Des inclusions de nature probablement lipidique, similaires à celles trouvées dans quelques fibres des stades précédents (Pl. 39, fig. a) se rencontrent parfois dans la médulla des fibres stoloniales, parmi les mitochondries et les particules de glycogène (Pl. 49, figs b et c). Des inclusions de même aspect peuvent aussi se trouver dans des fibres du type souche, au début de la stolonisation (Pl. 49, fig. a).

Le glycogène, toujours sous forme de particules β de 120 à 150 Å de diamètre, est abondant dans les espaces intermitochondriaux de l'axe des fibres stoloniales (Pl. 50, fig. a). Les particules β sont extrêmement rares parmi les filaments, mais s'accumulent en certains points, sous le sarcolemme (Pl. 50, fig. a). Dans les régions périnucléaires, l'accumulation est importante et contraste nettement avec celle des fibres du type souche (Pl. 50,

fig. b). Néanmoins, il est à remarquer que l'on rencontre une certaine quantité de particules β dans des fibres du type souche de stolon, alors que l'on n'en observe pas dans les fibres d'un Syllis immature. Tout se passe comme si la légère accumulation de glycogène, dans les fibres restées "atoques", résultait d'un début d'évolution ou peut-être aussi d'une modification du métabolisme imposée par les conditions hormonales. A fort grossissement, les particules β se montrent constituées d'un certain nombre de sous-unités de 30 Å environ, après utilisation de la technique de SELIGMAN-THIERY (Pl. 50, fig. c).

- Stade 8. Stolon dégénèrescent

L'aspect des fibres a été décrit dans le premier chapitre. Nous n'envisagerons que le glycogène dont nous avons essayé de suivre l'évolution, en utilisant la technique de SELIGMAN-THIERY. Selon les fibres, le glycogène est en plus ou moins grande quantité. Des cellules renferment encore beaucoup de glycogène (Pl. 51, fig. a). Les particules β , constituées de nombreuses sous-unités, sont très denses et sont comparables à celles des stades précédents (Pl. 51, fig. b). D'autres fibres ne contiennent plus beaucoup de glycogène (Pl. 51, fig. c). Les particules β sont constituées de sous-unités moins nombreuses, qui laissent apparaître une sorte de trame sous-jacente, non colorée (Pl. 51, fig. d). Cet aspect n'est pas sans rappeler celui observé dans les fibres en début d'évolution. D'autres particules ne correspondent plus qu'à la trame non colorée et ressemblent à des ribosomes (Pl. 50, fig. d). Il est possible que ces divers aspects représentent la dégradation des particules de glycogène.

IV - INCORPORATION DE LEUCINE TRITIÉE

Nous avons réalisé une série d'injections de leucine tritiée chez des S. amica en stolonisation, afin de savoir si les résultats corroborent ceux obtenus en microscopie électronique, c'est-à-dire si les premières manifestations de l'évolution musculaire se déroulent dans la couche externe sous-épidermique.

Nous avons utilisé des S. amica opérés depuis 10 jours environ, à la fin du stade 0, et des vers aux stades 1, 2, 3 et 4. L'injection, de 4 à 5 μ l. (voir le chapitre matériel et méthodes) a été faite dans la cavité coelomique d'une dizaine de métamères, à l'aide d'une microsiringue Hamilton. La fixation a été faite 2 à 3 jours après l'injection.

Les coupes transversales de Syllis des stades 1 et 2 révèlent un marquage, d'une part dans les zones évolutives seulement, d'autre part uniquement au niveau de la couche externe des faisceaux longitudinaux (Pl. 52, figs a et b). Ensuite, pour les stades 3 et 4, le marquage s'étend aux couches les plus internes, à la fois dans les muscles ventraux et dorsaux (Pl. 52, figs c et d).

V - INJECTION DE "THOROTRAST"

Nous venons de décrire les faits essentiels de l'évolution musculaire au cours de la stolonisation de S. amica. Nous avons vu en particulier que tous les stades évolutifs se déroulaient au sein même des fibres musculaires. Cependant, il est permis de se demander si les cellules de l'épithélium coelomique, qui recouvrent la musculature longitudinale, peuvent jouer un rôle dans la transformation musculaire.

Nous avons donc essayé d'éliminer les cellules mésodermiques pariéto-pleurales, ou tout au moins de les marquer spécifiquement. La méthode la plus intéressante nous a semblé être l'injection de "thorotrast" dans la cavité coelomique des Syllis (matériel et méthodes). BOILLY, dans une étude sur la régénération de S. amica (1969), a en effet montré que les cellules péritonéales incorporaient une grande quantité de thorium, alors que les fibres musculaires n'en contenaient pas. Les cellules mésodermiques ayant une surcharge en thorium trop importante ne sont plus capables de participer à la régénération. La différenciation, la croissance et la métamérisation du régénérat sont alors inhibées.

Les Syllis, que nous avons utilisés, avaient été pour la plupart opérés depuis 10 jours environ (début du stade 1). Les fixations ont été échelonnées dans le temps. Nous avons fait l'injection du "thorotrast" pur dans une dizaine de segments postérieurs destinés à subir une transformation (voir le chapitre matériel et méthodes). Dans le cas où l'injection a été bien réussie, nous avons constaté un blocage de l'évolution germinale et des néphridies. Les segments ayant subi l'injection apparaissent de type immature, alors que les métamères antérieurs et postérieurs à la région injectée s'élargissent, se remplissent de produits génitaux, présentent des néphridies hypertrophiées (Pl. 53, fig. a). Des sections de segments soumis à l'action du "thorotrast" montrent à l'intérieur de la cavité coelomique des groupes de cellules, remplies de particules de thorium. Ces cellules correspondent aux

éléments germinaux en dégénérescence. Elles contiennent une ou deux vacuoles volumineuses, pleines de particules de thorium, et de nombreuses vacuoles, plus petites (Pl. 53, fig. b). Ces dernières fusionnent vraisemblablement pour donner naissance aux énormes amas particuliers, comme le pense BOILLY (1969). En outre, de nombreuses petites vésicules se rencontrent dans le cytoplasme, près des vacuoles à thorium (Pl. 54, fig. a). Les cellules germinales en division absorbent donc des quantités importantes de "thorotrast" et sont bloquées dans leur évolution.

Au niveau de l'épithélium coelomique, l'aspect des cellules est tout à fait comparable. Le cytoplasme est rempli de vacuoles contenant du thorium, dont certaines sont très volumineuses (Pl. 54, fig. b). On observe dans le cytoplasme des inclusions particulières, de nombreuses petites vésicules, des figures d'aspect myélinique. Le métabolisme de ces cellules est complètement perturbé. Par contre, les cellules musculaires du type souche n'en contiennent pas (Pl. 54, fig. b). Il n'est pas surprenant de rencontrer de tels amas de thorium à l'intérieur des cellules somatopleurales, car elles ont un rôle phagocytaire important, notamment vis à vis des sarcolytes, comme nous le verrons ultérieurement. Dans les zones évolutives, la grande majorité des fibres en transformation ne renferment pas de thorium. Seules quelques rares cellules musculaires contiennent une ou deux petites vacuoles à thorium (Pl. 55, figs a et b). Par ailleurs, dans tous les cas, le "thorotrast" n'a pas empêché la poursuite de l'évolution musculaire, à l'inverse des cellules germinales.

DISCUSSION

Nous avons indiqué dans l'introduction que deux hypothèses s'offraient à l'esprit pour expliquer le passage d'une musculature de type souche à une musculature stoloniale. A la lumière de nos observations, nous envisagerons l'une et l'autre de ces hypothèses.

A - HYPOTHESE DE LA FORMATION DE NOVO DES FIBRES STOLONIALES

D'après l'ensemble des résultats exposés, peu d'arguments plaident en faveur de cette hypothèse. En effet, il faudrait concevoir la présence dans la musculature d'éléments souche, indifférenciés, correspondant à des myoblastes, capables, lors de la maturation génitale, d'évoluer directement en fibres stoniales typiques. Or, dans tous les vers immatures observés, nous n'avons jamais rencontré de tels éléments indifférenciés. L'ensemble de la musculature n'est constitué que par des fibres musculaires.

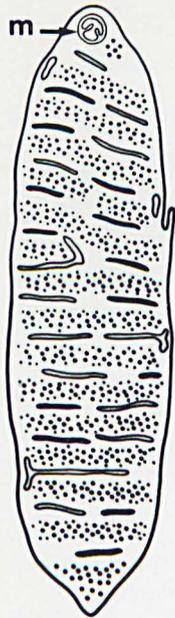
On pourrait toutefois envisager la formation des myoblastes seulement au début de la stolonisation. Ceux-ci se formeraient, soit en certains points de la musculature et constitueraient des foyers de prolifération de cellules stoniales, soit dans des régions non musculaires à partir desquelles ils migreraient et envahiraient les muscles primitifs. Mais, nous n'avons jamais trouvé de myoblastes parmi les fibres de Syllis en début de stolonisation. La migration de ces éléments est encore plus hypothétique car le coelome des Syllis ne contient pas de cellules libres, à l'inverse des Néréidiens. On observe seulement, dans le coelome de S. amica en début d'évolution, deux massifs cellulaires du côté ventral, à l'origine des cellules sexuelles.

On pourrait également penser à un rôle possible des cellules mésodermiques pariétopleurales, qui tapissent le bord interne des muscles longitudinaux. Ces cellules, décrites par BOILLY (1968), envoient de nombreuses et longues ramifications qui s'insinuent entre les fibres musculaires jusqu'à la membrane basale. Ces ramifications ne peuvent être confondues avec le pédoncule décrit dans certaines fibres, car leur cytoplasme apparaît clair, peu dense aux électrons, et n'est jamais en relation avec une portion contractile, située contre la basale. En outre, le cytoplasme périnucléaire de ces cellules est différent de celui de la fibre musculaire pédonculée, car il contient de nombreuses inclusions diverses, de nature vacuolaire au lysosomique. Au début des processus de stolonisation, il faudrait également admettre

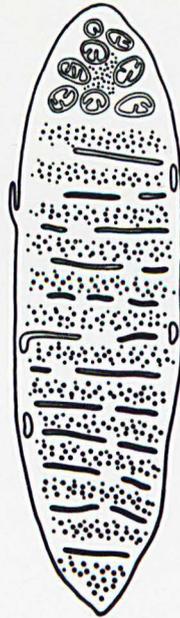
Figure 24 - Différentes phases schématisées, de l'évolution d'une fibre musculaire de type souche en fibre stoloniale.

- 1 : Fibre de type souche typique. m, mitochondrie.
- 2 : Fibre au début de son évolution. Multiplication des mitochondries et apparition de glycogène dans le sarco-
plasma de son bord coelomique.
- 3 : Prolifération mitochondriale vers le centre de la fibre.
Le matériel contractile est encore du type primitif.
g, glycogène.
- 4 : Fibre du stolon. Les mitochondries et le glycogène occu-
pent l'axe, tandis que les myofilaments sont situés à
la périphérie. Les myofilaments primaires ont un diamè-
tre de 200 à 250 Å, inférieur de près de 100 Å à celui
des filaments appartenant aux fibres de type souche.
- 5 : Fibre du stolon sénescant. Les mitochondries subissent
un gonflement important.





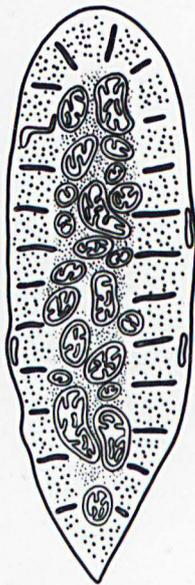
1



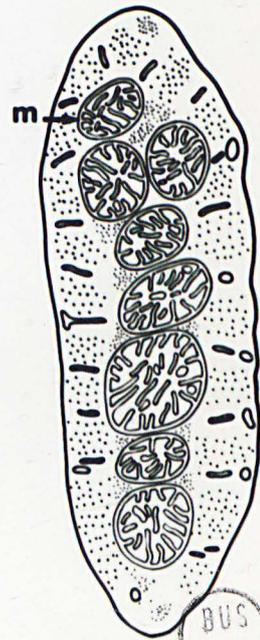
2



3



4



5

BUS
ELLE

une certaine prolifération des éléments de la somatopleure au niveau des zones évolutives. Or, il n'en est rien car parfois on trouve des cellules mésoodermiques en plus grand nombre dans des régions non évolutives, comme les extrémités latérales de l'arceau dorsal par exemple.

Enfin, s'il subsistait encore un doute quant au rôle possible des cellules de l'épithélium coelomique dans l'évolution musculaire, l'utilisation du "thorotrast" l'a totalement levé. Nous avons vu que les cellules somatopleurales, dont le rôle phagocytaire est très probable, ingèrent de grosses quantités de thorium et sont ainsi marquées. Par contre, aucune fibre de type souche n'est marquée. Pour les fibres en cours de transformation, la grande majorité ne renferme aucune trace de "thorotrast". Les rares fibres contenant une ou deux vacuoles à thorium montrent néanmoins que des cellules en différenciation sont peut-être capables d'absorber cette substance, à l'inverse des fibres du type souche. De plus, puisque la division de certaines cellules musculaires n'est peut-être pas à exclure, il est possible que l'incorporation de "thorotrast" se fasse dans des cellules en mitose, comme dans le cas des éléments germinaux. Néanmoins, la très grande quantité de fibres non marquées infirme leur genèse à partir de cellules de l'épithélium somatopleural.

L'intervention des cellules mésodermiques, pariétopleurales, dans la formation des fibres stoloniales ne semble donc pas envisageable.

B - HYPOTHESE DE LA FORMATION DES FIBRES STOLONIALES A PARTIR DE FIBRES ANCIENNES, DU TYPE SOUCHE.

I - BREF RAPPEL DES PRINCIPALES OBSERVATIONS ; ORIGINE DES CELLULES STOLONIALES

Depuis les premières manifestations de la transformation musculaire, jusqu'à l'apparition des fibres typiques du stolon, on peut distinguer les stades cellulaires suivants, schématisés dans la figure 24.

1 - Des cellules présentent des mitochondries en quantité supérieure à la normale, dans le sarcoplasme de leur bord coelomique (fig. 24, 2). Leur nucléole est plus volumineux que dans les cellules musculaires de la souche.

2 - Des fibres renferment de nombreuses mitochondries dans le sarcoplasme de leur bord coelomique et quelques unes dans leur axe (Fig. 24, 3). Les myofilaments épais ont un diamètre de 300-350 Å.

3 - Des cellules contiennent de nombreuses mitochondries axiales, des filaments épais de 200-250 Å de diamètre (Fig. 24, 4).

On observe donc, à un moment donné, des fibres ^à caractéristiques mixtes, c'est-à-dire ayant des filaments myosiniques de 300-350 Å (type souche), mais possédant des mitochondries axiales (type stolonial).

Nous pouvons affirmer que ces divers stades de transformation musculaire ne conduisent pas à une dégénérescence. Nous verrons que ces processus aboutissant à une dégénérescence sont tout à fait différents.

Par ailleurs, nous avons vu que les premières fibres en évolution étaient peu nombreuses, de petite taille et presque toutes situées dans la couche externe. L'injection de leucine tritiée a confirmé cette observation, puisque le marquage se situe, au début de l'évolution, à la base des faisceaux musculaires longitudinaux. Ensuite l'évolution s'étend aux cellules plus larges des couches internes. Corrélativement, la quantité de fibres du type souche diminue dans ces zones évolutives.

L'origine des cellules stoloniales à partir des fibres du type souche semble donc bien établie par ces observations.

II - LES MODALITES DE LA TRANSFORMATION

Nous envisagerons successivement les mitochondries, le glycogène, les myofilaments, enfin le noyau et le problème des mitoses.

1 - Les mitochondries

Elles s'accroissent dans de telles proportions qu'elles constituent la caractéristique principale de la fibre stoloniale. En microscopie photonique, leur présence rend l'axe de la fibre finement granuleux, et cette observation avait été faite depuis longtemps chez les Néréidiens (CLAPAREDE, 1870) et les Syllidiens (MALAQUIN, 1893).

Notre travail essentiellement morphologique ne peut évidemment résoudre le problème très complexe de l'origine des mitochondries. Cependant quelques remarques intéressantes peuvent être faites. Les mitochondries apparaissent en plus grand nombre dans le sarcoplasme, à la fois dans la zone périnucléaire et au niveau du bord coelomique de la fibre, jusqu'à ses extré-

mités. Le reticulum sarcoplasmique des bandes I ou le reticulum endoplasmique visible seulement dans le sarcoplasme périnucléaire, ne jouent vraisemblablement ^{aucun} rôle direct dans leur formation. D'autre part, les mitochondries se multiplient dans des zones où elles existaient précédemment : région périnucléaire, bord coelomique de la fibre. L'axe de la cellule musculaire, sans mitochondries à l'origine, est envahi secondairement par le chondriome provenant des régions périnucléaire et du bord coelomique. Ces observations semblent donc suggérer une prolifération des mitochondries à partir de quelques unes d'entre elles.

L'hypothèse de la division de ces organelles est celle qui est actuellement la mieux étayée, surtout depuis les travaux de LUCK (1963, 1965) sur Neurospora crassa.

Enfin, ni dans la région nucléaire, ni dans le sarcoplasme du bord coelomique, nous n'avons observé de "ciment" protéinique qui jouerait un rôle dans la formation de mitochondries nouvelles (ANDRE, 1962 ; CLEROT, 1968).

2 - Le glycogène

Nous avons vu que le glycogène caractérisait également, par son abondance, la fibre stoloniale de S. amica, ainsi que la fibre épitoque de Nereis irrorata (DEFRETIN et WISSOCQ, 1969). Le glycogène, sous forme β , apparaît dès le début de la transformation et s'accumule au cours des stades suivants.

On peut affirmer dès maintenant, et nous y reviendrons dans le prochain paragraphe, que la fibre en évolution de S. amica se différencie, acquiert des propriétés embryonnaires et se redifférencie en fibre stoloniale. Or, il a été montré que les myoblastes des muscles squelettiques ou du coeur d'embryons de poulet (ALLEN et PEPE, 1965 ; DESSOUKY et HIBBS, 1965 ; MANASEK, 1969), les myoblastes d'embryons de rat (BERGMAN, 1962 ; HEUSON-STIENNON et DROCHMANS, 1967) présentaient une accumulation de glycogène au cours de leur différenciation, principalement à une époque relativement tardive du développement, au moment d'une myofibrillogenèse active. Il est frappant de constater des faits du même ordre dans les fibres de S. amica. La formation du glycogène dans des fibres musculaires embryonnaires est donc liée à leur différenciation. Par contre, dans la majorité des cellules musculaires d'animaux adultes, le glycogène est peu abondant et ne représente que moins de 1 % environ de leur poids frais (WANSON et DROCHMANS, 1968). Ce polysaccharide ne se trouve en abondance que dans de rares cas, par exemple certains

muscles cardiaques, qui sont très riches en mitochondries, comme les fibres stoloniales de S. amica (REVEL et col., 1960 ; SOMMER et JOHNSON, 1969 ; FAWCETT et Mc NUTT, 1969). Il y a d'ailleurs assez souvent une corrélation entre la richesse en mitochondries et l'abondance en glycogène dans les fibres musculaires à métabolisme élevé, aux contractions extrêmement fréquentes.

D'autre part, dans une étude sur la dédifférenciation et la différenciation musculaire de régénérats de membres de tritons, LENTZ (1969) constate une accumulation de glycogène lors de la dédifférenciation des fibres anciennes, que HAY (1959), dans une étude similaire sur la régénération de muscle d'Ambystoma, n'avait pas signalée. Il faut toutefois souligner qu'à cette époque, il était difficile de mettre en évidence le glycogène. LENTZ, pour distinguer les granules de glycogène des ribosomes se base sur leur différence de diamètre.

Chez S. amica, le glycogène β est de dimension similaire aux ribosomes, aussi était-il indispensable d'employer une technique spécifique de mise en évidence du glycogène. Cette technique (THIERY, 1967) nous a permis de constater l'étroite association des ribosomes avec les particules β de glycogène, tout au moins dans la zone périnucléaire et au début de l'évolution. Il n'est donc pas interdit de penser que les ribosomes puissent jouer un rôle dans l'élaboration du glycogène, hypothèse qui a été soutenue par STADHOUDERS (1965) à la suite d'un travail sur la synthèse de glycogène dans les cellules de foie de rat avant la naissance. HEUSON-STIENNON et DROCHMANS (1967), sans exclure la participation du reticulum endoplasmique dans cette synthèse, pensent que les ribosomes élaboreraient les enzymes intervenant dans le métabolisme de ce polysaccharide, à la condition toutefois qu'il y ait quelques particules préexistantes, initiatrices. Récemment, VRENSEN et KUYPER (1969) ont étudié le dépôt de glycogène dans le foie de rats soumis au jeûne avant une administration de glucose et sont arrivés à la conclusion que les ribosomes interviennent directement dans l'élaboration du glycogène.

D'autre part, chez S. amica, le glycogène est formé dans des régions où le reticulum endoplasmique est le plus souvent absent. Ce composant cellulaire est très peu développé dans les fibres musculaires de S. amica et ne doit pas être confondu avec le reticulum sarcoplasmique (R.S.) des bandes I, dont le rôle est de stocker le calcium nécessaire aux contractions. D'ailleurs, le glycogène n'est pas synthétisé au voisinage du R.S. Ces observations ne peuvent donc faire penser à un rôle possible du reticulum endoplasmique, tout

au moins chez S. amica, comme de nombreux auteurs l'on souvent envisagé (PORTER et BRUNI, 1959 ; MILLONIG et PORTER, 1960 ; COIMERA et LEBLOND, 1966 ; DE MAN et BLOCK, 1966 ; JONES et FAWCETT, 1966 ; KUGLER, 1967). Nous n'avons pas non plus rencontré de formations analogues aux "corps glycogéniques" constitués de membranes enroulées du reticulum endoplasmique lisse hypertrophié, associées étroitement à des particules de glycogène, et décrites dans des myotubes d'embryons (HEUSON-STIENNON et DROCHMANS, 1967) ou des fibres musculaires (FLACKS, 1968 ; GARANT, 1968).

Enfin, nous avons montré, par la technique de SELIGMAN-THIERY, que les particules de glycogène présentaient des sous-unités de 30 Å environ de diamètre. Elles semblent au départ assez peu nombreuses et laissent entrevoir une sorte de particule sous-jacente, très pâle, non colorée (Pl. 42, figs b et c). Il est possible qu'il s'agisse d'une trame protéique constitutive de chaque particule β (VAN GANSEN, communication personnelle). Dans des stades plus évolués, les particules deviennent plus denses et la trame est plus difficile à voir. Dans le stolon sénescant, certaines fibres à mitochondries volumineuses, renferment des particules β tout à fait semblables à celles observées dans les premiers stades évolutifs et, en plus, des particules réduites à la trame elle-même (Pl. 51, figs c et d). Ces fibres ont consommé une grande partie de leur glycogène car il est très peu abondant. Mais s'agit-il d'une véritable dégradation ou d'un artefact de coloration ? La deuxième hypothèse semble peu vraisemblable puisque d'autres fibres du même ver (Pl. 51, figs a et b) renferment des particules très denses, à trame invisible.

Dans ce cas, on peut donc penser que la dégradation des particules β de glycogène se ferait par élimination progressive des sous-unités suivant un processus inverse de celui de la synthèse. Cependant, cette hypothèse découle seulement de constatations purement morphologiques et ne peut s'avérer intéressante qu'à la lumière d'autres études entreprises sur le problème de la synthèse et de la dégradation du glycogène.

3 - Les myofilaments

Les myofilaments de la fibre stoloniale sont répartis uniquement à la périphérie, laissant la portion axiale occupée par les mitochondries. Nous avons vu (chapitre II) que les filaments myosiniques avaient un diamètre nettement inférieur à celui des filaments de la fibre du type souche. Deux hypothèses peuvent être formulées sur l'origine de ces filaments.

1. ces derniers proviennent des anciens. Dans ce cas, les filaments myosiniques auraient subi une diminution de leur diamètre, due peut-être à la réduction du nombre de leurs molécules de tropomyosine axiale, comme nous l'avons déjà suggéré (première partie).

2. Les filaments sont tous néoformés, les anciens disparaissent.

Il est difficile d'opter pour l'une ou l'autre de ces hypothèses. Cependant, il semble qu'il y ait plus d'arguments favorables à la première hypothèse.

S'il s'agit de filaments néoformés, il faudrait supposer que les anciens aient disparu, et il serait donc logique de rencontrer des stades de dégénérescence filamentaire, de désorganisation des myofibrilles. Or, nous n'avons pas trouvé d'images pouvant correspondre à une dégradation des filaments, sauf dans le cas d'une véritable dégénérescence cellulaire. Il est toutefois nécessaire de souligner qu'une partie des filaments axiaux ont disparu. L'épaisseur des deux couches de fibrilles dans une fibre stoloniale s'élève en effet à $0,5 \mu$ alors qu'elle est d'environ $1,5 \mu$ dans une fibre du type souche. Il faut donc admettre qu'il y a eu disparition des filaments axiaux sur une épaisseur de 1μ c'est-à-dire des deux tiers environ. Lors de l'envahissement mitochondrial, nous n'avons jamais observé de dégénérescence au niveau du matériel fibrillaire axial, comme si celui-ci disparaissait sans laisser de traces.

D'autre part, nous n'avons jamais détecté de stade de myofibrillogenèse à la périphérie des fibres longitudinales en évolution de S. amica ou N. irrorata. Beaucoup d'auteurs se sont penchés sur le problème de la myofibrillogenèse du muscle strié transversalement ou du muscle cardiaque de Vertébrés, à l'aide de la microscopie électronique (FERRIS, 1959 ; LINDNER, 1960 ; WAINRACH et SOTELO, 1961 ; BERGMAN, 1962 ; ALLBROOK, 1962 ; WEISSENFELS, 1962 ; HAY, 1963 ; FIRKET, 1963 ; SHAFIQ, 1963 ; PRICE et Col., 1964 ; ALLEN et PEPE, 1965 ; DESSOUKY et HIBBS, 1965 ; LE DOUARIN, 1965 ; HEUSON-STIENNON, 1965 ; PRZYBYLSKI et BLUMBERG, 1966 ; FISHMAN, 1967 ; SPIRO et HAGOPIAN, 1967 ; MANASEK, 1969). Récemment, AUBER (1969 a, b), dans une étude très approfondie sur les fibres de nymphes d'Insectes et d'embryons de Vertébrés, a montré que les premières manifestations de la myofibrillogenèse correspondent à l'apparition de faisceaux de filaments initiaux de 50 \AA de diamètre. Puis, se forment les filaments d'actine et de myosine et les stries Z. Ces premières ébauches des myofibrilles apparaissent dans le sarcoplasme périphérique. Nous n'avons pas observé de processus semblables chez S. amica. Cependant, des

résultats obtenus sur la myofibrillogenèse des fibres à double striation oblique chez N. irrorata, nous permettent d'apporter un argument, indirect certes, mais important en faveur de la première hypothèse. Il nous est donc nécessaire ici d'anticiper un peu sur ces résultats que nous exposerons dans la troisième partie. Nous avons entrepris une étude sur l'origine des muscles parapodiaux hétéronéréidiens (comparables aux fibres stoloniales de S. amica) de N. irrorata. L'obtention de stades précoces de la formation de ces fibres nous a permis de constater qu'elles résultaient d'une prolifération cellulaire à partir d'éléments anciens. Il s'agit donc en partie d'une néoformation. Les processus évolutifs ne sont pas tout à fait comparables à ceux des fibres longitudinales. Nous avons constaté la présence de nombreux ribosomes et polyribosomes le long des filaments en élaboration, comme quelques auteurs l'ont observé dans la myofibrillogenèse de divers muscles striés transversalement (ALLEN et PEPE, 1965 ; HEUSON-STIENNON, 1965 ; FIRKET, 1963). Il semble donc qu'il y ait intervention de ribosomes dans la genèse des filaments de fibres hétéronéréidiennes néoformées. On peut penser que dans les fibres en différenciation de S. amica, le même mécanisme présiderait à la formation de nouveaux filaments. Or, en dépit de nombreuses investigations, nous n'avons jamais rencontré de ribosomes ou de microtubules près des filaments des fibres en différenciation, ce qui laisse supposer qu'il n'y a pas genèse de nouveaux filaments.

4 -Les noyaux. Le problème des divisions des fibres.

Le noyau des cellules en évolution présente un nucléole plus volumineux que celui des fibres quiescentes. En même temps apparaissent de nombreux ribosomes, mêlés et plus ou moins masqués par les particules de glycogène, dans le sarcoplasme périnucléaire principalement. L'augmentation de taille du nucléole, corrélative d'un accroissement de la quantité de ribosomes, correspond à une synthèse active de protéines. Cette phase d'activation se manifeste dans des cellules en voie de différenciation rencontrées dans les tissus embryonnaires ou les tissus en prolifération active tels que les blastèmes de régénération.

Dès les stades 1 et 2, le nombre de noyaux augmente dans les zones évolutives. Nous avons signalé des groupes de deux ou plusieurs noyaux alignés, appartenant à des cellules distinctes (Pl. 37, figs b et c ; Pl. 43, fig. a). Cette observation n'a jamais été faite chez des individus immatures. Nous n'avons pas vu de mitoses, mais il est hautement probable que des divisions cellulaires aient lieu, qui affecteraient principalement les jeunes éléments

de l'assise externe. Nous avons en effet montré des groupes de deux ou trois cellules de l'assise externe dont les noyaux étaient situés dans le même plan de coupe (Pl. 43, fig. b). Souvent, lorsque les noyaux étaient situés dans la couche la plus interne, ils appartenait à des fibres de la strate externe et étaient reliés à celles-ci par une sorte de pédoncule (Pl. 41, fig. a). Les jeunes éléments musculaires de l'assise sous-épidermique sont déjà différenciés puisqu'ils renferment des myofilaments le plus souvent bien agencés en myofibrilles. Mais, l'état de différenciation n'est pas obligatoirement incompatible avec la mitose. Des travaux récents ont montré que des cellules bien différenciées peuvent subir des mitoses : des cellules chromaffines de la médullo-surrénale du très jeune rat, différenciées et même innervées, sont capables de se diviser activement, en gardant leur synapses (GRINZPAN-WINOGRAD, 1969). HAY (1968) insiste sur le fait que des cellules différenciées comme les chondrioblastes, les cellules hépatiques ou glandulaires, les fibres musculaires lisses et cardiaques sont capables de se diviser.

Il est donc possible que des mitoses affectent les jeunes éléments de la couche externe des faisceaux musculaires. Ainsi, chez S. amica, l'état différencié des fibres uniclées ne semble pas incompatible avec leur division, à la condition qu'elles soient jeunes. La notion d'âge a peut-être plus d'importance que celle de différenciation pour la division des cellules musculaires de S. amica.

Récemment, pour essayer de mettre en évidence des mitoses dans la musculature longitudinale, nous avons injecté de la colchicine chez des S. amica au stade O. Malheureusement les résultats ont été négatifs. Mais, cela ne signifie nullement que les mitoses n'existent pas. Il serait en effet nécessaire de tester différentes doses de ce produit et de rechercher les moments de l'évolution les plus favorables à l'injection. Une telle étude nécessite évidemment un grand nombre de Syllis, que nous n'avons pas à notre disposition à l'époque de l'expérience.

III - LA DEDIFFERENCIATION

De l'ensemble des résultats obtenus, on peut admettre, en schématisant, que les fibres passent par deux étapes successives pour parvenir au stade final.

1 - La cellule musculaire présente quelques mitochondries dans le bord coelomique, un nucléole volumineux, des ribosomes et du glycogène dans le sarcoplasme périnucléaire et du bord cœlomique (Fig. 24, 2).

2 - On assiste à une extension de ces processus. Quelques mitochondries axiales apparaissent (Fig. 24, 3). Les filaments épais sont encore du type souche.

3 - Les mitochondries sont axiales, les filaments myosiniques périphériques sont du type stolonial (200-250 Å) (Fig. 24, 4).

A aucun moment, on n'observe la présence, dans la musculature, de cellules de type embryonnaire, sans filaments, au cytoplasme réduit. On ne distingue pas de cellules ayant perdu une grande partie de leurs éléments par cytolysse (nous n'avons pas observé de cytolysomes) ou ayant subi des transformations de certains de leurs organites, comme BOILLY (1968) a pu le constater dans les cellules épidermiques cicatricielles de S. amica amputés.

S'agit-il d'une véritable dédifférenciation ? Avant d'en discuter, il n'est pas inutile de rappeler ici les rares cas de dédifférenciation musculaire décrits à la fois chez des Insectes, au cours de la mue et chez des Amphibiens, au cours de la régénération. Chez l'Hémiptère Rhodnius prolixus, les muscles abdominaux, intersegmentaires, subissent des dédifférenciations et différenciations répétées, en relation avec le cycle de mue (WIGGLESWORTH, 1956). Récemment, plusieurs travaux similaires, en microscopie électronique (AUBER-THOMAY, 1967 ; WARREN et PORTER, 1968 ; TOSELLI et PEPE, 1968 a et b) ont montré qu'à la fin des processus involutifs, les fibres musculaires sont réduites à l'état de cellules fripées ; le cytoplasme et le noyau diminuent de volume, les myofibrilles disparaissent. Dans les muscles de membres en régénération de larves d'Ambystoma (HAY, 1959) ou d'adultes de Triturus (HAY, 1968 ; LENTZ, 1969), la dédifférenciation conduit à la formation de cellules mésenchymateuses, à ribosomes relativement nombreux, à noyau volumineux, sans aucune trace de matériel myofibrillaire.

En conséquence, selon HAY (1959, 1968), la dédifférenciation implique non seulement la disparition d'éléments structuraux cellulaires, mais aussi l'acquisition de certaines caractéristiques embryonnaires : noyau arrondi avec nucléole volumineux, accroissement du rapport nucléocytoplasmique, augmentation des ribosomes libres, corrélative d'une synthèse élevée de protéines. Pour ce même auteur, cette définition est suffisante et il n'est pas nécessaire de faire intervenir la notion de pluripotentialité des cellules dédifférenciées (BLOOM, 1937).

En ce qui concerne la fibre musculaire de S. amica, la définition s'applique en partie, puisqu'il y a disparition d'anciens éléments et acquisition de caractéristiques embryonnaires. Cependant, à aucun moment, on ne trouve la présence, dans la musculature, de cellules de type embryonnaire, sans filaments, au cytoplasme réduit. La cellule n'aboutit pas à un stade indifférencié. Faut-il donc, en l'absence de ce stade, exclure le terme de dédifférenciation pour caractériser l'évolution de la fibre musculaire de S. amica ? Nous ne le pensons pas, car la cellule subit, d'une manière synchrone, une dédifférenciation et une redifférenciation. Les deux processus ne se succèdent pas, mais sont simultanés, ce qui exclut le stade d'indifférenciation totale.

D'autre part, la définition de HAY est purement morphologique. Tant que nous n'aurons pas plus de renseignements physiologiques et biochimiques, la définition sera incomplète et d'autant plus imprécise. WEISS (1939, 1949) a créé le terme de "modulation" pour caractériser les changements importants qui peuvent intervenir dans la morphologie et la structure de certaines cellules bien différenciées. Ainsi, des cellules de Schwann en culture de tissus peuvent prendre divers aspects (formes de fuseau, de macrophage, de monocyte, etc...) qui sont réversibles suivant les conditions environnantes. Dans le cas des fibres musculaires de Syllidiens ou de Néréidiens, les transformations cellulaires sont déclenchées par une modification hormonale du milieu interne (DURCHON, 1952, 1959), mais il est peu probable que les cellules engagées dans la voie de l'évolution stoloniale puissent retourner à leur état initial.

Actuellement, nous croyons donc pouvoir désigner par le terme de dédifférenciation une partie de l'évolution musculaire de S. amica.

CONCLUSION

Beaucoup d'arguments plaident en faveur de l'hypothèse de la différenciation des fibres stoloniales à partir des fibres primitives. L'évolution est telle qu'il y a passage progressif de la cellule du type souche à la cellule stoloniale. La disparition d'anciens organites est synchronisée de la synthèse de nouvelles structures. Bien que la cellule musculaire ne parvienne pas à un état totalement indifférencié, embryonnaire, on peut néanmoins affirmer qu'une partie des processus correspond bien à une dédifférenciation, car il y a dégradation de certains éléments et acquisition de caractéristiques embryonnaires. En réalité, ce stade d'indifférenciation totale n'apparaît pas en raison de la simultanéité de la dédifférenciation et de la redifférenciation. Il n'y a pas succession des deux phénomènes, comme dans les cas décrits jusqu'à présent.

Nous verrons que cette transformation musculaire chez S. amica est très comparable à celle qui se déroule chez N. irrorata.

CHAPITRE V

LA DEGENERESCENCE

INTRODUCTION

Il est parfois difficile de faire la distinction entre des stades de dédifférenciation et de dégénérescence mais, chez S. amica, la destruction musculaire ne peut être confondue avec la dédifférenciation.

Chez les S. amica en stolonisation expérimentale ou naturelle, la dégénérescence musculaire se déroule suivant deux modalités différentes. Dans la première, il y a persistance pendant une longue période, des fibrilles et surtout des filaments. Corrélativement, la fibre se fragmente en tronçons plus ou moins fusiformes ou sarcolytes. Cette sarcolyse ne semble se produire que dans les fibres du type souche. La deuxième modalité consiste en une disparition précoce des éléments contractiles et leur remplacement par une substance homogène, granuleuse. La fibre ne semble pas se scinder en corps fusiformes. Enfin, les fibres subissant cette lyse sont à la fois du type souche et stoloniales.

Nous décrirons successivement ces deux processus de dégénérescence musculaire.

OBSERVATIONS

I - LA SARCOLYSE PAR DISPARITION TARDIVE DES FILAMENTS

La dilacération des muscles de S. amica traités à la glycérine permet parfois d'isoler des corps fusiformes, renfermant le plus souvent des fibrilles. Il n'est pas rare de trouver de tels fragments réunis en groupes de quatre ou cinq par un mince filament (Pl. 52, fig. b). Sans aucun doute, ces éléments isolés ou en chapelet proviennent de fibres musculaires en dégénérescence et correspondent tout à fait aux sarcolytes décrits chez diverses Annélides par A. PRENANT (1929) et chez les Néréidiens en particulier, par DEHORNE (1922 a et b) et DEFRETIN (1949).

Au microscope électronique, parmi les fibres longitudinales de S. amica, le plus souvent au niveau de la couche la plus interne, on rencontre quelquefois des masses arrondies en coupe transversale (Pl. 56, figs c et d),

fusiformes en coupe longitudinale (Pl. 56, fig. a). Ces masses d'aspect fusiforme correspondent très certainement aux sarcolytes isolés après glycération, d'autant qu'ils renferment tous les éléments des cellules musculaires. La plupart, en effet, présentent des sections transversales de myofilaments et des tubules comparables à ceux du reticulum sarcoplasmique (R.S.) ainsi que des stries denses aux électrons assimilables aux éléments Z (Pl. 56, figs a, b et c). Toutefois, la striation régulière en bandes A et I a disparu, et les filaments ont perdu leur orientation primitive, comme on peut le constater sur certaines coupes longitudinales (Pl. 56, fig. a). On peut aussi rencontrer, par endroits, un feutrage de très fins filaments et une sorte de réseau irrégulier (Pl. 56, fig. a). Certains sarcolytes ne contiennent plus que de nombreuses sections arrondies qui pourraient correspondre à des myofilaments résiduels (Pl. 56, fig. c).

Chez S. amica, les sarcolytes sont le plus souvent englobés à l'intérieur de cellules mésodermiques de la parietopleure (Pl. 56, fig. c) qui ont vraisemblablement un rôle phagocytaire. Nous avons vu précédemment que ces cellules absorbaient de fortes quantités de thorium.

Il est à souligner dès maintenant que ces fragments musculaires ne contiennent que très peu de mitochondries et ne semblent donc provenir que des fibres du type souche.

II - LA SARCOLYSE PAR ELIMINATION PRECOCE DU MATERIEL CONTRACTILE

Celle-ci, à l'inverse du cas précédent, affecte les fibres du type souche ou stolonial.

1 - Sarcolyse dans les fibres du type souche au cours de la stolonisation

Nous envisagerons d'abord les divers stades de cette dégénérescence, puis la répartition des fibres en involution dans la musculature longitudinale.

a) Les différents aspects de l'involution (Fig. 25).

Parmi des fibres d'apparence normale, on peut parfois distinguer des cellules musculaires ayant certaines particularités : diminution assez nette du nombre de sections de filaments épais par bande A et présence d'une mince lame corticale de substance finement granuleuse (Pl. 57, fig. a). Cette substance ne peut être confondue avec les faisceaux de fins filaments, rencontrés par endroits entre les myofibrilles et le sarcolemme,

et comparables à ceux des prolongements du bord externe des fibres (chapitre I). Il s'agit d'une substance homogène dans laquelle on ne décèle pas la présence de filaments, ni sur coupes transversales, ni sur coupes longitudinales.

Très rapidement, cette substance homogène apparaît au sein des bandes A (Pl. 57, fig. b). Le nombre de filaments épais diminue. Mais, les vésicules sous-sarcolemmiques, les éléments Z et du R.S. subsistent. Les mitochondries conservent une structure apparemment normale. La cohésion des cellules présentant cet aspect s'affaiblit. On peut en effet observer assez souvent un mince espace entre deux fibres contiguës (Pl. 57, fig. b), alors que les cellules normales sont intimement accolées (Pl. 57, fig. a). Ensuite, le nombre de filaments épais continue à décroître, et, à leur place, on rencontre quelques traces denses et de dimensions supérieures aux myofilaments myosiniques (Pl. 58, figs a et b). Leur forme est assez irrégulière, vaguement arrondie ou allongée. La régularité entre bandes A et I a tendance à s'estomper (Pl. 58, fig. a). A l'intérieur des bandes I, les éléments Z, comme les tubules du R.S. diminuent en quantité notable. Les tubules du R.S. qui subsistent présentent un contour irrégulier, fripé (Pl. 58, figs a et b). La dissociation des fibres est de plus en plus marquée. On peut remarquer de larges espaces entre certaines d'entre-elles (Pl. 58, fig. b). Les évaginations en doigt de gant des fibres normales (chapitre I), qui ont vraisemblablement pour rôle de renforcer la cohésion des cellules, ont complètement disparu. Parfois, on note la présence de plusieurs sarcolemmes accolés, ressemblant à des figures myéliniques (Pl. 58, fig. c). Celles-ci ne semblent pas être des artefacts de fixation, car elles ne se trouvent qu'entre des fibres en dégénérescence. D'autre part, la fixation osmique seule ou la double fixation glutaraldéhyde-acide osmique, les met en évidence.

Ensuite, les traces irrégulières dans les bandes A disparaissent, de même que les éléments Z. La substance homogène remplit alors la presque totalité de la fibre musculaire, et vue à un grossissement élevé, ne semble présenter qu'une sorte de feutrage de fines granulations (Pl. 59, fig. a), tout à fait comparable à celui des stades précédents.

Les fibres à substance homogène se vacuolisent ensuite et sont repoussées vers le coelome (Pl. 59, fig. b). Nous ne pensons pas qu'elles puissent être phagocytées par les cellules pariéto-pleurales, car nous ne les avons jamais observées à l'intérieur de leur cytoplasme, à l'inverse des sarcoytes fusiformes. Par contre, en ouvrant le coelome de vers glycerinés, nous avons parfois rencontré des paquets de fibres d'aspect très particulier.

Celles-ci se caractérisent par une atténuation considérable de leur striation, c'est-à-dire des myofibrilles (Pl. 59, fig. c), ou par une absence totale de striation (Pl. 59, fig. d), à l'observation au contraste de phase. Comme les fibres, issues de la musculature longitudinale des mêmes vers, présentent une nette striation oblique, nous pouvons considérer que l'absence de myofibrilles dans les fibres de la cavité coelomique est réelle, et non due au traitement par la glycérine. Nous croyons donc pouvoir rattacher les cellules musculaires sans striation, aux fibres à substance granuleuse, décrites en microscopie électronique. Nous n'avons jamais observé la fragmentation de ces cellules en corps fusiformes comme dans le cas de la sarcolyse du premier type. Ces fibres continueraient donc à dégénérer sans se tronçonner en sarcolytes et sans subir de phagocytose par les éléments mésodermiques pariétopleuraux.

Il est à noter que les mitochondries (Pl. 59, fig. a), comme le noyau, conservent encore leur forme et leur structure à un stade de dégénérescence avancé de la fibre.

b) La répartition des fibres en dégénérescence dans la musculature longitudinale

Dorsalement et ventralement, dans les zones évolutives, on peut observer de nombreuses sections de fibres en dégénérescence, présentant des restes de bandes A et I et renfermant une substance granuleuse (Pl. 60, fig. a). Parmi ces fibres en dégénérescence, se trouvent des fibres du type souche et d'autres en voie d'évolution (Pl. 60, fig. a).

Mais, on rencontre aussi des cellules musculaires dégénérantes dans des régions non évolutives, telles que, par exemple, l'axe médiodorsal du Syllis, près du mésentère soutenant le vaisseau sanguin dorsal (Pl. 60, figs b et c).

2 - La dégénérescence des fibres stoloniales (Fig. 26)

Chez certains Syllis, à des stades avancés de la stolonisation, quelques fibres stoloniales présentent, à la place des myofibrilles corticales, une substance homogène, granuleuse (Pl. 61), comparable à celle des fibres normales en involution. Par ailleurs, les mitochondries semblent normales et sont entourées par des granulations β de glycogène.

Nous avons retrouvé, chez des stolons bien formés (stade 6), mais encore attachés à la souche, des fibres stoloniales montrant tous les aspects d'involution que nous venons de décrire au sein des cellules musculaires du

type souche. Puisque les phénomènes sont comparables, nous rappellerons très brièvement les étapes de cette dégénérescence de la fibre stoloniale.

Au début, le nombre de filaments épais diminue et une substance granuleuse apparaît dans les myofibrilles (Pl. 62, figs a et b). Cette substance envahit alors toutes les bandes A. Il ne subsiste plus que des vestiges de bandes I et de tubules du R.S. (Pl. 62, fig. b). On peut aussi rencontrer à ce stade quelques traces sombres, plus ou moins arrondies. A fort grossissement, la substance homogène a le même aspect que celle des fibres du type souche en involution (Pl. 63, figs a et b). Enfin, toute la périphérie de la fibre stoloniale est occupée par la substance granuleuse (Pl. 63, figs b et c). Les cellules se séparent les unes des autres, et un certain nombre de vacuoles apparaissent sous le sarcolemme (Pl. 63, fig. c). Cependant l'axe des fibres contient des mitochondries à structure normale, du glycogène en assez grande quantité, des dictyosomes (Pl. 63, fig. c). Le noyau est toujours volumineux, mais, à la place du nucléole, il renferme une masse granuleuse, plus ou moins dense selon les régions, et, dans le nucléoplasme, des fibrilles plus ou moins larges, anastomosées (Pl. 63, fig. c). Cette structure nucléaire est différente de celle des cellules stoloniales normales.

DISCUSSION

Il est intéressant de souligner que A. PRENANT (1929) n'avait pas observé d'histolyse musculaire chez les Syllidiens, en particulier dans leurs stolons. En réalité, il s'avère extrêmement difficile de détecter, par l'histologie classique, une dégénérescence musculaire chez ces Annélides. D'une part, le nombre de sarcolytes est assez faible, même pendant la stolonisation, et leurs dimensions sont réduites. D'autre part, chez beaucoup d'autres espèces d'Annélides Polychètes, comme celles appartenant à la famille des Néréidiens, les sarcolytes tombent dans le coelome et sont très fréquemment mêlés aux éléocytes qui les phagocytent. Chez les Syllidiens, au contraire, les sarcolytes semblent rester à l'intérieur de la musculature. Ceci est très compréhensible puisqu'ils sont très certainement phagocytés par les cellules pariéto-pleurales de l'épithélium coelomique qui recouvre les faisceaux musculaires. Il n'y a d'ailleurs pas, chez cette famille, de cellules libres dans le coelome en dehors des éléments germinaux. Les anciens auteurs, ayant vraisemblablement recherché des débris musculaires dans le coelome en ont conclu que la sarcolyse était absente.

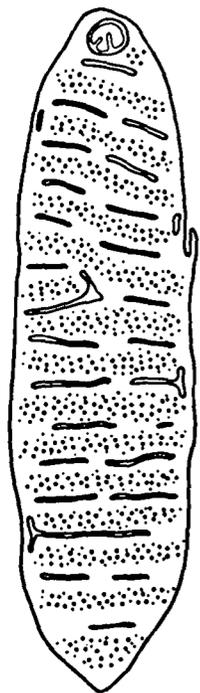
Dans cette discussion, nous montrerons d'abord que les phénomènes correspondant au second type de dégénérescence ne peuvent être confondus avec la dédifférenciation. Ensuite, la comparaison entre la lyse musculaire de S. amica et celle rencontrée chez diverses Annélides et autres Invertébrés nous permettra de situer cette dégénérescence dans un cadre plus général. Nous envisagerons enfin le problème de la phagocytose, liée à la lyse musculaire et terminerons par quelques considérations sur le déterminisme de cette dégénérescence.

Figure 25 - Schémas de la dégénérescence d'une fibre de type souche.

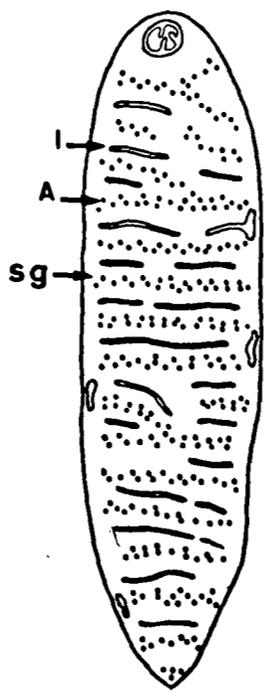
- 1 : Fibre normale, avant la dégénérescence.
- 2 : Diminution du nombre de filaments épais au niveau des bandes A (A) et formation d'une substance granuleuse (s.g), au sein des bandes A et sous le sarcolemme. I, bande I.
- 3 : Apparition de "taches" denses aux électrons, au niveau des anciennes bandes A.
- 4 : Dégénérescence avancée. Résidus de bandes I et de reticulum (r.s). v, vacuole.

Figure 26 - Schémas de la dégénérescence d'une fibre de type stolonial.

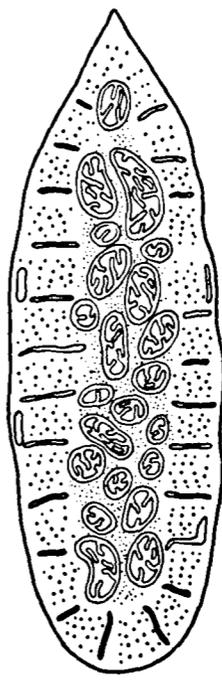
Les abréviations sont identiques à celles de la Figure 25.



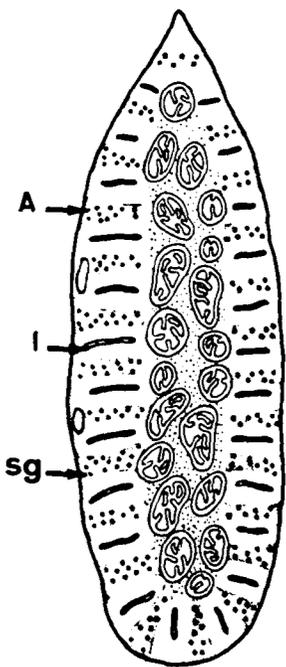
1



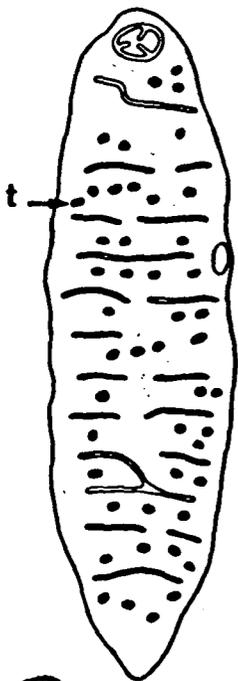
2



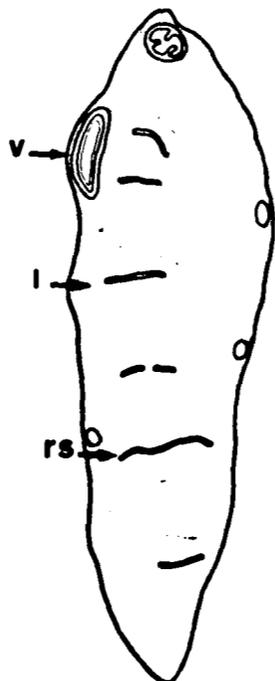
1



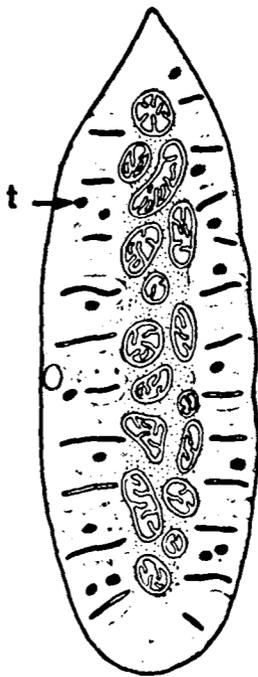
2



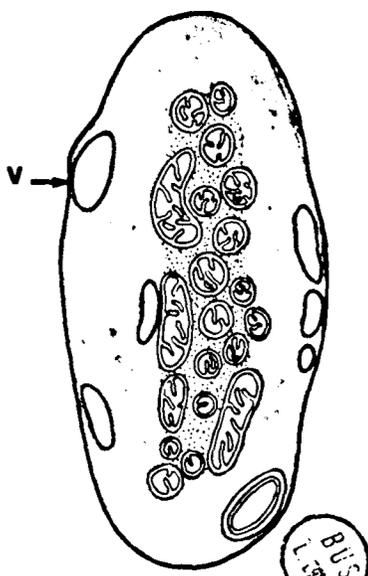
3



4



3



4

BUS
L 123

BUS
L 123

I - LES PROCESSUS DECRITS DANS LA DEGENERESCENCE AVEC APPARITION D'UNE SUBSTANCE HOMOGENE NE CORRESPONDRAIENT-ILS PAS A UNE DEIFFERENCIATION ?

Rappelons tout d'abord le déroulement de cette dégénérescence, dont nous avons schématisé les différentes phases dans la figure 25 pour le muscle normal, dans la figure 26 pour le muscle stolonial. Ces phases, dans les deux types de fibres, sont superposables. Dans les deux cas, on trouve une cellule dont le matériel fibrillaire est complètement remplacé par une substance homogène, finement granuleuse. La composition de cette substance nous est inconnue. Peut-être résulte-t-elle de la dégradation des molécules de myosine et d'actine, puisque son apparition est corrélative de la disparition des myofilaments. De plus elle est seulement limitée au matériel contractile, car elle est située à l'emplacement des myofibrilles corticales de la fibre du stolon et n'envahit pas la zone axiale.

Mais, les processus décrits correspondent-ils à une dégénérescence ou à une dédifférenciation ? On pourrait en effet supposer que les fibres du type stolonial sont issues des fibres à contenu homogène. L'axe de ces dernières serait envahi par de nombreuses mitochondries. La substance granuleuse ne subsisterait plus qu'à la périphérie. Enfin, les filaments d'actine et de myosine seraient synthétisés au sein de cette substance. Dans ce cas, la succession des stades décrits, de même que les schémas de la figure 25 devraient être inversés. Mais, trop d'arguments s'opposent à cette hypothèse. D'une part, comme nous l'avons décrit précédemment, dès le début de la transformation des fibres, lorsque les mitochondries se multiplient, les myofilaments subsistent.

D'autre part, nous avons montré que les fibres à contenu granuleux se rencontraient également dans les zones non évolutives. S'il s'agissait de cellules en dédifférenciation, elles ne devraient logiquement se situer que dans les régions évolutives et non ailleurs. Enfin, nous avons déjà signalé que le nombre total de cellules musculaires diminuait chez le stolon par rapport à l'animal immature. Il faut donc admettre une disparition d'un certain nombre de fibres du type souche et stolonial.

II - COMPARAISON ENTRE LES DEUX TYPES DE SARCOLYSE DECRITS CHEZ S. AMICA ET CEUX MIS EN EVIDENCE, PAR L'HISTOLOGIE CLASSIQUE, CHEZ D'AUTRES ESPECES D'ANNELIDES POLYCHETES

Nous avons considéré qu'il existait deux modalités de destruction musculaire chez S. amica.

Dans la première, la fibre en histolyse se transforme en une succession de portions étranglées et dilatées (Pl. 52, fig. b). Ensuite, les sarcolytes s'isolent les uns des autres et sont anucléés. De tels aspects sont très comparables à ceux décrits par DEHORNE (1922 a et b), A. PRENANT (1929), DEFRETIN (1949) chez les Néréidiens. Nous-mêmes avons observé dans le coelome de N. irrorata, en épitoque, des corps fusiformes présentant une fibrillation nette. La striation, selon A. PRENANT (1929) peut même devenir plus marquée dans les sarcolytes des Serpules en particulier. DEHORNE (1922 a et b) et DEFRETIN (1949) constatent que les stries sont encore visibles dans des débris musculaires phagocytés par les éléocytes. DHAINAUT (1966), par une étude en microscopie électronique chez N. pelagica, signale que des sarcolytes en voie de digestion par des éléocytes contiennent encore de nombreux filaments épais. Ainsi, les fibrilles et surtout les filaments, subsistent jusqu'à un stade avancé de la sarcolyse du premier type. Chez les Néréidiens et les Serpuliens, il existe donc des processus sarcolytiques comparables à ceux décrits chez S. amica.

En est-il de même en ce qui concerne le deuxième mode d'involution conduisant à la constitution de cellules à contenu homogène ? Chez les Néréidiens, DEHORNE (1922 a et b) et DEFRETIN (1949) décrivent uniquement une involution du premier type, avec formation de fragments striés et anucléés. Par contre, A. PRENANT (1929), grâce à une étude approfondie chez Serpula vermicularis, considère qu'il existe deux types de sarcolytes bien différents. Les uns sont des fuseaux basophiles, dont la striation est très nette. Les autres acquièrent une forme sinueuse puis s'arrondissent, perdent toute trace de striation, deviennent acidophiles, réfringents, et prennent un éclat cireux. Chez N. irrorata, nous constatons également la présence de deux modalités de dégénérescence. En particulier, dans les couches musculaires les plus internes du ver, se trouvent des fibres en forme de S, en section transversale, acidophiles et réfringentes, fibres qui n'ont pas été décrites par DEHORNE (1922 a et b), ni par DEFRETIN (1949). Or, leur observation en microscopie électronique montre qu'elles sont entièrement remplies d'une substance granuleuse, homogène, comparable à celle des fibres en histolyse de Syllis.

Il est donc intéressant de constater que les deux aspects dégénéralifs décrits chez S. amica ne semblent pas particulier à cette espèce, mais sont répandus dans la classe des Annélides Polychètes. Evidemment, il serait nécessaire d'effectuer une étude ultrastructurale chez Serpula afin d'assimiler d'une manière définitive les modalités décrites chez cette espèce, en microscopie optique, à celles se déroulant chez S. amica. Néanmoins, les constatations faites chez N. irrorata laissent présager un résultat positif.

Par ailleurs, A. PRENANT (1929) émet l'hypothèse d'une relation possible entre les deux modes de sarcolyse. Il envisage notamment la possibilité de la formation de sarcolytes striés à partir de sarcolytes acidophiles et cireux. Nous pensons au contraire que si l'un des types aboutit à l'autre, le sens est plutôt inverse. En effet, chez N. irrorata, nous observons parfois la disparition d'une partie des éléments contractiles et leur remplacement par une substance quelque peu granuleuse, ce qui représenterait un stade intermédiaire entre les deux sarcolyses. Mais il faut souligner que ces observations ont été seulement faites dans les muscles parapodiaux hétéronéréidiens.

III - COMPARAISON AVEC DES PHENOMENES DE DEGENERESCENCE MUSCULAIRE DECRIIS CHEZ D'AUTRES INVERTEBRES

En général, les cas de dégénérescence décrits en microscopie électronique sont peu fréquents et sont le plus souvent caractérisés par la désorganisation suivie de la disparition des éléments contractiles, sans apparition d'une substance semblable à celle observée chez S. amica.

Les aspects les plus proches de l'inclusion musculaire de S. amica se rencontrent dans les fibres musculaires de pattes en régénération chez un Insecte (BULLIERE, 1963). La fibre musculaire se fragmente en flots contenant des myofilaments désorganisés, au sein d'une substance homogène. Cependant, selon BULLIERE, il ne s'agit pas de dégradation mais de différenciation, car les flots s'organisent autour d'un noyau pour former de nouvelles cellules.

IV - LA PHAGOCYTOSE

Si tous les débris musculaires ne sont peut-être pas la proie de certaines cellules leucocytaires, la phagocytose n'en existe pas moins et n'est pas simplement un "épiphénomène contingent et accessoire", comme l'a prétendu A. PRENANT (1929). DEHORNE (1922 a et b), ROMIEU (1923), DEHORNE et DEFRETIN (1933) ont très nettement montré le rôle phagocytaire des éléocytes

de la cavité coelomique des Néréidiens. DHAINAUT (1966), comme nous l'avons déjà indiqué, a démontré d'une façon indiscutable, par une étude en microscopie électronique, la présence de fragments musculaires à l'intérieur d'éléocytes.

Chez S. amica, les sarcolytes du premier type sont le plus souvent situés à l'intérieur de cellules mésodermiques pariétopleurales. Or, BOILLY (1969) et nous-mêmes avons montré le rôle phagocytaire de ces éléments, par injection de "thorotrast". Le thorium s'accumule dans les cellules de l'épithélium coelomique. Il est donc probable que ces cellules jouent le même rôle que les éléocytes des Néréidiens. Cependant, le nombre de cellules péritonéales reste constant au cours de la stolonisation, alors que la quantité d'éléocytes s'accroît considérablement au cours de l'épitoquie.

V - LE DETERMINISME DE LA LYSE MUSCULAIRE

Celui-ci est inconnu. Deux hypothèses ont été formulées, mais elles fournissent une explication trop superficielle, qui fait seulement reculer le problème. La première fait intervenir la notion de lyocytose (ANGLAS, 1900). Il y aurait action lytique à distance, de la part de certains leucocytes. Dans la seconde, il y aurait autolyse de la fibre elle-même, sans intervention de leucocytes, qui n'attaqueraient que des fibres déjà dégénérantes (DEHORNE, 1922 a et b). Ces deux hypothèses n'élucident donc pas la cause profonde, générale de la destruction musculaire.

Cependant, comme A. PRENANT (1929) et DEHORNE (1922 a et b) l'ont montré, il existe très vraisemblablement un rapport étroit entre la sarcolyse et la maturation génitale. Le plus souvent, ce sont les animaux en évolution sexuelle qui renferment le plus de sarcolytes. On sait que des facteurs endocrines interviennent dans l'épitoquie des Néréidiens (DURCHON, 1952, 1960), peut-être aussi dans la stolonisation des Syllidiens (DURCHON, 1959 ; DURCHON et WISSOCQ, 1964), dans la sexualisation d'autres Annélides, comme les Arénicoles (HOWIE, 1962). Des influences hormonales sont donc très certainement en cause dans le déterminisme de la dédifférenciation comme dans celui de la sarcolyse. Mais ce n'est sans doute pas le seul facteur, puisque A. PRENANT (1929) a montré qu'une dégénérescence musculaire prononcée pouvait se rencontrer chez des exemplaires asexués de Potamilla torelli et Sabella sp.

Il subsiste néanmoins une question à laquelle il est difficile de répondre : pourquoi existe-t-il deux types différents de sarcolyse ? Il est possible que le premier type, avec conservation des filaments, corresponde

à un processus normal d'élimination des vieilles cellules. Nous l'avons en effet rencontré à la fois chez les vers immatures et sexués. Cependant, chez les Néréidiens, ce phénomène s'accentuerait au moment de l'épitoquie. Quant au second type de sarcolyse, avec apparition d'une substance homogène, puisqu'il ne semble se produire qu'au moment de la reproduction et affecte les cellules de type souche et transformées, il serait lié plus directement aux changements de composition du milieu intérieur des vers.

Enfin, des études portant sur l'aspect de fibres sectionnées expérimentalement par amputation de segments pourraient très certainement fournir de précieux renseignements sur le déterminisme et les modalités de la dégénérescence. BOILLY (1968) a ainsi montré, dans les segments précédant la zone d'amputation des S. amica, la présence de sarcolytes dont les uns présentaient des filaments, les autres quelques éléments à structure lamellaire, au sein d'un cytoplasme assez homogène.

CONCLUSION

Le premier mode de sarcolyse conduit à la fragmentation des fibres en corps fusiformes, à filaments persistants, et correspondrait à une élimination normale des vieilles cellules. Le second, par contre, aboutit à une sarcolyse par apparition d'une substance granuleuse et homogène dans des fibres du type souche ou stoloniales, uniquement au moment de la stolonisation. Cette deuxième modalité serait peut-être déclenchée par des modifications hormonales du milieu coelomique du Syllis. La dégradation de ces fibres musculaires permettrait peut-être la libération de substances qui seraient réutilisées par d'autres cellules.

Si cette étude en microscopie électronique a permis de préciser davantage les processus de dégénérescence musculaire, qui n'avaient d'ailleurs pas été observés auparavant chez les Syllidiens, elle reste néanmoins insuffisante. Bien que nous ayons observé, chez N. irrorata, des phénomènes comparables, que nous décrirons dans le chapitre VI, il serait nécessaire d'étendre à d'autres familles d'Annélides cette étude de la sarcolyse, afin de mieux comprendre son déterminisme et ses rapports avec la maturation sexuelle.

CONCLUSION DE LA SECONDE PARTIE

Au cours de la stolonisation de S. amica, les fibres musculaires longitudinales sont le siège de profondes transformations. La plupart évolue pour donner naissance aux fibres stoloniales. D'autres, au contraire, subissent une dégénérescence.

Les fibres musculaires en évolution se caractérisent par la disparition de structures anciennes, telles que les myofilaments, les éléments Z et du reticulum sarcoplasmique, à la fois dans la région du bord coelomique et de l'axe de la fibre. Corrélativement on assiste au remaniement du noyau et du nucléole qui augmentent de volume ; il semble que la largeur de certains filaments épais périphériques diminue. Enfin on enregistre surtout l'apparition d'une grande quantité de glycogène β , de très nombreuses mitochondries et des ribosomes dans le sarcoplasme périnucléaire.

Tous ces phénomènes ressemblent à ceux déjà décrits dans la régénération musculaire des Amphibiens (HAY, 1959, 1962, 1963). Ils s'en distinguent toutefois par le fait que, la dédifférenciation n'est que partielle et synchrone de la redifférenciation. Les cellules musculaires longitudinales ne donnent donc jamais naissance à des cellules indifférenciées. Cette évolution des fibres musculaires, au cours de la stolonisation et, comme nous le verrons lors de l'épitoque, confèrent une grande originalité aux Syllidiens et Néréidiens.

D'autre part, les phénomènes de dégénérescence observés chez S. amica apparaissent complexes. Il semble qu'il y ait deux types de sarcolyse apparemment distincts, dont l'un affecterait non seulement les cellules de type souche, mais encore les cellules en voie d'évolution. Dans ce cas, la dégénérescence se caractérise par l'apparition d'une substance homogène granuleuse et la perte précoce des filaments.

L'évolution vers la formation des fibres stoloniales et, plus rarement, des sarcolytes serait déterminée par des modifications hormonales du milieu intérieur de l'Annélide au moment de l'épitoque ou de la stolonisation.

TROISIEME PARTIE

EVOLUTION DE LA MUSCULATURE LONGITUDINALE ET
PARAPODIALE AU COURS DE L'EPITOQUIE CHEZ N. IRRORATA.



Nous venons de décrire les transformations de la musculature longitudinale chez S. amica. Cette musculature constitue la plus grande partie du tissu contractile du Syllis. Il en est de même chez les Néréidiens. Toutefois, dans cette famille, d'autres muscles, du type hétéronéréidien, acquièrent un développement assez considérable au cours de l'épitoque : ce sont les fibres parapodiales dorsales et ventrales. De plus, il apparaît, au niveau de l'axe médiodorsal des Nereis épitoques, une bandelette musculaire longitudinale, de structure très particulière, absente chez les Syllidiens : la néoformation dorsale. Nous envisagerons donc successivement : l'évolution de la musculature longitudinale, la néoformation dorsale, enfin les muscles parapodiaux hétéronéréidiens.

CHAPITRE VI

EVOLUTION DES MUSCLES LONGITUDINAUX

INTRODUCTION

CLAPAREDE (1870) a constaté pour la première fois, chez Platynereis dumerilii, une différence dans l'aspect des fibres musculaires entre la Nereis atoque et l'Heteronereis. Il apparaît, dans l'axe des fibres hétéronéréidiennes, une substance granuleuse axiale. Par la suite, FAUVEL (1912) et DE SAINT JOSEPH (1898), confirmèrent les observations de CLAPAREDE. Mais, c'est CHARRIER (1920) qui, le premier, fit une étude approfondie des transformations de la musculature au cours de l'épitoque chez Nereis fucata. La principale conclusion de son travail réside dans l'affirmation que les fibres néréidiennes se différencient pour donner naissance aux nouvelles fibres hétéronéréidiennes à axe granuleux. DEHORNE (1922 a et b) et A. PRENANT (1929) se sont surtout attachés à décrire la destruction musculaire que CHARRIER n'avait pas observée. Enfin, DEFRETIN (1949), par l'utilisation de nombreuses techniques cytologiques et cytochimiques, a précisé d'une manière beaucoup plus probante l'ensemble des transformations musculaires chez plusieurs espèces de Néréidiens. Il a surtout confirmé l'hypothèse de la différenciation et de la redifférenciation des fibres longitudinales au cours de l'épitoque.

Il s'avérait donc intéressant de reprendre l'étude de cette métamorphose musculaire à l'aide de la microscopie électronique afin de savoir, d'une part, s'il s'agit bien d'une dédifférenciation et, d'autre part, de connaître d'une façon beaucoup plus précise les modalités de l'évolution musculaire.

Nous avons utilisé l'espèce Nereis irrorata en épitoque naturelle (septembre X HERPIN (1925), DEFRETIN (1949), DURCHON (1952)) et surtout expérimentale, selon la technique mise au point par DURCHON (1952), consistant en une ablation élective du prostomium. Nous signalerons immédiatement que nous n'avons pas observé de différences essentielles entre les deux types d'épitoque, ni entre les deux sexes. L'évolution musculaire comme celle des autres tissus, est seulement un peu plus lente chez les femelles.

OBSERVATIONS

Nous exposerons successivement les observations faites sur la dédifférenciation et la redifférenciation, puis sur la dégénérescence. Ces deux processus seront discutés en même temps.

A - L'ÉVOLUTION VERS LA FORMATION DES FIBRES HÉTÉRONÉREIDIENNES

Chez N. irrorata, nous avons scindé l'épitoque en plusieurs stades, afin de mieux suivre l'évolution d'ensemble d'un faisceau musculaire longitudinal. Nous nous sommes référés à la division préconisée par DURCHON (1952), et basée sur la morphologie des segments et des parapodes. Évidemment, les transformations se manifestent dans la région qui deviendra hétéronéréidienne, du dix-neuvième segment au pygidium. La partie antérieure reste néréidienne et les muscles n'évoluent pas.

Stade 0 - Il s'étend du moment de l'ablation du prostomium à l'apparition de la première modification externe, pour l'épitoque expérimentale tout au moins ; il correspond au stade atoque.

Stade 1 - Il est caractérisé par un tassement des segments sétigères et la prolifération des capillaires sanguins, au niveau des parapodes. Dès le début de ce stade, les muscles obliques hétéronéréidiens sont en évolution. Les spermatocytes forment de nombreux "amas muriformes".

Stade 2 - Des lamelles parapodiales apparaissent. Les spermatides se transforment en spermatozoïdes. Nous avons éprouvé le besoin de subdiviser ce stade en deux : 2a, qui correspond à l'apparition des ébauches lamellaires et 2b, durant lequel les bourgeons se sont développés en lamelles parapodiales.

Stade 3 - Les soies natatoires se développent et deviennent externes.

Stade 4 - Les soies néréidiennes sont toutes tombées.

Ces deux derniers stades correspondent aux individus épitoques.

Après avoir donné un bref rappel de la disposition et de la structure des fibres chez les Nereis atoques, nous envisagerons successivement : l'histologie de l'évolution musculaire, les résultats obtenus après injection de leucine tritiée, la structure des fibres isolées appartenant à des individus préépitoques, l'aspect général de la métamorphose musculaire en microscopie électronique, enfin la description ultrastructurale de l'évolution de chaque élément ou organite cytoplasmique.

I - BREF RAPPEL DE LA DISPOSITION ET DE LA STRUCTURE DES FIBRES DANS LES NEREIS IMMATURES

Les fibres constituent deux faisceaux dorsaux et deux ventraux d'une épaisseur beaucoup plus importante que chez S. amica, en raison du nombre élevé de couches cellulaires. En outre, les faisceaux ventraux présentent chacun un double repli très développé.

Nous avons vu que les sections des fibres les plus externes étaient les plus fines, comme chez S. amica. Sans aller jusqu'à dire qu'elles constituent une assise génératrice, comme A. PRENANT (1929) l'affirmait, nous considérons que ces fibres représentent pour la plupart des éléments jeunes, destinés à remplacer les cellules plus âgées des couches sous-jacentes.

Quant à la structure des fibres néréidiennes, nous avons vu qu'elle se caractérisait essentiellement par la prédominance du matériel contractile. En section transversale, on distingue seulement une ou deux mitochondries dans le bord coelomique ou interne et parfois une ou deux mitochondries dans l'axe de la fibre.

II - ETUDE DE L'EVOLUTION MUSCULAIRE EN MICROSCOPIE OPTIQUE

Le très important travail de DEFRETIN (1949), fournit de nombreuses figures sur la différenciation et la redifférenciation des fibres longitudinales chez diverses espèces de Néréidiens. Il ne nous semble donc pas utile ici de donner une description très détaillée des divers aspects cytologiques des fibres. Nous insisterons seulement sur les stades évolutifs que nous jugeons essentiels pour la compréhension des phénomènes généraux de la métamorphose musculaire. Nous comparerons nos observations et interprétations à celles de DEFRETIN dans la discussion de ce chapitre.



- Stade 1 - Dans le muscle longitudinal, il n'est pas possible de déceler un changement de structure au sein des fibres. Mais, comme nous le verrons ultérieurement, les muscles parapodiaux hétéronéréidiens sont déjà bien développés à la fin de ce stade.

- Stade 2a- Apparition des protubérances à l'origine des lamelles.

La périphérie, sous épidermique, des faisceaux longitudinaux dorsaux et ventraux présente des changements importants. Sur des coupes transversales de segments postérieurs, traitées par la technique de Volkonsky, on distingue une coloration fuchsinophile intense dans la partie tout à fait périphérique des faisceaux. La largeur de la zone fortement colorée est d'environ 10 à 15 μ . Cette zone s'étend jusqu'au voisinage des extrémités axiales et latérales des faisceaux.

L'examen de coupes semi-fines, traitées au bleu de toluidine révèle deux transformations dans les fibres musculaires appartenant aux deux ou trois couches les plus externes. Les unes renferment des granulations fortement colorées dans leur région axiale, les autres montrent une dilatation assez forte de leur bord interne, coelomique (Pl. 64, fig. b). Le noyau de ces cellules musculaires s'est accru et renferme un volumineux nucléole.

Stade 2b- Les lamelles sont bien formées.

Après coloration par la technique de Volkonsky, la fuchsinophilie n'est plus seulement observée dans la zone périphérique mais aussi dans des régions plus internes. Plus la Nereis est proche de l'épitoque, plus la coloration s'étend vers l'intérieur du faisceau. Sur coupes semi-fines, on constate des faits similaires. Les fibres à bord coelomique hypertrophié et à axe granuleux se répartissent dans les couches plus profondes (Pl. 64, figs a, c et d). Le plus souvent, le cytoplasme du bord coelomique hypertrophié est légèrement coloré dans sa totalité (Pl. 64, fig. a) ou renferme des plages de fines granulations (Pl. 64, fig. c). L'utilisation de techniques de mise en évidence du glycogène (P.A.S. dimedon principalement) montre qu'il s'agit d'une accumulation de ce glucide, principalement à l'intérieur du cytoplasme du bord coelomique dilaté. Nous ferons cependant remarquer que toutes les portions internes hypertrophiées ne sont pas électivement colorées. Dans ce cas, comme nous le verrons en microscopie électronique, le fixateur a provoqué une accentuation de la dilatation et le glycogène est localisé dans une partie seulement de celle-ci.

Dans d'autres fibres on distingue divers stades d'envahissement mitochondrial de l'axe cellulaire. Des fibres contiennent entre leurs deux couches de fibrilles des granulations plus ou moins séparées les unes des autres (Pl. 64 figs c et d). Certaines fibres renferment un véritable alignement de mitochondries le long de leur axe (Pl. 64, figs c et d). D'autres enfin présentent une séparation ainsi qu'un amincissement corrélatif de leurs deux lamelles myofibrillaires. Leur région axiale contient plusieurs rangées de granulations mitochondriales. Mais ce type hétéronérien de cellules est encore rare, tout au moins dans les couches médianes et internes. Parmi toutes ces cellules, il subsiste encore quelques fibres d'aspect nérien, souvent de plus grande taille et ne renfermant qu'une ou deux granulations axiales. Par contre, toutes les fibres internes sont de type atoque. Le volumineux noyau des fibres en transformation passe dans la protubérance du bord interne pour devenir latéral (Pl. 64, fig. c).

- Stade 3 -

L'ensemble des aspects décrits précédemment se retrouve dans toutes les couches cellulaires, y compris les plus internes. Le nombre de fibres hétéronériennes typiques s'accroît surtout dans le milieu des faisceaux (Pl. 64, figs e et f). Plusieurs fibres hétéronériennes présentent toujours un bord coelomique dilaté rempli de granulations mitochondriales. Le plus souvent, les fibres "épitoques" sont moins larges que les fibres en cours d'évolution. Parmi les fibres les plus internes, se trouvent de nombreuses sections de capillaires sanguins. Les noyaux des cellules de la paroi des capillaires se distinguent de ceux des fibres en transformation par leurs plus faibles dimensions, et leur nucléole plus petit.

- Stade 4 -

Presque toutes les fibres sont hétéronériennes, comparables à celles décrites dans la première partie (Pl. 3, fig. a).

Pour l'ensemble de ces stades, il est à souligner que le double repli ventral renferme toujours des fibres nériennes. Mais, comme DEFRETIN l'a montré, surtout dans les métamères les plus postérieurs, une réduction importante par suite de la dégénérescence des cellules qui le composent.

En conclusion, les faits essentiels consistent en une transformation cellulaire qui se fait progressivement de l'extérieur des faisceaux vers l'intérieur, en direction centripète. A un stade intermédiaire d'évolution, il est donc possible de rencontrer tous les aspects de l'évolution des fibres. On assiste d'abord à une hypertrophie plus ou moins importante du bord coelomique des fibres,

dans laquelle s'accumule du glycogène, ensuite à un envahissement de l'axe cellulaire par les mitochondries. Celles-ci semblent envahir progressivement tout l'axe des fibres, puis s'accumulent en une ou deux rangées, écartent les deux lamelles fibrillaires qui subissent corrélativement une diminution de leur épaisseur.

III - INJECTION DE LEUCINE TRITIÉE.

En collaboration avec DHAINAUT, nous avons réalisé des injections de leucine tritiée chez des N. pelagica, à divers moments de l'épitoque (St.1, 2 et 3). Les vers ont été fixés 24 h. après l'injection.

- Stade 1 - Il n'est pas possible de déceler un marquage dans les faisceaux longitudinaux. Par contre, au niveau des muscles parapodiaux dorsaux et ventraux, de nombreux grains d'argent sont visibles.
- Stade 2 - Un marquage apparaît dans les faisceaux longitudinaux, au niveau de leur portion externe, sur une largeur d'environ 10 μ (Pl. 52, figs e et f).
- Stade 3 - Le marquage s'étend vers l'intérieur de chacun des faisceaux ventraux et dorsaux. L'accumulation de grains s'observe sur la moitié environ de la largeur des faisceaux, c'est-à-dire sur 40 à 50 μ environ (Pl. 52, fig. g). Les couches les plus internes et les doubles replis ventraux ne sont pas marqués.

Les résultats obtenus avec la leucine tritiée corroborent donc les observations faites sur coupes semi-fines. La transformation se réalise depuis la face externe des faisceaux longitudinaux jusqu'aux parties internes coelomiques.

Bien qu'il s'agisse d'une espèce différente, les résultats obtenus chez N. pelagica avec la leucine tritiée sont applicables à N. irrorata, car nous avons constaté une évolution tout à fait similaire dans les deux espèces.

IV - FIBRES ISOLEES DE N. IRRORATA PREEPITOQUES.

Nous avons pu, grâce à l'extraction par la glycérine, isoler des fibres d'individus des stades 2 et 3. Cette technique nous a permis d'obtenir des fibres présentant des aspects indiscutables d'évolution hétéronéréidienne. Les résultats sont beaucoup plus nets que ceux obtenus chez S. amica (Pl. 65, figs a et b), en raison de l'abondance des cellules musculaires.

Les premiers signes d'une transformation cellulaire se marquent par un alignement, dans l'axe des fibres, d'un certain nombre de corpuscules (Pl. 65, figs c et d) et de très petites granulations situées très vraisemblablement entre les deux couches de fibrilles (Pl. 65, figs c et d). En dehors de ces caractéristiques, les fibres ont l'aspect néridien, avec un noyau axial et ^{des} fibrilles très nettes. Si d'autres fibres contiennent des granulations cylindriques plus ou moins éparses (Pl. 65, fig. f), la plupart renferment un alignement axial de corpuscules, qui correspondent très certainement aux mitochondries (Pl. 65, fig. e, g et h). Dans des cellules musculaires à des stades plus avancés, on distingue des rangées de mitochondries (Pl. 66, figs c et d) en une ou plusieurs files non seulement dans l'axe, mais encore sur l'un des bords (Pl. 66, figs e et f). Ces mitochondries en position latérale sont très vraisemblablement celles du bord interne, coelomique. Enfin, des fibres se caractérisent par une accumulation de granulations sur toute leur longueur et la striation devient plus difficile à mettre en évidence (Pl. 66, fig. g). Elles ont une structure très proche des fibres hétéronéridiennes.

Quant au noyau, il semble subir un changement de position, comme on pouvait le supposer d'après les coupes histologiques, et une augmentation de son volume. Ainsi, sur la figure a de la Planche 66, le noyau a une forme en S, dont la moitié se trouve à l'extérieur de la fibre. Cette image fait penser à une extrusion du noyau hors de la zone axiale où il se trouvait primitivement. Dans d'autres cas, plus fréquents, le noyau, quoiqu'interne, est proche du bord et est entouré par de nombreuses granulations mitochondriales. (Pl. 66, fig. b) Finalement, le noyau, à nucléoles volumineux, se situe au sein d'un sarcoplasme qui forme hernie à la surface de la fibre (Pl. 66, fig. v).

L'ensemble des aspects structuraux de fibres isolées correspond bien à ce que nous avons observé sur coupes histologiques.

V - ASPECT GENERAL DE L'EVOLUTION MUSCULAIRE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE.

Nous ne décrivons ici que la transformation d'ensemble des faisceaux longitudinaux sans insister sur l'évolution particulière de chacun des éléments cellulaires. Nous nous baserons donc sur les différents stades morphologiques de l'épitoque.

- Stade 2a - Comme en microscopie optique, les premières manifestations apparaissent au sein de quelques fibres des couches les plus externes. On peut compter, suivant les cellules, de quatre à dix sections transversales de mitochondries, au lieu d'une ou deux, et des granulations de glycogène dans les espaces intermitochondriaux (Pl. 67, fig. a). Quelques rares fibres renferment des mitochondries dans leur axe, entre les deux couches de myofibrilles (Pl. 67, fig. a). Le noyau des cellules en évolution s'élargit et acquiert un gros nucléole. Le sarcoplasme périnucléaire se remplit de granulations de glycogène.

A ce stade, très précoce, on assiste à une évolution des seules fibres externes, de faibles dimensions, des faisceaux longitudinaux. Toutes les autres fibres restent inchangées. Comme chez S. amica, les premières transformations se manifestent par un accroissement du nombre des mitochondries, une accumulation de glycogène, principalement dans le sarcoplasme du bord coelomique et une augmentation des volumes nucléaire et nucléolaire.

- Stade 2b - Dans la zone externe, la plupart des fibres sont en cours de transformation. Certaines présentent un bord coelomique dilaté, sans filaments, mais renfermant quelques mitochondries et surtout de nombreuses granulations de glycogène (Pl. 67, fig. b). D'autres montrent des mitochondries alignées dans leur axe (Pl. 67, fig. b).

Vers la région médiane des faisceaux, un grand nombre de fibres présentent un bord coelomique nettement hypertrophié, contenant quelques mitochondries et une grande quantité de glycogène (Pl. 68 ; Pl. 69). La dilatation du bord interne se produit au détriment de toute la région située vers le bord coelomique de la fibre. Les myofilaments disparaissent et corrélativement se produit une dilatation de cette portion. Quelques fibres présentent, à la base de leur "hypertrophie coelomique", un écartement prononcé des deux couches de myofibrilles qui, sans doute, disparaissent ensuite à ce niveau (Pl. 68). Cependant, des dilatations sans présence de glycogène se rencontrent chez certaines fibres (Pl. 68). Certes, l'action du fixateur est vraisemblablement en cause puisque ces sortes d'expansions apparaissent vides de toute substance ou organites. Néanmoins, elles témoignent d'un début de transformation cellulaire, puisqu'elles ne s'observent que dans des muscles de Nereis préépitoques. Le fixateur ne ferait qu'exagérer l'ébauche de dilatation réelle du bord coelomique.

D'autres fibres renferment aussi des mitochondries qui s'insinuent entre les deux couches de myofibrilles (Pl. 69). On compte d'abord trois ou quatre, puis dix à quinze sections de mitochondries, dans l'axe des fibres. Ces organites s'alignent alors régulièrement dans la medulla. Ils sont parfois entourés de granulations de glycogène (Pl. 69).

- Stade 3 - Dans la région médiane, parmi quelques fibres restées "atoques", se trouvent un grand nombre de fibres à bord interne hypertrophié, rempli d'une grande quantité de glycogène et de quelques mitochondries (Pl. 70). La plupart d'entre elles se situent dans l'axe où elles s'alignent entre les couches de myofibrilles (Pl. 71, figs a et b).

Dans le sarcoplasme périnucléaire, le glycogène et le chondriome sont très abondants (Pl. 70 et 71, fig. a). Si dans les couches externes, toutes les fibres sont en cours de transformation (Pl. 71, fig. a), il n'en est pas de même dans les strates internes, où subsistent encore des fibres "atoques" plus larges et plus épaisses que les fibres "épitoques" (Pl. 71, fig. b).

- Stade 4 - Presque toutes les fibres sont de type épitoque et ont l'aspect décrit dans la première partie (Pl. 72). En particulier, les filaments de myosine ont un calibre plus faible. De nombreuses fibres possèdent un bord coelomique dilaté (Pl. 72). Mais, cette hypertrophie apparaît plus ou moins forte selon les fibres. Un certain nombre d'entre elles ne présentent d'ailleurs pas de hernie. Le cytoplasme de leur bord coelomique ne renferme alors aucun myofilament mais plusieurs mitochondries (Pl. 72). Le noyau se situe dans une expansion cytoplasmique remplie de mitochondries (Pl. 72).

En conclusion, les observations au microscope électronique confirment celles faites en microscopie optique. Les premières cellules en transformation sont situées dans les couches les plus externes des faisceaux. Pendant une période intermédiaire de préépitoque, on rencontre, au sein des faisceaux, toutes les phases évolutives des fibres. Les myofilaments du sarcoplasme du bord coelomique, disparaissent dans une portion plus ou moins étendue des fibres. Un nombre assez élevé d'entre elles subissent, à ce niveau, une hypertrophie plus ou moins considérable. Dans ce bord dilaté, s'accumulent des granulations de glycogène du type β et α , et plusieurs mitochondries. Celles-ci envahissent l'axe des fibres où elles s'accumulent en écartant les deux couches de myofibrilles qui subissent un amincissement corrélatif. Le noyau augmente de taille ainsi que le ou les nucléoles et, dans tous les cas, il est situé en position latérale.

VI - EVOLUTION DES STRUCTURES CELLULAIRES

1 - Les filaments de myosine et d'actine

Comme nous l'avions remarqué chez S. amica, la disparition se réalise apparemment sans laisser de traces. Il n'y a ni formation de cytolysomes ni apparition d'une substance homogène, granuleuse, comme dans la véritable dégénérescence. Il ne semble se produire qu'une légère désorganisation préalable des bandes A et I les plus proches du bord hypertrophié (Pl. 74, fig. a). Dans certaines fibres, les bandes A et I des deux couches s'écartent à la base de la

dilatation coelomique (Pl. 68). On remarque parfois qu'elles s'amincissent au fur et à mesure de leur rapprochement du sommet du bord interne (Pl. 68 et 73, fig. b). Sans nul doute, on assiste à la disparition des fibrilles les plus proches du bord coelomique. L'expansion interne se réalise très vraisemblablement aux dépens d'une importante portion de la fibre. Sur une coupe transversale, on observe d'ailleurs tous les intermédiaires entre les fibres à faible dilatation et celles à hypertrophie très développée (Pl. 68 ; Pl. 73, fig. b). Ces dernières présentent une portion contractile beaucoup moins large que les premières. Les filaments disparaissent depuis le bord coelomique jusqu'à la région médiane de la fibre. En même temps toute cette portion devenue non contractile se dilate et se charge de glycogène. On assiste donc à une dédifférenciation totale de la portion coelomique de la fibre.

Nous avons également vu que les mitochondries envahissent l'axe des fibres. Or, au début de cette pénétration mitochondriale, il semble qu'il y ait seulement écartement des deux couches de fibrilles (Pl. 69). Ensuite, les filaments des faces internes des bandes A et I disparaissent puisque l'épaisseur des couches latérales de ces bandes diminue (Pl. 74, fig. a). Les filaments épais ont toujours un diamètre voisin de 300 Å et ne diffèrent pas des filaments des fibres néridiennes (Pl. 74, fig. a). Cependant, à un stade plus avancé de l'évolution, lorsque les fibres acquièrent la structure hétéronéridienne typique, le calibre des filaments épais latéraux diminue pour atteindre la valeur de 200 à 230 Å (Pl. 74, fig. b). Cette réduction de diamètre a également été constatée chez S. amica.

Nous n'avons cependant pas décelé de phases de myofibrillogenèse typique au sein de ces filaments périphériques, à l'inverse des muscles parapodiaux hétéronéridiens.

2 - Les mitochondries

Elles se multiplient un peu dans le bord interne hypertrophié (Pl. 69), mais surtout dans la zone axiale des fibres (Pl. 69; Pl. 74, figs a et b). Au début, elles se situent en certains endroits de la région médullaire (Pl. 69), puis elles envahissent toute la zone axiale (Pl. 72). Leur taille ne s'accroît pas durant toutes ces phases de l'épitoquie. Elles augmentent seulement de volume chez des Heteronereis sénescences (première partie).

Si le plus souvent elles sont allongées (Pl. 74, fig. b) et apparaissent arrondies en coupe transversale, elles peuvent parfois avoir une morphologie très particulière. Certaines ont une forme en haltère. Leur nature mitochondriale ne fait aucun doute car les extrémités dilatées présentent des crêtes internes (Pl. 75, figs a et d). La portion rétrécie de ces mitochondries est représentée par la paroi, sans crêtes internes, délimitant une fine matrice assez dense. D'autres éléments, vraisemblablement de nature mitochondriale, ont

une forme annulaire. Ils ont la même structure que les portions rétrécies des mitochondries en haltère. On distingue un anneau délimité par une paroi à deux membranes. Les deux membranes internes laissent un mince espace entre elles (Pl. 75, fig. a) ou sont parfois presque accolées (Pl. 75, fig. c). D'autres éléments annulaires se dilatent par endroits et des crêtes sont émises par la membrane interne (Pl. 75, fig. b). Enfin, cet anneau peut représenter la portion d'une véritable mitochondrie (Pl. 76, fig. a). Il n'est pas impossible que ces parties mitochondriales annulaires, aplaties et sans crêtes, donnent naissance à des structures mitochondriales typiques, car dans des fibres de vers épitoques, il n'est pas rare de rencontrer des mitochondries formant un ou plusieurs anneaux (Pl. 76, fig. b). Chez N. irrorata, il semble donc exister un certain polymorphisme mitochondrial sur lequel nous reviendrons dans la discussion.

3 - Le glycogène

Nous avons utilisé la technique de SELIGMAN modifiée par THIERY pour l'étude de l'accumulation du glycogène. Ce polysaccharide se forme principalement dans le bord interne, dilaté, des fibres musculaires. Or, c'est bien dans ces zones que l'on détecte la présence des premières particules de glycogène. Dans un sarcoplasme, au sein duquel se trouvent quelques mitochondries, la coloration de THIERY met en évidence des petites chaînettes de particules de 80 à 100 Å de diamètre (Pl. 77, fig. a). A un stade plus avancé, dans ces mêmes régions, on trouve des chaînettes dichotomiques de particules de largeur nettement supérieure (160 à 200 Å) comparables aux granulations β selon DROCHMANS (1962). Ces particules, comme chez Syllis, présentent une sorte de trame sous-jacente peu colorée, à l'intérieur de laquelle on observe des sous-unités particulières de 40 Å de diamètre (Pl. 77, fig. b). Quelques rosettes ou granulations α sont également présentes et sont le plus souvent entourées par des chaînettes de particules β ramifiées (Pl. 77, fig. b). Il n'est pas possible de distinguer des ribosomes parmi ces chaînettes de particules de glycogène. Au même stade d'évolution, dans d'autres fibres, on peut mettre en évidence des granulations dans l'axe, sous le sarcolemme et parfois dans le bord externe des fibres. En certains endroits, le glycogène s'accumule sous forme β , mais en d'autres sous forme α . Dans la médulla de certaines cellules musculaires, le glycogène est très abondant aussi et apparaît sous forme β dans les espaces intermitochondriaux (Pl. 79, fig. a). Mais quelques particules peuvent se rencontrer à l'intérieur même des bandes A et I, entre les filaments ou au voisinage des éléments Z et du R.S.

Dans le cytoplasme périnucléaire, il est possible de distinguer à la fois du glycogène α et β (Pl. 78, figs a et b). Mais, les particules sont mélangées à des granulations non colorées correspondant certainement aux ribosomes puisque certaines d'entre elles sont associées aux membranes du reticulum endoplasmique (Pl. 78, fig. b). Comme nous l'avons aussi constaté chez S. amica, le glycogène ne semble mélangé aux ribosomes que dans la région périnucléaire.

Dans des fibres à un degré d'évolution plus avancé, les particules β semblent laisser place aux rosettes, au niveau des bords internes dilatés (Pl. 79, figs b et c). Selon les fibres, l'accumulation est plus ou moins importante (Pl. 79, fig. b). Autour des rosettes, de 600 à 800 Å, rayonnent un certain nombre de chaînettes de particules β de 180 Å. Il est encore possible de distinguer à l'intérieur des rosettes des sous-unités de 40 Å environ. Cependant, leur nombre est très élevé et confère aux rosettes une densité aux électrons beaucoup plus forte (Pl. 79, fig. c).

Enfin, dans des cellules hétéronéréidiennes, ce sont principalement les particules α qui remplissent les espaces intermitochondriaux (Pl. 80, figs a et b). Mais quelques fibres "épitoques" renferment encore du glycogène β . A l'inverse de S. amica, nous n'avons malheureusement pu réaliser de coloration sur des Heteronereis suffisamment sénescents et il ne nous a donc pas été possible d'obtenir des images d'une éventuelle dégradation de ce polysaccharide.

4 - Autres inclusions ou organites cytoplasmiques

Chez certaines N. irrorata en épitoque, des fibres musculaires contiennent de volumineuses inclusions, comparables à celles rencontrées chez S. amica, et vraisemblablement de nature lipidique (Pl. 81). Il nous semble à ce propos intéressant de rappeler que DEFRETIN (1949) avait mis en évidence des granules sphériques de nature lipidique dans le sarcoplasme de fibres hétéronéréidiennes, par la coloration au bleu B.Z.L., sur coupes à congélation de pièces fixées au formol à 10%.

Dans la région périnucléaire, plusieurs dictyosomes apparaissent et émettent de nombreuses vésicules (Pl. 76, fig. c). Dans cette même zone, certaines fibres présentent un réseau de membranes appartenant au reticulum endoplasmique granulaire. Mais, les cavités délimitées par les membranes du reticulum contiennent une substance relativement dense (Pl. 76, fig. d).

Comme nous l'avons déjà décrit dans la première partie, quelques fibres contiennent des amas de tubules qui correspondent certainement à une sorte de prolifération anarchique du reticulum.

5 . Le noyau

Nous avons vu que le noyau de la fibre en évolution était volumineux et avait toujours une position latérale. Pour les petites cellules musculaires des assises externes, le noyau est latéral à l'origine. Par contre, de nombreuses fibres plus internes ont un noyau axial. Nous avons supposé, d'après les observations en microscopie optique et sur fibres isolées, que le noyau migrait en position latérale lors de la transformation de la musculature. En microscopie électronique, nous avons retrouvé les diverses étapes de cette migration nucléaire. Celle-ci se réalise en partie grâce à la disparition des fibrilles situées dans la portion coelomique de la fibre (Pl. 82, fig. a). L'accentuation de la destruction fibrillaire se poursuit jusqu'au voisinage du noyau (Pl. 82, fig. b). Celui-ci, libéré des deux couches contractiles qui le surmontaient, peut alors passer très facilement dans la partie dilatée de la région coelomique et devient latéral.

Quant au nombre de noyaux dans la musculature longitudinale, il semble qu'il soit en légère augmentation, mais à un degré moindre que chez S. amica. On peut aussi rencontrer deux noyaux côte à côte, mais appartenant chacun à une cellule distincte. Ces observations, comparables à celles faites chez S. amica, suggèrent la possibilité de divisions. Cependant, nous n'avons jamais mis en évidence de figures de mitose dans les faisceaux musculaires longitudinaux.

Si des divisions directes ou indirectes ont eu lieu, elles sont peu nombreuses. La quantité de noyaux n'apparaît élevée que dans des muscles longitudinaux appartenant à des segments postérieurs régénérés. Des Nereis ont été amputées de plusieurs métamères caudaux, au moment de leur décérébration. Ces vers opérés régénèrent quelques segments qui sont capables d'évoluer, comme les métamères plus anciens. Des sections transversales de segments régénérés, en microscopie optique, font apparaître trois caractéristiques : d'une part, la largeur des faisceaux dorsaux ou ventraux est extrêmement réduite, d'autre part les fibres sont de petite taille, enfin le nombre de noyaux est très élevé (Pl. 81, figs a et b). Ces fibres musculaires sont capables d'évoluer au cours dell'épitoquie (Pl. 81, fig. c). Il faut insister sur le fait qu'une telle quantité de noyaux n'a été observée que dans des régénérats et non dans des segments anciens en transformation.

B3 - L'EVOLUTION VERS LA DEGENERESCENCE

Chez S. amica, nous avons décrit deux types distincts de destruction musculaire. Chez N. irrorata, la sarcolyse peut se dérouler aussi suivant deux processus comparables à ceux de S. amica.

I - LA DESTRUCTION AVEC PERSISTANCE DES FILAMENTS

Il s'agit du type décrit par DEHORNE et DEFRETTIN (1933) chez diverses espèces de Nereis. Les fibres se tronçonnent en fragments plus ou moins fusiformes renfermant des fibrilles jusqu'au moment de leur digestion par des éléocytes. Ils se rencontrent parfois chez des Nereis immatures, mais leur nombre s'accroît fortement au moment de la maturation génitale. Comme DEHORNE (1922 a et b) l'a bien observé chez diverses espèces, la fragmentation en sarcolytes des fibres s'intensifie avant tout prélude aux modifications externes, lorsque les produits génitaux commencent à se développer.

En microscopie électronique, nous avons trouvé des masses musculaires assimilables aux sarcolytes décrits en microscopie optique. Les filaments subissent une désorganisation très nette et l'alternance entre bandes A et I disparaît (Pl. 83, figs a et b). Les éléments Z et du R.S. subsistent en certains points, mais sont épars à travers tout le sarcolyte. Les filaments épais se concentrent en divers endroits (Pl. 83, fig. a). En coupe longitudinale, il apparaît parfois une pseudostriation transversale (Pl. 83, fig. b). Dans certaines régions, les filaments épais sont accumulés en faisceaux, en d'autres, sans disparaître, ils sont néanmoins faiblement colorés (Pl. 83, fig. b).

Mais, dans tous les cas, les filaments myosiniques subsistent en partie. Souvent des éléocytes sont accolés à la paroi des sarcolytes. Dans le coelome, les éléocytes contiennent des fragments musculaires dont l'intérieur est encore rempli de filaments (Pl. 94, fig. d).

II - LA SARCOLYSE AVEC DISPARITION PRECOCE DES FILAMENTS

1 - Description des processus dégénératifs.

Nous avons vu, chez S. amica, que cette involution musculaire affectait les cellules du type souche et stoloniales, mais seulement chez les individus en stolonisation. Il en est de même pour les muscles de N. irrorata, où nous avons retrouvé également une dégénérescence comparable des deux types de fibres, au moment de l'épitoque. Toutefois, à l'inverse de S. amica, ce mode de dégénérescence semble beaucoup moins fréquent, la plupart des cellules musculaires

en involution se fragmentent en sarcolytes fusiformes à l'intérieur desquels persistent de nombreux filaments. La seconde modalité dégénérative, plus rare, se caractérise par l'apparition, au sein du matériel contractile, d'une substance homogène granuleuse (Pl. 84, figs a et b). Le nombre de filaments myosiniques diminue considérablement (Pl. 84, fig. a). Puis l'alternance entre bandes A et I disparaît ainsi que les éléments Z et du R.S. (Pl. 85, fig. a). A la fin de l'involution, les cellules du type néréidien ne sont plus constituées que par un sarcoplasme homogène, granuleux, à l'intérieur duquel sont disséminés, à la périphérie, des restes du reticulum et des filaments résiduels (Pl. 85, fig. b). Parfois, vers l'un des bords de la fibre, se trouve du glycogène et une mitochondrie (Pl. 85, fig. b). Quelques vacuoles, localisées surtout sous le sarcolemme, proviennent sans doute des anciennes vésicules sous-sarcolemmiques (Pl. 85, fig. b). Les cellules hétéronéréidiennes renferment cette substance homogène principalement à la périphérie et des vacuoles sous le sarcolemme et au voisinage des mitochondries (Pl. 84, fig. c). Le glycogène subsiste également à ce stade. Dans le sarcoplasme périnucléaire des fibres hétéronéréidiennes en dégénérescence, on distingue quelques vésicules gonflées et des mitochondries, ainsi que du glycogène en abondance (Pl. 86, fig. a). Le noyau a subi une transformation assez nette ; il contient, comme chez S. amica, un réseau de fines fibrilles (Pl. 86, fig. a).

2 - Emplacement des cellules en dégénérescence

A l'inverse du premier mode d'involution, qui affecte les fibres longitudinales, circulaires et parapodiales, ce deuxième type de dégénérescence ne semble atteindre que les cellules des faisceaux longitudinaux. Pour la plupart, elles appartiennent aux couches les plus internes de ces faisceaux. On peut observer, en microscopie photonique, chez des Nereis en cours d'épitoque, de telles fibres, qui se dilatent, s'épaississent fortement et prennent parfois une forme de S (Pl. 86, fig. b). Souvent elles perdent leur colorabilité, deviennent amphophiles (DEFRETIN; 1949). DEFRETIN les avait observées du côté de la cavité coelomique, mais les avait interprétées comme des cellules en dédifférenciation. Nous reviendrons sur ce point important dans la discussion.

En réalité, ces fibres sont bien en dégénérescence comme le confirme la microscopie électronique. Elles renferment un sarcoplasme relativement homogène (Pl. 86, fig. d) qui, à fort grossissement, se montre constitué de fines granulations très nombreuses, de quelques particules plus denses et plus larges

et de rares vésicules de faible dimension (Pl. 86, figs d et e). Leur noyau est resté axial et est entouré par le cytoplasme granuleux (Pl. 86, fig. c). Certaines de ces fibres dégénérescentes contiennent encore des filaments très désorganisés. Comme DEFRETIN, nous n'avons pas trouvé d'amybocytes ou d'éléocytes à leur contact. Ces fibres ne semblent pas se fragmenter en multiples sarcolytes fusiformes et striés, ni être phagocytées par des éléocytes.

DISCUSSION

L'origine et les principales phases de transformation des fibres de type atoque seront d'abord discutées. Puis l'évolution de chaque organite ou structure cellulaire sera envisagée. Nous comparerons ensuite les processus de dédifférenciation et dégénérescence musculaire chez N. irrorata à ceux de S. amica. Enfin, nos résultats et interprétations seront confrontés à ceux obtenus par DEFRETIN chez diverses espèces de Néréidiens.

• I - ORIGINE ET PRINCIPALES PHASES EVOLUTIVES DES FIBRES HETERONEREIDIENNES

Comme chez S. amica, il est permis de se demander si les fibres hétéronéréidiennes sont toutes néoformées ou si elles proviennent des anciennes fibres néréidiennes.

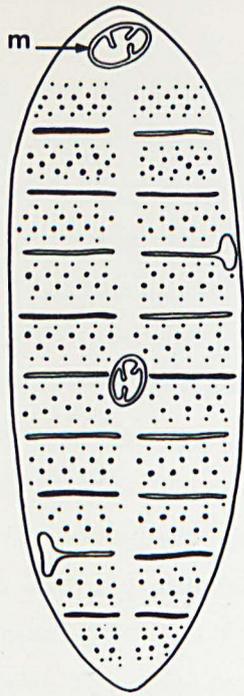
1 - Hypothèse de la formation de novo

Selon cette hypothèse, il devrait être possible de trouver, parmi les fibres, des éléments cellulaires indifférenciés. Or dans la musculature longitudinale de Nereis atokes, on ne rencontre pas de cellules assimilables à des cellules-souches ou myoblastes. De plus, à l'inverse des Syllidiens, il n'existe pas d'épithélium coelomique recouvrant la face interne des faisceaux musculaires. Les seules cellules qui tapissent les faisceaux constituent l'organe cilio-phagocytaire, décrit par A. MEYER (1927, 1929) et qui subsiste jusqu'à la fin de l'épitoque.

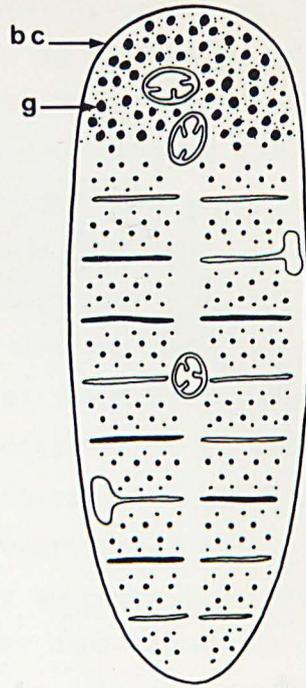
Cependant, des myoblastes pourraient prendre leur origine dans des régions non musculaires et migrer ensuite dans la musculature au moment de l'épitoque. Aucune observation ne vient confirmer cette hypothèse. Les seuls éléments étrangers aux muscles n'apparaissent que vers la fin de l'épitoque, lorsque de nombreux capillaires sanguins et quelques éléocytes s'insinuent entre les fibres déjà transformées. D'autre part, nous avons montré que les premières manifestations évolutives se situaient au niveau de la zone externe, sous-épidermique, des faisceaux. Il serait difficile d'imaginer des éléments cellulaires étrangers s'insinuant jusqu'à la base des faisceaux musculaires. Même si cela était le cas, nous aurions dû rencontrer, dans les strates externes, des cellules d'aspect indifférencié. Tous les éléments sont de nature musculaire et cette éventualité ne peut donc être retenue.

Figure 27 - Schémas des divers stades d'évolution d'une fibre néréidienne en fibre hétéronéréidienne. Sections transversales.

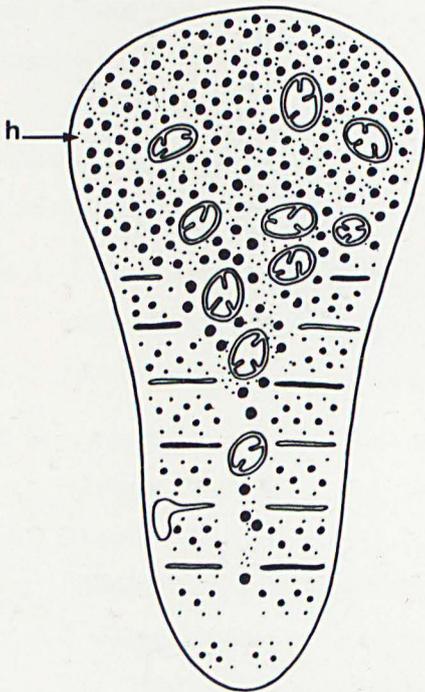
- 1 - Fibre de type atoque, renfermant deux sections de mitochondries (m), l'une dans le sarcoplasme de son bord coelomique, et l'autre dans la région axiale, entre les deux couches de myofibrilles
- 2 - Dédifférenciation localisée au niveau du bord coelomique (b.c)interne. Les filaments ont disparu et ont été remplacés par du glycogène α et β .
- 3 - La dédifférenciation s'étend vers la partie externe de la fibre. Corrélativement, le bord coelomique s'hypertrophie (h). Le nombre de particules de glycogène s'est fortement accru. Le chondriome s'est développé.
- 4 - La quantité de mitochondries a augmenté dans de fortes proportions. Ces organites envahissent toute la région axiale de la fibre. Le glycogène apparaît surtout sous forme α .



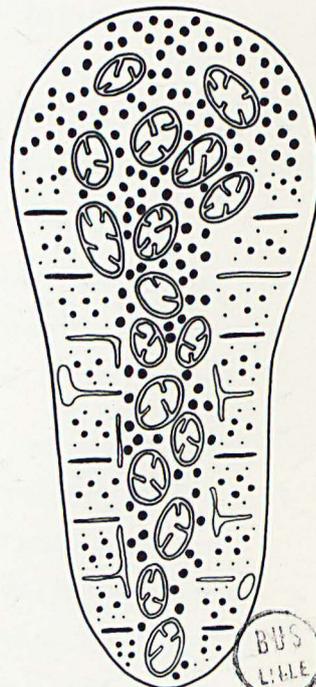
1



2



3



4

BUS
LITTLE

Toutefois, il reste encore une hypothèse à envisager, qui serait intermédiaire entre l'origine de novo et la dédifférenciation. Nous avons en effet montré qu'à partir des strates externes, la métamorphose s'étendait progressivement aux cellules les plus internes. On pourrait donc supposer que seuls les éléments de l'assise externe sont à l'origine de toutes les fibres hétéronéréidiennes. Il ne serait pas interdit de penser a priori que les fibres de petite taille, vraisemblablement jeunes, sous-épidermiques, seraient seules capables de se dédifférencier, et, après de nombreuses mitoses, de donner naissance aux fibres hétéronéréidiennes qui refouleraient peu à peu, vers le coelome, les fibres néréidiennes sus-jacentes. Les résultats obtenus après injection de leucine tritiée, certaines images de microscopie photonique pourraient étayer cette hypothèse. Mais, trop de faits s'y opposent. D'abord le nombre de noyaux devrait augmenter dans de fortes proportions. Or, le seul cas favorable est donné par les régénérats postérieurs en cours d'évolution. L'absence d'une intense sarcolyse des fibres néréidiennes dans toutes les strates médianes et internes est également peu favorable à cette interprétation. Enfin, toutes les observations au microscope électronique prouvent que ce sont les fibres néréidiennes qui se transforment progressivement en direction centripète.

2 - Hypothèse de la formation à partir des fibres néréidiennes

De même que chez S. amica, l'hypothèse de la dédifférenciation des anciennes fibres rend compte de tous les faits observés au cours de l'épitoquie.

Il suffit de reconstituer les phases essentielles de l'évolution des muscles longitudinaux pour constater la réalité de la transformation des fibres néréidiennes en fibres hétéronéréidiennes (Fig. 27).

- Phase 1 - Le bord coelomique, interne, de la fibre atoque se dédifférencie totalement. Le matériel contractile disparaît à ce niveau et fait place à des particules de glycogène, des types α et β (Fig. 27, 2).
- Phase 2 - Le bord coelomique subit très souvent une dilatation assez considérable. Cette large expansion est la résultante d'une part de la disparition du myoplasme dans une importante partie de la fibre (dédifférenciation de toute la région coelomique), d'autre part de l'élargissement corrélatif de cette portion dédifférenciée (Fig. 27, 3). Seule, la moitié de la largeur de la fibre conserve des filaments. La quantité de mitochondries et de glycogène s'accroît. Le

chondriome commence à envahir l'axe de la cellule musculaire.

- Phase 3 - Les mitochondries occupent toute la médulla de la fibre (Fig. 27, 4). L'épaisseur des bandes A et I diminue, ce qui suppose la disparition d'un certain nombre de filaments proches de la zone médullaire. Les filaments de myosine subissent une réduction de diamètre. La dilatation coelomique a tendance à se réduire quelque peu. Il ne faut pas perdre de vue que la largeur des fibres hétéronériennes est nettement plus faible que celle des fibres nériennes (Première partie : Figs 3 et 15). La moyenne de la largeur tombe de 22 à 12 μ (Première Partie ; Tableau 3). La différence est beaucoup plus importante que chez Syllis. Une telle réduction de la largeur ne peut s'expliquer que par la résorption d'une partie de la dilatation coelomique des fibres transformées. Il est très vraisemblable qu'il en est de même pour les extrémités puisque la longueur diminue aussi.

II - EVOLUTION DES DIFFERENTS ORGANITES CELLULAIRES

En raison des nombreuses analogies avec S. amica, nous ne discuterons que des faits particuliers à N. irrorata.

1 - Les myofilaments

La même question se pose quant à l'origine des filaments paramyosiniques, moins larges dans les fibres hétéronériennes. Sont-ils néoformés ou sont-ils issus des anciens après réduction de leur diamètre ? Nous avons montré pour S. amica, que la plupart des arguments étaient en faveur d'une origine à partir des anciens filaments. Chez N. irrorata, il semble qu'il en soit de même, car nous n'avons pas observé d'images correspondant à une myofibrillogenèse, comme dans les muscles parapodiaux néoformés. En particulier, nous n'avons pas vu de microtubules, ni de ribosomes au voisinage des filaments périphériques. S'il existe donc une néoformation filamentaire, celle-ci est extrêmement discrète et se réalise peut-être en même temps que la disparition des anciens filaments. On peut penser que les molécules des filaments nériens serviraient à la synthèse des nouveaux. Un tel processus échapperait d'autant mieux à l'observation que la destruction des anciens filaments semble se faire aussi discrètement. Ainsi, tous les filaments internes, coelomiques, et de la zone axiale disparaissent sans qu'il soit possible de déceler des signes précurseurs de leur dégénérescence. L'éventualité d'une synthèse

filamentaire corticale, corrélative d'une dégradation des anciens, ne peut donc être réellement prouvée par la seule observation au microscope électronique.

2 - Les mitochondries

De nombreuses précisions ont été apportées par l'étude de S. amica aussi ne mentionnerons-nous ici que les observations intéressantes pour le problème de leur genèse et de leur évolution.

Dans les fibres isolées, plusieurs faits méritent une attention particulière. Les mitochondries semblent former au début une seule file, dans l'axe de la fibre (Pl. 65, figs d et g). Evidemment, des sections transversales de telles fibres ne révèlent pas l'existence de ces alignements. Nous avons cependant montré que dans beaucoup de fibres néréidiennes on distinguait, dans la médulla, une, parfois deux sections de mitochondries. A des stades plus avancés, les mitochondries tendent à constituer quelques rangées axiales qui sont séparées les unes des autres et interrompues par endroits (Pl. 65, fig. f), puis de nombreuses files continues et contiguës (Pl. 66, figs d et e). On rencontre également des alignements mitochondriaux au niveau du bord coelomique.

Il semble donc, comme chez S. amica, que les mitochondries sont issues de zones où il en existait primitivement. L'hypothèse de leur division apparaît donc comme la plus vraisemblable. De même que chez S. amica, nous n'avons jamais observé de ciment intermitochondrial.

Chez N. irrorata, la plupart des mitochondries sont allongées et cylindriques, mais nous avons vu qu'il existait aussi quelques mitochondries en haltère et en anneau. Le plus fréquemment, les formes en cupule, en anneau, ont été décrites dans les cellules élaborant des hormones stéroïdes (CHRISTENSEN et CHAPMAN, 1959 ; DE ROBERTIS et SABATINI, 1958 ; ENDERS et LYONS, 1964 ; IDELMAN, 1964 ; BEAULATON, 1968). Des formes mitochondriales comparables ont aussi été décrites par BEAULATON (1968), dans la glande prothoracique du ver à soie au cours des deux derniers âges larvaires, par FAIN-MAUREL et CASSIER (1969) dans les corpora allata de Locusta migratoria au cours des cycles ovariens. Ces auteurs montrent que les mitochondries en haltère deviennent cupuliformes et donnent naissance à des formes circulaires ou à des "chondriosphères", complexes mitochondriaux enroulés et emboîtés. Dans notre matériel, il semble assez peu vraisemblable que les formes en haltère puissent se recourber en anneau, bien que, parfois, on observe des sections en "fer à cheval" (Pl. 75, fig. a). Nous serions plutôt tenté d'y voir des formes de croissance. L'évolution des mitochondries annulaires renforcerait cette hypothèse. Nous avons

distingué trois aspects différents dans la structure de ces mitochondries. Les premières sont réduites à la paroi dont les feuillettes internes sont presque accolés (Pl. 75, figs a et c) ; les secondes sont semblables, mais en certains points sont en rapport avec des portions mitochondriales développées (Pl. 76, fig. a). Enfin, les dernières sont des mitochondries typiques, circulaires (Pl. 76, fig. b). Il n'est pas interdit de penser que la dernière catégorie puisse dériver de la première par suite de la séparation des membranes internes et la synthèse corrélative des crêtes internes. Ce processus peut d'autant mieux se concevoir que les formes sphériques, à structure mitochondriale typique semblent apparaître dans des stades plus avancés de l'évolution des fibres.

Néanmoins, la faible fréquence de ces mitochondries particulières dans les fibres en évolution montre que, s'il s'agit là d'un mode de croissance, il doit être uniquement considéré comme accessoire. Cependant, on ne peut également exclure l'hypothèse selon laquelle les mitochondries cupuliformes ou en haltère sont la conséquence d'une modification du métabolisme cellulaire.

3 - Le glycogène

DEFRETIN (1949), à l'aide de techniques cytochimiques précises, a étudié l'évolution du glycogène au cours de l'épitoque. Il montre que les exemplaires atokes renferment très peu de glycogène dans leur musculature. Par contre, il signale de grandes quantités de ce polysaccharide dans les muscles parapodiaux hétéronériens. Il considère par ailleurs que les muscles longitudinaux "épitoques" restent pauvres en glycogène.

Nous avons cependant constaté, que les faisceaux longitudinaux devenaient très riches en glycogène, qui s'accumule sous la forme β et surtout α , dès le début de l'évolution. Chez S. amica, il ne se présente que sous la forme β .

L'origine du glycogène dans les fibres différenciées nous semble particulièrement intéressante. Dans le muscle longitudinal d'un ver atoke, la technique de SELIGMAN, modifiée par THIERY, ne permet pas de mettre en évidence du glycogène. Mais, à un moment correspondant au début du stade 2a, certaines portions coelomiques dilatées, afilamentaires, renferment des chaînettes dichotomiques de fines particules nettement colorées, de 80 à 100 Å de diamètre. Dans le voisinage de ces chaînettes, il n'y a que quelques sections de mitochondries et aucun ribosome (Pl. 77, fig. a). A un stade un peu plus avancé, on retrouve des chaînettes, mais constituées de granulations

deux fois plus larges : 170 à 200 Å. Les particules sont formées d'une sorte de trame pâle dans laquelle se trouvent des granules plus petits d'environ 40 Å de diamètre. Il est possible que cet aspect soit plus ou moins artificiel. Néanmoins, nous l'avons aussi observé chez S. amica, à tous les stades de l'évolution. Par ailleurs, après oxydation par l'acide périodique et coloration par le citrate de plomb de coupes d'embryons d'Amphibiens, M.M. PERRY (1967) signale la présence de sous-unités de 40 Å de diamètre dans les particules β de glycogène. VAN GANSEN et SCHRAM (1969) font la même constatation dans un matériel semblable, après utilisation de la technique de PERRY ou celle de THIERY. Un certain nombre de chaînettes de granules β rayonnent autour de particules α plus grosses, mais peu nombreuses (Pl. 77, fig. b). A ce stade, dans toutes les régions dilatées, sauf le sarcoplasme périnucléaire, il n'est pas possible de trouver de ribosomes parmi les granulations de glycogène. Comme quelques auteurs l'ont déjà montré, les chaînettes de glycogène mimant parfaitement des polyribosomes (HAY, 1966 ; VAN GANSEN, 1967 ; VAN GANSEN et SCHRAM, 1969). Bien que nous ne l'ayons pas observé, il est possible qu'un mince filament réunisse les granules β dans les chaînettes (VAN GANSEN et SCHRAM, 1969). Dans les régions périnucléaires, les ribosomes sont mêlés aux particules de glycogène.

De ces constatations, il ressort deux points essentiels : d'une part le glycogène apparaît, au début de sa synthèse, sous forme de particules assez petites : 80-100 Å, dont le volume doublerait rapidement ensuite. D'autre part, le plus souvent, le glycogène est synthétisé dans des régions où il n'y a pas d'autres éléments que quelques mitochondries. L'absence de ribosomes est certaine, sauf dans le sarcoplasme périnucléaire. En conséquence, le rôle des ribosomes dans la formation du glycogène, envisagé dans la seconde partie ne semble guère étayé par ces observations. L'hypothèse la plus vraisemblable correspondrait à une synthèse de novo, sans intervention de systèmes membranaires, ni de ribosomes. Nous rappellerons d'ailleurs que chez S. amica, nous n'avons rencontré le mélange ribosomes-glycogène que dans le sarcoplasme périnucléaire. Toutefois, l'absence de stades primitifs de formation et le nombre plus faible d'observations pouvaient nous laisser envisager un rôle possible des ribosomes. Des images comme celles de la figure a de la Planche 77 semblent constituer au contraire une preuve de l'absence de l'intervention directe des ribosomes dans la genèse de ce polysaccharide, dans les muscles de N. irrorata.

Ensuite, la quantité de particules β tend à diminuer, et inversement, les particules α deviennent plus nombreuses. La présence de rosettes autour desquelles rayonnent des petites chaînettes de granules β (Pl. 77, fig. b et Pl. 79, fig. c) dans des fibres en dédifférenciation, puis de rosettes uniquement dans des fibres hétéronéréidiennes typiques (Pl. 80), nous laisse supposer que les particules α peuvent provenir de la coalescence des particules β . Nous n'émettons cette hypothèse qu'avec la plus grande réserve, car dans certaines zones, les rosettes semblent apparaître d'emblée, sans qu'elles soient précédées par des particules β . Une étude plus approfondie serait nécessaire pour confirmer ou infirmer cette hypothèse.

Enfin, nous n'avons malheureusement pas pu suivre la dégradation du glycogène chez N. irrorata. Des Heteronereis au stade de l'essaimage, montraient encore des rosettes apparemment normales et abondantes (Pl. 80, fig. b ; Pl. 34, fig. b).

4 - Les autres organites cytoplasmiques

Comme chez S. amica, des corpuscules de nature probablement lipidique font parfois leur apparition dans les fibres musculaires.

On sait que les mitochondries, grâce à leurs enzymes impliquées dans le métabolisme des triglycérides, jouent un rôle non négligeable dans l'utilisation des lipides, comme source d'énergie. Les lipides de certaines fibres constituent donc des réserves énergétiques importantes pour les contractions. Il n'est pas sans intérêt de constater que le muscle cardiaque contient souvent des gouttelettes lipidiques au contact des mitochondries. Cette observation renforce le rapprochement que nous avons fait entre le muscle cardiaque et les muscles des stolons ou des Heteronereis, très riches en mitochondries et qui doivent soutenir un rythme intense de contractions pendant de longs moments.

5 - Le noyau

CHARRIER (1920) et DEFRETIN (1949) signalent que le noyau est toujours latéral dans les fibres hétéronéréidiennes. Nous avons confirmé cette observation et l'hypothèse de DEFRETIN selon laquelle les noyaux migraient à l'extérieur. Par suite de la disparition des fibrilles de la partie coelomique, le noyau peut se déplacer et faire hernie à l'extérieur. Cependant, il faut rappeler qu'un certain nombre de fibres, en particulier celles des strates externes, ont un noyau latéral à l'origine.

Le volume du noyau et celui du nucléole augmentent fortement. Nous avons trouvé des dimensions comparables à celles avancées par DEFRETIN : de $3/4-5 \mu$, le noyau passe à $5-6/10-12 \mu$ et le nucléole s'accroît de 0,5 à 2μ .

Chez S. amica, le nombre de noyaux semblait plus important dans les muscles du stolon. En particulier, il était fréquent d'observer, au début de la stolonisation, des alignements de deux, trois ou quatre noyaux. Nous n'avons cependant pas mis en évidence de divisions cellulaires, même après injection de colchicine. Chez N. irrorata, nous n'avons pas remarqué de files de noyaux, en coupe longitudinale. La présence de deux noyaux voisins, dans le même plan de coupe transversal, s'observe parfois. Mais, la seule augmentation du nombre de noyaux a plutôt lieu à la fin de l'épitoque. Les noyaux supplémentaires appartiennent à des éléocytes qui s'insinuent entre les fibres internes et surtout aux cellules de la paroi des capillaires qui forment un réseau très dense dans tous les métamères épitoques. Les capillaires se ramifient dans des portions très importantes de la musculature. Les seuls cas évidents de multiplication nucléaire sont représentés par les faisceaux de régénérats postérieurs dans lesquels la plupart des fibres ont un noyau latéral.

III - LE PROBLEME DE LA DEDIFFERENCIATION

Il découle, de toutes les descriptions précédentes, que les fibres hétéronériennes proviennent des anciennes fibres nériennes. Peut-on affirmer qu'il s'agit bien d'une dédifférenciation ? Pour les mêmes raisons invoquées pour S. amica, nous pensons que l'on peut utiliser le terme de dédifférenciation pour décrire une partie des processus intervenant dans les fibres longitudinales au cours de l'épitoque. En effet, de nombreuses analogies existent entre les transformations observées chez S. amica et N. irrorata. Les processus évolutifs prennent naissance au niveau du bord externe des faisceaux musculaires et s'étendent progressivement vers l'intérieur. Tout se passe comme si une sorte d'induction dédifférenciatrice se propageait de la zone sous-tégumentaire jusqu'à la cavité coelomique. Dans les deux cas, les mitochondries, le glycogène se développent considérablement dans le bord coelomique et envahissent la médulla de la fibre ; les myofilaments disparaissent dans la portion coelomique et dans l'axe, le noyau et les nucléoles augmentent de taille ; de nombreux ribosomes et dictyosomes apparaissent dans le sarcoplasme périnucléaire. Les quelques différences entre N. irrorata et S. amica portent sur des détails mineurs. Les processus semblent plus marqués

chez N. irrorata, notamment en ce qui concerne la formation de l'hypertrophie du côté coelomique des fibres. Le glycogène α , les mitochondries annulaires ou en haltère, les amas de tubules axiaux sont particuliers aux Nereis. Mais, on peut affirmer que, chez ces deux espèces d'Annélides, les fibres musculaires, non seulement conservent toujours leur forme rubannée, mais encore renferment, à n'importe quel moment de leur évolution, une certaine quantité de filaments. La dédifférenciation n'est que partielle et il n'y a pas apparition de myoblastes.

A cet égard, il nous semble intéressant de comparer nos résultats à ceux obtenus sur la dédifférenciation des fibres musculaires appartenant soit à des régénérats (CHAPRON, 1969 ; 1970 a et b) soit à des porte-greffes (VALEBOIS, 1970), chez l'Annélide Oligochète Eisenia foetida. Pour ces auteurs, les fibres musculaires se dédifférencient complètement. La cellule perd la totalité de son matériel contractile, acquiert un abondant chondriome et de nombreux ribosomes. Le noyau et le nucléole augmentent de taille. Chez cette espèce, caractérisée par une musculature à double striation oblique, on aboutirait à une dédifférenciation totale. Il faut toutefois remarquer que les phénomènes de régénération ne sont pas réellement semblables à ceux de l'épitoque ou de la stolonisation, bien qu'il y ait un certain nombre d'analogies. D'autre part, nous ne sommes pas entièrement convaincus par les descriptions fournies par CHAPRON et VALEBOIS sur la dédifférenciation. En effet, des fibres que VALEBOIS considère comme prénérotiques dans le greffon, ressemblent beaucoup à des myoblastes par leur noyau et leur nucléole volumineux et leur abondance en mitochondries. D'autres cellules sont assimilées à des fibres en dédifférenciation, mais ressemblent à des sarcolytes en formation. Il subsiste encore un doute important quant à l'origine des myoblastes, d'autant qu'au moment de la régénération ou après la greffe, on observe une accumulation de coelomocytes près des zones lésées. En conséquence, si la dédifférenciation des fibres musculaires existe réellement chez les Annélides Oligochètes, ce qui est loin d'être prouvé, elle correspondrait tout à fait à celle décrite par HAY (1959 ; 1968) chez les Amphibiens et ne serait pas comparable aux phénomènes intervenant lors de la stolonisation ou de l'épitoque des Polychètes, où la simultanéité des processus de dédifférenciation et de redifférenciation, la persistance, semble-t-il, d'une partie des myofilaments périphériques, ne permettent pas la formation de cellules d'aspect embryonnaire.

IV - LA DÉGÉNÉRESCENCE

En ce qui concerne la dégénérescence, les phénomènes sont similaires chez S. amica et N. irrorata. Les deux types de destruction musculaire ont été constatés. Chez N. irrorata, nous avons remarqué un très faible nombre de cellules hétéronéréidiennes en dégénérescence au cours de l'épitoque. Par contre, la quantité de fibres néréidiennes en involution est beaucoup plus importante que chez S. amica.

DEHORNE (1922 a et b) et DEFRETIN (1949) ont montré que les fibres musculaires de Nereis subissaient un tronçonnement en sarcolytes fusiformes et striés, principalement en période d'épitoque. Les fragments musculaires sont ensuite phagocytés par les éléocytes du coelome. Cette dégénérescence, suivie de phagocytose, correspond au premier type, avec persistance de filaments, chez S. amica. En microscopie électronique, les sarcolytes renferment encore de nombreux paquets de filaments.

Mais nous avons également vu que le deuxième type d'histolyse, avec disparition précoce du matériel contractile, existait aussi, et affectait surtout des fibres "atoques" appartenant à la face interne des faisceaux longitudinaux. DEFRETIN (1949) les a observées et les a décrites comme étant des fibres gonflées, amphophiles, puis fuchsinophiles. Mais, il les assimile à des cellules en cours de dédifférenciation, car "leurs fibrilles disparaissent alors que les sarcolytes montrent toujours des fibrilles avant leur digestion par des éléocytes". Le gonflement et l'amphophilie de ces cellules sont, pour DEFRETIN, la marque d'un début de dédifférenciation qui ne se poursuit pas. En réalité, ce sont bien des fibres dégénérescentes avec apparition d'une substance homogène. Cependant, ce deuxième type de destruction musculaire semble peu fréquent. La plupart des fibres en histolyse, appartenant aux muscles longitudinaux, circulaires et obliques, se fragmentent en sarcolytes fusiformes, surtout au début de l'épitoque. Cette dégénérescence apparaît aussi plus intense chez des Nereis décérébrés.

Il nous semble intéressant à présent de confronter nos résultats à ceux obtenus récemment par VALEMBOIS (1970). Cet auteur a pratiqué des hétérogreffes en utilisant deux espèces d'Annélides Oligochètes : Eisenia comme porte-greffe et Allolobophora foetida comme greffon. Il a constaté des figures de dégénérescence très nette de la musculature du greffon lors d'une première greffe. Les cellules musculaires réagissent vis à vis du porte-greffe en isolant leurs territoires les plus lésés. Ensuite, le chondriome et l'ergastoplasme se développent, et, corrélativement, les cellules présentent une

activité phosphatasique acide importante. Enfin, les filaments disparaissent. Dans le cas d'une seconde greffe, les phénomènes sont un peu différents. En particulier, il n'y a pas de prolifération mitochondriale et ergastoplasmique.

Ces processus de dégénérescence apparaissent très différents de ceux observés au moment de la stolonisation ou de l'épitoquie. Mais, VALEMBOSIS signale aussi que des altérations mécaniques des fibres du greffon provoquent parfois une désorganisation des filaments et l'apparition de zones à matériel amorphe. Cet aspect n'est pas sans rappeler la dégénérescence avec formation d'une substance homogène et granuleuse dans les fibres longitudinales de S. amica et N. irrorata.

La sarcolyse des fibres à double striation oblique apparaît complexe de prime abord, puisqu'il semble exister de nombreux modes d'histolyse bien différents. Il est difficile, dans l'état actuel de nos recherches, de dire si ces involutions structurales diverses correspondent à des réactions, à des voies dégénératives différentes ou si, au contraire, elles sont le reflet d'un seul mode de sarcolyse, pouvant revêtir des aspects très divers. Comme nous l'avons déjà indiqué, il est possible que l'on puisse passer d'un type de dégénérescence à un autre : chez S. amica, des sarcolytes à myofilaments peuvent à un stade extrême de dégénérescence aboutir au type à cytoplasme granuleux homogène. BOILLY (1968), dans une étude sur la régénération antérieure de ce même ver, signale la présence de sarcolytes renfermant des myofilaments, d'autres avec un matériel finement granuleux. Toutefois, pour les raisons déjà exposées dans la deuxième partie, nous croyons pouvoir distinguer pour le moment deux types apparemment différents de sarcolyse chez les Syllis et les Nereis.

Enfin, nous avons considéré plusieurs hypothèses quant au déterminisme de la sarcolyse. Il est probable que des modifications du milieu coelomique au moment de la reproduction provoquent en grande partie la dégénérescence musculaire. Evidemment, la sénescence de certaines fibres est responsable aussi de certaines sarcolyses. Mais, comme DEHORNE (1922 a et b) et DURCHON (1952) l'ont également supposé, il est possible que le jeûne soit un facteur non négligeable de l'histolyse musculaire. L'épitoquie, surtout expérimentale, correspond à une période de jeûne. Il est vraisemblable enfin que la destruction musculaire apporte des éléments importants pour les synthèses protéiques, constitue en quelque sorte un aliment interne pour le ver en épitoquie. ZAK et DRAHOTA (1960) ont montré que la dégradation de protéines contractiles fournissait de l'énergie, à l'inverse de la destruction des protéines du foie qui demande au contraire un apport énergétique.

V - COMPARAISON ENTRE NOS RESULTATS ET CEUX OBTENUS EN
MICROSCOPIE PHOTONIQUE PAR DEFRETIN

Il nous semble intéressant maintenant de comparer nos observations à celles de DEFRETIN. Nous résumerons ici les faits essentiels mis en évidence par cet auteur.

1. La dédifférenciation. Au début, les deux couches de fibrilles se séparent ; des vésicules, puis un sarcoplasme fuchsinophile apparaissent dans l'axe, entre les deux couches de fibrilles. DEFRETIN constate une hypertrophie corrélative des fibres les plus internes des faisceaux longitudinaux. Le stade final de la dédifférenciation est représenté par une fibre à sarcoplasme fuchsinophile prépondérant qui déborde même à l'extérieur. Cette fibre présente un cortex myoplasmique mince, sans striation. Le noyau est passé dans une hernie sarcoplasmique externe et son volume s'est accru fortement.

2. La redifférenciation. Au sein du sarcoplasme moins fuchsinophile apparaît un abondant chondriome formé de grains et de longs chondriocontes. Enfin, la striation est à nouveau décelable dans le myoplasme cortical. Il faut souligner que DEFRETIN représente des sections transversales de fibres en redifférenciation avec une hernie assez volumineuse contenant des chondriocontes (c'est ce que nous avons désigné sous le nom de portion coelomique hypertrophiée).

Un certain nombre de descriptions peuvent s'intégrer aisément à nos observations. Cependant, quelques points de divergence sont à noter. Nous les exposerons en premier lieu.

DEFRETIN ne fait pas mention d'un début d'évolution dans le bord externe, sous-tégumentaire des faisceaux. Au contraire, il signale que les fibres gonflées, à sarcoplasme axial fuchsinophile en cours de dédifférenciation sont les plus internes des faisceaux. Nous avons pourtant bien établi que c'était au sein des deux ou trois couches les plus externes que les premières manifestations d'un changement de structure s'observaient. DEFRETIN a confondu les sarcolytes des faces internes avec des fibres en dédifférenciation. Il émet d'ailleurs un doute à ce sujet, mais renonce à l'hypothèse de la sarcolyse pour trois raisons : 1. Il n'y a pas d'éléments libres (éléocytes) à leur contact pour assurer la destruction ; 2. Ces fibres ne se rencontrent pas, dans le coelome, entières ou fragmentées ; 3. Elles ne subissent pas de tronçonnement en multiples sarcolytes. Ces trois critères sont justement ceux qui caractérisent la seconde catégorie de sarcolytes avec disparition précoce des filaments et formation d'un matériel granuleux. Dans ces conditions,

DEFRETIN ne pouvait penser à une évolution à partir de la face externe des faisceaux. Ensuite, nous avons vu que les deux couches de bandes A et I ne disparaissaient pas, tout au moins en partie. Sur coupes histologiques, si un certain nombre de fibres hétéronériennes présentent une striation, d'autres ne la montrent pas. L'absence de striation ne tient donc pas à une différence de stade évolutif des fibres. Quant à la formation de vésicules axiales, puis d'un sarcoplasme fuchsinophile, il est évidemment difficile de les relier à nos observations ultrastructurales. En ce qui concerne maintenant l'évolution nucléaire et tous les aspects de la redifférenciation, nos observations corroborent tout à fait celles de DEFRETIN. Les points de divergence peuvent facilement s'expliquer. D'autre part, il est évident que seule une étude ultrastructurale pouvait permettre de comprendre réellement l'évolution des structures cellulaires à la limite ou en dessous du pouvoir de résolution du microscope optique.

CONCLUSION

L'hypothèse émise par CHARRIER (1920), reprise et étayée par DEFRETIN (1949), sur la dédifférenciation des fibres musculaires longitudinales et leur redifférenciation en fibres hétéronériennes se trouve confirmée.

Les faisceaux musculaires ne contiennent, à aucun moment, de cellules indifférenciées, et la formation de novo des cellules "épitoques" semble exclue. Les observations en microscopie optique, en particulier sur les fibres isolées et sur les muscles marqués par la leucine ^3H , et en microscopie électronique, permettent de comprendre l'essentiel des phénomènes.

Comme chez S. amica, on peut considérer qu'il existe à la fois des processus de dédifférenciation et de redifférenciation. Ceux-ci se déroulent d'une manière synchrone et la dédifférenciation n'est jamais totale.

Les mitochondries se multiplient à la fois dans le bord coelomique et dans l'axe des cellules musculaires, dans des zones où elles existaient primitivement. Le glycogène apparaît le plus souvent dans des régions où n'existent pas de ribosomes. Les éléments précurseurs, synthétisés de novo, pourraient être représentés par des chaînettes de petites particules de glycogène, d'un diamètre inférieur de moitié à celui des granules β , observées dans des fibres en début de dédifférenciation. Quant aux myofilaments périphériques des fibres hétéronériennes, l'hypothèse selon laquelle ils sont issus des anciens repose essentiellement sur une constatation négative : l'absence de figures de myofibrillogenèse.

Enfin, la dégénérescence des fibres musculaires est semblable à celle de S. amica. Les deux types de sarcolyse décrits chez ce Polychète sont observés aussi chez N. irrorata. Une comparaison avec l'histolyse musculaire dans le cas de régénération ~~ou~~ de greffe chez les Annélides Oligochètes (CHAPRON, VALEMBOIS) permet de constater la grande diversité des aspects dégénératifs des fibres hélicoïdales. Une étude plus approfondie des facteurs susceptibles d'intervenir dans le déterminisme de la dégénérescence musculaire permettrait vraisemblablement de mieux comprendre l'apparente multiplicité morphologique des sarcolytes.

CHAPITRE VII

LA NEOFORMATION DORSALE

La néoformation dorsale fait partie de la musculature longitudinale et apparaît seulement dans la région hétéronéréidienne du ver. Rappelons qu'elle se présente sous la forme d'une double bandelette longitudinale, axiale, qui prolonge, en plongeant verticalement vers l'intestin, les deux faisceaux musculaires dorsaux. Par ses caractéristiques évolutives et structurales, cette néoformation mérite d'être examinée dans un chapitre spécial.

INTRODUCTION

La néoformation dorsale a été étudiée par CHARRIER (1920) et DEFRETIN (1949). Pour le premier auteur, les fibres de la néoformation sont du type néréidien, à noyau externe. Elles proviennent de "masses homogènes et chromatiques qui se décomposent ensuite en lamelles contractiles". L'aspect homogène correspondrait à un stade de dédifférenciation. DEFRETIN constate également que la structure des fibres de la néoformation est du type néréidien, mais la striation est nettement plus espacée ; alors que l'intervalle entre les fibrilles est de $0,6 \mu$ chez les fibres néréidiennes, il est en moyenne de 1μ dans les cellules de la néoformation. Cet auteur considère que les éléments de la néoformation ne proviennent pas d'une dédifférenciation de fibres néréidiennes, mais sont issus de "myoblastes dont l'origine vraisemblable est une prolifération de l'épithélium coelomique". Si les observations de ces deux auteurs concordent sur la structure des fibres, elles sont totalement divergentes en ce qui concerne l'origine de la néoformation.

Il s'avérerait donc très intéressant de reprendre, grâce à la microscopie électronique, d'une part l'étude de l'origine de la néoformation, d'autre part, celle de la structure toute particulière de ses fibres.

Nous avons étudié l'essentiel de l'évolution et de la structure de la néoformation dorsale chez N. irrorata. Toutefois, nous avons eu recours à l'espèce N. pelagica pour les stades les plus précoces de genèse (stade 1).

RESULTATS

Nous considérerons tout d'abord l'origine et le développement de la néoformation dorsale ; nous envisagerons ensuite l'étude de la structure de ses fibres.

I - ORIGINE ET EVOLUTION DE LA NEOFORMATION

STADE 1 - N. pelagica

a) Microscopie photonique

A l'extrémité latéro-dorsale des faisceaux longitudinaux au niveau de l'axe du ver, il n'est pas rare de rencontrer, chez certains exemplaires, des cellules, caractérisées par un noyau arrondi, renfermant un volumineux nucléole (2 μ) (Pl. 87, figs a et b). Ces cellules, parfois disposées par groupe de deux (Pl. 87, fig. a) se situent à la limite du faisceau musculaire, à peu de distance du vaisseau dorsal. Elles ne se rencontrent pas chez des Nereis immatures ou du stade 0. Nous n'avons cependant pas trouvé de mitoses à ce niveau, mais des aspects nucléaires suggérant des amitoses : certains noyaux peuvent posséder deux nucléoles et une sorte d'étranglement médian (Pl. 87, fig. c).

b) Microscopie électronique

Des sections ultrafines, pratiquées dans cette région, mettent en évidence deux types cellulaires : l'un est une véritable fibre musculaire, au noyau latéral, en cours de dédifférenciation (Pl. 87, fig. d), l'autre est une cellule non contractile, dont le cytoplasme est rempli de ribosomes (Pl. 87, fig. e). Ces deux cellules présentent toutefois une caractéristique commune : leur noyau, de grande taille (10/5 μ), renferme un nucléole volumineux (2 μ). Elles sont donc en phase d'activation. La fibre musculaire a le même aspect que les autres fibres de l'assise externe, au début de leur évolution. Par contre, l'autre cellule a la structure d'un élément-souche indifférencié.

STADE 2a - N. irrorata

Au début de ce stade, il est possible de rencontrer des éléments comparables à ceux décrits chez des N. pelagica du stade 1. Certaines cellules à noyau développé et gros nucléole ne sont pas de nature musculaire et se situent à l'extrémité latérale des faisceaux dorsaux (Pl. 88, fig. a). D'autres cellules, à noyau volumineux, présentent une portion contractile (Pl. 88, fig.a).

En outre, dans cette même zone, on observe quelques sections musculaires très fines (2μ de large) qui renferment des éléments Z et du R.S. et des filaments épais et fins assez mal organisés en bandes A et I. Quelques rares sections de faibles dimensions ne renferment aucun filament (Pl. 88, fig. a).

A une période plus avancée de ce même stade, on assiste à une transformation très rapide des bords latéraux des muscles longitudinaux. On distingue, sur coupes transversales, plusieurs dizaines de sections de fibres extrêmement petites (Pl. 88, fig. b). Elles mesurent en moyenne de 2 à 3μ de large sur $1,5 \mu$ d'épaisseur. Certaines sections, parmi les plus étroites, sont souvent arrondies et ont un diamètre de 1μ environ. Elles ne renferment parfois aucun filament ou moins d'une dizaine (Pl. 88, fig. b). D'autres, de 2μ de large ne contiennent guère plus de dix à vingt filaments épais irrégulièrement disposés. Enfin, les sections qui ont une forme ellipsoïdale, présentent deux ou trois bandes A plus ou moins en alternance avec des bandes I. Il faut noter que toutes ces fibres possèdent des filaments épais et fins de calibre identique à celui des fibres néridiennes ordinaires, c'est-à-dire 280 à 320 \AA pour les gros et 70 \AA pour les fins. Souvent, on remarque une ou deux mitochondries dans le bord coelomique. Lorsqu'un noyau est présent, il est situé également vers le coelome et a une surface presque aussi importante que celle de la fibre : $3,5/3 \mu$ dans une cellule de $4,5/4 \mu$ (Pl. 88, fig. b).

STADE 2b - N. irrorata

En microscopie photonique, on constate une accumulation de petites sections de fibres à noyau arrondi de 5μ de diamètre, en position latérale (Pl. 89, fig. a). Souvent, le noyau renferme un nucléole de 1μ de large. Fréquemment, les sections les plus fines (2μ de large) sont situées sous l'épiderme. Les plus volumineuses vers le vaisseau dorsal, ont une largeur de 6 à 8μ . La grande quantité de noyaux, en coupe transversale (Pl. 89, fig. a) laisse supposer que de nombreuses divisions cellulaires ont lieu. Nous n'avons cependant pas vu de figures de mitoses. L'injection de Leucine tritiée à des Nereis pelagica au même degré d'évolution permet de mettre en évidence un marquage important au niveau des bords latéraux des faisceaux dorsaux (Pl. 52, fig. h), c'est-à-dire au sein même de ces petites fibres à gros noyau.

Vers la fin du stade 2b, la quantité de cellules musculaires a considérablement augmenté. Elles comblent l'espace situé entre les bords des faisceaux et le vaisseau dorsal qui n'est plus accolé au tégument. La prolifération cellulaire s'effectue d'abord depuis la pointe latérale de chaque faisceau jusqu'au vaisseau dorsal. Lors de cette phase évolutive, si des groupes de fibres sont de dimensions réduites (5μ sur 2μ), la plupart apparaissent beaucoup plus grosses (10μ de large sur 5μ d'épaisseur) (Pl. 89, fig. b). Leur épaisseur est plus forte que celle des fibres néréidiennes longitudinales. Leur structure est tout à fait comparable à celle des fibres néréidiennes. Les deux couches de myofibrilles sont séparées par une fine lame claire de sarcoplasme axial, et les intervalles entre les stries est de l'ordre de $0,5 \mu$ (Pl. 89, fig. b). Mais, le noyau est toujours en position externe. Par rapport au stade précédent, son volume tend à diminuer (3μ de diamètre au lieu de 5μ).

En microscopie électronique, les cellules musculaires ont une structure semblable à celle des fibres néréidiennes longitudinales (Pl. 89, fig. d). Mais, leurs bandes A et I sont souvent moins régulières. Les sections de mitochondries, au nombre de trois au maximum, sont toujours situées dans le bord coelomique. Mais, ces fibres ont une caractéristique importante : elles sont étroitement unies les unes aux autres par l'intermédiaire de formations comparables à des desmosomes (Pl. 89, figs c et d).

II - STRUCTURE DE LA NEOFORMATION AU STADE ULTIME DE SA DIFFERENCIATION

Au stade 3, la néoformation a acquis sa forme et sa structure définitive. Sur coupes histologiques transversales, elle apparaît sous l'aspect d'une double lame plus ou moins renflée (Pl. 2, fig. d) qui peut parfois avoir la forme d'un coeur. Elle est constituée par de nombreuses couches de fibres de 10μ environ de large sur 2 à $2,5 \mu$ d'épaisseur. Vers la portion la plus profonde, proche du vaisseau dorsal, le nombre de couches de fibres s'accroît : on en compte 7 à 9 (Pl. 90, fig. a). L'ensemble apparaît comme une masse compacte, les fibres étant bien contiguës. Dans les faisceaux dorsaux, au contraire, les fibres sont plus ou moins jointives, ce qui confère à l'ensemble un aspect beaucoup plus lâche. La cohésion des fibres de la néoformation tient à la présence des desmosomes.

La structure des fibres de la néoformation, en coupe histologique, est très particulière. Alors qu'elles montraient, lors des stades précédents, une striation comparable à celle des fibres néréidiennes typiques, elles

présentent maintenant une sorte de zébrure très caractéristique, composée d'une alternance de raies larges ($0,8 \mu$), très colorées, et de fines stries claires (Pl. 90, figs a et b). L'intervalle entre ces fines stries est de l'ordre de $0,9 \mu$, chiffre comparable à celui obtenu par DEFRETIN (1949).

Sur sections transversales, en microscopie électronique, nous avons pu constater que les zébrures foncées correspondent aux fibrilles, c'est-à-dire aux bandes A et les fines lignes peu colorées aux bandes I (Pl. 90, fig. c et Pl. 91). Par rapport aux fibres néréidiennes normales, la largeur des bandes A est nettement plus importante, et en corollaire, les filaments épais assez irrégulièrement disposés, sont plus nombreux (Pl. 91). Entre les filaments épais s'intercalent des filaments fins qui n'apparaissent très nettement qu'après extraction à la glycérine (Pl. 90, fig. c et Pl. 92). Ils forment des orbites plus ou moins complètes de huit à douze autour d'un filament épais. On en trouve aussi beaucoup en dehors des orbites (Pl. 90, fig. c). Il n'est pas possible de mettre en évidence de zone H au milieu des bandes A (Pl. 91 et 92). Le calibre des deux types de filaments est identique à celui des filaments des fibres néréidiennes ordinaires : 280 à 320 \AA pour les épais, 70 \AA pour les fins. Il est également possible d'observer des sous-unités à l'intérieur des filaments épais (Pl. 90, fig. c). Dans les bandes I, la technique ordinaire de fixation (glutardéhyde-acide osmique) ne met pas en évidence de filaments fins, et l'extraction au glycérol ne donna pas de meilleurs résultats. Apparemment, il ne semble pas exister de filaments fins dans les bandes I. Ces dernières renferment, dans leur partie médiane, de rares vésicules (Pl. 90, fig. c) appartenant vraisemblablement au reticulum. Mais le plus souvent l'axe des bandes I est matérialisé par un alignement de petites mottes irrégulières de matériel dense (Pl. 91). Parfois, ces masses denses se situent à la limite entre bandes A et I (Pl. 90, fig. c et Pl. 92). A la périphérie des cellules, des vésicules sous-sarcolemmiques très peu nombreuses ne semblent pas en relation avec des tubules du R.S. (Pl. 92). Vers le bord coelomique, se trouvent une, deux ou trois sections de mitochondries (Pl. 91), mais leur fréquence est moindre que dans les fibres néréidiennes ordinaires. Le noyau est placé du même côté, à l'extérieur du matériel fibrillaire. Le bord opposé émet quelquefois un prolongement (Pl. 91), comparable à celui décrit chez certaines fibres néréidiennes. Enfin, des desmosomes sont toujours présents entre deux ou même trois fibres (Pl. 91).

Les coupes longitudinales montrent des images en chevrons (Pl. 93, fig. a), caractéristiques des fibres à double striation oblique. Des examens en contraste de phase de fibres de la néoformation, traitées au glycérol, nous ont permis d'observer le trajet hélicoïdal des fibrilles (Fig. 28). L'angle d'obliquité, de 10° environ, est comparable à celui des fibres ordinaires, mais la largeur des fibrilles est nettement plus importante. En microscopie électronique, les filaments fins visibles entre les filaments épais ne semblent pas se poursuivre dans les bandes I, dont l'axe est marqué le plus souvent par les masses denses irrégulières, parfois éloignées, parfois très proches les unes des autres (Pl. 93, fig. b). Si, dans certains cas, la séparation entre bandes A et I est nette, dans d'autres les bandes I ne sont plus très bien mises en évidence. On observe alors des extrémités de filaments épais dans le voisinage même des masses denses axiales des bandes I (Pl. 93, fig. c). Souvent ces filaments épais se plient ou passent dans le sarcomère voisin (Pl. 93, fig. c). Ces observations ressemblent beaucoup à celles que nous avons faites sur fibres glycerinées traitées au glycérol et contractées par l'ATP. Il est toutefois nécessaire de mentionner que ces images de contraction ont été obtenues sur des fibres non extraites au glycérol. Il faut incriminer l'action du fixateur seul qui provoque un raccourcissement des fibres lorsque l'animal n'est pas anesthésié ou n'est pas totalement endormi, comme nous l'avons montré dans la première partie de cette thèse.

Enfin, il est possible de rencontrer quelques cellules musculaires dont la structure rappelle certaines fibres en dégénérescence. Le nombre de filaments épais est peu élevé et un matériel granuleux, homogène, apparaît dans tout le sarcoplasme (Pl. 90, fig. d). Il est très vraisemblable que ces fibres de la néoformation soient en voie de sarcolyse.

DISCUSSION

Nous envisagerons successivement l'origine de la néoformation dorsale, son évolution, sa structure définitive chez l'Heteronereis, enfin son rôle éventuel.

I - ORIGINE DE LA NEOFORMATION

1 - Observations personnelles. Essai d'interprétation.

Nous avons vu, à l'aide de la microscopie optique, qu'il apparaissait, aux extrémités latéro-dorsales des deux faisceaux longitudinaux, un certain nombre de cellules à noyau et nucléole volumineux (Pl. 87, figs a

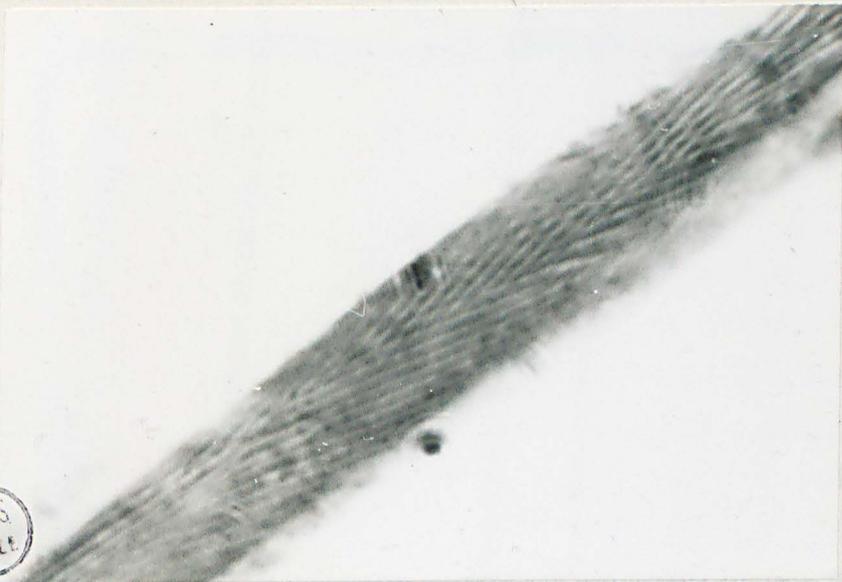
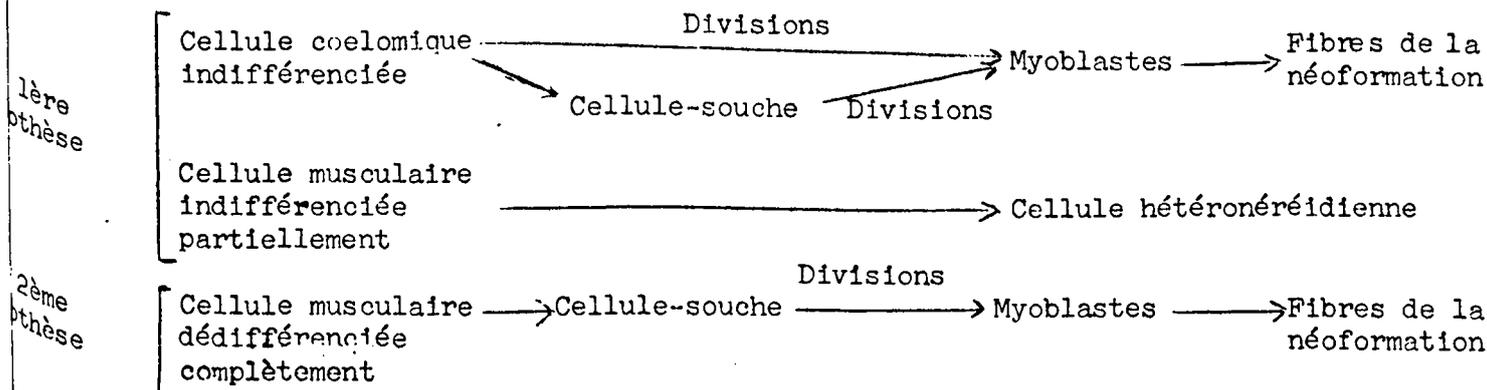


Figure 28 - Fragment de fibre isolée, extraite à la glycérine, provenant de la néoformation de N. irrorata. La striation est double et oblique. Remarquer la largeur, élevée, des myofibrilles. Photographie prise au microscope à contraste de phase. X 1 600

et b). De tels éléments n'existent pas chez des individus immatures ou chez des Nereis décérébrées du stade 0. Dès le stade 2a, à ce même niveau, on observe une prolifération de très petites fibres à structure néréidienne et la diminution corrélative du nombre de cellules à noyau et nucléole volumineux. Selon nous, ces dernières sont à l'origine de la néoformation.

Cependant, en microscopie électronique, nous observons, dans la zone musculaire proche du vaisseau dorsal, deux types de cellules possédant un noyau et un nucléole très développés : l'une peut être assimilée à un myoblaste, au cytoplasme riche en ribosomes (Pl. 87, fig. e), l'autre correspond à une fibre en cours de dédifférenciation, dont la portion contractile, dirigée vers l'épiderme, présente une structure nettement néréidienne (Pl. 87, fig. d). En raison de la faible dimension de sa partie contractile, cette fibre peut être prise pour un myoblaste en microscopie optique. Néanmoins, la présence de ces deux catégories de cellules peut aider à résoudre le problème de l'origine de la néoformation, et plus particulièrement, des myoblastes.

Deux hypothèses peuvent être formulées. Dans la première, les cellules musculaires en dédifférenciation, au niveau des bords latéro-dorsaux des faisceaux longitudinaux, seraient à l'origine de véritables fibres hétéronéréidiennes et n'auraient aucun rapport avec la néoformation. Chez les Nereis, à l'inverse des Syllis, les processus évolutifs affectent l'ensemble des faisceaux jusqu'à leurs extrémités. En conséquence, les cellules indifférenciées proviendraient d'éléments coelomiques. Dans la seconde, les cellules musculaires en voie de dédifférenciation n'évoluent pas en fibres hétéronéréidiennes mais seraient à l'origine de quelques cellules-souches. Nous précisons bien, dans cette hypothèse, que chaque myoblaste ne provient pas d'une fibre musculaire ancienne. Quelques unes seulement évolueraient en cellules indifférenciées qui, par divisions, donneraient naissance à de nombreux myoblastes. Nous pouvons également envisager un même processus dans le cas des cellules coelomiques. Ces deux hypothèses peuvent être schématisées comme suit :



Compte-tenu des résultats que nous avons obtenus sur les muscles parapodiaux hétéronéréidiens, nous serions plutôt favorables à la seconde hypothèse. Nous verrons en effet que la formation de cette musculature résulte de la dédifférenciation d'un certain nombre de fibres néréidiennes anciennes. Celles-ci donnent naissance à des cellules indifférenciées qui prolifèrent ensuite en un massif tissulaire très développé. Il n'est donc pas interdit de penser qu'un processus du même genre puisse se réaliser au niveau de la future néoformation. Cependant, nous tenons à souligner que cette hypothèse est aussi conjecturale que l'autre.

2 - Comparaison entre nos résultats et ceux de CHARRIER et de DEFRETIN.

Pour CHARRIER (1920), la néoformation résulte de la dédifférenciation de fibres néréidiennes situées aux extrémités latéro-dorsales des faisceaux longitudinaux. Il constate d'une part l'absence de myoblastes, d'autre part la présence de fibres d'aspect homogène dans lesquelles se différencient par la suite des lamelles contractiles.

DEFRETIN (1919) observe au contraire, la présence, à un stade très précoce, de cellules amiboïdes qui proviendraient de l'épithélium coelomique recouvrant la face interne des extrémités latérales des muscles dorsaux. Ces cellules se groupent ensuite en un massif mésenchymateux trilobé, dans lequel se différencient des fibres de la néoformation.

Nous réfuterons tout d'abord les affirmations de CHARRIER. Chaque fibre de la néoformation ne peut résulter de la dédifférenciation d'une cellule musculaire ancienne. Certes nous avons émis l'hypothèse d'une dédifférenciation possible de fibres. Mais, le processus évolutif est tout à fait différent de celui envisagé par CHARRIER, car ces quelques cellules dédifférenciées seraient à l'origine de très nombreux myoblastes. D'autre part, comme DEFRETIN, nous pensons que cet auteur a pris une phase d'histogenèse des myoblastes pour un stade de dédifférenciation.

L'ensemble des phases évolutives aboutissant à la constitution de la néoformation correspondent bien à l'élaboration d'un tissu nouveau. Les phénomènes sont très différents de ceux qui affectent la musculature longitudinale. A cet égard, nous rejoignons entièrement les idées de DEFRETIN. Cependant, nous relevons de multiples points de divergence quant à la description des modalités évolutives. Selon cet auteur, les cellules amiboïdes, considérées comme myoblastes, proviendraient de l'épithélium coelomique qui

recouvre les faces internes des muscles longitudinaux dans leur région médio-dorsale. Nous n'avons pourtant pas mis en évidence, à l'inverse de S. amica, d'épithélium pariétopleurale à ce niveau, chez des Nereis immatures ou en cours d'épitoque. De nombreuses observations ultrastructurales révèlent seulement la présence de cellules coelomiques du type éléocytaire, leucocytaire, que l'on trouve généralement libres dans le coelome, mais qui peuvent venir s'accoler à la surface de la musculature, des vaisseaux, du tube digestif. Elles ne forment pas d'épithélium et sont bien différenciées. En admettant que les cellules-souches de la néoformation aient une origine coelomique, il semble bien qu'elles ne soient pas issues d'un épithélium recouvrant les muscles longitudinaux.

Nous émettons aussi un certain nombre d'objections quant aux cellules amiboïdes et au massif mésenchymateux. Selon nous, ces éléments correspondent plutôt à des cellules coelomiques, du type leucocytaire, pouvant parfois présenter une forme amiboïde et s'accumuler en certains endroits pour constituer des massifs d'aspect mésenchymateux en microscopie optique. Nous sommes d'autant plus affirmatif que DEFRETIN n'indique pas, dans son texte comme dans ses dessins, la présence d'un noyau et d'un nucléole volumineux à l'intérieur des cellules amiboïdes ou du tissu mésenchymateux. Or, il s'agit de la caractéristique essentielle de myoblastes, de cellules en activation.

En conclusion, nous pouvons donc confirmer l'hypothèse de DEFRETIN selon laquelle la néoformation est issue de myoblastes. Toutefois, ces derniers ne semblent pas correspondre aux cellules décrites par cet auteur. Leur origine est à envisager soit parmi les fibres musculaires les plus latérales des faisceaux dorsaux, soit parmi des éléments coelomiques indifférenciés.

II - EVOLUTION DES CELLULES CONSTITUTIVES DE LA NEOFORMATION

Au début de la différenciation, le nombre des myoblastes est assez élevé. La prolifération cellulaire semble commencer au début du stade 2a. Cependant, nous n'avons jamais rencontré de figures de mitose. On ne peut rejeter, a priori, la possibilité d'une division par amitose. Comme nous le verrons dans le prochain chapitre, cette observation est à mettre en parallèle avec celle faite dans la musculature parapodiale au moment de l'épitoque. Nous discuterons donc du problème des amitoses à propos des muscles obliques.

TABLEAU 4

Comparaison entre les fibres néréidiennes et les fibres de la néoformation

Caractéristiques	Fibre néréidienne	Fibre de la néoformation
Largeur	22 μ	8-10 μ
Epaisseur	2-2,5 μ	2-2,5 μ
Myofibrilles	Hélicoïdales	Hélicoïdales
Largeur des bandes A	0,25 μ	0,50 μ
Filaments épais diamètre	280 à 320 Å	280 à 320 Å
Filaments fins diamètre	70 à 80 Å	70 à 80 Å
Nombre de filaments fins pour un épais	6-7	7-8
Eléments Z	Allongés - Cylindriques	Amas irréguliers
Mitochondries Nombre	2 à 3 sections par fibre	1 à 2 sections par fibre
Noyau : taille	3/8 μ	3/6 μ
Noyau : position	Latéral et axial	Latéral
Desmosomes	0	Assez nombreux

BUS
1966

Rappelons à présent l'essentiel des descriptions de DEFRETIN relatives à la différenciation des myoblastes. Des mitochondries apparaissent au sein du cytoplasme. Ensuite, se matérialisent une ou plusieurs plages axiales, homogènes, fuchsinophiles, entourées d'une mince lame cytoplasmique, dans laquelle se différencient de nombreux chondriocotes. Enfin, au niveau de la région fuchsinophile, s'individualisent les stries caractéristiques des fibres.

Nous ne confirmons pas ces observations. Les fibres de la néoformation, même lorsqu'elles sont très petites, ne sont jamais riches en chondriome (Pl. 88, fig. b). Les chondriocotes périphériques, apparaissant avant la formation des stries, n'ont pas été mis en évidence. Durant les premières phases évolutives, nous constatons seulement la présence de sections arrondies extrêmement petites contenant au début quelques filaments non organisés en bandes A et I (Pl. 88, fig. b). Ensuite, ces fibres, dont le noyau est encore volumineux (Pl. 89, fig. a) s'élargissent, deviennent ellipsoïdales et acquièrent des bandes A et I bien nettes. Elles ressemblent alors beaucoup aux fibres de la musculature longitudinale.

III - STRUCTURE DES FIBRES DE LA NEOFORMATION CHEZ L'HETERONEREIS

Nous avons consigné, dans le tableau 4, les principales caractéristiques des fibres de la néoformation, en comparaison avec celles des fibres néréidiennes typiques.

Les cellules de la néoformation correspondent-elles à des éléments particuliers, dont la physiologie musculaire est différente, ou au contraire à des cellules qui, ayant perdu leur fonction contractile, seraient en voie d'involution ? L'absence de filaments fins dans les bandes I, le morcellement en petits amas des éléments Z, la disparition de la plupart des tubules du R.S., fait penser à une certaine désorganisation, prélude de la sarcolyse. Mais, nous rejetons l'hypothèse d'une dégénérescence de ces fibres. Il est en effet difficile d'imaginer une prolifération cellulaire, une histogenèse, conduisant directement à la destruction de ses éléments. D'autre part, certaines fibres, à filaments peu nombreux et matériel cytoplasmique finement granuleux, sont très comparables ^{aux fibres} dégénérées déjà décrites dans la musculature longitudinale. La véritable histolyse serait semblable à celle des cellules ^{longitudinales}.

La structure particulière des fibres de la néoformation correspond donc vraisemblablement à une physiologie quelque peu différente de celle des fibres néréidiennes longitudinales. Une étude physiologique précise serait à

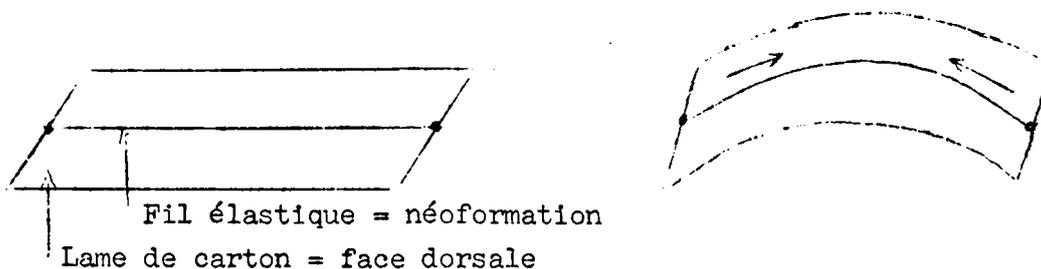
entreprendre. Elle apporterait en même temps des renseignements précieux quant au rôle que pourrait jouer cette formation.

IV - ROLE DE LA NEOFORMATION

Pour le moment, il relève de la pure hypothèse.

DEFRETIN (1941) suppose que, grâce à ses mouvements ondulatoires, la néoformation puisse avoir une utilité dans la poussée des spermatozoïdes vers la partie postérieure, où ils sont émis par les papilles de la rosette pygidiale. Cependant, il est difficile de savoir si la néoformation présente des mouvements ondulatoires au moment de l'émission des spermatozoïdes. D'autre part, elle est aussi développée chez les femelles. Quelle serait alors sa fonction ?

Selon nous, il est plus vraisemblable qu'elle ait un rôle au moment de l'essaimage. Lorsque l'on place, dans un cristallisoir rempli d'eau de mer, une femelle et un mâle mûrs, on observe une véritable danse nuptiale. Nous avons pu en observer la plupart des figures grâce au film réalisé par BOILLY-MARER chez l'espèce Platynereis dumerilii. On peut voir que les Heteronereis sont agitées de mouvements sinusoïdaux extrêmement rapides, dus certainement aux fibres "épitoques". Par ailleurs, les vers se déplacent suivant des trajets rectilignes ou effectuent pendant de longs moments des figures en cercle ou en huit. Les vers prennent alors une forme arquée très prononcée, la face dorsale étant convexe, la face ventrale concave. Lorsqu'ils tombent sur le fond, à la fin de l'émission des gamètes, ils conservent cette position recourbée. La longueur de leur corps est nettement plus faible (BOILLY-MARER, communication personnelle). Ils peuvent alors nager en cercles pendant un certain temps près du fond du cristallisoir. La forme arquée que prennent les Heteronereis, au moment de la danse nuptiale, pourrait s'expliquer par les contractions de la néoformation dorsale. Un petit dispositif expérimental simple peut nous en convaincre. Prenons un fil élastique et une bande de carton mince de même longueur que le fil lâche. Attachons les extrémités du fil à celle de la lame de carton. Si l'on provoque un raccourcissement du fil, correspondant à la néoformation, la bandelette de carton, représentant la face dorsale du ver, se recourbe aussitôt.



Cette conception peut d'autant mieux se concevoir que l'ensemble de la néoformation forme une sorte de bandelette dont tous les éléments sont solidaires les uns des autres grâce à leurs desmosomes. Chez des Nereis glycé- rinées, elle constitue une lame relativement rigide que l'on peut entièrement extraire du corps, mais dont il est impossible d'isoler les fibres sans les rompre.

Il nous semble donc très possible que la néoformation puisse jouer un rôle au moment de l'essaimage des Heteronereis, notamment en étant à l'o- rigine de certaines figures de la danse nuptiale.

CONCLUSION

L'hypothèse de DEFRETIN, selon laquelle la néoformation dorsale est issue de myoblastes, est confirmée. Cependant, l'origine de ces myoblastes est difficile à préciser. Ils peuvent provenir, soit de fibres musculaires différenciées, soit de coelomocytes indifférenciés.

On assiste ensuite à une prolifération cellulaire active, à proximité du vaisseau dorsal. Aucune mitose n'a été décelée. Seuls sont observables des aspects de division directe. Les fibres sont d'abord de petite taille et présentent une structure tout à fait comparable à celle des fibres néréidiennes typiques.

Chez l'Heteronereis, elles subissent une transformation structurale qui leur confère très certainement une physiologie particulière.

Il apparaît comme le plus vraisemblable, que la néoformation dorsale joue un rôle au moment de la danse nuptiale des Heteronereis.

CHAPITRE VIII

LES MUSCLES PARAPODIAUX HÉTÉRONÉREIDIENS

INTRODUCTION

Chez les Nereis, au cours de l'épitoquie, on assiste à l'apparition et au développement de très volumineuses masses musculaires parapodiales. Leurs fibres sont très comparables à celles décrites dans les muscles longitudinaux hétéronéréidiens. Elles présentent une mince lame contractile de myoplasme périphérique, en forme de U, et un sarcoplasme axial rempli de mitochondries et de glycogène. Leur volumineux noyau est latéral. Il faut souligner que les faisceaux parapodiaux de la région antérieure, restée atoque, ne subissent pas de modifications.

Bien qu'il n'ait pas observé de stades très précoces, ni saisi les premières phases évolutives, CHARRIER (1920) considère que chaque fibre hétéronéréidienne parapodiale provient de la dédifférenciation d'une fibre néréidienne ancienne.

DEFRETIN (1949) voit apparaître un volumineux syncytium ou plus exactement pseudosyncytium, aux dépens duquel se différencient ces muscles hétéronéréidiens. Il ne se prononce pas, dans son mémoire de thèse, sur l'origine de cette formation et envisage deux hypothèses possibles : dans la première, plusieurs fibres néréidiennes subissent une dédifférenciation, dans la seconde, des myoblastes constitueraient les éléments précurseurs du pseudosyncytium. Récemment, DEFRETIN (1964) a repris l'étude de ce problème, en fixant des Nereis à des stades précoces de l'épitoquie expérimentale. Il confirme la seconde hypothèse et considère que les myoblastes sont issus de cellules périvasculaires situées à l'emplacement des futurs muscles parapodiaux hétéronéréidiens.

Nous avons repris, en microscopies photonique et électronique, l'étude de l'évolution et de la structure des muscles obliques hétéronéréidiens, chez des N. pelagica en épitoquie expérimentale pour les premières phases évolutives, chez des N. irrorata décérébrées et en épitoquie naturelle pour les stades ultérieurs.

OBSERVATIONS

Nous exposerons successivement les observations relatives à l'évolution des fibres parapodiales, leur structure à la fin de leur différenciation, enfin leur sarcolyse chez des Heteronereis sénescents.

I - EVOLUTION DES FIBRES PARAPODIALES

Cette évolution concerne évidemment les faisceaux qui deviennent hétéronéréidiens, c'est-à-dire les parapodiaux ventraux antérieurs ou fléchisseurs et les parapodiaux dorsaux (DEFRETIN, 1949). Comme les phénomènes sont identiques chez tous, nous ne précisons pas leur appartenance à la face dorsale ou ventrale du segment.

Les premières phases évolutives ont été observées uniquement chez des N. pelagica en épitoque expérimentale. Cette espèce s'est révélée beaucoup plus favorable pour cette étude, car elle peut être récoltée en grande abondance et, d'autre part, résiste mieux aux opérations et évolue plus rapidement.

Nous étudierons d'abord l'infrastructure des cellules périvasculaires, considérées par DEFRETIN comme les cellules-souches du pseudosyncytium. Nous nous attacherons ensuite à la description des premiers processus évolutifs consistant en une dédifférenciation de certaines fibres obliques primitives, et l'apparition des cellules indifférenciées. Nous terminerons par les observations relatives à la formation du pseudosyncytium ou massif de prolifération et à la myofibrillogénèse.

1 - Les cellules périvasculaires

Dès le septième ou huitième jour après l'ablation du prostomium, on peut observer, par transparence, chez un certain nombre d'exemplaires de N. pelagica, la présence d'un réseau capillaire en développement, surtout au niveau des parapodes, dans les segments de la future région épitoque. Nous avons intégré ce premier changement, visible extérieurement, au stade 1 de l'échelle de DURCHON. Il faut souligner que ce déclenchement est plus ou moins tardif selon les individus.

Des sections histologiques de vers appartenant à ce stade, confirment la présence de nombreux vaisseaux sanguins, situés en diverses régions, mais le plus fréquemment sous le tégument des parapodes. Si certains capillaires montrent une paroi libre d'éléments cellulaires, une grande partie d'entre eux est entourée d'un manchon de cellules. Celles-ci sont plus ou

moins allongées, renferment un noyau arrondi, avec un nucléole assez volumineux (Pl. 94, figs a et b). On distingue souvent une large vacuole dans la portion cellulaire située à l'opposé du capillaire. Il est parfois possible de mettre en évidence des figures de mitose au niveau de ces cellules (Pl. 94, fig. b). Les éléments périvasculaires sont tout à fait comparables aux éléocytes en voie de formation et décrits par DEHORNE et DEFRETIN (1933).

Une investigation ultrastructurale confirme la nature éléocytaire des cellules périvasculaires (Pl. 94, fig. c). Elles renferment, en particulier, un ergastoplasme très développé, des particules de glycogène, une vacuole à inclusions puriques, caractéristique des éléocytes, comme l'a montré DHAINAUT (1970). Ces cellules ne tardent pas à se détacher de la paroi vasculaire et phagocytent des sarcolytes (Pl. 94, fig. d). Leur noyau renferme toujours un volumineux nucléole.

Nous insistons sur le fait que les capillaires entourés d'éléocytes se rencontrent non seulement dans des zones où se formeront les futures fibres hétéronéréidiennes parapodiales (de chaque côté de la chaîne nerveuse : Pl. 94, fig. a), mais encore dans des régions où ne se différencieront pas de muscles obliques.

2 - Dédifférenciation d'un certain nombre de fibres néréidiennes. Apparition de cellules indifférenciées.

a) Microscopie photonique

Les premiers symptômes d'une transformation peuvent se remarquer au sein même des faisceaux parapodiaux néréidiens, chez des N. pelagica au début du stade 1. On constate d'abord une augmentation du volume du noyau appartenant à certaines fibres néréidiennes. Corrélativement, le nucléole grossit (Pl. 95, fig. a). Les fibres elles-mêmes ne présentent aucune modification apparente.

Ensuite, parmi de nombreuses fibres normales, caractérisées par leur coloration homogène, apparaissent des portions cytoplasmiques, granuleuses, plus ou moins allongées, accolées aux fibres néréidiennes (Pl. 95, figs b et c). Les noyaux, très allongés (10 à 12 μ / 3 à 4 μ) contiennent le plus souvent deux nucléoles, plus rarement un ou trois (Pl. 95, fig. c). Leur nombre est en net accroissement.

b) Microscopie électronique

Des changements importants apparaissent au sein de certaines fibres néréidiennes. Dans leur région nucléaire, le cytoplasme est rempli de nombreuses granulations correspondant pour la plupart à du glycogène. (Pl. 96, fig. a). Les mitochondries sont peu abondantes. Le matériel contractile est beaucoup moins développé que dans d'autres fibres néréidiennes normales (Pl. 96, fig. a). Quant au noyau, très allongé, il renferme un ou deux nucléoles, en général volumineux. Des portions non nucléaires d'autres fibres renferment également une grande quantité de glycogène (Pl. 96, fig. b). Les deux couches de myofibrilles sont en nette régression. En certains points, le nombre de leurs filaments constitutifs est en réduction (Pl. 96, fig. b). Parfois, on observe, sur un bord de la fibre, une dilatation dans laquelle se trouvent des particules de glycogène (Pl. 96, fig. c). Enfin, à l'intérieur d'autres fibres, sectionnées longitudinalement, comme celle de la figure d, planche 96, on constate la disparition assez brutale des filaments, vers une extrémité. On peut suivre une série de myofibrilles, sur une certaine longueur. Au delà de la dernière bande A, ne subsistent plus qu'un tubule du R.S. et quelques filaments épais, vestiges d'une ancienne bande A adjacente. La plus grande partie de la cellule musculaire est représentée par un sarcoplasme rempli de granulations de glycogène et de ribosomes. A la périphérie, on découvre encore quelques vésicules sous-sarcolémiques (Pl. 96, fig. d). Les mitochondries sont assez peu nombreuses.

Ces fibres présentent incontestablement des images de dédifférenciation. Cependant, elles ne sont guère abondantes et sont situées souvent vers l'un des bords du faisceau musculaire oblique. Toutes les autres fibres ont la même structure que celle d'un ver atoque.

Mais, on remarque non seulement une dédifférenciation de fibres néréidiennes, mais encore l'apparition de groupes de cellules indifférenciées, au noyau allongé, nucléole développé, dont le cytoplasme contient de nombreux ribosomes, des mitochondries, des saccules ergastoplasmiques (Pl. 97, fig. a). Aucun filament épais ou fin, aucun élément Z ne sont présents (Pl. 97, fig. a). Des dictyosomes sont situés dans la région périnucléaire. Ces cellules sont groupées en faisceaux parmi les fibres atokes parapodiales. Elles sont de forme allongée et ont une orientation identique à celle des fibres néréidiennes. Certaines d'entre elles semblent très courtes et sont presque réduites à une fine lame cytoplasmique entourant un volumineux noyau.

3 - Apparition du massif de prolifération. Myofibrillogenèse.

a) Microscopie optique

Chez des N. pelagica appartenant toujours au stade 1, on voit apparaître de très nombreux noyaux allongés, aux nucléoles volumineux, semblant appartenir chacun à une cellule plus ou moins rubannée. Leur cytoplasme, granuleux, sans traces de myofibrilles, est bien différent de celui des fibres néréidiennes voisines (Pl. 95, fig.d). Ces éléments cellulaires ont même orientation que le faisceau musculaire néréidien.

Ils ne tardent pas à former un véritable massif que nous appellerons massif de prolifération, en raison du développement considérable qu'il subira jusqu'au stade 2b. Il correspond à ce que DEFRETIN a appelé "syncytium" puis "pseudosyncytium". Le terme massif de prolifération nous semble cependant plus judicieux. Lorsqu'il est en plein développement, vers la fin du stade 1, il est encore possible de distinguer, à l'intérieur, des sections de fibres du type néréidien (Pl. 95, figs e et f) et parfois aussi des sarcolytes fusiformes (Pl. 95, fig. f).

Au stade 2a, chez N. pelagica et N. irrorata, les cellules du massif sont très nombreuses et renferment un noyau allongé, possédant un, deux ou trois nucléoles (Pl. 95, fig. g ; Pl. 98, fig. a). Malgré de nombreuses observations, nous n'avons jamais vu de mitoses. Des injections de colchicine n'ont donné aucun résultat. Par contre, certains aspects nucléaires font penser à des amitoses. Il n'est pas rare en effet, de rencontrer des noyaux à deux nucléoles, présentant un étranglement médian, semblables à ceux de certaines cellules-souches de la néoformation, ou encore des groupes de deux noyaux accolés l'un à l'autre (Pl. 95, figs i et h). Dans le cytoplasme, toujours granuleux, apparaissent ce que DEFRETIN appelle de "fines bandes anhistes" (Pl. 95, fig. g).

Lors de cette phase de plein développement du massif de prolifération, il est intéressant de souligner que des cellules périvasculaires tout à fait semblables à celles décrites au début du stade 1 sont encore très nombreuses, principalement à l'intérieur des parapodes.

b) Microscopie électronique

Des N. pelagica à la fin du stade 1 et des N. irrorata au stade 2a ont été observées.

. Caractéristiques générales

Chez ces deux espèces, les cellules du massif de prolifération sont tout à fait semblables aux éléments indifférenciés décrits précédemment.

Les noyaux ont toujours les mêmes caractéristiques. Toutefois, comme l'a noté DEFRETIN (1949), les nucléoles subissent parfois un changement de position : ils viennent se plaquer contre l'enveloppe nucléaire (Pl. 98, fig. b). Mais, nous n'affirmerons pas, à l'inverse de DEFRETIN, qu'il s'agit là d'un phénomène constant. On observe aussi de nombreuses petites masses, de même aspect que le nucléole, réparties dans le nucléoplasme et sur tout le pourtour de l'enveloppe nucléaire (Pl. 98, fig. b). Dans la zone périnucléaire se situent de nombreux dictyosomes (Pl. 97, fig. d).

Le cytoplasme renferme des mitochondries, relativement nombreuses ; elles sont très pauvres en crêtes internes, et leur matrice est claire (Pl. 97, fig. c ; Pl. 98, fig. b). Certaines cellules renferment des granulations α ou β de glycogène, d'autres des ribosomes, souvent associés en polysomes (Pl. 97, fig. b). Des saccules ergastoplasmiques sont épars dans le cytoplasme.

. Myofibrillogenèse

C'est à la périphérie de certaines fibres, déjà longues, que l'on voit apparaître les premiers indices de la genèse des filaments. A l'intérieur de quelques cellules, des microtubules au nombre de un, deux ou trois, longent le sarcolemme (Pl. 97, fig. b ; Pl. 99, fig. a). Au voisinage, se situent des granulations de 150 à 180 Å, correspondant le plus souvent à des ribosomes, non colorés par la technique de THIERY. Dans d'autres cellules, apparaissent deux ou trois filaments épais, entre lesquels s'intercalent des filaments fins. Chez N. irrorata, les filaments épais ont un diamètre de 200 Å environ, et les fins un diamètre de 70 Å, dimensions comparables à celles des filaments appartenant aux fibres hétéronéréidiennes (Pl. 99, fig. c). Cependant, chez N. pelagica, les résultats ne sont pas tout à fait comparables, car les filaments épais ne semblent guère avoir un calibre supérieur à 100 Å (Pl. 97, figs c et e). De nouvelles investigations seraient nécessaires, surtout sur coupes transversales du massif de prolifération, car il est plus difficile d'évaluer le diamètre d'un filament sectionné longitudinalement. Il est cependant possible que nous soyons en présence d'un stade plus précoce chez N. pelagica. En général, les premiers filaments sont plus ou moins parallèles entre eux et à la membrane cellulaire. Si l'on

peut quelquefois observer un ou deux microtubules près des filaments néoformés (Pl. 99, fig. b), le plus souvent ils disparaissent au moment de la synthèse des protéines contractiles.

Chez les deux espèces de Nereis étudiées, il nous semble particulièrement intéressant de noter la présence de nombreux ribosomes ou polysomes à proximité (Pl. 97, fig. e) ou alignés le long des filaments (Pl. 99, fig. a).

Sous le sarcolemme, on distingue des vésicules comparables aux vésicules sous-sarcolemmiques (Pl. 99, fig. c). Mais, certaines d'entre elles présentent, sur leur face externe, dirigée vers l'intérieur de la cellule, des ribosomes (Pl. 99, fig. d). Des portions de reticulum endoplasmique granulaire viennent aussi au contact des groupes de filaments (Pl. 99, fig. c). Lorsque les filaments épais sont en plus grand nombre (6 ou 8), ils sont alors étagés et constituent de véritables bandes A obliques, en alternance avec les bandes I (Pl. 99, fig. a). A l'intérieur de ces dernières, sont disposées des structures denses aux électrons, comparables aux éléments Z, sur lesquels s'insèrent les filaments fins (Pl. 99, figs a et d). Dans le milieu des bandes I, apparaissent des petits tubules du R.S., entre les éléments Z (Pl. 99, fig. d ; Pl. 100, fig. a). A ce stade plus avancé, les ribosomes sont encore très abondants, parmi les faisceaux de filaments (Pl. 100, fig. a). Leur nature ribosomique est rendue évidente par la réaction de THIERY qui ne les colore pas. Des particules de glycogène sont par contre nettement marquées, mais ne sont pas mêlées aux filaments (Pl. 100, fig. b). Des vésicules sous-sarcolemmiques, plus volumineuses et plus nombreuses se répartissent à la périphérie.

II -STRUCTURE DEFINITIVE DES FIBRES

En microscopie photonique, notre description sera très brève car nous ne faisons que confirmer l'excellente étude qu'en a faite DEFRETIN (1949). En section transversale du muscle oblique, le myoplasme des fibres se présente sous la forme d'un U, délimitant à l'intérieur un sarcoplasme riche en mitochondries et en glycogène (Pl. 101, figs a et b). Le sarcoplasme s'épanche à l'extérieur, au niveau des branches de l'U (Pl. 101, fig. b). Une striation, comparable à celle des fibres hétéronéroidiennes, correspond à la section transversale des fibrilles (Pl. 101, fig. b). Les fibres forment des groupes d'importance variable. Leur aspect est très bien décrit par DEFRETIN : "d'aucuns, à forme rayonnante, sont formés par la juxtaposition de 2 à 10 sections ; d'autres, constituant des alignements linéaires tous orientés d'un

même côté, rassemblent 10 à 25 sections d'U myoplasmiques et ils sont les moins nombreux ; enfin, les plus fréquents, formés de sections disposées de part et d'autre d'un axe fictif, groupent de 8 à 42 sections de fibres" (Pl. 101, figs a et b). Une telle structure est bien différente de celle des muscles parapodiaux néréidiens. Sur coupes longitudinales, les sarcoplasmes qui débordent des parties contractiles des fibres, deviennent plus ou moins coalescents et constituent une sorte de reticulum : un "fourreau réticulé" selon l'expression de DEFRETIN. On note, à cette période terminale de l'évolution, un développement très important du système vasculaire qui pénètre dans le muscle et se ramifie entre les fibres.

En microscopie électronique, les sections transversales de muscles obliques montrent que les fibres sont constituées de deux portions : l'une myoplasmique à la périphérie, sarcoplasmique dans l'axe, correspondant à la partie externe ou épidermique des fibres longitudinales, et l'autre, sarcoplasmique uniquement, que nous avons appelée coelomique ou interne pour les fibres longitudinales (Pl. 101, fig. c). Le noyau se situe aussi dans cette hernie (Pl. 101, fig. c). Les fibres sont le plus souvent groupées en deux alignements de telle sorte qu'elles s'opposent par leur zone sarcoplasmique, exactement comme le font les cellules d'un rayon d'abeilles (Pl. 101, fig. c). Leur structure est tout à fait comparable à celle des fibres hétéronéréidiennes longitudinales. La portion contractile est mince et présente une alternance de bandes A et I (Pl. 101, fig. c ; Pl. 102, fig. a). Deux types de filaments constituent les bandes A : des épais, de 180 à 230 Å de diamètre, des fins d'un calibre de 70 Å. Le milieu des bandes A ne renferme pas de filaments fins et correspond à la zone H (Pl. 102, fig. b). Le nombre de filaments fins pour un épais est de cinq ou six. L'axe des bandes I renferme des éléments Z et du R.S. (Pl. 102, figs a et b). En coupe longitudinale, ces deux types de structure sont en alternance. De plus la disposition en chevrons des bandes confirme leur parcours hélicoïdal (Pl. 102, fig. c). Quelques tubules du R.S. tapissent les faces internes des bandes A ou I et sont en relation avec ceux du milieu des bandes I. On distingue aussi de nombreuses vésicules sous-sarcolemmiques dont certaines sont en liaison avec des tubules du R.S. (Pl. 102, fig. a). Dans le sarcoplasme se trouvent de nombreuses mitochondries et des particules de glycogène de forme α principalement (Pl. 101, fig. c et Pl. 102, fig. a).

Les fibres hétéronéréidiennes parapodiales ont donc une structure identique à celle des fibres "épitoques" longitudinales.

III - DEGENERESCENCE DES FIBRES, CHEZ DES HETERONEREIS SENESCENTES

Nous avons trouvé des aspects de fibres en histolyse chez des Heteronereis âgées. Cependant les mêmes vers possédaient des cellules musculaires longitudinales apparemment normales.

La zone contractile a tendance à s'élargir et subit de profondes transformations. En coupe transversale, le nombre de sections de filaments épais diminue. Au niveau des bandes I, se trouvent côte à côte plusieurs éléments Z et quelques tubules du R.S. (Pl. 103, fig. a). Un matériel homogène fait son apparition de part et d'autre des bandes A et I. Les mitochondries sont volumineuses. Entre ces organites, on observe des accumulations de vésicules ou saccules appartenant vraisemblablement au R.S. (Pl. 103, fig. a). En coupe longitudinale, la désorganisation des filaments est évidente (Pl. 103, fig. c). Les éléments Z se rapprochent les uns des autres, les tubules du R.S. sont moins nombreux (Pl. 103, fig. c). Dans d'autres fibres, les filaments ont presque totalement disparu et il n'en subsiste plus que les structures axiales des bandes I, plus ou moins "estompées" (Pl. 103, fig. b).

Chez d'autres Heteronereis, l'involution semble plus accusée. En microscopie optique, il n'est plus possible d'observer la striation à l'intérieur du myoplasme cortical (Pl. 104, fig. a). Les mitochondries sont globuleuses. En microscopie électronique, la portion contractile ne présente plus aucune trace de bandes A et I. Elle renferme un matériel granuleux (Pl. 104, fig. b). Les mitochondries, volumineuses ont des crêtes internes gonflées. Cet aspect semble quelque peu nécrotique (Pl. 104, fig. b). Sous la couche périphérique granuleuse se trouvent aussi des amas de vésicules (Pl. 104, fig. b). En coupe longitudinale, la structure de la zone corticale est singulière. On y distingue des faisceaux sinusoïdaux de fins filaments, des structures filiformes périodiques (Pl. 104, fig. c). Chez d'autres cellules, les fins filaments ont un parcours rectiligne. Certains sont épais, très denses et d'épaisseur irrégulière (Pl. 104, fig. c).

Ces fibres en dégénérescence rappellent donc les sarcolytes de la musculature longitudinale, mais s'en distinguent par l'apparition de structures filamenteuses particulières.

DISCUSSION

Nous examinerons les différents problèmes de l'origine des fibres parapodiales hétéronéréidiennes, de l'amitose, de la myofibrillogenèse. Nous terminerons par la dégénérescence des fibres lors de la sénescence de l'Heteronereis.

I - ORIGINE DES FIBRES HETERONEREIDIENNES PARAPODIALES

Les deux hypothèses formulées à propos de la musculature longitudinale se posent à nouveau ici : les fibres hétéronéréidiennes proviennent-elles de la dédifférenciation des anciennes fibres néréidiennes ou sont-elles néoformées ?

CHARRIER (1920), défenseur de la première hypothèse, supposait que chaque fibre hétéronéréidienne était issue d'une fibre néréidienne ancienne, suivant des modalités semblables à celles des fibres longitudinales. Toutefois, nous avons vu que le volume des faisceaux longitudinaux restait presque inchangé au cours de l'épitoque. Il n'en est pas de même pour les faisceaux obliques, qui prennent une ampleur assez considérable chez l'Heteronereis.

DEFRETIN (1949) montre que l'on ne peut expliquer une telle augmentation de volume sans admettre l'adjonction d'éléments nouveaux. Il décrit la formation d'un "syncytium" au sein duquel se différencient par la suite les fibres "épitoques" obliques. Dans une étude histologique ultérieure (1964), réalisée sur des Nereis en épitoque expérimentale, il considère que le "pseudosyncytium" provient de la coalescence de myoblastes qui apparaissent autour de capillaires sanguins néoformés.

Nous confirmons les observations de DEFRETIN concernant l'édification du "pseudosyncytium" que nous préférons désigner par le terme : massif de prolifération. Il est constitué de très nombreuses cellules allongées ou myoblastes qui se différencient ensuite en fibres rubannées hétéronéréidiennes. Mais, nous infirmons son hypothèse selon laquelle les myoblastes sont issus de cellules périvasculaires.

Nous constatons en effet que les cellules périvasculaires correspondent à des éléocytes en cours d'évolution. DEHORNE et DEFRETIN (1933) avaient d'ailleurs montré que les éléocytes se formaient autour de certains capillaires. Certes, DEFRETIN signale que les cellules périvasculaires, à l'origine du massif de prolifération, sont situées à l'emplacement des futurs muscles parapodiaux. Mais nous remarquons aussi que des cellules tout à fait semblables

apparaissent en des zones où ne s'édifie aucune formation musculaire. D'autre part, nous observons que des vaisseaux entourés de cellules périvasculaires, situés dans la région des futurs faisceaux "épitoques" obliques, subsistent tout au long de l'évolution du massif de prolifération. Si ces cellules sont réellement à l'origine du massif de prolifération, il n'est alors plus possible de comprendre la raison de leur présence à des stades avancés de la néoformation parapodiale. Enfin, DEFRETIN est conduit à admettre une disparition des capillaires autour desquels se sont constituées les cellules périvasculaires, car le massif de prolifération ne renferme pas de vaisseaux sanguins. Il semble assez paradoxal que des capillaires puissent disparaître au cours d'une phase d'intense bourgeonnement vasculaire. D'ailleurs, DEFRETIN (1949) montre que de nombreuses ramifications de vaisseaux pénètrent parmi les fibres parapodiales, au moment de leur histogenèse.

Cependant, il s'agit là d'arguments négatifs, qui n'entraîneraient pas la conviction, si nous n'apportions pas en même temps des données précises sur l'origine exacte des myoblastes. Nous pensons que les stades de dédifférenciation observés à l'intérieur de certaines fibres néréidiennes obliques apportent la preuve indiscutable de cette origine. Selon nos observations, quelques fibres subissent une dédifférenciation qui semble totale, à l'inverse des cellules musculaires longitudinales. Le noyau et surtout le ou les nucléoles de ces fibres augmentent fortement de taille, signes d'une activation cellulaire. L'ensemble du matériel contractile disparaît. Corrélativement, du glycogène et de nombreux ribosomes se forment. Des dictyosomes apparaissent autour des noyaux. Tous ces phénomènes ressemblent singulièrement à ceux qui se déroulent au cours de la dédifférenciation des fibres musculaires de régénérats de membres de Triturus (LENTZ, 1969). La dédifférenciation de quelques éléments musculaires anciens semble donc réelle. C'est une hypothèse qu'avait aussi envisagée DEFRETIN (1949). Mais, ces cellules en dédifférenciation semblent peu abondantes. De nombreuses fibres néréidiennes dégènèrent et se fragmentent en sarcolytes fusiformes. D'autres subsistent jusqu'à la fin de l'épitoque, comme DEFRETIN (1949) l'a constaté. Les cellules indifférenciées sont le point de départ du massif de prolifération. Par de nombreuses divisions, elles vont donner naissance à une grande quantité de myoblastes. Mais, cette prolifération cellulaire pose l'important problème des divisions nucléaires directes, que nous aborderons maintenant.

II - LE PROBLEME DE L'AMITOSE

DEFRETIN (1949) observe des figures particulières d'étirement et d'étranglement de noyaux et de nucléoles appartenant au massif de prolifération. Comme il ne peut mettre en évidence de mitoses, il en conclut que les divisions nucléaires sont directes. Nous avons aussi constaté la présence de figures laissant supposer des amitoses (Pl. 95, figs i et h). De plus, comme DEFRETIN, nous n'avons jamais observé de mitoses. Or des divisions indirectes peuvent être mises en évidence ailleurs, notamment au sein des cellules péri-vasculaires. De même, BOILLY-MARER (communication personnelle) a rencontré des mitoses dans l'épiderme présomptif des futures lamelles parapodiales. D'autre part, des processus comparables à ceux intervenant dans les muscles parapodiaux semblent se réaliser au niveau de la future néoformation dorsale. Dans cette zone également, nous n'avons jamais pu voir la présence de figures de mitose. Au contraire, des aspects nucléaires amitotiques sont le plus souvent constatés (Pl. 87, fig. c). Enfin, des injections de colchicine ont été réalisées chez des animaux en épitoque expérimentale. Aucune mitose n'a pu être détectée.

Cependant, tous ces faits sont encore insuffisants pour conclure à l'existence d'amitoses dans le massif de prolifération. Ainsi, dans la littérature, beaucoup d'exemples d'amitoses se sont révélés inexacts. Les descriptions sont souvent justes, mais les interprétations erronées, car il y a beaucoup d'aspects, de formes de noyaux qui peuvent laisser croire à leur division directe. Par ailleurs, la scission du nucléole n'est pas la preuve d'une amitose. A ce propos, il est intéressant de noter que des noyaux, appartenant à des fibres parapodiales hétéronéréidiennes, possèdent encore deux nucléoles. Si la division nucléolaire est la marque d'une mitose, tous les noyaux ne devraient renfermer par la suite qu'un seul nucléole.

En outre, il faut bien savoir comment et dans quelles conditions se réalisent les divisions nucléaires directes. Dans un article de synthèse sur ce problème, BUCHER (1963) considère que l'amitose :

1. est rarement suivie d'une division du cytoplasme ;
2. a lieu dans des cellules très spécialisées ;
3. se déroule dans des cellules vieilles ou dans des conditions de vie défavorables.

Ces caractéristiques restreignent singulièrement les conditions d'apparition des amitoses. Chez les Nereis, le premier point aurait pu être un argument de poids, si la masse cytoplasmique, à l'origine des muscles hétéro-

neréidiens, avait été réellement de nature syncytiale. En réalité, l'aspect syncytial est dû à l'accolement intime des cellules, les membranes devenant souvent indiscernables, en microscopie optique. Quant aux deux autres caractéristiques, elles sont opposées à celles du massif de prolifération, constitué de cellules indifférenciées, tout au moins au début.

Il faut signaler aussi que de nombreuses descriptions d'amitoses ont été faites dans des fibres musculaires squelettiques en formation. A l'intérieur de myotubes, on observe des noyaux accolés les uns aux autres ou présentant des étranglements. Aucune mitose n'est décelable. Il s'est avéré par la suite, que les myotubes résultaient de la fusion de myoblastes qui eux présentent des mitoses.

On voit donc qu'il faut être très prudent quant à l'interprétation des figures amitotiques. Il est aussi évident qu'il est beaucoup plus difficile de fournir la preuve d'une amitose que celle d'une mitose. Ainsi, les résultats négatifs obtenus avec la colchicine ne prouvent pas l'existence d'amitoses. La multiplicité des observations, l'utilisation d'antimitotiques, chez des Nereis à des stades évolutifs précoces, nous permettront peut-être de trancher définitivement cette question.

III - LA GENESE DES FILAMENTS

Comme l'élaboration des filaments est en relation avec la présence de microtubules et de ribosomes, nous envisagerons d'abord ces deux éléments cellulaires.

1 - Les microtubules

Des microtubules précèdent, dans le cytoplasme périphérique, l'apparition des filaments. Ils peuvent ensuite subsister un certain temps, mais finissent toujours par disparaître lorsque le nombre de filaments augmente.

Les microtubules ne sont pas particuliers à N. irrorata, car ils apparaissent assez fréquemment dans des cellules musculaires en cours de différenciation, en particulier chez les Insectes (BIENZ-ISLER, 1968 ; BEINBRECH, 1968 ; AUBER, 1964, 1969) et les Vertébrés (muscle squelettique d'embryon de poulet) (PRZYBYLSKI et BLUMBERG, 1966 ; FISCHMAN, 1967 ; FIRKET, 1967). Ils disparaissent ensuite dans les fibres musculaires complètement différenciées. Chez Rhodnius prolixus, si les microtubules sont encore présents dans le muscle parvenu à son maximum de développement, ils sont surtout plus nombreux

dans les fibres en cours de croissance (AUBER-THOMAY, 1967 ; TOSELLI et PEPE, 1968 ; WARREN et PORTER, 1968). Pour FISCHMAN (1967), WARREN et PORTER (1968), AUBER (1969), les microtubules correspondent à des éléments cytosquelettiques qui assureraient une certaine rigidité à la cellule et permettraient une orientation correcte des premiers filaments. Avec la formation des premières myofibrilles, les microtubules disparaissent. Pour N. irrorata, leur rôle dans l'orientation des premiers filaments paraît aussi le plus vraisemblable. Ils sont en effet totalement absents des fibres parapodiales hétéronéréidiennes.

2 - Les ribosomes

Si la plupart des ribosomes sont situés le long des filaments ou à leur proximité immédiate, ils sont également en assez grande abondance autour du noyau.

Mais, la plupart des ribosomes, dont un grand nombre est associé en chaînettes de polysomes, sont en étroite relation avec les filaments néoformés. La technique de THIERY a confirmé leur nature. Le très net rapport entre les filaments et les polysomes ou ribosomes a été aussi mis en évidence dans de nombreux muscles striés transversalement, au cours de leur différenciation (BERGMAN, 1962 ; HAY, 1963 ; WADDINGTON et PERRY, 1963 ; CEDERGREEN et HARARY, 1964 ; ALLEN et PEPE, 1965 ; PRZYBYLSKI et BLUMBERG, 1966 ; FIRKET, 1967). HEUSON-STIENNON (1965), LARSON, HEDGSON et WALTON (1969) ont montré que les polysomes étaient parfois au contact même des filaments de myosine, comme nous-mêmes le constatons chez N. irrorata.

L'hypothèse du rôle possible des polysomes dans la synthèse des protéines contractiles, présentée par ALLEN et PEPE (1965), a récemment reçu deux confirmations très probantes. ALLEN et TERRENCE (1968) ont utilisé la technique d'immunochimie, basée sur l'utilisation d'antimyosine qui réagit avec les polypeptides de myosine native, attachés aux polysomes. Ils ont ainsi pu montrer que la myosine était synthétisée au niveau de grands polysomes, de 60 ribosomes, dans le muscle d'embryon de poulet. A partir du même matériel, HEYWOOD et RICH (1968) ont isolé trois groupes de polysomes de différentes dimensions. Ils ont montré qu'il y avait un rapport direct entre la grandeur des polysomes et le poids moléculaire de la protéine contractile qu'ils synthétisaient. Ainsi, les grands (50-60 ribosomes) synthétisent la myosine (P.M. : 170 000 à 200 000), les moyens (15 à 25 ribosomes) président à la genèse de l'actine (P.M. : 60 000 à 70 000) ; le troisième groupe (5 à 9 unités) serait à l'origine de la tropomyosine (P.M. 30 000). Dans les trois cas, l'ARN-messager est monocistronique.

Bien qu'il nous soit impossible, sur nos micrographies, de connaître la dimension des polysomes, nous pouvons néanmoins constater la présence d'un nombre élevé de ribosomes au moment de la formation des filaments myosiniques.

Nous comptons réaliser prochainement l'isolement et la coloration négative des polysomes afin de connaître exactement leurs dimensions.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par CHAPRON (1970) dans l'étude de myoblastes en différenciation d'Eisenia foetida. Il observe aussi des microtubules et des polysomes à proximité des filaments épais.

Ces observations sont d'autant plus intéressantes que l'on pouvait penser a priori à des processus de synthèse très éloignés entre les muscles hélicoïdaux et les muscles striés transversalement, puisque chez les premiers les filaments sont du type paramyosinique et, chez les seconds du type myosinique. Rappelons également que nous étions parvenus à l'hypothèse d'un mécanisme fondamental de contraction semblable pour ces deux catégories de muscles. Les muscles hélicoïdaux et striés transversalement, que l'on aurait pu croire très différents, s'avèrent finalement beaucoup plus proches les uns des autres, tant par leur embryogenèse que par leur mécanisme de contraction.

Enfin, si les ribosomes sont le plus souvent libres dans le sarcoplasme, ils peuvent apparaître aussi à la surface de membranes du reticulum, et même sur la face externe de certaines vésicules sous-sarcolemmiques. Mais, dans tous ces cas, les membranes associées aux ribosomes sont dans le voisinage immédiat des filaments.

3 - Les filaments. Les éléments Z et du reticulum.

Selon la plupart des auteurs, au cours de la myofibrillogénèse du muscle strié transversalement, les deux types de filaments seraient élaborés en même temps (FERRIS, 1959 ; HAY, 1963 ; FIRKET, 1963 ; SHAFIQ, 1963 ; HEUSON-STIENNON, 1965 ; PRZYBYLSKI et BLUMBERG, 1966 ; FISCHMANN, 1967). Mais, PORTER (1958), puis ALLEN et PEPE (1965) considèrent que les filaments d'actine précèdent les filaments de myosine. AUBER (1969) constate, chez les Insectes comme chez les Vertébrés, que les filaments fins et épais sont précédés par des filaments initiaux de 50 Å, groupés en faisceaux denses, dans le sarcoplasme cortical. Les filaments d'actine seraient synthétisés en liaison avec les filaments initiaux. Au cours de l'élaboration des deux types de filaments, les stries Z apparaissent. Chez N. irrorata et N. pelagica, nous n'avons pas observé de faisceaux de filaments initiaux, mais il est peut-être encore

prématuré d'affirmer qu'ils n'existent pas. Nous rappellerons que, chez N. pelagica, nous avons observé des filaments épais néoformés, dont le calibre était nettement plus faible (100-120 Å) que celui (220-240 Å) des filaments myosiniques appartenant aux fibres complètement différenciées. Nous ne pouvons cependant pas encore nous prononcer sur leur diamètre réel, étant donné l'absence de sections transversales. D'autre part, il est impossible d'affirmer, pour le moment, qu'ils correspondent à des filaments précurseurs, puisque nous ne les avons pas rencontrés chez N. irrorata. Les filaments sont pour la plupart orientés parallèlement à la surface, mais ils ne forment pas une file continue tout au long du sarcolemme. Très rapidement, en direction centripète, apparaissent de nouveaux filaments, décalés les uns par rapport aux autres : les premières bandes A obliques sont constituées. Il semble donc que, chez N. irrorata, les deux types de filaments se forment d'emblée, au nombre de deux ou trois. Ensuite, il y a adjonction de nombreux filaments vers l'intérieur. Ceux-ci s'organisent pour constituer les bandes A et I.

Dans le milieu des bandes I, des éléments Z et du reticulum font alors leur apparition. En ce qui concerne les éléments Z, il est possible qu'ils soient formés plus tôt puisque nous en avons parfois rencontrés parmi des filaments dont l'agencement en bandes était loin d'être réalisé.

Enfin, les éléments du R.S. semblent issus du reticulum endoplasmique périphérique, qui est souvent lisse, mais parfois granulaire. Les vésicules sous-sarcolemmiques font au début également partie de l'ergastoplasme puisqu'elles possèdent sur leur face externe, située à l'opposé du sarcolemme, des granulations ribosomiques. Les éléments du reticulum et les vésicules perdraient rapidement leurs ribosomes pour prendre leur aspect définitif, à la fin de la genèse des filaments.

IV - LA DEGENERESCENCE

Les aspects décrits dans les muscles parapodiaux hétéronéréidiens correspondent à une sarcolyse par vieillissement de la cellule, au moment où l'Heteronereis commence à s'épuiser. La dégénérescence est un peu intermédiaire entre les deux types de sarcolyse décrits à propos des fibres longitudinales. En effet, un matériel granuleux apparaît, mais il subsiste encore un certain nombre de filaments. Mais, elle se distingue des autres sarcolyses par l'apparition de structures particulières, filamentaires, sinusoïdales et périodiques. Il semble donc que les modalités de l'histolyse musculaire soient très diverses.

CONCLUSION

Les muscles parapodiaux hétéronéréidiens proviennent, comme DEFRETIN l'a constaté, d'un massif de prolifération constitué de myoblastes. Mais, à l'inverse de cet auteur, nous avons montré que ces myoblastes n'étaient pas issus de cellules périvasculaires mais provenaient de la dédifférenciation d'un certain nombre de cellules néréidiennes appartenant aux faisceaux musculaires obliques primitifs. Les fibres semblent se dédifférencier complètement et donnent naissance à des cellules-souches, à l'origine des myoblastes. On a donc l'évolution suivante :

Fibres musculaires néréidiennes $\xrightarrow{\text{dédifférenciation}}$ cellules souches indifférenciées $\xrightarrow{\text{divisions}}$ myoblastes $\xrightarrow{\text{divisions}}$ massif de prolifération $\xrightarrow{\text{différenciation}}$ muscle hétéronéréidien.

La dédifférenciation est donc totale, à l'inverse de celle qui apparaît dans les fibres longitudinales.

Les divisions nucléaires, au sein du massif de prolifération, semblent directes, comme DEFRETIN l'avait constaté. Cependant, il faut être très réservé pour l'instant quant à la réalité de ce processus.

La myofibrillogenèse des fibres parapodiales s'est révélée être très intéressante. En particulier, par la présence de microtubules et de polysomes au voisinage ou au contact des filaments, l'élaboration des structures contractiles est très comparable à celle décrite dans les fibres à striation transversale. L'observation de phénomènes du même ordre dans les myoblastes de régénérats d'Eisenia (CHAPRON, 1970) apporte une preuve supplémentaire de la grande analogie existant dans la myofibrillogenèse des fibres striées obliquement et transversalement.

Enfin, les fibres hétéronéréidiennes obliques parvenues au stade ultime de leur différenciation, sont entièrement comparables aux fibres transformées des muscles longitudinaux. Leur dégénérescence, chez des Heteronereis sénescents diffère de la sarcolyse des fibres longitudinales.

CONCLUSION DE LA TROISIEME PARTIE

Comme chez S. amica, les transformations n'apparaissent pas d'emblée dans toutes les fibres des faisceaux longitudinaux. Elles s'observent d'abord dans les petites fibres les plus externes. Ensuite, elles s'étendent progressivement vers les couches les plus profondes.

Quant aux processus qui interviennent dans l'évolution des fibres néréidiennes en fibres "épitoques", en dehors de quelques particularités mineures, ils sont similaires à ceux décrits chez S. amica. Ils ne conduisent pas à la formation de myoblastes. La dédifférenciation et la redifférenciation se déroulent en effet simultanément.

On peut penser que les mitochondries proviennent de la division des anciennes, que les filaments paramyosiniques, à diamètre plus faible, résultent de la diminution du calibre des filaments primitifs. En ce qui concerne le glycogène, nous avons supposé, chez S. amica, que les ribosomes pouvaient jouer un rôle dans sa genèse. Par une étude plus approfondie, chez N. irrorata, il semble qu'il puisse se former de novo, sous l'aspect de particules très petites, qui augmenteraient ensuite de volume par adjonction de sous-unités de 40 Å de diamètre. Il est également possible qu'un certain nombre de rosettes proviennent de chaînettes de particules β . Evidemment ces constatations morphologiques doivent être étayées par de nouvelles études ultrastructurales et biochimiques.

La néoformation provient de cellules indifférenciées, à noyau et nucléole volumineux, situées au niveau des extrémités latérodorsales des faisceaux longitudinaux. L'origine de ces cellules reste à préciser. Elles peuvent être issues soit d'éléments coelomiques indifférenciés, soit de cellules musculaires dédifférenciées. Très rapidement, un massif de petites fibres, de structure néréidienne, s'édifie de chaque côté du vaisseau dorsal. Ces fibres augmentent ensuite de taille et acquièrent une structure quelque peu différente des cellules musculaires néréidiennes. Il semble vraisemblable d'admettre que la néoformation ait un rôle dans le déroulement de la danse nuptiale de l'Heteronereis.

Les muscles parapodiaux proviennent d'un tissu de prolifération, issu de la dédifférenciation de quelques cellules néréidiennes des faisceaux primitifs. Bien que certaines figures nucléaires suggèrent des amitoses, il est impossible, pour le moment, d'affirmer que des divisions directes aient lieu.

Dans les myoblastes du massif de prolifération, la myofibrillogenèse est très semblable à celle décrite dans de nombreux muscles striés transversalement. Des microtubules apparaissent avant la genèse des premiers filaments. Ces derniers sont en étroite association avec des polysomes qui, sans nul doute, participent à la synthèse des protéines contractiles. Il semble qu'il n'y ait pas formation de faisceaux de filaments primordiaux et que les deux types de filaments apparaissent d'emblée. Ensuite, de nouveaux filaments épais et fins s'élaborent vers l'intérieur de la cellule et se disposent de telle façon qu'ils soient décalés les uns par rapport aux autres. Les tubules du R.S. et des éléments Z se forment ensuite. Les structures tubulaires et les vésicules sous-sarcolemmiques semblent provenir, au début, du reticulum endoplasmique granulaire. En fin d'évolution, les fibres parapodiales sont presque identiques à celles des faisceaux longitudinaux. Chez des Heteronereis âgées, elles paraissent dégénérer plus tôt que les longitudinales.

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION

L'étude de la musculature, chez les Néréidiens et Syllidiens, répondait à un double but.

En premier lieu, il était intéressant de connaître l'ultrastructure des fibres "atoques" et "épitoques".

Le second but consistait à approfondir l'étude de l'évolution de la musculature. Il était d'une part nécessaire de confirmer, à l'aide de la microscopie électronique principalement, l'hypothèse de CHARRIER (1920) et surtout celle de DEFRETIN (1949) relatives à la dédifférenciation des fibres longitudinales, lors de l'épitoque des Néréidiens. Il était aussi très important de savoir si des phénomènes similaires intervenaient au sein de la musculature longitudinale des Syllidiens, au cours de leur stolonisation. D'autre part, les descriptions de DEFRETIN (1949) concernant l'évolution de la néoformation dorsale et des muscles parapodiaux, chez les Néréidiens épitoques méritaient une nouvelle investigation, à l'échelle ultrastructurale.

I - LA FIBRE "ATOQUE" OU DU TYPE SOUCHE ET LA FIBRE "EPITOQUE" OU DU TYPE STOLONIAL

1 - Similarité de structure

Ces deux types de fibres sont à double striation oblique, comme celles décrites chez les Annélides Oligochètes et Achètes, les Mollusques, les Nématodes et Trématodes.

Elles correspondent à de véritables cellules, de forme rubannée, présentant un noyau situé en leur milieu. De longueur importante, elles peuvent s'étendre sur trois ou quatre segments successifs.

Leurs myofibrilles, très nettes dans des fibres extraites à la glycérine et observées en contraste de phase, ont un trajet hélicoïdal. A l'état de repos, leur angle d'obliquité s'élève à 6-10° environ. Lors de la contraction, provoquée par une solution à base d'ATP, l'angle d'obliquité s'accroît très fortement et peut atteindre 30-35°. Ces valeurs angulaires, obtenues sur des fibres "atoques" ou "épitoques", à l'état de repos ou de contraction, sont tout à fait comparables à celles relevées chez l'huître Crassostea (partie translucide du muscle adducteur : HANSON et LOWY, 1961) et pour la musculature longitudinale des Annélides Oligochètes Lumbricus terrestris (HANSON, 1957).

Les cellules musculaires hélicoïdales renferment deux catégories de filaments : les uns sont épais et composés de myosine, ou plus exactement de paramyosine, les autres sont fins et constitués d'actine.

La disposition des filaments épais ne semble pas irrégulière, comme beaucoup de micrographies électroniques le laisseraient supposer. Des sections ultrafines de matériel glycérimé montrent que les filaments primaires s'inscrivent dans un réseau régulier formé de losanges. La disposition des filaments fins paraît, par contre, plus irrégulière. Cependant, il se répartissent le plus souvent en orbites de huit à quinze autour d'un filament primaire. Chez les Néréidiens, la proportion des filaments d'actine (6 à 7 pour un épais) ne semble pas varier pour les deux types de fibres. Ce nombre, assez élevé, de filaments fins est semblable à celui des autres muscles hélicoïdaux des Annélides Oligochètes et des Mollusques.

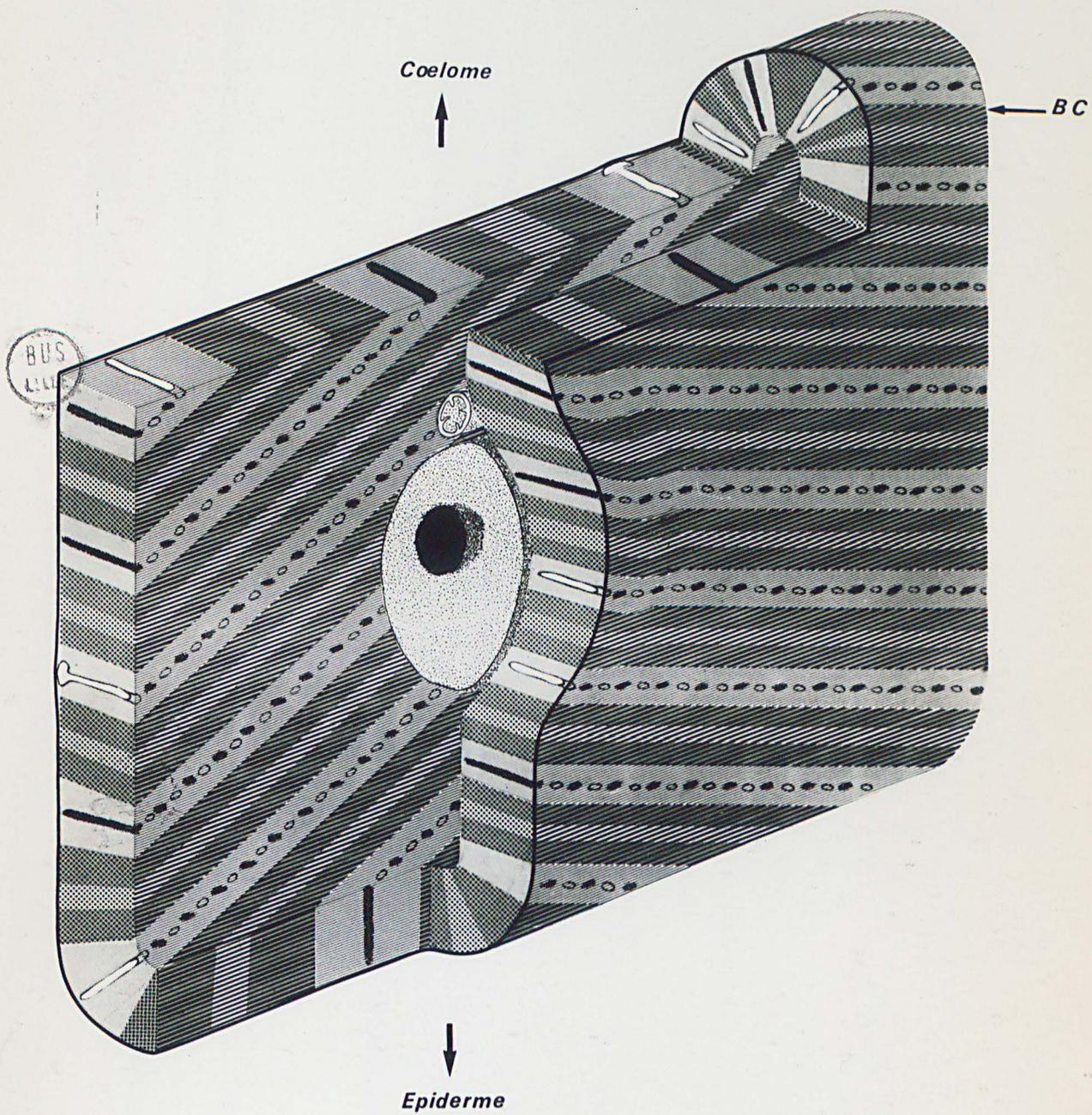
L'isolement des filaments, réalisé grâce à la technique de HUXLEY (1963), a permis de connaître la structure et la longueur des filaments épais, chez les Néréidiens. Ce sont des filaments paramyosiniques, renfermant de la tropomyosine A. De tels filaments sont également présents dans d'autres muscles d'Invertébrés, tels les adducteurs, lisses, des Mollusques (HANSON et LOWY, 1964 ; ELLIOTT, 1964) et les muscles à double striation oblique des Mollusques (HANSON et LOWY, 1961) et des Annélides Oligochètes (HEUMANN et ZEBE, 1967). La présence de la paramyosine serait liée à une certaine tonicité des fibres musculaires. Alors que les filaments épais ont une constitution et un calibre variable suivant les espèces, les filaments fins au contraire sont toujours composés de la même protéine contractile : l'actine, et ont tous le même diamètre : 70 à 80 Å. Cette remarquable constance de structure et de composition des filaments secondaires, dans le règne animal, est vraisemblablement d'un très grand intérêt pour la compréhension des processus de contraction musculaire. La longueur des filaments paramyosiniques s'élève à 6 µ environ, chez N. irrorata et N. pelagica. Compte tenu de cette dimension assez considérable, des valeurs de l'angle d'obliquité des fibrilles, obtenues sur fibres relâchées ou contractées et de la largeur des myofibrilles ou bandes A, il semble que les filaments ne soient pas parallèles à l'axe de la fibre, comme on le pensait jusqu'à présent, mais légèrement obliques. Néanmoins, cette légère obliquité ne modifie en rien le schéma général de la fibre hélicoïdale, ni la conception de la contraction.

Le mécanisme de la contraction des cellules musculaires hélicoïdales ne semble pas différer beaucoup de celui, mis en évidence par HUXLEY et HANSON (1957 ; 1960) dans les muscles striés transversalement. Des ponts transversaux relient les filaments de myosine à ceux d'actine. Dans les fibres contractées, on observe la disparition des bandes H, ce qui tend à prouver le déplacement des filaments fins par rapport aux épais. Corrélativement, les bandes I disparaissent et les éléments Z, sur lesquels s'insèrent les filaments fins et les tubules du reticulum, se rapprochent des extrémités des filaments épais. On peut donc penser, comme HANSON et LOWY (1961) qu'il existe un mécanisme de déplacement filamentaire (sliding filament mechanism) dans les muscles à double striation oblique. Toutefois, au cours de la contraction de la fibre hélicoïdale, les filaments épais se déplacent de telle sorte que leurs extrémités se rapprochent les unes des autres et que leur degré de chevauchement augmente (voir les Figs 17 et 18, p. 43). Ce schéma, préconisé en même temps par ROSENBLUTH (1967) et HEUMANN et ZEBE (1967) rend compte de l'augmentation de l'angle d'obliquité des myofibrilles. Il peut s'appliquer aussi aux fibres de Nereis atiques et épitoques.

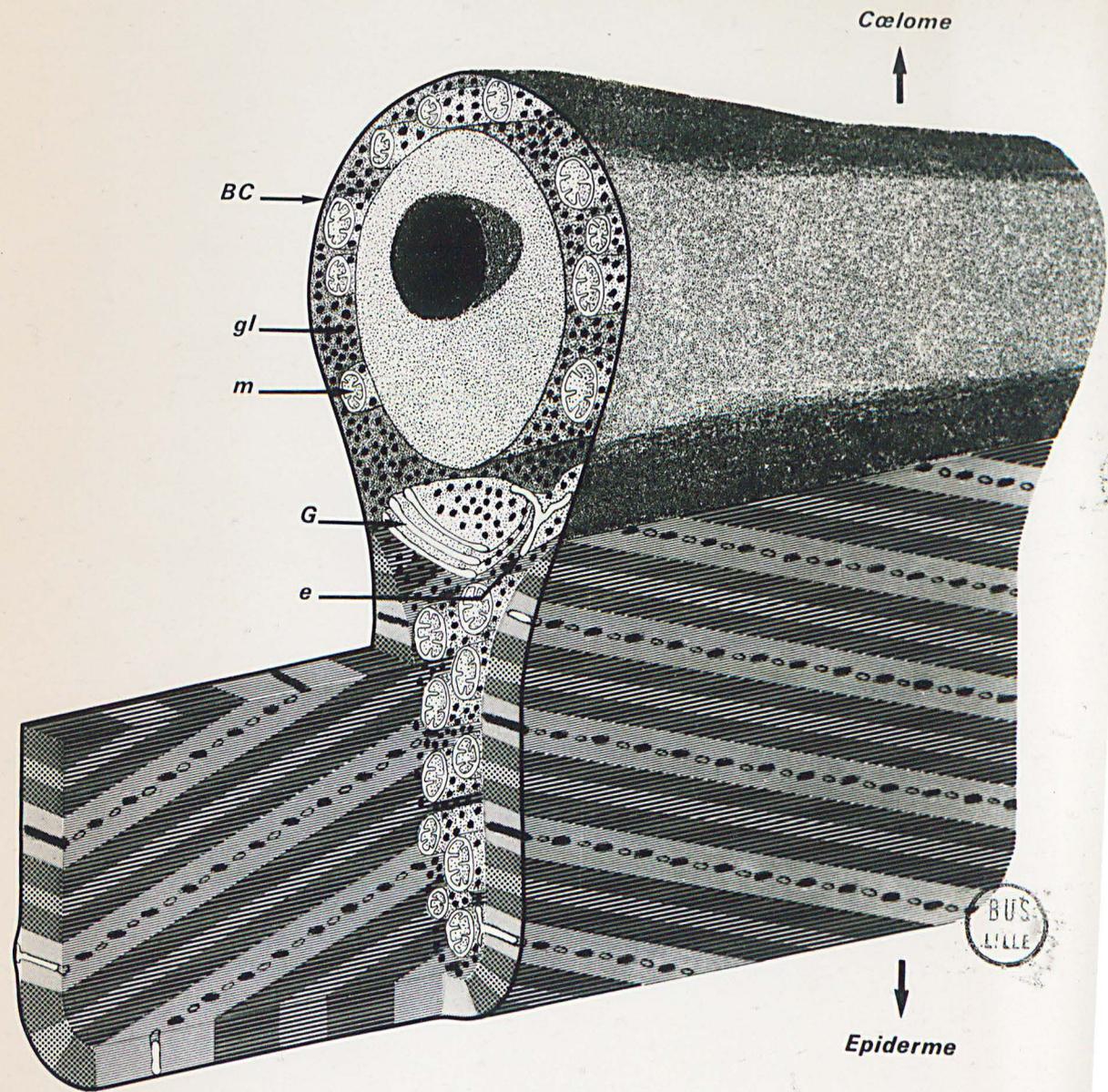
Les tubules du reticulum sarcoplasmique (R.S.) sont en alternance avec les éléments Z, dans le milieu des bandes I. Ces tubules, comme nous avons pu le constater chez les Nereis, ne sont pas indépendants mais sont le plus souvent reliés les uns aux autres, par l'intermédiaire de canalicules axiaux. Ces derniers peuvent recevoir des tubules du R.S. appartenant aux deux systèmes de fibrilles d'obliquité inverse.

D'autre part, les éléments du R.S. sont en liaison avec des vésicules sous-sarcolemmiques. Ces dernières, avec le sarcolemme sus-jacent sont homologues des dyades des muscles striés transversalement, car le système T est absent dans les fibres hélicoïdales. Cette homologie est d'autant plus vraisemblable que l'on détecte parfois un matériel dense condensé en une ligne parallèle et médiane, dans l'intervalle compris entre la vésicule et la membrane cellulaire. Or, de telles densifications apparaissent souvent dans les espaces intermembranaires des triades de muscles d'Amphibiens (D.E. KELLY, 1969).

L'innervation des fibres est très particulière et ressemble beaucoup à celle de l'Ascaris (AUBER-THOMAY, 1964 ; REGER, 1965 ; ROSENBLUTH, 1965). Les jonctions neuromusculaires, tout au moins pour la musculature longitudinale se réalisent en des points éloignés des fibres, au niveau de la lame basale sous-épidermique, par l'intermédiaire de longs et fins prolongements, issus du bord externe des fibres. Les nerfs longent la lame basale, sans pénétrer dans la musculature, comme l'ont aussi montré DHAINAUT-COURTOIS et WAREMBOURG (1969) chez N. pelagica.



FIBRE NEREIDIENNE, à noyau axial.
B.C. : bord cœlomique



FIBRE HETERONEREIDIENNE.
Le noyau est latéral, le nucléole volumineux.
Le bord cœlomique (B.C.), sans filament, est hypertrophié.
e: ergastoplasme ; G: appareil de Golgi ; gl: glycogène ;
m: mitochondrie.

2 - Différences structurales entre la fibre "atoque" et la fibre "épitoque"

Les stolons de Syllis et les Heteronereis sont animés de mouvements sinusoïdaux extrêmement rapides et fréquents. Le muscle du ver atoque, dont les contractions sont relativement lentes, laisse place à une musculature d'un type "rapide".

Les différences enregistrées entre les deux types de fibres peuvent donc présenter un intérêt particulier pour les études de la physiologie musculaire.

Tout d'abord, on constate que le calibre des filaments épais de la fibre "épitoque" est plus faible. Les filaments paramyosiniques semblent renfermer un certain nombre de microfilaments de 25 Å de diamètre, dont le nombre est plus ou moins élevé. Ces microfilaments pourraient correspondre aux molécules de tropomyosine A axiale et de myosine périphérique, dont la largeur (au niveau de la partie filamentaire de la molécule) est semblable. Il est possible que la diminution du calibre des filaments corresponde à la disparition d'un certain nombre de molécules de paramyosine, dont le rôle serait, selon HANSON et LOWY (1961), de supporter l'effet de tension transmis par les ponts d'actomyosine. La réduction du diamètre des filaments pourrait donc être en rapport avec l'augmentation de rapidité des contractions. Il est d'ailleurs frappant de constater que les muscles lisses adducteurs des Mollusques ont des filaments paramyosiniques très épais : de 600 à 1500 Å. Or, leur tonicité est très élevée. D'autre part, on observe chez les Insectes, par exemple, que les filaments myosiniques des muscles viscéraux sont plus larges que ceux des muscles alaires (SMITH, GUPTA et SMITH, 1966 ; REGER et COOPER, 1967). Il semble donc vraisemblable que la tonicité, la "rapidité" d'une cellule musculaire soit en rapport direct avec la structure des filaments primaires, comme plusieurs expériences l'ont suggéré (JEWELL et RÜEGG, 1966 ; COSTANTIN, PODOLSKY et TICE, 1967).

Néanmoins, le rôle du R.S. n'est pas négligeable. On connaît en effet des fibres dont la grande rapidité des contractions est en rapport avec l'abondance du R.S. (cryothyroïde de Chauve-souris : REVEL, 1962 ; muscle synchrone "remoteur" de l'antenne du Homard : ROSENBLUTH, 1969). Il est logique de penser que plus les tubules du R.S. sont abondants, plus la libération et la reprise du calcium se réalisent rapidement, et plus le rythme des contractions peut être élevé. Dans les fibres "épitoques" ou stoloniales, des éléments du R.S. sont apparus sur les faces internes des bandes A et I. Mais l'accroissement du R.S. n'est pas très spectaculaire.

Les fibres stoloniales et hétéronériennes se caractérisent par un nombre considérable de mitochondries dans leur région axiale. Le volume cellulaire occupé par le chondriome passe de 0,5 à 40-47 %. Inversement, le matériel contractile a subi une forte diminution de volume et se localise seulement au niveau du cortex cellulaire.

L'abondance des mitochondries serait plus en rapport avec un taux élevé des contractions qu'avec leur "rapidité". Ces mêmes fibres renferment une très grande quantité de glycogène et des inclusions lipidiques. La relation entre ce matériel énergétique et les mitochondries d'une part et la grande fréquence des contractions d'autre part, est d'autant plus plausible que ces mêmes éléments se retrouvent en assez grande abondance dans le muscle cardiaque.

II - L'EVOLUTION DE LA MUSCULATURE AU COURS DE LA STOLONISATION ET DE L'EPITOQUIE

1 - Musculature longitudinale. Formation des cellules hétéronériennes ou stoloniales

Les transformations structurales affectent d'abord les fibres, de petite taille, situées dans les couches les plus externes, sous-tégumentaires. Puis, les cellules plus internes sont à leur tour le siège de remaniements. Il y a donc une sorte de propagation des phénomènes en direction centripète, propagation qui est bien mise en évidence par autoradiographie, avec la leucine tritiée. Chez les Syllidiens, il faut toutefois noter que les faisceaux longitudinaux n'évoluent pas complètement. Latéralement, les cellules restent du type souche. Néanmoins, la plupart des cellules musculaires longitudinales subissent de profonds remaniements structuraux. Leurs noyau et nucléole augmentent de volume. Dans la région périnucléaire, apparaissent de nombreux ribosomes et du glycogène. Le voisinage de ces deux composants cellulaires pourrait faire penser à un rôle possible des ribosomes dans la synthèse du glycogène, comme HEUSON-STIENNON et DROCHMANS (1967), STADHOUDERS (1965), VRENSSEN et KUYPER (1969) l'ont envisagé. Cependant, en dehors du sarcoplasme périnucléaire, les granulations de glycogène se forment indépendamment des ribosomes. Elles semblent apparaître au début sous la forme de chaînettes de particules β beaucoup plus petites que celles rencontrées normalement. Il ne serait peut-être pas interdit de penser que les particules β puissent s'accroître en volume par adjonction de sous-unités de 40 Å environ

de large, qui ont été également observées par M.M. PERRY (1967) et VAN GANSEN et SCHRAMM (1969), dans des cellules de gastrula et neurula de Batraciens. Le glycogène se présente uniquement sous la forme β chez les Syllis, alors qu'il est du type β et surtout α chez les Nereis. Il apparaît principalement dans la portion coelomique, dédifférenciée totalement, de la fibre musculaire. Il est synthétisé ensuite dans la partie axiale, dédifférenciée de la fibre.

Le chondriome, comme DEHORNE (1926) et DEFRETIN (1949) l'avaient déjà souligné, présente aussi un développement spectaculaire, dû à l'accroissement du nombre des mitochondries. Ces organites se multiplient dans le sarcoplasme périnucléaire et dans les zones dédifférenciées, c'est-à-dire les portions coelomique et axiale des fibres. Mais, il faut remarquer que les mitochondries se forment dans des régions où elles existaient primitivement. Cette observation pourrait être un argument en faveur de leur division, hypothèse la mieux étayée actuellement depuis les travaux de LUCK sur Neurospora (1963, 1965).

Les myofilaments et les éléments Z et du R.S. disparaissent dans toute la portion du bord coelomique et dans la zone médullaire. Mais, aucun cytolysosome n'est décelé, comme HAY (1962 ; 1968) l'avait aussi remarqué dans les cellules en dédifférenciation des régénérats de muscles d'Amphibiens. Les myofilaments anciens du cytoplasme cortical semblent subsister, car il n'a pas été possible de détecter, à ce niveau, une myofibrillogenèse, caractérisée principalement par l'apparition de nombreux ribosomes et polysomes. Le calibre des myofilaments paramyosiniques se réduit quelque peu, en fin d'épitoquie? De nombreux tubules du R.S. se constituent sur la face interne des bandes A et I. Dans le sarcoplasme périnucléaire, de nombreux dictyosomes font leur apparition.

L'hypothèse de DEFRETIN (1949), selon laquelle les fibres hétéronéréidiennes proviennent de fibres néréidiennes anciennes se trouve donc confirmée. La dédifférenciation, partielle, ne peut cependant être assimilée à celle qui intervient dans la musculature des régénérats de muscles d'Amphibiens. HAY (1959) et LENTZ (1969) ont décrit une dédifférenciation complète des fibres musculaires, qui se transforment en cellules de type embryonnaire. Leurs noyau et nucléole sont volumineux. Leur cytoplasme est riche en ribosomes. Dans les cas de régénération ou de greffe chez les Annélides Oligochètes, il semble que des processus similaires interviennent (CHAPRON, 1970 a et b ; VALEMBOSIS, 1970). Les fibres musculaires donneraient naissance à des cellules indifférenciées. Au cours de l'épitoquie ou de la stolonisation, on assiste au contraire

à une évolution simultanée des processus de dédifférenciation et redifférenciation. Le stade d'indifférenciation totale n'apparaît donc pas. Néanmoins, une partie des aspects évolutifs observés peut être intégrée dans le phénomène général de la dédifférenciation.

2 - La néoformation dorsale des Néréidiens

Comme DEFRETIN (1949) l'a montré, la néoformation ne provient pas de la dédifférenciation de fibres néréidiennes. Des cellules-souches, à noyau et nucléole volumineux, apparaissent aux extrémités latéro-dorsales des faisceaux longitudinaux. Ces cellules sont à l'origine de deux massifs, situés de part et d'autre du vaisseau dorsal et constitués de très petites fibres, de type néréidien, à mitochondries peu nombreuses, et à noyau latéral. En fin d'épitoque, les fibres acquièrent une structure particulière, mais qui reste fondamentalement du type atoque. A la différence des muscles longitudinaux, la néoformation dorsale constitue un ensemble difficilement dissociable après extraction à la glycérine, en raison de la présence de nombreux desmosomes intercellulaires. On peut penser qu'elle joue un rôle lors de la danse nuptiale de l'Heteronereis.

3 - La musculature parapodiale hétéronéréidienne

Les descriptions de DEFRETIN (1949) relatives à la différenciation des muscles parapodiaux au sein d'un "syncytium" ou plutôt d'un massif de prolifération, sont confirmées. Cependant, l'hypothèse de ce même auteur, selon laquelle des cellules périvasculaires sont à l'origine de ce massif, est infirmée. En réalité, ces cellules donnant naissance à des éléocytes, comme DEHORNE et DEFRETIN (1933) l'avaient signalé.

A un stade très précoce de l'épitoque, alors qu'il n'existe encore aucun signe de changement au sein des faisceaux longitudinaux, un certain nombre de fibres parapodiales néréidiennes se dédifférencient. Mais, à l'inverse des fibres longitudinales, leur dédifférenciation est totale et aboutit à l'apparition de cellules indifférenciées, au noyau allongé et de grande taille, contenant un, deux ou même trois gros nucléoles. Cet aspect n'est pas sans rappeler celui des cellules à l'origine des soies hétéronéréidiennes. Ces cellules sont aussi caractérisées par un noyau renfermant un à trois volumineux nucléoles. Elles sont issues d'une prolifération de l'épiderme et ont repris des caractères embryonnaires (BAUCHOT-BOUTIN et BOBIN, 1954 ; SCHROEDER, 1966). On assiste donc, dans les deux cas, à une dédifférenciation et à une prolifération cellulaire.

Cependant, aucune mitose n'a pu être mise en évidence dans le massif de prolifération des muscles parapodiaux. D'autre part l'observation d'images de noyaux ressemblant à des amitoses est insuffisante pour conclure à l'existence de divisions directes. De nouvelles recherches s'imposent donc dans ce domaine.

Dans le cytoplasme cortical des cellules du massif de prolifération, se déroulent les premières manifestations d'une myofibrillogenèse. Des microtubules apparaissent tout d'abord, à proximité du sarcolemme. Puis, les premiers filaments sont synthétisés au même niveau. Les deux types de filaments semblent se former d'emblée, et nous n'avons pas vu de faisceaux de filaments initiaux de 50 Å, comme AUBER (1969 a et b) l'a montré dans les premiers stades de la myofibrillogenèse des fibres striées transversalement, chez les Insectes et les Vertébrés. De nombreux ribosomes et polysomes sont situés au voisinage, parfois le long des filaments. Dans certaines cellules plus évoluées, les bandes A et I s'individualisent ainsi que les éléments Z et du R.S. On observe souvent des saccules ergastoplasmiques près des filaments, et des vésicules sous-sarcolemmiques, dont la face externe, dirigée vers l'intérieur de la cellule, est recouverte de ribosomes. Il est possible que ces structures du reticulum granulaire soient à l'origine du R.S. et des vésicules sous-sarcolemmiques, après disparition des ribosomes.

Récemment, CHAPRON (1970 b) a également décrit des microtubules et des ribosomes à proximité des filaments dans des myoblastes d'Eisenia foetida (Annélide Oligochète).

Il est donc frappant de constater combien les processus intervenant au cours de l'édification du matériel contractile dans les fibres hélicoïdales, sont comparables à ceux enregistrés dans de nombreux muscles à striation transversale. En particulier, la présence de microtubules et de ribosomes a été maintes fois constatée lors de la différenciation des cellules musculaires (ALLEN et PEPE, 1965 ; HEUSON-STIENNON, 1965 ; PRZYBYLSKI et BLUMBERG, 1966 ; FISCHMANN, 1967 ; FIRKET, 1967 ; AUBER, 1964, 1969 a et b). Il semble, en particulier, que les polysomes puissent jouer un rôle direct dans la synthèse des protéines contractiles, comme de récents travaux de ALLEN et TERENCE (1968) et HEYWOOD et RICH (1968) tendent à le prouver.

4 - La dégénérescence des fibres chez les Syllidiens et Néréidiens

Deux modalités de sarcolyse ont été mises en évidence. L'une consiste en une fragmentation de la fibre en sarcolytes fusiformes, contenant

de nombreux filaments, même après leur capture par des cellules pariétopleurales ou des éléocytes. Les fibres stoloniales ou hétéronéréidiennes ne semblent pas dégénérer de cette façon. L'autre modalité correspond à une disparition précoce du matériel fibrillaire, auquel se substitue une sorte de substance homogène et granuleuse. Les fibres "atoques" et "épitoques" peuvent subir cette involution. Il est intéressant de rappeler que A. PRENANT (1929) avait observé deux aspects dégénératifs différents dans les fibres de Serpula vermicularis.

Des différences importantes apparaissent toutefois entre les Syllis et Nereis. Chez les Syllis, le premier mode de dégénérescence est peu intense et ne semble pas atteindre beaucoup plus de fibres au moment de la stolonisation naturelle ou expérimentale. Au contraire, chez les Néréidiens, principalement après leur décérébration, le nombre de sarcolytes fusiformes augmente beaucoup (SCHROEDER, 1966). Ces fragments sont pour la plupart phagocytés par des éléocytes. Quant au second mode de sarcolyse, nous l'avons beaucoup plus fréquemment rencontré chez S. amica que chez N. irrorata.

Ces profondes transformations musculaires se déroulent au moment de l'épitoque ou de la stolonisation, dont le déterminisme est endocrine (DURCHON, 1952, 1959). En conséquence, il nous semble intéressant de comparer les évolutions musculaires des Nereis et Syllis à celles observées chez les Insectes.

III - COMPARAISON AVEC LES TRANSFORMATIONS DE LA MUSCULATURE DES INSECTES, AU COURS DE LA METAMORPHOSE, LA REPRODUCTION ET LA DIAPAUSE

1 - Description des phénomènes et comparaison avec les Annélides

CROSSLEY (1965) a montré que certains muscles abdominaux de la mouche Calliphora erythrocephala dégénéraient complètement, au moment de la métamorphose. Des vacuoles et des inclusions d'aspect lysosomique apparaissent au sein du myoplasme. Une fragmentation en fibrilles longitudinales se produit. Les filaments disparaissent. Les noyaux deviennent pycnotiques. De nombreux hémocytes, à rôle phagocytaire, se concentrent près des muscles en dégénérescence ; leur invasion survient seulement après un début de lyse musculaire. D'autres muscles subissent une involution qui n'est pas complète. Ils se transforment en une sorte de syncytium ("matrice" selon CROSSLEY) granuleux, indifférencié. Le cytoplasme renferme des mitochondries, des globules lipidiques, des inclusions lamellaires lipoprotéiques. De nombreux noyaux "larvaires" des anciennes fibres subsistent dans ce syncytium qui n'est pas

phagocyté par des hémocytes ; mais il est entouré par de nombreux myoblastes, qui ne tardent pas à fusionner avec lui. Les noyaux musculaires se désintègrent. Ceux des futurs muscles imaginaires proviennent des myoblastes.

LOCKSHIN et WILLIAMS (1965 a) ont étudié la dégénérescence des muscles intersegmentaires au cours de la métamorphose d'Antheraea pernyi. Ils constatent que des granules lipidiques et des lysosomes font d'abord leur apparition. Puis, le matériel contractile disparaît presque totalement. Les mitochondries dégèrent et le noyau devient pycnotique. On note un certain accroissement de la quantité de glycogène. La sarcolyse est due, selon ces auteurs, à l'activité lytique des enzymes lysosomiques.

Chez certains Insectes, une dégénérescence des muscles alaires se produit au moment de la reproduction. Chez Dysdercus, la lyse irréversible des muscles alaires indirects est synchronisée de la croissance ovocytaire (EDWARDS, 1969, 1970). Elle est caractérisée par la rupture des myofibrilles et la libération de gouttelettes (lipidiques ?) dans l'hémocoèle. Chez Ips confusus, les muscles alaires des mâles et des femelles dégèrent également au moment de la reproduction, lorsque ces Coléoptères s'introduisent dans l'écorce des pins. Des lysosomes se développent et la plupart des mitochondries et des filaments disparaissent (BHAKTAN, BORDEN et NAIR, 1970). Mais, ces muscles peuvent se reconstituer après la reproduction; selon ces auteurs : "la dégénérescence est réversible".

Enfin, l'involution musculaire est parfois corrélative de la diapause. C'est le cas, en particulier, des muscles alaires de Leptinotarsa qu'ont étudiés STEGWEE, KIMMEL, DE BOER et HENSTRA (1963) en microscopie électronique. Les fibrilles se réduisent considérablement. Les mitochondries disparaissent presque complètement. Mais, comme chez Ips confusus, ces muscles peuvent retrouver leur structure originelle, après la diapause.

Ce bref aperçu des récents résultats obtenus chez les Insectes, montre que les aspects de dégénérescence ou dédifférenciation musculaire sont bien différents de ceux observés chez les Syllidiens et Néréidiens. La destruction musculaire s'accompagne souvent de la présence de lysosomes, vacuoles, globules lipidiques. De tels éléments, en particulier les lysosomes, n'ont pas été rencontrés dans les sarcolytes de Syllis et Nereis. Chez les Insectes, les filaments des fibres dégérescentes disparaissent mais ne sont pas remplacés par un matériel granuleux, homogène. Cependant, au moment de la métamorphose de Calliphora, les hémocytes jouent un rôle semblable à celui des éléocytes des Néréidiens. Dans les deux cas, ces cellules phagocytaires ne sont pas la cause directe de la lyse musculaire.

Quant aux phénomènes de "dégénérescence réversible", il ne sont pas comparables à ceux intervenant au cours de l'épitoque et de la stolonisation. On n'observe pas une phase d'activation cellulaire, caractérisée par l'augmentation des volumes nucléaires et nucléolaires, la synthèse de nombreux ribosomes et dictyosomes périnucléaires. La différence essentielle, selon nous, réside dans le fait que, chez ces Insectes, les muscles subissent des involutions structurales qui ne leur confèrent pas un retour aux potentialités embryonnaires. Comme nous l'avons déjà indiqué, les muscles abdominaux de Rhodnius, qui subissent des régressions et redifférenciations cycliques en rapport avec les mues (WIGGLESWORTH, 1956 ; AUBER-THOMAY, 1967 ; TOSELLI et PEPE, 1968 a et b ; WARREN et PORTER, 1968) constituent un bel exemple de cette "dégénérescence réversible". Au contraire, l'épitoque ou la stolonisation, comme la régénération chez les Amphibiens, provoque un véritable rajeunissement cellulaire, conduisant à un retour aux potentialités embryonnaires. Certes, l'évolution de certains muscles abdominaux au moment de la métamorphose de Calliphora (CROSSLEY, 1965) correspond à un processus d'embryogenèse. Cependant, la pénétration myoblastique au sein de la matrice musculaire complètement régressée, est très particulière. Il ne s'agit pas d'une dédifférenciation véritable, car les noyaux de ce syncytium sont incapables de déclencher une redifférenciation. L'injection d'un matériel génétique provenant de cellules indifférenciées est nécessaire. Ce cas s'apparente donc quelque peu aux phénomènes de prolifération myoblastique présidant à la formation des muscles parapodiaux hétéronéréidiens.

2 - Déterminisme des transformations musculaires

Chez Calliphora, CROSSLEY (1965) a montré que l'énervation n'affectait pas les processus d'histolyse musculaire. Par contre, la crustecdysone, analogue de l'hormone de mue des Insectes, peut induire l'invasion des muscles par les hémocytes.

LOCKSHIN et WILLIAMS (1964 a et b) ont recherché quels étaient les principaux facteurs de la destruction musculaire au cours de la métamorphose d'Antheraea. Ils ont montré que trois mécanismes intervenaient dans le déclenchement de la sarcolyse. Le premier est de nature hormonale et correspond à une diminution du taux de l'hormone juvénile et à une augmentation de la concentration d'éclydysone. Puis, pendant un délai de trois semaines (durée de la puppe), les muscles sont préservés. A la fin de cette période, le muscle synthétise des enzymes hydrolytiques (second mécanisme). La dégénérescence peut alors être déclenchée par la cessation d'impulsions nerveuses

motrices. Si l'on entretient des stimulations nerveuses artificielles, la sarcolyse peut être stoppée ou retardée. L'application de drogues (pilocarpine, physostigmine), qui stimulent le système nerveux central, empêche la diminution des impulsions motrices et retarde la dégénérescence. Chez Antheraea, le mécanisme de contrôle de la destruction musculaire est donc de nature endocrine et nerveuse.

Chez Dysdercus, la sarcolyse est inhibée par le jeûne, mais favorisée par la copulation (EDWARDS, 1969). L'action stimulatrice des hormones du complexe postcérébral est cependant indéniable. La dégénérescence musculaire d'Ips est soumise à un déterminisme semblable. En effet, l'injection d'hormone juvénile synthétique induit l'involution des muscles alaires (BORDEN et SLATER, 1968).

Par contre, chez Leptinotarsa, l'hormone juvénile stimule la régénération musculaire. Mais, chez cet Insecte, la dégénérescence est synchrone de la diapause et non de la reproduction, comme chez Dysdercus et Ips. STEGWEE et Col. (1963) ont en effet montré que l'involution musculaire est corrélative de l'inactivité du complexe postcérébral. L'extirpation des corps cardiaques et allates la provoque, alors que la réimplantation des corps allates d'animaux en rupture de diapause permet la régénération musculaire. DE KORT (1969) a également mis en évidence le rôle de l'hormone juvénile dans le contrôle de la transformation des muscles de Leptinotarsa, soit au moment de leur développement, lors de l'émergence postnymphale, soit au moment de leur régression, au début de la diapause. Selon ce même auteur, le système nerveux jouerait aussi un rôle non négligeable.

On constate donc que les facteurs contrôlant l'involution musculaire sont très différents suivant les espèces considérées. Ainsi, la baisse du taux ou l'absence d'hormone juvénile provoque la dégénérescence des muscles alaires de Leptinotarsa. Au contraire, l'activité du complexe postcérébral stimule la dégénérescence chez Dysdercus et Ips. Chez Antheraea, c'est un mécanisme hormonal et nerveux qui active les enzymes lysosomiques. L'invasion des phagocytes dans les muscles de Calliphora, au cours de la métamorphose, est induite par la crustecdysone. Toutefois, cette diversité des facteurs résulte essentiellement du fait que ces dégénérescences ne sont pas en rapport avec les mêmes phases du développement ; observées au cours de la métamorphose (Calliphora, Antheraea) de la mue (Rhodnius), de la reproduction (Dysdercus et Ips), de la diapause enfin (Leptinotarsa) elles ne peuvent être soumises aux mêmes conditions neuro-hormonales.

Chez les Néréidiens, la diminution du taux de l'hormone inhibitrice de l'épitoque ou son absence provoquent l'ensemble des transformations musculaires. Celles-ci sont donc, comme chez les Insectes, sous contrôle endocrine.

En conclusion, ce travail a permis de dégager les principales caractéristiques évolutives des muscles de Syllis et Nereis. Mais, il s'avère à présent nécessaire d'approfondir cette étude, d'autant plus intéressante qu'elle porte sur un des problèmes fondamentaux de la biologie : la différenciation cellulaire. La possibilité d'induire les processus de dédifférenciation, redifférenciation et prolifération, de contrôler leur déroulement par voie expérimentale (ablations, implantations, greffes) nous fera sans nul doute progresser dans la compréhension des rapports hormone-tissu effecteur. L'utilisation des techniques de la microscopie optique, électronique et de biochimie devrait nous permettre de mieux saisir les mécanismes du contrôle endocrine au niveau cellulaire.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEROOK D., 1962 - An electron microscopic study of regenerating skeletal muscle. *J. Anat.*, 96, 137-152.
- ALLEN E.R. et PEPE F.A., 1965 - Ultrastructure of developing muscle cells in chick embryo. *Amer. J. Anat.*, 116, 115-147.
- ALLEN E.R. et TERRENCE C.F., 1968 - Immunochemical and ultrastructural studies of myosin synthesis. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 60, 1209-1215.
- ANDERSON W.A. et ELLIS R.A., 1967 - A comparative electron microscope study of visceral muscle fibers in Cambarus, Drosophila and Lumbricus. *Z. Zellforsch.*, 79, 581-591.
- ANDRE J., 1962 - Contribution à la connaissance du chondriome. Etude de ses modifications ultrastructurales pendant la spermatogenèse. *J. Ultrast. Res.*, suppl. 3, 1-185.
- ANGLAS, 1900 - Sur la signification des termes : phagocytose et lyocytose. *C.R. Soc. Biol.*, 52.
- APATHY, 1892 - Kontraktile und leitende Primitivfibrillen. *Mitt. Zool. Stat. Neapel*, 10.
- AUBER J., 1965 - Sur le mécanisme de la formation des filaments primaires au cours de l'accroissement des myofibrilles chez Calliphora erythrocephala (Mg.) (Insecte Diptère). *C.R. Acad. Sci.*, 260, 668-670.
- AUBER J., 1967 - Distribution of the two kinds of myofilaments in insect muscles. *Am. Zool.*, 7, 451-456.
- AUBER J., 1969 a - La myofibrillogenèse du muscle strié. I - Insectes. *J. Microscopie*, 8, 197-232.
- AUBER J., 1969 b - La myofibrillogenèse du muscle strié. II - Vertébrés. *J. Microscopie*, 8, 367-390.

- AUBER-THOMAY M., 1964 - Structure et innervation des cellules musculaires de Nématodes. *J. Microscopie*, 3, 105-109.
- AUBER-THOMAY M., 1967 - Modifications ultrastructurales au cours de la dégénérescence et de la croissance des fibres musculaires chez un Insecte. *J. Microscopie*, 6, 627-638.
- BACCEITI B., 1965 - Nouvelles observations sur l'ultrastructure des myofilaments. *J. Ultrastructure Res.*, 13, 245-256.
- BALLOWITZ E., 1892 - Ueber den feineren Bau der Muskelsubstanzen. I - Die Muskelfaser der Cephalopoden. *Arch. mikr. Anat.*, 29, 291.
- BAUCHOT-BOUITIN M.L. et BOBIN G., 1954 - Modifications hétéronéréidiennes des parapodes, des soies et des bulbes sétigères chez Perinereis cultrifera Grube (Annélide Polychète). *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.*, 43, 137-162.
- BEAULATON J.A., 1968 - Modifications ultrastructurales des cellules sécrétrices de la glande prothoracique de vers à soie au cours des deux derniers âges larvaires. I - Le chondriome et ses relations avec le reticulum agranulaire. *J. Cell. Biol.*, 39, 501-525.
- BEAULATON J.A., 1968 - Modifications ultrastructurales des cellules sécrétrices de la glande prothoracique de vers à soie au cours des deux derniers âges larvaires. II - Le glycogène, ses relations avec le chondriome et le reticulum endoplasmique. *J. Microscopie*, 7, 673-692.
- BEINBRECH G., 1968 - Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Differenzierung von Insektenmuskeln während der Metamorphose. *Z. Zellforsch.*, 90, 463-494.
- BERGMAN R., 1962 - Observations on the morphogenesis of rat skeletal muscle. *Bull. Johns Hopk.*, 110, 187-201.
- BHAKTHAN N.M., BORDEN J.H. et NAIR K.K., 1970 - Fine structure of degenerating and regenerating flight muscles in a bark beetle, Ips confusus. I - Degeneration. *J. Cell. Sci.*, 6, 807-820.
- BIENZ-ISLER G., 1968 - Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung der dorsolongitudinalen Flugmuskeln von Antheraea pernyi Guer. (Lepidoptera). I - II - Teils. *Acta Anat.*, 70, 416-433 et 524-553.
- BOILLY B., 1968 - Etude ultrastructurale de l'évolution des tissus impliqués dans la régénération céphalique et caudale de Syllis amica Q. (Annélide Polychète). I - La différenciation. *J. Microscopie*, 7, 865-876.

- BOILLY B., 1969 - Recherches expérimentales sur la nature du tissu à l'origine des cellules régénératrices mésodermiques chez l'Annélide Polychète Syllis emica Quatrefages. II. Utilisation du "thorotrast". Ann. Embryol. Morph., 2, 215-226.
- BLOOM W., 1937 - Cellular differentiation and tissue culture. Physiol. Rev., 17, 589-617.
- BORDEN J.H. et SLATER C.E., 1968 - Induction of flight muscle degeneration by synthetic juvenile hormone in Ips confusus (Coleoptera Scolytidae). Z. Vergl. Physiol., 61, 366-368.
- BOULIGAND Y., 1962 - Les ultrastructures du muscle strié et de ses attaches au squelette chez les Cyclops (Crustacés Copépodes). J. Microscopie, 1, 377-394.
- BOULIGAND Y., 1964 - Les ultrastructures du muscle squelettique chez les Copépodes. Vie et Milieu, supp. 17, 263-282.
- BOULIGAND Y., 1966 - La disposition des myofilaments chez une Annélide Polychète. J. Microscopie, 5, 305-322.
- BOYD J.D., 1960 - Development of striated muscle. Dans : The structure and function of muscle, Bourne ed., Acad. Press, 1, 63-85.
- BUCHER O., 1963 - Le problème de l'amitose. In Cell Growth and Cell Division. J.C. Harris Ed., Acad. Press, 313-321.
- BULLIERE D., 1968 - Dédifférenciation des fibres musculaires chez un Insecte au cours de la régénération. J. Microscopie, 7, 647-652.
- CEDERGREN B. et HARARY I., 1964 - In vitro studies on single beating rat heart cells. VI - Electron microscopic studies of single cells. J. Ultrast. Res., 11, 428-442.
- CHAPRON C. et VALEBOIS P., 1967 - Infrastructure de la fibre musculaire pariétale des Lombriciens. J. Microscopie, 6, 617-626.
- CHAPRON C., 1969 - Phénomènes de dédifférenciation au cours de la régénération céphalique chez le Lombricien Eisenia foetida unicolor. C.R. Acad. Sc., 269, 187-190.
- CHAPRON C., 1970 a - Etude histologique, infrastructurale et expérimentale de la régénération céphalique chez le Lombricien Eisenia foetida unicolor (Sav.). Ann. Embryol. Morphog. 3, 2, 235-250.
- CHAPRON C., 1970 b - Structure et évolution des cellules de régénération mésodermiques dans les jeunes régénérats du Lombricien Eisenia foetida (Sav.). J. Microscopie, 9, 347-354.

- CHARRIER H., 1920 - Recherches sur la Nereis fucata. Actes Soc. Linn., Bordeaux, 72, 5-142.
- CHRISTENSEN A.K. et CHAPMAN G.B., 1959 - Cupshaped mitochondria in interstitial cells of the albino rat testis. Exp. Cell Res., 18, 576.
- CLAPAREDE, 1870 - Les Annélides Chétopodes du Golfe de Naples. Mém. Soc. Phys. et Hist. Nat. Genève, 20.
- CLEROT J.C., 1968 - Mise en évidence par cytochimie ultrastructurale de l'émission de protéines par le noyau d'auxocytes de Batraciens. J. Microscopie, 7, 973-992.
- COHEN M.J. et HESS A., 1967 - Fine structural differences in "fast" and "slow" muscle fibres of the crab. Amer. J. Anat., 121, 233-260.
- COHEN C. et HOLMES K.C., 1963 - X-ray diffraction evidence for α -helical coiled-coils in native muscle. J. Mol., Biol., 6, 423-432.
- COIMERA A. et LEBLOND C.P., 1966 - Sites of glycogen synthesis in rat liver cells as shown by electron microscope radioautography after administration of glucose- ^3H . J. Cell Biol., 30, 151-175.
- COSTANTIN L.L., PODOLSKY R.J. et TICE L.W., 1967 - Calcium activation of frog slow muscle fibres. J. Physiol., 188-261-271.
- COUTEAUX R., 1941 - Recherches sur l'histogénèse du muscle strié des Mammifères et la formation des plaques motrices. Bull. Biol. France-Belg., 75, 101-239.
- CROSSLEY A.C., 1965 - Transformations in the abdominal muscles of the blue blowfly Calliphora erythrocephala (Meig), during metamorphosis. J. Embryol. exp. Morph., 14, 89-110.
- DEFRETIN R., 1941 - Rupture des disséminés et émission du sperme chez quelques Néréidiens. Bull. Soc. Zool. Fr. 66.
- DEFRETIN R., 1949 - Recherches sur la musculature des Néréidiens au cours de l'épitoquie, sur les glandes parapodiales et sur la spermiogénèse. Ann. Inst. Océan., 24, 117-257.

- DEFRETIN R., 1964 - Stades précurseurs des muscles hétéronéréidiens. Mém. Soc. Nat. Sc. Nat. et Math., Cherbourg, 51, 6° Sér., 111-121.
- DEFRETIN R. et WISSOCQ, J.C., 1969 - La musculature longitudinale dorsale et ventrale des Nereis irrorata Malmgren (Annélides Polychètes) atokes et épitoques. C.R. Acad. Sc. 269, 2117-2120.
- DEHORNE A., 1922 a - Destruction et phagocytose des fibres musculaires à la fin de la maturation des ovocytes chez Hediste diversicolor. C.R. Soc. Biol., 87, 1305-1307.
- DEHORNE A., 1922 b - Histologie et phagocytose musculaire dans le coelome des Néréides à maturité sexuelle. C.R. Acad. Sc., 174, 1043-1046.
- DEHORNE A., 1926 - Intérêt de la fibre musculaire hétéronéréidienne. C.R. Soc. Biol., 94, 706-708.
- DEHORNE A. et DEFRETIN R., 1933 - Phagocytose active des sarcolytes amphioxes chez Heteronereis pelagica. C.R. Soc. Biol., 113, 677.
- * DE MAN J.C.H. et BLOCK A.P.R., 1966 - Relationship between glycogen and agranular endoplasmic reticulum in rat hepatic cells. J. Histochem. Cytochem., 14, 135-146.
- DESSOUKY D.R. et HIBBS R.G., 1965 - An electron microscope study of the development of the somatic muscle of the chick embryo. Amer., J. Anat., 116, 523-566.
- DHAINAUT A., 1966 - Etude ultrastructurale de l'évolution des éléocytes chez Nereis pelagica L. (Annélide Polychète) à l'approche de la maturité sexuelle. C.R. Acad. Sc., 262, 2740-2743.
- DHAINAUT A., 1970 - Contribution à l'étude de la gamétogenèse des Néréidiens (Annélides Polychètes) dans les conditions naturelles et en l'absence d'hormone cérébrale. Thèse Doct. Etat, Sc. Nat., Lille, 1-217.
- DHAINAUT-COURTOIS N. et WAREMBOURG M., 1969 - Etude ultrastructurale des neurones de la chaîne nerveuse de Nereis pelagica L. (Annélide Polychète). Z. Zellforsch., 97, 260-273.
- * DE KORT C.A.D., 1969 - Hormones and the structural and biochemical properties of the flight muscles in the colorado beetle. Meded. Landbouwhogeschool Wageningen 69-2, 1-63.

- DROCHMANS P., 1962 - Morphologie du glycogène. Etude au microscope électronique de colorations négatives de glycogène particulaire. J. Ultrastructure Res., 6, 151-163.
- DURCHON M., 1952 - Recherches expérimentales sur deux aspects de la reproduction chez les Annélides Polychètes ; l'épitoque et la stolonisation. Ann. Sc. Nat. Zool. Bio. ani., 11e sér., 14, 119-206.
- DURCHON M., 1959 - Contribution à l'étude de la stolonisation chez les Syllidiens (Annélides Polychètes). I. Syllinae. Bull. Biol. Fr.-Belg., 93, 155-219.
- DURCHON M., 1960 - L'endocrinologie chez les Annélides Polychètes. Bull. Soc. Zool. France, 4, 275-301.
- DURCHON M. et WISSOCQ J.C., 1964 - Contribution à l'étude de la stolonisation chez les Syllidiens (Annélides Polychètes) II - Autolytinae. Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Ani. Fr., 6, 159-208.
- EDWARDS F.J., 1969 - Development and histolysis of the indirect flight muscles in Dysdercus intermedius J. Insect. Physiol., 15, 1591-1599.
- EDWARDS F.J., 1970 - Endocrine control of flight muscle histolysis in Dysdercus intermedius; J. Insect Physiol., 16, 2027-2031.
- ELLIOTT G.F., 1964 - Electron microscope studies of the structure of the filaments in the opaque adductor muscle of the oyster Crassostrea angulata. J. Mol. Biol., 10, 89-104.
- ENGEL W.K., 1961 - Cytological localization of glycogen in cultured skeletal muscle. J. Histochem. Cytochem., 9, 39-43.
- ENGELMANN Th. W., 1881 - Ueber den faserigen Bau der Kontraktilen Substanzen, mit besonderer Berücksichtigung der glatten und doppelt schräggestreiften Muskelfasern. Arch. ges. Physiologie, 25, 538.
- FAHRENBACH W.H., 1963 - The sarcoplasmic reticulum of striated muscle of a cyclopoid copepod. J. Cell Biol., 17, 629-640.
- FAHRENBACH W.H., 1967 - The fine structure of fast and slow crustacean muscles. J. Cell Biol., 35, 69-79.

- FAIN-MAUREL M.A. et CASSIER P., 1969 - Pléomorphisme mitochondrial dans les corpora allata de Locusta migratoria migratorioides (R. et F.) au cours de la vie imaginale. Z. Zellforsch., 102, 543-553.
- FAUVEL P., 1912 - Sur quelques Néréidiens. C.R. Assoc. Fr. Avanc. Sc.
- FAWCETT D.W. et Mc NUTT M.S., 1969 - The ultrastructure of the cat myocardium. I - Ventricular papillary muscle. J. Cell Biol., 42, 1-45.
- FERRIS W., 1959 - Electron microscope observations of the histogenesis of striated muscle. Anat. Record. 133, 275.
- FICK A., 1961 - Contribution à l'étude du métabolisme cellulaire au moyen de la méthode autoradiographique. Inst. Inter. Univ. Sc. Nucl. Bruxelles, Monographie n° 9, 1-121.
- FIRKET H., 1963 - Etude de l'ultrastructure de bourgeons musculaires en régénération pendant la myogenèse. J. Microscopie, 2, 639-642.
- FIRKET H., 1966 - Ultrastructural aspects of myofibrils formation in cultured skeletal muscle. Z. Zellforsch., 78, 313-327.
- FISCHMAN D.A., 1967 - An electron microscope study of myofibril formation in cultured skeletal muscle. J. Cell Biol., 22, 675-696.
- FLACKS B., 1968 - Formation of membrane glycogen arrays in rat hepatoma cells. J. Cell Biol., 36, 410-414.
- FLICKINGER R.A. et COWARD S.J., 1962 - The induction of cephalic differentiation in regenerating Dugesia dorotocephala in the presence of the normal head and in unwounded tail. Developm. Biol., 5, 179-204.
- FOL H., 1888 a - Sur la structure microscopique des muscles de Mollusques. C.R. Acad. Sc., 106, 306.
- FOL. H., 1888 b - Sur la répartition du tissu musculaire strié chez divers Invertébrés. C.R. Acad. Sc., 106, 1178.
- FRANZINI-ARMSTRONG C. et PORTER K.R., 1964 - Sarcolemmal invaginations constituting the T system in fish muscle fibers. J. Cell Biol., 22, 675-696.

- FRIEDMAN M.H., 1970 - A reevaluation of the Markham rotation technique using model systems. *J. Ultrast. Res.*, 32, 226-236.
- GABE M., 1968 - Techniques histologiques. Masson et Cie Ed., Paris.
- GACHET J. et THIERY J.A., 1964 - Application de la méthode de tirage photographique avec rotations ou translations à l'étude de macromolécules (hémocyanine, hémoglobine, ferritine) et de structures biologiques (centrioles, fibres de flagelle, nucléocapsides virales). *J. Microscopie*, 3, 253-268.
- GARANT P.R., 1968 - Glycogen-membrane complexes within mouse striated muscle cells. *J. Cell Biol.*, 36, 648-652.
- GAUTHIER G.F. et PADYKULA H.A., 1966 - Cytological studies of fiber types in skeletal muscle. A comparative study of the mammalian diaphragm. *J. Cell Biol.*, 28, 333-354.
- GIDHOLM L., 1965 - On the morphology of the sexual stages, mating and egg-laying in *Autolytus* (Polychaeta). *Zool. Bid. Uppsala*, 37, 1-44.
- GILEV V.P., 1966 - The ultrastructure of myofilaments. II - Further investigation of the thick filaments of crab muscle. *Biochem. Biophys. Acta*, 112, 340-345.
- GORI Z., 1968 - Proliferated tubules in atrophic muscle fibers. 4^o Europ. Reg. Conf. Elect. Microsc., Rome, Bocciarelli ed., II, 287.
- GREGORY D.W., LENNIE R.W. et BIRT L.M., 1968 - An electron-microscopic study of flight muscle development in the blowfly *Lucilia cuprina*. *J. Roy. Microscop. Soc.* 88, 151-175.
- GRYNZPAN-WINOGRAD O., 1969 - Permanence de l'innervation pendant la mitose des cellules chromaffines de la medullosurrénale du Hamster. *J. Microscopie*, 8, 55-a.
- HAGOPIAN M., 1966 - The myofilament arrangement in the femoral muscle of the cockroach, *Leucophaea maderae* Fab. *J. Cell Biol.*, 28, 545-562.
- HAGOPIAN M., 1968 - The filament lattice of cockroach thoracic muscle. *J. Cell Biol.*, 36, 433-442.

- HANSON J., 1957 - The structure of the smooth muscle fibres in the body wall of the earthworm. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 3, 111-122.
- HANSON J. et LOWY J., 1957 - Structure of smooth muscles. *Nature*, 180, 906-909.
- HANSON J. et LOWY J., 1960 - Structure and function of the contractile apparatus in the muscles of Invertebrates Animals. Dans *Structure and function of muscle*, éd. par Bourne G.H., 1, 265-335.
- HANSON J. et LOWY J., 1961 - Structure of the muscle fibers in the translucent part of the adductor of the oyster. *Crassostrea angulata*. *Proc. Roy. Soc. B.*, 154, 173-196.
- HANSON J. et LOWY J., 1963 - The structure of F-actin and of actin filaments isolated from muscle. *J. Mol. Biol.*, 6, 46-60.
- HANSON J. et LOWY J., 1964 - The structure of molluscan tonic muscles. In *Biochem. of Muscle Contraction*. J. Gergely éd., 400-411.
- HAY E.D., 1959 - Electron microscopic observations of muscles dedifferentiation in regenerating *Amblystoma* limbs. *Develop. Biol.*, 1, 555-585.
- HAY E.D., 1962 - Cytological studies of dedifferentiation and differentiation in regenerating amphibian limbs. In "Regeneration", Rudnick D. ed., Ronald Press Co., New-York, 177-210.
- HAY E.D., 1963 - The fine structure of differentiating muscle in the salamander tail. *Z. Zellforsch.*, 59, 6-34.
- HAY E.D., 1966 - Polygranular arrays of glycogen that mimic polyribosomes in *Xenopus* eggs and embryos *J. Cell Biol.*, 31, 45 A-46 A.
- HAY E.D., 1968 - Dedifferentiation and metaplasia in Vertebrate and Invertebrate regeneration. In : *The stability of the differentiated state*, Ursprung éd., Springer-Verlag Berlin, 1, 85-108.
- HENNEMAN E. et OLSON C.B., 1965 - Relations between structure und function in the design of skeletal muscles. *J. Neurophysiol.*, 28, 581-598.
- HERPIN R., 1925 - Recherches biologiques sur la reproduction et le développement de quelques Annélides Polychètes. *Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest France*, 4° sér., Vol. 5.

- HEUMANN H.G. et ZEBE E., 1967 - Über Feinbau und Funktionsweise der Fasern aus dem Hautmuskelschlauch des Regenwurms, Lumbricus terrestris L. Z. Zellforsch., 78, 131-150.
- HEUSON-STIENNON J.A., 1965 - Morphogenèse de la cellule musculaire striée, étudiée au microscope électronique. I - Formation des structures fibrillaires. J. Microscopie, 4, 657-678.
- HEUSON-STIENNON J.A. et DROCHMANS P., 1967 - Morphogenèse de la cellule musculaire striée, étudiée au microscope électronique. II - Localisation et structure du glycogène. J. Microscopie, 6, 639-656.
- HEYWOOD S.M. et RICH A., 1968 - In vitro synthesis of native myosin, actin and tropomyosin from embryonic chick polyribosomes. Proc. Nat. Acad. Sci., 59, 590-597.
- HOWIE D.I.D., 1962 - Neurosecretion in relation to spawning and maturation of the gametes in Arenicola marina L. Gen. Comp. Endoc., 2, 624.
- HOYLE G., 1965 - Nature of the excitatory sarcoplasmic reticular junction. Science, 149, 70-72.
- HOYLE G. et Mc NEILL P.A., 1968 - Correlated physiological and ultrastructural studies on specialised muscles. Ib - Ultrastructure of white and pink fibres of the levator of the eyestalk of Podophthalmus vigil (Weber). J. Exp. Zool., 167, 487-522.
- HUXLEY H.E., 1963 - Electron microscope studies on the structure of natural and synthetic protein filaments from striated muscle. J. Mol. Biol., 7, 281-308.
- HUXLEY H.E., 1964 paru 1966 - The fine structure of striated muscle and its functional significance. The Harvey Lectures, ser. 60, Acad. Press, 85-118.
- HUXLEY H.E. et HANSON J., 1957 - Quantitative studies on the structure of cross-striated myofibrills. I - Investigations by interference microscopy. Biochim. Biophys. Acta, 23, 229-249.

- HUXLEY H.E. et HANSON J., 1960 - The molecular basis of contraction in cross striated muscles. Dans The structure and function of muscle (Bourne G.H., ed), 1, 183-227.
- HUXLEY H.E. et ZUBAY G., 1960 - Electron microscope observations on the structure of microsomal particles from Escherichia Coli. J. Mol. Biol., 2, 10-18.
- DELMAN S., 1964 - Mitochondries et liposomes ; description d'une transformation mitochondriale observée dans la corticosurrénale du rat. J. Microscopie, 3, 437.
- IKEMOTO N., 1963 - Further studies in electron microscopic structures of the oblique striated muscle of the earthworm Eisenia foetida. Biol. J. Okayama Univ., 9, 81-126.
- JAHRONI S.S. et ATWOOD H.L., 1967 - Ultrastructural features of crayfish phasic and tonic muscle fibers. Canad. J. Zool., 45, 601-606.
- JAHRONI S.S. et ATWOOD H.L., 1969 a - Correlation of structure, speed of contraction, and total tension in fast and slow abdominal muscle fibers of the lobster (Homarus americanus). J. Exp. Zool., 171, 25-38.
- JAHRONI S.S. et ATWOOD H.L., 1969 b - Structural features of muscles fibres in the cockroach leg. J. Insect Physiol., 15, 2255-2262.
- JEWELL B.R. et RÜEGG J.C., 1966 - Oscillatory contraction of insect fibrillar muscle after glycerol extraction. Proc. Roy. Soc. B., 164.
- JONES A.L. et FAWCETT D.W., 1966 - Hypertrophy of the agranular endoplasmic reticulum in hamster liver induced by phenobarbital (with a review on the functions of this organelle in liver). J. Histochem. Cytochem., 14, 215-232.
- KAMIYA N. et KURODA K., 1965 - Movements of the Myxomycete Plasmodium. I - A study of glycerinated models. Proc. Jap. Acad., vol. 41, 9.

- KAWAGUTI S., 1962 - Arrangement of myofilaments in the oblique-striated muscles. Proc. 5th Int. Congr. Electron Mic., Philadelphie, 2, M-11.
- KAWAGUTI S. et IKEMOTO N., 1957 - Electron microscopy on the smooth muscle from the body wall of the earthworm Pheretima communissima and Eisenia foetida. Biol. J. Okayama Univ., 3, 223-238.
- KAWAGUTI S. et IKEMOTO N., 1958 - Electron microscopy of the smooth muscle of the clamworm Nereis japonica. Biol. J. Okayama Univ., 4, 207-216.
- KAWAGUTI S. et IKEMOTO N., 1959 - Electron microscopic patterns of earthworm muscle in relaxation and contraction induced by glycerol and adenosine triphosphate. Biol. J. Okayama Univ., 5, 57-72.
- KELLY D.E., 1969 - The fine structure of skeletal muscle triad junctions. J. Ultrast. Res., 29, 37-49.
- KUGLER J.H., 1967 - Correlation of the glycogen concentration in rat liver and the appearance of glycogen and agranular endoplasmic reticulum. J. Royal Micr. Soc., 86, 285-296.
- LANZAVECCHIA G., 1968 - Studi sulla muscolatura elicoidale e paramiosinica. I - Morfologia ultrastrutturale dei muscoli longitudinali di Lumbricus terrestris. Acad. Naz. Lincei. Rend. Sc. Fis. Mat. et Nat., 44, 448-454.
- LARSON P.F., HUDGSON P. et WALTON J.N., 1969 - Morphological relationship of polyribosomes and myosin filaments in developing and regenerating skeletal muscle. Nature, 222, 1168-1169.
- LE DOUARIN G., 1965 - Etude au microscope électronique de la structure du mésenchyme péricardiaque et des cellules du tube cardiaque avant la formation des myofibrilles. C.R. Acad. Sc., 260, 973-980.
- LENTZ T.L., 1969 - Cytological studies of muscle dedifferentiation and differentiation during limb regeneration of the newt Triturus. Am. J. Anat., 124, 447-480.

- LINDNER E., 1960 - Myofibrils in the early development of chick embryo hearts are observed with the electron microscope. *Anat. Rec.*, 136, 234-235.
- LINDNER E. et FISCHER A., 1964 - Zur Feinstruktur nereider und heteronereider Muskulatur von Platynereis dumerilii. *Naturwissensch.*, 17, 1-3.
- LOCKSHIN R.A. et WILLIAMS C.P., 1964 - Programmed cell death. II - Endocrine influence on the breakdown of the intersegmental muscles in saturniid moths. *J. Ins. Physiol.*, 10, 642-649.
- LOCKSHIN R.A. et WILLIAMS C.M., 1965 a - Programmed cell death. I - Cytology of degeneration in the intersegmental muscles of Pernyi silkmoth. *J. Ins. Physiol.*, 10, 123-133.
- LOCKSHIN R.A. et WILLIAMS C.M., 1965 b - III - Neural control of the breakdown of the intersegmental muscles of silkmoths. *J. Ins. Physiol.*, 11, 601-610.
- LOWEY S., KUCERA J. et HOLTZER A., 1963 - On the structure of the paramyosin molecule. *J. Mol. Biol.*, 7, 234-244.
- LOWY J., HANSON J., ELLIOTT G.F., MILLMAN B.M. et Mc DONOUGH M.W., 1966. - The design of contractile systems. *Principles of Biomole. Organization in Ciba Found Sympos.*, 229-258.
- LUCK D.J., 1963 - Genesis of mitochondria in Neurospora crassa. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 49, 233-240.
- LUCK D.J., 1965 - Formation of mitochondria in Neurospora crassa. A study based on mitochondrial density changes. *J. Cell Biol.*, 24, 461-470.
- LYNN J.A., 1965 - Rapid toluidine blue staining of epon-embedded and mounted "adjacent" sections. *The Amer. J. Clin. Pathol.*, 44, 1, 57.
- MAC RAE E.K., 1963 - Observations on the fine structure of pharyngeal muscle in the planarian Dugesia tigrina. *J. Cell Biol.*, 18, 651-662.
- MALAGUIN A., 1893 - Recherches sur les Syllidiens. Morphologie, Anatomie, Reproduction, Développement. *Mém. Soc. Sc. Agr. Arts, Lille*, 18, 1-477.
- MANASEK F.J., 1969 - Embryonic development of the heart. I - A light and electron microscopic study of myocardial development in the early chick embryo. *J. Morph.*, 125, 329-366.

- MARCEAU F., 1905 - Recherches sur la structure du manteau des Céphalopodes en rapport avec leur mode de contraction. Bull. Stat. Biol. Arcachon, 9, 48.
- MARCEAU F., 1908 - Sur les fibres musculaires dites doublement striées obliquement. Bibl. Anatom., 17, 108-114.
- MARGO Th., 1860 - Ueber die Muskelfasern der Mollusken. Wiener Sitzungsber. Math., naturw., 39.
- MARKHAM R., FREY S. et HILLS G.J., 1963 - Methods for the enhancement of image detail and accentuation of structure in electron microscopy. Virology, 20, 88-102.
- MATTISSON A.G., 1969 - The ultrastructure of the parapodial muscles of the spawning male of Autolytus (Syllidae, Polychaeta). Arkiv. F. Zool., 22, 201-223.
- MELLGREN S.I. et MATHISEN J.S., 1966 - Oxidative enzymes glycogen and lipid in striated muscle. A histochemical study in the Atlantic hagfish (Myxine glutinosa L.) Z. Zellforsch., 71, 169-188.
- METTENHEIMER C., 1860 - Arch. Anat. Physiol. Lpz., 361.
- MEYER A., 1927 - Ueber Cölombewimperung und Cölomatische Kreislaufsystem. Z. Wissensch. Zool., 129.
- MEYER A., 1929 - Cölombewimperung und Cölomatische kreislaufsystem bei Wirbellosen. II - Sipunculoide, Polych. errantia. Z. Wissensch. Zool., 135.
- MILLONIG G., 1962 - Further observation on a phosphate buffer for osmium solution in Fixation. 5th Intern. Congr. Electr. Micr., Philadelphia, Acad. Press, 2, p. 8.
- MILLONIG G. et PORTER K.R., 1960 - Structural elements of rat liver cells involved in glycogen metabolism. Proc. Europ. Reg. Conf. Electron microsc. Delft, 2, 655-659.

- MORITA M., 1965 - Electron microscopic studies on planaria. I - Fine structure of muscle fiber in the head of the planarian Dugesia dorotocephala. J. Ultrastructure Res., 13, 383-395.
- NAKAJIMA Y., 1969 - Fine structure of red and white muscle fibers and their neuromuscular junctions in the snake fish (Ophiocephalus argus). Tissue and Cell, 1, 229-246.
- NISHIHARA H., 1966 - Some observations on the relationship between structure and function in fish red and white muscles. In Proc. 6th Intern. Congr. Elect. Micr., 2, 693-694.
- PAGE S.G., 1965 - A comparison of the fine structure of frog slow and twitch muscle fibers. J. Cell Biol., 26, 477-497.
- PEACHEY L.D., 1968 - Muscle. Ann. Review of Physiol., 30, 401-440.
- PEACHEY L.D. et HUXLEY A.F., 1962 - Structural identification of twitch and slow striated muscle fibers of the frog. J. Cell Biol., 13, 177-180.
- PEREZ Ch., 1910 - Recherches histologiques sur la métamorphose des muscides (Calliphora erythrocephala Mg.). Arch. Zool. exp. gén., 4, 1-274.
- PERRY M.M., 1967 - Identification of glycogen in thin sections of Amphibian embryos. J. Cell Sci., 2, 257-264.
- PLENK H., 1924 - Nachweis von Querstreifung in sämtlichen Muskelfasern von Ascaris megalocephala. Z. Anat. EntwMech., 75.
- PLENK H., 1925 - Beiträge zur Histologie der Muskelfasern von Hirudo und Lumbricus, nebst Berichtigungen zu meinen Untersuchungen über den Bau der Ascaris und Molluskenfasern. Z. Mikr. Anat. Forsch., 4, 163-202.
- PORTER K.R., 1958 - In Cytodifferentiation, Rudnick D. ed, Univ. Chicago Press, 54-55.
- PORTER K.R. et BRUNI C., 1959 - An electron microscope study of the early effects of 3'-MeDAB on rat liver cells. Cancer Res., 19, 997-1009.

- PRENANT A., 1929 - Recherches sur la structure des muscles des Annélides Polychètes et sur leur sarcolyse. Arch. Zool. Exp. Gén., 69, 1-135.
- PRICE H.M., HOWES E.L. et BLUMBERG J.M., 1964 - Ultrastructural alterations in skeletal muscle fibers injured by cold. II - Cells of the sarcolemmal tube : observation on discontinuous regeneration and myofibrils formation. Lab. Invest., 13, 1279-1302.
- PRZYBYLSKI R. et BLUMBERG J.M., 1966 - Ultrastructural aspects of myogenesis in the chick. Lab. Invest., 15, 836-863.
- PUCCI I. et AFZELIUS B.A., 1962 - An electron microscope study of sarcotubules and related structures in the leech muscle. J. Ultrastructure Res., 7, 210-214.
- REGER J.F., 1965 - The fine structure of neuromuscular junctions and contact zones between bodywall muscle cells of Ascaris lumbricoides (var. Suum). Z. Zellforsch., 67, 196-210.
- REGER J.F., 1967 - A comparative study on striated muscle fibers of the first antenna and the claw muscle of the crab Pinnixia spec. J. Ultrastr. Res., 20, 72-82.
- REGER J.F. et COOPER D.F., 1967 - A comparative study on the fine structure of the basalar muscle of the wing and the tibial extensor muscle of the leg of the lepidopteran Achalarus lyciades. J. Cell Biol., 33, 531-542.
- REVEL J.P., 1962 - The sarcoplasmic reticulum of the bat cricothyroid muscle. J. Biophys. Biochem. Cytol., 12, 571-588.
- REVEL J.P., NAPOLITANO L. et FAWCETT D.W., 1960 - Identification of glycogen in electron micrographs of thin tissue sections. J. Biophys. Biochem. Cytol., 8, 575-589.
- REYNOLDS E.S., 1963 - The use of lead citrate of high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 17, 208-212.
- ROHDE E., 1885 - Die Muskulatur der Chaetopoden. Zool. Beiträge, 1.

- RÖHLICH P., 1962 - The fine structure of the muscle fiber of the leech Hirudo medicinalis. J. Ultrastructure Res., 7, 399-408.
- ROMIEU M., 1923 - Recherches histophysiologiques sur le sang et le corps cardiaque des Annélides Polychètes. Arch. Morph. gén. et exp., fasc. 17.
- ROSENBLUTH J., 1963 - Fine structure of the body muscle and neuromuscular junction in Ascaris lumbricoides. J. Cell Biol., 19, 198-82 A.
- ROSENBLUTH J., 1965 a - Ultrastructural organization of obliquely striated muscle fibers in Ascaris lumbricoides. J. Cell Biol., 25, 495-515.
- ROSENBLUTH J., 1965 b- Ultrastructure of somatic muscle cells in Ascaris lumbricoides. II - Intermuscular junctions, neuromuscular junctions, and glycogen stores. J. Cell Biol., 26, 579-591.
- ROSENBLUTH J., 1967 - Obliquely striated muscle. III - Contraction mechanism of Ascaris body muscle. J. Cell Biol., 34, 15-33.
- ROSENBLUTH J., 1968 - Obliquely striated muscle. IV - Sarcoplasmic reticulum, contractile apparatus, and endomysium of the body muscle of a Polychaete, Glycera, in relation to its speed. J. Cell Biol., 36, 245-259.
- ROSENBLUTH J., 1969 - Sarcoplasmic reticulum of an unusually fastacting crustacean muscle. J. Cell Biol., 42, 534-547.
- ROSKIN G., 1925 - Beiträge zur kenntnis der glatten Muskelzellen. I - Mitt. Die Muskelzelle von Ascaris megalocephala. Z. Zellforsch., 2, 766.
- ROULE L., 1888 - Sur la structure des fibres musculaires appartenant aux muscles rétracteurs des valves de Mollusques Lamellibranches. C.R. Acad. Sc., 106, 872.
- RÜEGG J.C., 1957 - Die Reinigung der myosin ATP-ase eines glatten Muskels. Helv. Physiol. Acta, 15, C33, 295.
- SABATINI D.D., BENSCH K.G. et BARNETT R.J., 1963 - Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. J. Cell Biol., 17, 19-58.

- SAINT-JOSEPH (De), 1898 - Annélides Polychètes des côtes de France (Manche et Océan). Ann. Sc. Nat. Zool., 8, Vol. 5.
- SCHROEDER P.C., 1966 - A histological and autoradiographic study of normal and induced metamorphosis in the nereid polychaete Nereis grubei (Kinberg). Doctoral Diss. Stanford Univ.
- SCHWALBE G., 1869 - Ueber den feineren Bau der Muskelfasern wirbellosen Tiere. Arch. f. mikr. Anat., 5, 228-229.
- SELIGMAN A.M., HANKER J.S., WASSERKRUG H., DMOCHOWSKI H.M. et KATZOFF L., 1965 - Histochemical demonstration of some oxidized macromolecules with thiocarbohydrazide (T.C.H.) or thiosemicarbazide (T.S.C.) and osmium tetroxyde. J. Histochem. Cytochem., 13, 629-639.
- SHAFIQ S.A., 1963 a - Electron microscopical studies on the indirect flight muscle of Drosophila melanogaster. I. - Structure of the myofibrils. J. Cell Biol., 17, 351-362.
- SHAFIQ S.A., 1963 b - Electron microscope studies on the indirect flight muscle of Drosophila melanogaster. II - Differentiation of myofibrils. J. Cell Biol., 17, 363-373.
- SJÖSTRAND F.S. et ANDERSON-CEDERGREN E., 1957 - The ultrastructure of the skeletal muscle myofilaments at various states of shortening. J. Ultrastructure Res., 1, 74-108.
- SMITH D.S., 1961 a - The structure of insect fibrillar flight muscle. J. Biophys. Biochem. Cytol., 10, suppl., 123-158.
- SMITH D.S., 1961 b - The organization of the flight muscle in a dragonfly, Aeschna sp. (Odonata). J. Biophys. Biochem. Cytol., 11, 119-146.
- SMITH D.S., 1966 a - The organization of flight muscle fibres in the Odonata. J. Cell Biol., 28, 109-126.
- SMITH D.S., 1966 b - The structure of intersegmental muscle fibers in an insect, Periplaneta americana L. J. Cell Biol., 29, 449-459.
- SMITH D.S., GUPTA B.L. et SMITH U., 1966 - The organization and myofilaments array of insect visceral muscles. J. Cell Science, 1, 49-57.
- SOMMER J.R. et JOHNSON E.A., 1969 - Cardiac muscle. A comparative ultrastructural study with special reference to frog and chicken hearts. Z. Zellforsch., 98, 437-468.

- SPIRO D. et HAGOPIAN M., 1967 - On the assemblage of myofibrils. In : Formation and fate of cell organelles. K.B. Warren, 71-98.
- STADHOUDERS A.M., 1965 - Particulate glycogen. A correlated electron microscopical and biochemical study. Thesis-Nijmegen, 1-160.
- STAUBESAND J. et KERSTING K.H., 1964 - Feinbau und Organisation der Muskelzellen des Regenwurmes. Z. Zellforsch., 62, 416-442.
- STEGWEE D., KIMMEL E.C., DE BOER J.A. et HENSTRA S., 1963 - Hormonal control of reversible degeneration of flight muscle in the Colorado beetle, Leptinotarsa decemlineata Soy (Coleoptera). J. Cell Biol., 19, 519-527.
- THIERY J.P., 1967 - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. J. Microscopie, 6, 987-1018.
- TOSELLI P.A. et PEPE F.A., 1968 a - The fine structure of the ventral intersegmental abdominal muscles of the Insect Rhodnius prolixus during the molting cycle. I - Muscle structure at molting. J. Cell Biol., 37, 445-461.
- TOSELLI P.A. et PEPE F.A., 1968 b - The fine structure of the ventral intersegmental abdominal muscles of the Insect Rhodnius prolixus during the molting cycle. II - Muscles changes in preparation for molting. J. Cell Biol., 37, 462-481.
- TURCHINI, 1921 - Etude histologique de la poche du noir des Céphalopodes dibranchiaux. Arch. Anat. Micr., 18.
- VALEMBOIS P., 1970 - Etude d'une hétérogreffe de paroi du corps chez les Lombriciens. Aspects cytologiques, physiologiques et immunologiques de l'évolution du greffon (Allolobophora caliginosa Dug.) et de la réaction du porte-grefe (Eisenia foetida Sav.) Thèse Doct. Etat. Sc. Nat. Bordeaux, 1-163.
- VAN GANSEN P. et SCHRAM A., 1969 - Etude des ribosomes et du glycogène des gastrules de Xenopus laevis par cytochimie ultrastructurale. J. Embryol. exp. Morph., 22, 69-98.

- VRENSEN G.F.J.M. et KUYPER Ch.M.A., 1969 - Involvement of rough endoplasmic reticulum and ribosomes in early stages of glycogen repletion in rat liver. *J. Microscopie*, 8, 599-614.
- WADDINGTON C.M. et PERRY M.M., 1963 - Helical arrangements of ribosomes in differentiating muscle cells. *Exp. Cell Res.*, 30, 599-600.
- WAINRACH S. et SOTELO J.R., 1961 - Electron microscope study of the developing chick embryo heart. *Z. Zellforsch.*, 55, 622-634.
- WALKER S.M. et SCHRODT G.R., 1966 - Connections between the T system and sarcoplasmic reticulum. *Anat. Rec.*, 155, 1-10.
- WANSON J.C. et DROCHMANS P., 1968 - Rabbit skeletal muscle glycogen. A morphological and biochemical study of glycogen β -particles isolated by the precipitation centrifugation method. *J. Cell Biol.*, 38, 130-150.
- WARREN R.H. et PORTER K.R., 1968 - An electron microscope study of differentiation of the molting muscles of Rhodnius prolixus. *Am. J. Anat.*, 124, 1-30.
- WEISS P., 1939 - Principles of development. Henry Holt and Co., New-York.
- WEISS P., 1949 - Differential growth. In : The Chemistry and Physiology^{of} growth. A.K. Parker ed., Princeton Univ. Press, Princeton, New-Jersey, 135-186.
- WEISSENFELS N., 1962 - Der Einfluss der Gewebezüchtung auf die Morphologie der Hühnerherzmyoblasten. *Protoplasma*, 55, 99-113.
- WIGGLESWORTH V.B., 1956 - Formation and involution of striated muscle fibres during the growth and moulting cycles of Rhodnius prolixus (Hemiptera). *Quart. J. Micr. Sc.*, 97, 465-480.
- WISSOCQ J.C., 1967 - Etude ultrastructurale de l'évolution des muscles longitudinaux lors de la stolonisation expérimentale de Syllis amica Quatrefages (Annélide Polychète). *Z. Zellforsch.*, 83, 449-467.

- WISSOCQ J.C., 1970 - Evolution de la musculature longitudinale dorsale et ventrale au cours de la stolonisation de Syllis amica Quatrefages (Annélide Polychète). I - Muscles du ver asexué et muscles du stolon. J. Microscopie, 9, 355-388.
- WISSOCQ J.C., 1970 - Evolution de la musculature longitudinale dorsale et ventrale au cours de la stolonisation de Syllis amica Quatrefages (Annélide Polychète). II - La dédifférenciation. (sous presse).
- WISSOCQ J.C., 1970 - Evolution de la musculature longitudinale dorsale et ventrale au cours de la stolonisation de Syllis amica Quatrefages (Annélide Polychète). III - La dégénérescence. (sous presse).
- ZAK R. et DRAHOTA Z., 1960 - Release of methionine labelled with sulphur 35 from muscle tissue and mitochondria. Nature, London, 186, 973-974.

