

50376
1978
19

50376
1978
19

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE 3^e CYCLE

en

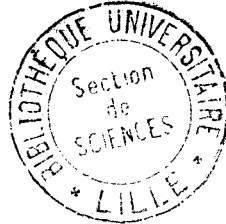
Biologie de la Reproduction et du Développement

Option : Biologie Cellulaire

par

SEAN Kim Eang

LOCALISATION ET ORIGINE DES PIGMENTS RESPIRATOIRES PORPHYRINIQUES D'ANNELIDES POLYCHETES



Soutenu le 24 FEVRIER 1978 devant la Commission d'Examen

MM. DURCHON

Président

BOILLY

Rapporteur

DHAINAUT

Examineur

Je saisis ici l'occasion de remercier Monsieur le Professeur B. BOILLY qui a suivi ce travail avec beaucoup d'intérêt et m'a fait bénéficier de ses connaissances en matière de Biologie Cellulaire. Je lui témoigne toute ma reconnaissance pour sa bienveillance à mon égard.

Mes remerciements vont à Monsieur le Professeur M. DURCHON dont j'ai suivi l'enseignement et auprès duquel j'ai toujours trouvé une audience bienveillante ; je le remercie d'avoir bien voulu accepter la présidence de mon jury.

Je voudrais exprimer à Monsieur le Professeur A. DHAINAUT ma profonde gratitude pour l'enseignement qu'il m'a donné et pour l'intérêt qu'il daigne témoigner en acceptant d'examiner ce travail.

Je dois beaucoup à Monsieur B. LASSALLE qui, avec une inlassable patience m'a encouragé et aidé à mettre au point les techniques. Je lui en suis vivement reconnaissant.

Je remercie également Madame FOURNEZ pour son aide technique, Madame DESCAMP, Madame STRUYVE pour la mise en page de ce travail ainsi que tout le personnel du laboratoire pour leur aide amicale.

o+o+o+o+o+o+o+o

S O M M A I R E

	PAGES
INTRODUCTION	1
LES PIGMENTS RESPIRATOIRES PORPHYRINIQUES D'ANNELIDES POLYCHETES	5
- ERYTHROCRUORINE	
- CHLOROCRUORINE	
MATERIEL ET TECHNIQUES	14
I - MATERIEL	14
II - TECHNIQUES	14
A) Elevage	
B) Cytologie	
C) Cytochimie	
D) Autoradiographie.	

CHAPITRE I

ETUDE CYTOLOGIQUE ET CYTOCHIMIQUE DE L'ERYTHROCYTE DE *NOTOMASTUS LATERICEUS* SARS.

I - EXAMEN <i>in vivo</i> DE L'ERYTHROCYTE DE <i>N. LATERICEUS</i>	20
A) Erythrocytes isolés	
B) Erythrocytes Agglomérés	
II - ETUDE HISTOLOGIQUE	21
III - ETUDE ULTRASTRUCTURALE	21
IV - ETUDE CYTOCHIMIQUE	23
A) Recherche du Fer	
B) Recherche de l'activité pseudo- péroxydasique	
V - DISCUSSION	24

CHAPITRE II

ETUDE CYTOLOGIQUE ET CYTOCHIMIQUE DE L'ERYTHROCYTE DE *GLYCERA CONVOLUTA* KEFERSTEIN

I - EXAMEN <i>in vivo</i>	28
II - ETUDE HISTOLOGIQUE	28
III - ETUDE ULTRASTRUCTURALE	29
IV - ETUDE CYTOCHIMIQUE	30
A) Recherche du Fer	
B) Recherche de l'Activité Pseudo-péroxydasique.	
V - DISCUSSION.....	31

CHAPITRE III

RECHERCHE DES SITES DE SYNTHÈSE DE L'ERYTHROCRUORINE ET DE LA CHLOROCRUORINE

I - RECHERCHE DU FER	34
II - RECHERCHE DE L'ACTIVITE PSEUDO- PEROXYDASIQUE	36
III - RESULTATS AUTORADIOGRAPHIQUES..	37
IV - DISCUSSION	38

.../...

CHAPITRE IV

ULTRASTRUCTURES DES ZONES RICHES EN FER ET DAB POSITIVES

I - LE TISSU CHLORAGOGENE DE <i>L'ARENICOLA</i> <i>MARINA L.</i>	42
A) Observations	
B) Discussion	
II - TISSU PERIVASCULAIRE LATERAL DE <i>NEPHTHYS HOMBERGII</i> Aud. et Edw.....	45
A) Observations	
B) Discussion	
III - TISSU PERIVASCULAIRE VENTRAL ET LATERAL DE <i>SABELLA PAVONINA L.</i>	47
A) Observations	
B) Discussion	
IV - TISSU PERIVASCULAIRE DE <i>POMATOCEROS</i> <i>TRIQUETER L.</i>	49
A) Observations	
B) Discussion	
V - DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE	51
CONCLUSION GENERALE	53

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

Quatre pigments respiratoires sont connus chez les invertébrés : l'érythrocrurine, le chlorocrurine (pigments porphyriniques), l'hémérythrine et l'hémocyanine (pigments non porphyriniques).

L'érythrocrurine est la plus répandue ; la chlorocrurine est connue seulement chez quelques vers marins ; l'hémérythrine chez les sipunculien, les brachiopodes, les priapulien et un annélide polychète du genre *Magelona* ; l'hémocyanine se rencontre exclusivement chez certains groupes d'arthropodes et de mollusques. Ces pigments sont le plus souvent dissouts dans le plasma ; l'érythrocrurine et l'hémérythrine peuvent cependant être intracellulaires (MANWELL 1960 a-FLORKIN 1969).

Les annélides polychètes constituent le seul groupe où les pigments respiratoires présentent une diversité aussi bien dans la nature (seule l'hémocyanine est inconnue chez les polychètes) que dans la localisation (ROMIEU 1923) ; l'érythrocrucorine, pigment le plus connu se trouve soit à l'état dissout dans le plasma, soit dans les cellules coelomiques soit dans les deux formes en même temps ; elle peut aussi se trouver dans certains tissus comme la musculature, le système nerveux (voir tableau page 9).

La chlorocrucorine est connue dans le règne animal dans quatre familles de polychètes : les Sabelliens, les Serpuliens, les Ampharétiens, les Chlorémiens. Elle se présente toujours sous forme dissoute dans le plasma (ROMIEU 1923 - RAPHAEL 1939, FOX 1949). Elle peut néanmoins être présente avec l'érythrocrucorine dans le sang. C'est le cas d'un polychète de genre *Serpula* (FOX 1949, DALES 1967) (Voir tableau page 9)

L'hémérythrine n'est connue chez les polychètes que chez le genre *Magelona*, chez lequel elle est localisée dans les cellules sanguines (BENHAM 1897, ROMIEU 1923).

Enfin, un certain nombre de polychètes tels que, les Aphroditiens, les phyllodociens, les Sylliciens, les Chétoptériens, possédant un sang incolore (ROMIEU 1923), sont considérés comme dépourvus de pigment respiratoire.

Les pigments respiratoires ont aussi été décelés (cas des pigments porphyriniques) sur la base d'observation morphologique ou cytochimique dans certains tissus comme le corps cardiaque, le tissu périvasculaire et chloragogène considérés par divers auteurs comme étant des sites de synthèse de ces pigments. C'est ainsi que BRETON - GORIUS 1963 et POTSWALD 1969 ont pu observer des molécules d'érythrocrucorine dans les vacuoles golgiennes des cellules chloragogènes de l'ARENICOLE (BRETON - GORIUS 1963) et dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de GOLGI des cellules périvasculaires du spirorbe (POTSWALD 1969).

De même KENNEDY et DALES (1958) d'une part et MANGUM et DALES (1965) d'autre part ont pu identifier des produits du métabolisme de l'érythrocrucorine dans le corps cardiaque et différents tissus de polychètes.

Toutefois, aucune autre recherche n'est venue confirmer ces premiers résultats sur l'origine des pigments respiratoires. Il nous a donc semblé opportun de mettre à profit certaines réactions cytochimiques, notamment celles relatives à la détection de l'activité pseudopéroxidasique caractéristique des pigments porphyriniques par le D A B (GRAHAM et KARNOSKY 1966) et du fer par la méthode de PERLS ainsi que l'autoradiographie pour déterminer l'origine des pigments respiratoires chez quelques espèces d'annélides polychètes.

Nous avons donc appliqué ces techniques à l'étude des pigments vasculaires (érythrocrucorine et chlorocrucorine dissoutes) ou intracellulaires (coelomocytes porteurs d'érythrocrucorine) afin de pouvoir les utiliser pour localiser les tissus responsables de la synthèse de ces pigments et les soumettre à une étude autoradiographique.

LES PIGMENTS RESPIRATOIRES PORPHYRIQUES

D' ANNELIDES POLYCHETES

ERYTHROCRUORINE ET CHLOROCRUORINE.

Erythrocruorine

C'est Lankester qui le premier en 1873, démontre par spectroscopie, la présence de l'hémoglobine dans le sang et dans le tissu de certains vers. Plus tard, Romieu (1923) confirme son existence dans le plasma et les corpuscules coelomiques d'un assez grand espèces d'annélides polychètes par la réaction de Teichmann. Ce pigment, présentant le même hème que l'hémoglobine des vertébrés, fut appelé érythrocruorine par Svedberg et al (1933) pour marquer la différence avec ce dernier.

Chez les annélides, la taille de la molécule d'érythrocruorine change suivant la localisation du pigment. Dans le cas de l'érythrocruorine dissoute, la molécule présente un poids moléculaire élevé, de l'ordre de $3 \cdot 10^6$ (coefficient de sédimentation S_{20} : 58) Keilin et Hartree 1951, Terwilliger et al 1975). La molécule peut être alors observée facilement au microscope électronique ; elle se présente sous la forme de deux disques (diamètre moyen 230 \AA) superposés de forme hexagonale et constitués chacun de six sous unités délimitant un espace central vide ; vue de profil, elle offre une forme évoquant la lettre H ou X (Roche et al 1960 (a, b, c), Roche et al 1961 (a, b), Breton-Gorius 1963, Roche 1964), Terwilliger et al 1976b, 1977.) Dans certains cas, cependant (*Oenone fulgida*) la dépression centrale est occupée par une sous-unité supplémentaire (Van Bruggen et Weber 1974)

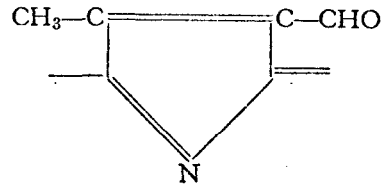
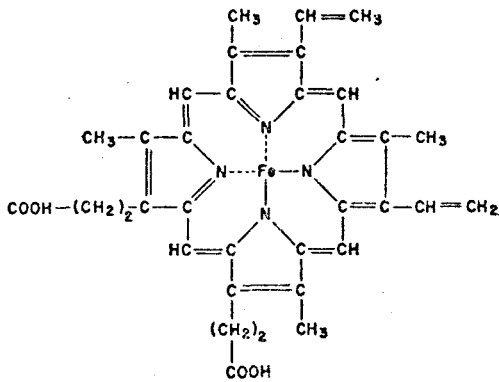
La molécule d'érythrocrucorine dissoute est capable de se dissocier : sous l'action de l'urée de concentration 8 M ; l'érythrocrucorine d' *Arenicola marina* se décompose en un matériel de coefficient de sédimentation S_{20} : 3, 1 qui peut reconstituer un édifice de grande taille (coefficient de sédimentation S_{20} : 16) témoignant ainsi de la réversibilité partielle de la dissociation du chromoprotéine (Roche et al 1963).

L'érythrocrucorine intracellulaire est constituée de molécules de petite taille (poids moléculaire 48 000 - 50 000, coefficient de sédimentation S_{20} : 3, 9) (Terwilliger et al 1976 a).

Chlorocrucorine

Vue pour la première fois par Milne - EDWARDS 1857, puis étudiée et dénommée par Lankester (1868), la chlorocrucorine est un pigment qui n'existe qu'à l'état dissout. Elle est dichroïque, verte en couche mince ou en solution diluée, rouge en couche épaisse ou en solution concentrée (Romieu 1923, Fox 1949, Manwel 1960 a). Comme l'érythrocrucorine, elle contient du fer mais l'hème de la chlorocrucorine (chlorocrucorohème) diffère de celui de l'érythrocrucorine (protohème) par remplacement d'une des deux chaînes vinyl par un aldéhyde dans chacun des quatre noyaux pyrroliques (Fox 1949).

.../...



Structure du protohème,

noyau pyrrolique du chlorocruorhème

Le spectre d'absorption de l'oxychlorocruorine se caractérise comme pour l'oxyhémoglobine par deux bandes α et β . Toutefois ces deux bandes d'absorption sont déplacées vers l'extrémité rouge du spectre dans le cas de l'oxychlorocruorine ; d'autre part, ces deux bandes fusionnent en une bande double lorsque la chlorocruorine est à l'état réduit alors qu'il n'existe qu'une seule bande simple dans le cas de l'hémoglobine (Fox 1949).

En présence d'eau oxygénée, la chlorocruorine prend une teinte brune par formation d'un composé comparable à la méthémoglobine et que l'on peut nommer métachlorocruorine. En outre, par la réaction TEICHMANN, la chlorocruorine vire au brun rouge avec dépôt de cristaux d'hémine analogues à ceux que donne l'érythrocrucorine (Romieu 1923).

Ces deux pigments sont donc très voisins ; ce caractère se traduit par une morphologie moléculaire identique : comme l'érythrocrucorine dissout, la chlorocruorine se présente au microscope électronique sous la forme de deux disques hexagonaux superposés et composés chacun de 6 sous-unités pour un poids moléculaire voisin (de l'ordre de $3 \cdot 10^6$)

(Roche et al 1960 (a, b, c), Roche et al 1961 (a, b), Roche et al 1963, Breton - Gorius 1963, Roche 1964, Potswald 1969, Terwilliger et al 1976 b, 1977).

Erythrocruorine

Localisation	Distribution	Origine
Coelomocytes	<u>TEREBELLIENS</u>	
	- <u>Polycirrus hoematodes</u> Claparede (ROMIEU, 1923 ; DALES, 1967)	
	- <u>Enoplobranchus sanguineus</u> (MANGUM et al., 1975 ; WEBER et al., 1977)	
	<u>CAPITELLIENS</u>	
	- <u>Notomastus benedeni</u> Claparede (ROMIEU, 1923)	
	- <u>Notomastus latericeus</u> Sars (ROMIEU, 1923 ; RAPHAEL, 1939 ; WELL et WARREN, 1975)	
	- <u>Capitella capitata</u> Fabricius (RAPHAEL, 1939 ; WELL et al., 1975)	
	<u>GLYCERIENS</u>	
	- <u>Glycera tessellata</u> Grube (ROMIEU, 1923)	
	- <u>Glycera convoluta</u> Keferstein (RAPHAEL, 1939)	
	- <u>Glycera capitata</u> Oersted (ROMIEU, 1923 ; RAPHAEL, 1939)	
	- <u>Glycera dibranchiata</u> (HOFFMANN et al., 1970 ; VINOGRADOV et al., 1970 ; MANGUM et CARHART, 1972 ; SEAMONDS et SCHUMACHER, 1972 ; MACHIN et DONNELL, 1977)	
	- <u>Glycera americana</u> (COWDEN, 1966)	
	- <u>Glycera gigantea</u> (RAPHAEL, 1939 ; WEBER, 1973)	
	- <u>Glycera alba</u> Ratake (RAPHAEL, 1939)	
- <u>Glycera rouxii</u> (WEBER et HEIDEMANN, 1977)		
Plasma	<u>NEREIDIENS</u>	
	- <u>Perinereis cultrifera</u> Grube (ROMIEU, 1923)	
	- <u>Nereis virens</u> Sars (ECONOMIDES et WELLS, 1975)	
	- <u>Perinereis diversicolor</u> O.F. Muller (DHAINAUT, 1969)	
	- <u>Platynereis dumerillii</u> Audouin et Edwards (RAPHAEL, 1939)	
	<u>TEREBELLIENS</u>	
	- <u>Amphitrite edwardsii</u> Quatrefages (ROMIEU, 1923)	
	- <u>Amphitrite rubra</u> risso (ROMIEU, 1923)	
	- <u>Lanice conchilega</u> Pallas (ROMIEU, 1923)	
	<u>ARENICOLIENS</u>	
	- <u>Arenicola marina</u> Linne (ROMIEU, 1923 ; ROCHE et al., 1960, a, b, c, 1961, 1963 ; BRETON-GORIUS, 1963 ; ROCHE, 1964 ; MANGUM et DALES, 1965 ; FLORKIN, 1969 ; DALES et PELL, 1970)	
		Corps cardiaque (KENNEDY et DALES, 1958 ; MANGUM et DALES, 1968 ; DALES et PELL, 1970)
		Cellules chlorogènes (BRETON-GORIUS, 1963 ; MANGUM et DALES, 1965 ; DALES et PELL, 1970)



Localisation	Distribution	Origine
Plasma	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Arenicola grubii</u> Claparede (ROMIEU, 1923) - <u>Arenicola cristata</u> (WAXMAN, 1971, 1975) <p><u>EUNICIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Eunice harassii</u> Audouin et Edwards (ROMIEU, 1923) - <u>Marphysa sanguinea</u> Audouin et Edwards (ROMIEU, 1923) - <u>Lumbriconereis nardonis</u> Grube (ROMIEU, 1923) - <u>Lumbriconereis coccinea</u> Grube (ROMIEU, 1923) <p><u>CIRRATULIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Audouinia tentaculata</u> Montagu (ROMIEU, 1923) - <u>Cirratulus cirratus</u> O.F. Müller (ROMIEU, 1923) <p><u>NEPHTHYDIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Nephtys coeca</u> Fabricius (RAPHAEL, 1939) 	<p>Corps cardiaque (KENNEDY et DALES, 1958 ; MANGUM et DALES, 1965)</p> <p>Corps cardiaque (KENNEDY et DALES, 1958 ; MANGUM et DALES, 1965)</p>
Plasma et Coelomocytes	<p><u>TEREBELLIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Terebella lapidaria</u> Kabler (ROMIEU, 1923 ; RAPHAEL, 1939 ; FLORKIN, 1969) - <u>Thelepus cripus</u> Johnson (GARLICK et TERWILLIGER, 1974) - <u>Amphitrite ornata</u> (MANGUM et al., 1975 ; WEBER et al., 1977) - <u>Pista pacifica</u> Berkeley (TERWILLIGER et KOPPENHEFFER, 1973) - <u>Amphitrite Johnstoni</u> (DALES, 1964) - <u>Necamphitrite figulus</u> (DALES et PELL, 1970) <p><u>OPHELIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Travisia forbesii</u> Johnston (ROMIEU, 1923 ; RAPHAEL, 1939) - <u>Travisia pupa</u> (MANWELL, 1960 b) 	<p>Corps cardiaque (KENNEDY et DALES, 1958 ; MANGUM et DALES, 1965 ; DALES et PELL, 1970)</p>
Plasma et liquide coelomique	<p><u>NEPHTHYDIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Nephtys hombergii</u> Audouin et Edwards (JONES, 1955 ; DALES, 1967) 	
Système nerveux	<p><u>APHRODITIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Aphrodite aculeata</u> Linné (ROMIEU, 1923 ; RAPHAEL, 1939) - <u>Sthenelais boa</u> Johnston (ROMIEU, 1923 ; RAPHAEL, 1939) - <u>Lepidonotus squamatus</u> Leach (ROMIEU, 1923 ; RAPHAEL, 1939) - <u>Lepidonotus clava</u> Montagu (RAPHAEL, 1939) 	

Localisation	Distribution	Origine
	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Sigation mathildae</u> Audouin et Edwards (RAPHAEL, 1939) - <u>Hermione hystrix</u> Savigny (RAPHAEL, 1939) - <u>Polynoc scolopendrina</u> Savigny (RAPHAEL, 1939) - <u>Scalisetosus pellucidus</u> Ehlers (RAPHAEL, 1939) - <u>Acholoc astéricola</u> Delle-Chiaje (RAPHAEL, 1939) - <u>Lepidasthenia elegans</u> Potts (RAPHAEL, 1939) - <u>Halosydna gelatinosa</u> M. Sars (RAPHAEL, 1939) - <u>Lagisca extenuata</u> Grube (RAPHAEL, 1939) - <u>Harmathoë lunulata</u> Delle-Chiaje (RAPHAEL, 1939) - <u>Harmathoë longisetis</u> Grube (RAPHAEL, 1939) <p><u>PHYLLODOCIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Eulalia viridis</u> Müller (ROMIEU, 1923) - <u>Phyllodoce mucosa</u> Malmgren (ROMIEU, 1923 ; RAPHAEL, 1939) - <u>Psammolyce arenosa</u> (ROMIEU, 1923) - <u>Phyllodoce laminosa</u> Savigny (RAPHAEL, 1939) - <u>Eteone longa</u> Fabricius (RAPHAEL, 1939) 	
Muscle	<p><u>SABELLIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Potamilla reniformis</u> O.F. Müller (FOX, 1949) - <u>Potamilla stichophthalmus</u> Grube (FOX, 1949) <p><u>ARENICOLIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Arenicola</u> (FOX, 1949) <p><u>OPHELIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Travisia pupa</u> (MANWELL, 1960 b) 	

Chlorocruorine

Localisation	Distribution	Origine
Plasma	<p><u>SERPULIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Hydroides norvegica</u> Gunnerus (FOX, 1949) - <u>Hydroides uncinata</u> Philippi (FOX, 1949) - <u>Vermiliopsis infundibulum</u> Philippi (FOX, 1949) - <u>Pomatoceros triqueter</u> Linné (FOX, 1949) - <u>Filograna implexa</u> Berkely (FOX, 1949) - <u>Salmacina incrustans</u> Claparede (FOX, 1949) - <u>Protula tubularia</u> Montagu (FOX, 1949) - <u>Protula intestinum</u> L. (FOX, 1949) - <u>Apomatus similis</u> Marion (FOX, 1949) - <u>Apomatus ampulliferus</u> Philippi (FOX, 1949) - <u>Spirorbis borealis</u> (FOX, 1949) - <u>Spirorbis vitreus</u> (FOX, 1949) 	<p>Tissu extravasculaire (POTSWALD, 1969) Tissu extravasculaire (POTSWALD, 1969)</p>
	<p><u>SABELLIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Sabella pavonina</u> Savigny (= <u>Sabella penicillus</u> Linné) (ROMIEU, 1923; FOX, 1949) - <u>Myxicola infundibulum</u> (FOX, 1949) - <u>Megalomma (= Branchiomma) vesiculum</u> Montagu (ROMIEU, 1923 ; FOX, 1949) - <u>Myxicola aesthetica</u> Claparede (FOX, 1949) - <u>Sabella spallanzanii</u> Viviani (FOX, 1949) - <u>Potamilla reniformis</u> O. F. Müller (FOX, 1949) - <u>Potamilla stichopthalmus</u> Grube (FOX, 1949) - <u>Dasyschone bombyx</u> Dalyell (FOX, 1949) - <u>Dasyschone lucullana</u> Della-Chiaje (FOX, 1949) - <u>Sonphiglana mediterranea</u> Leydig (FOX, 1949) - <u>Dialychone acoustica</u> Claparede (FOX, 1949) - <u>AMPHARETIENS</u> - <u>Ampharete acutifrons</u> Grube (MANGUM et DALES, 1965) 	<p>Tissu extravasculaire (MANGUM et DALES, 1965 ; DALES et PELL, 1970) Tissu extravasculaire (MANGUM et DALES, 1965 ; DALES et PELL, 1970) Tissu extravasculaire (MANGUM et DALES, 1965 ; DALES et PELL, 1970) Corps cardiaque (MANGUM et DALES, 1965)</p>

Chlorocruorine

Localisation	Distribution	Origine
Dissout dans le plasma et dans le coeur	<p><u>CHLOREMIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Siphonostoma diplochaitos</u> Otto (ROMIEU, 1923) - <u>Chlorhoema dujardini</u> Quatrefages (ROMIEU, 1923) - <u>Stylarioides monilifer</u> Delle-Chiaje (ROMIEU, 1923) <p><u>SABELLIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Spirographis spanllanzanii</u> Viviani (ROMIEU, 1923) 	

Erythrocrurine - Chlorocruorine

Localisation	Distribution	Origine
Plasma	<p><u>SERPULIENS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Serpula</u> sp. (FOX, 1949) 	



MATERIEL ET TECHNIQUES

I - MATERIEL

Six espèces d'annélides polychètes ont été utilisées :

- deux espèces à érythrocrurine intraglobulaire : *Notomastus latericeus* Sars et *Glycera convoluta* KEFERSTEIN.
- deux espèces à érythrocrurine dissoutes dans le plasma :
Arenicola marina Linné et *Nephtys hombergii* - Audouin et Edwards.
- deux espèces à chlorocrurine : *Pomatoceros triqueter* Linné et *Sabella pavonina* Linné.

Les *Notomastus* ont été récoltés dans la rade de Boulogne (Pas-de-Calais), les Arénicoles et les *Nephtys* à Wimereux (Pas-de-Calais) les Glycères, les Pomatocéros et les Sabelles à Roscoff (Bretagne).

II - TECHNIQUES

A) Elevage

Les Annélides sont isolées, à l'exception des *Pomatoceros* dans des bocaux ou des cuvettes recouverts d'un opercule et contenant de l'eau de mer filtrée, renouvelée régulièrement. L'élevage est conduit à l'obscurité à la température de 15° C. Les *Pomatoceros* sont élevés dans les mêmes conditions en plaçant le caillou porteur de tubes dans une cuvette.

Dans certains cas (*Sabella*, *Arenicola*), l'eau est aérée en permanence ; pour *Nephtys* et *Glycera* du sable est ajouté à l'eau afin de permettre l'enfouissement des vers.

B) CYTOLOGIE

1) Microscopie photonique

Les observations ont été réalisées sur frottis colorés au MAY GRUNWALD et GIEMSA et sur coupe d'araldite ou de paraffine.

Les coupes semi-fines d'araldite proviennent de vers fixés pour la microscopie électronique : elles sont colorées par le bleu Azur à 0,1 %

Les coupes de paraffine (5 à 6 μ) sont colorées par l'hémalum de Groat et le picro-indigo carmin.

2) Microscopie électronique

Les érythrocytes de *Glycera* et de *Notomastus* ont été fixés après avoir été ponctionnés et centrifugés légèrement avant chaque changement de bain. Le pH et l'osmolarité de nos fixateurs et de liquides de lavage ont été ajustés après mesure de ces paramètres dans le liquide coelomique; les érythrocytes se sont montrés en effet comme étant particulièrement sensibles à des écarts de pression osmotique et dans une moindre mesure de pH. La fixation a été effectuée avec le glutéraldéhyde à 2,5 % dans le tampon phosphate 0,2 M (1h30 pour *Glycera*, pH : 7,1 ; 15 mn pour *Notomastus* pH 8) à 4° C puis par une solution de tétroxyde d'osmium à 1 % (1 heure et demie) dans le même tampon après passage dans une solution de lavage.

L'inclusion est réalisée avec de l'araldite dans des godets à fond conique. Les tronçons d'Annélides sont fixés de la même manière mais pendant un temps plus long (2 h pour le glutaraldite 1h30 pour le tétroxyde d'osmium) et après anesthésie du sujet dans le chlorbutol à 1°/∞∞.

Le tissu chloragogène de l'Arénicole a aussi été fixé isolé de l'animal de la même façon que l'animal *in toto* mais en utilisant le tampon cocodylate 0,2 M (pH 8).

Dans tous les cas, l'osmolarité de nos solutions fixatrices et nos liquides de lavage ont été ajustés par addition de NaCl à 2 % et de sucrose.

C) CYTOCHIMIE

1) Recherche du fer

Elle a été effectuée sur coupe au microscope photonique par la méthode du Bleu de Prusse.

2) Recherche de l'activité pseudo-peroxydasique

La méthode de Graham et Karnovsky (1966) révèle les peroxydases la catalase et la cytochromes-oxydase, enzymes caractérisés par la présence d'un groupement prosthétique, l'hème, responsable de l'activité peroxydasique et capables d'oxyder le DAB (diamino benzidine) substrat du milieu de Graham et Karnovsky - en présence d'H₂O₂. Il a été montré (Breton - Gorius, 1974) que d'autres composés hémiques, comme les granules de lipofuscine de l'hépatocyte les prémélanosomes et mélanosomes, les granules de la cellule noradrénergique de la glande surrénale, la myoglobine et l'hémoglobine sont aussi responsables de l'oxydation du DAB

Toutefois, celle-ci ne résulte vraisemblablement d'une activité enzymatique puisque l'activité peroxydase de ces substances n'est pas détruite par la chaleur (activité pseudo-péroxydase). Nous avons utilisé cette propriété des composés hémiques d'oxyder le DAB en présence d' H_2O_2 pour localiser les pigments porphyriniques des Annélides Polychètes (Erythrocrurine et chlorocrurine).

Les échantillons étudiés sont fixés comme précédemment (glutaraldite puis tétroxyde d'osmium) et incubés avant la fixation osmique dans le milieu de Graham et Karnovsky préparé comme suit :

- 3,3' diaminobenzidine Sigma : 15 à 25 mg
- eau oxygénée à 1 % : 0,4 à 0,6 ml
- tampon tris HCl 0,5 M : 10 ml

L'incubation est réalisée sur des pièces de petites tailles à l'obscurité, à la température de 37° C pendant une durée allant de 1h30 (érythrocytes) à 4 h (fragment de Sabelle).

Les échantillons sont ensuite inclus dans l'araldite puis débités en coupes semi-fines et ultra-fines. Les coupes semi-fines colorés ou non par le bleu Azur sont observées au microscope photonique ; le DAB oxyde apparaît en marron ; les coupes ultra-fines ne sont pas colorées ; elles sont observées directement au microscope électronique ; Le DAB oxyde présente dans ces conditions une densité électronique élevée.

Les échantillons témoins sont traités de la même manière mais incubés dans un milieu dépourvu de DAB. D'autre part, nous avons bloqué l'activité enzymatique (catalase et peroxydase) par l'animotriazole 10^{-2} M.

D - AUTORADIOGRAPHIE

Deux précurseurs de l'hème ont été employés :

- le ^{55}Fe sous la forme chlorure : activité spécifique
3,3 mCi / mg (CEA)

- l'acide Δ aminolévulinique $2,3^3\text{H}$ (intermédiaire
métabolique de la biosynthèse des porphyrines) : activité spécifique
28 Ci / mM (CEA).

L'incorporation a été réalisée *in vivo* par injection
intracoelomique de précurseur. Les doses varient de 15 à 30 μCi pour
le ^{55}Fe et de 20 à 50 μCi pour l'acide Δ aminolévulinique $2,3^3\text{H}$.

Le temps d'incorporation varie entre 3 h et 18 h. Les sujets
ont été immédiatement fixés, inclus dans la paraffine, puis débités en
coupes de 6 μ . Les coupes ont été recouvertes par de l'émulsion
ILFORD K 5 ; la durée d'exposition est de 7 jours ; après révélation des
autoradiogrammes les coupes ont été colorées.

CHAPITRE I

ETUDE CYTOLOGIQUE ET CYTOCHIMIQUE DE L'ERYTHROCYTE DE NOTOMASTUS LATERICEUS SARS

Notomastus latericeus Sars est une Annélide Polychète caractérisée, comme tous les Capitellidiens, par l'absence d'appareil circulatoire mais pourvue d'hématies circulant librement à l'intérieur de la cavité coelomique. Ces cellules, nucléées et chargées d'érythrocrurine, ont été examinées *in vivo*, sur frottis et sur coupes. L'étude cytologique et cytochimique a été réalisée aux microscopes photonique et électronique.

I - EXAMEN IN VIVO DE L'ÉRYTHROCYTE DE *N. LATERICEUS*

Les érythrocytes ont été examinés soit directement à l'intérieur d'un régénérat grâce à la transparence des tissus, soit sur ponction coelomique. Ils apparaissent isolés ou agglomérés.

A - ÉRYTHROCYTES ISOLES (Pl. I, fig. 1)

Il s'agit de cellules jaune clair, à contour bien délimité. Ils sont généralement de forme globulaire mais peuvent subir de nombreuses déformations, parfois importantes, au contact d'autres cellules ou de tissus. Leur cytoplasme contient des formations vacuolaires pourvues ou non de grains plus ou moins volumineux et des granules libres dispersés dans le cytoplasme. Dans la plupart des érythrocytes les vacuoles communiquent entre elles et les grains ont tendance à s'agglutiner en de volumineux amas. Le noyau, sphérique, est souvent visible.

B - ERYTHROCYTES AGGLOMERES (Pl. I, fig. 2)

Les agglomérats d'érythrocytes sont fréquents dans le coelome ; ils circulent sous l'influence des contractions du corps et peuvent libérer sur leur trajet de petits amas d'érythrocytes ou des cellules isolées. Un comportement semblable a aussi été constaté lorsque l'agglomérat est observé à l'extérieur du corps de l'animal dans une goutte d'eau de mer. Dans ces conditions, les érythrocytes isolés prennent une forme sphérique.

II - ÉTUDE HISTOLOGIQUE (Pl. I, figs 3, 4)

Les érythrocytes, subsphériques (diamètre moyen 25μ) présentent un cytoplasme éosinophile contenant des inclusions brúnâtres d'aspect cristallin, généralement agglomérés (diamètre compris entre 2 et 5μ) et des grains sphériques basophiles souvent groupés (1μ de diamètre). Le noyau, relativement dense, occupe généralement le centre de la cellule ; il se présente sous la forme d'une sphère de 7μ de diamètre environ. Dans certains cas, on rencontre deux noyaux dans la cellule (Pl. I, fig. 3).

III - ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE

Les érythrocytes présentent après fixation des formes très variables en dépit des soins apportés à l'ajustement de la pression osmotique des fixateurs. Il s'agit en effet d'une

cellule sans consistance propre, très malléable et dont la forme est facilement affectée par la fixation (Pl. II). Dans ces conditions nous ne décrirons pas la membrane cellulaire dont la surface peut évoquer parfois des processus de pinocytose, en raison de la possibilité de l'existence d'artefacts attestée par la forme même de la cellule. Le cytoplasme montre un aspect homogène granuleux dont la densité électronique varie beaucoup d'une cellule à l'autre et ceci pour une même préparation. Cette variabilité de la densité cytoplasmique entre cellules repose uniquement sur la quantité de matériel granuleux par unité de surface cytoplasmique indépendamment de la densité électronique de celui-ci qui semble invariable (Pl. III, figs 1 et 2). Il contient peu d'organites figurés dont la plupart sont d'ailleurs de type vacuolaire. Les vacuoles de taille plus ou moins grande contiennent des formations variées de type fibrillaire (Pl. III, fig. 2 ; Pl. IV, fig. 4), membranaire (Pl. IV, figs 2 et 3) ou granulaire (Pl. III, fig. 2). Les formations granulaires présentent un intérêt particulier ; il s'agit d'un matériel composé de grains très fins très denses aux électrons agglomérés entre eux et formant des masses compactes (Pl. IV, fig. 1). Ces formations contrastent par leur densité avec le contenu vacuolaire qui apparaît particulièrement clair. On retrouve des formations semblables dans des pseudo-vacuoles caractérisées par une membrane incomplète. Lorsque la membrane de la vacuole est partiellement rompue (Pl. IV, figs 2 et 3), les agglomérats granulaires côtoient de petites vésicules et parfois des membranes non refermées dont les bords s'enroulent sur eux-mêmes (Pl. IV, fig. 3). Il est vraisemblable que ces vésicules se

se forment lors de la rupture de la membrane de la vacuole et que les formations fibrillaires et membranaires observées à l'intérieur de vacuoles dépourvues de matériel granulaire résultent aussi de ce processus. Il semble que, une fois la vacuole rompue, le matériel granulaire se disperse dans le cytoplasme sous la forme d'amas de taille réduite à périphérie mal délimitée, les plus petits se confondant avec le fond cytoplasmique (Pl. II). En dehors de ces "formations vacuolaires et des agglomérats granulaires, le cytoplasme ne contient aucun des organites classiques de la cellule ; quelques rares formations membranaires évoquent cependant des fragments de réticulum endoplasmique (Pl. IV, figs 3 et 5). Le noyau, limité par une enveloppe percée de pores, présente une densité électronique élevée donnant parfois à celui-ci un aspect pycnotique notamment dans les cellules à cytoplasme clair (Pl. III, fig. 1). Toutefois dans un certain nombre de cas, un nucléole de petite taille est visible (Pl. II ; Pl. III, fig. 1).

IV - ÉTUDE CYTOCHIMIQUE

A - RECHERCHE DU FER

La méthode de Perls appliquée sur des coupes de *Notomastus* révèle la présence de corpuscules Perls plus à l'intérieur des érythrocytes ; le nombre, la taille, la répartition de ces éléments sont semblables à ceux concernant les inclusions observées *in vivo* et sur frottis (Pl. V, fig. 1).

B - RECHERCHE DE L'ACTIVITE PSEUDO-PEROXYDASIQUE

L'examen de coupes semi-fines non colorées issues d'érythrocytes incubés dans le DAB montre que ces cellules présentent une activité pseudo-péroxydasique cytoplasmique et nucléaire dont l'intensité varie cependant beaucoup d'une cellule à l'autre et pour une même cellule du cytoplasme au noyau (Pl. V, fig. 2). Le microscope électronique confirme ces observations et montre en particulier que l'activité pseudo-péroxydasique est localisée sur la trame granuleuse cytoplasmique et, de façon diffuse, dans le noyau (Pl. V, fig. 3 ; Pl. VI, figs 1 et 2). Ces structures ne présentant aucun contraste sur les échantillons témoins (incubation dans un milieu dépourvu de DAB ou d'eau oxygénée (Pl. V, fig. 4). Par contre les agglomérats granulaires qu'ils soient intravacuolaires ou libres dans le cytoplasme gardent la même densité électronique sur les échantillons traités et sur les témoins (Pl. V, fig. 4).

V - DISCUSSION

L'érythrocyte de *Notomastus latericeus* se présente comme une cellule hautement spécialisée réduite pratiquement à un sac rempli de pigment respiratoire, pigment visualisé par la réaction pseudo-péroxydasique observée après incubation dans le DAB en présence d'eau oxygénée. Comme chez d'autres hématies nucléées (DAVIES, 1961 ; TOOZE et DAVIS, 1963 ; ZENTGRAF *et al.*, 1972), le noyau de l'érythrocyte de *Notomastus* présente comme le cytoplasme une réaction pseudo-péroxydasique indiquant la présence de pigment respiratoire à l'intérieur de cette structure.

Exception faite du noyau, cette cellule ne contient aucun des organites (mitochondries, réticulum endoplasmique, dicytosome) que l'on rencontre normalement dans toute cellule métaboliquement active. Cette observation, jointe à celle du caractère fortement hétérochromatique du noyau, suggère que l'érythrocyte de *N. latericeus*, vraisemblablement dépourvu d'activité synthétique, doit avoir une durée de vie limitée. Dans ces conditions, il est possible que la variabilité de densité électronique cytoplasmique et nucléaire observée d'une cellule à l'autre rend compte d'un vieillissement plus ou moins accentué de la cellule. Nos observations cytochimiques montrent, en effet, que cette variation de densité électronique est liée à la présence d'une quantité plus ou moins grande de pigment respiratoire ; il est vraisemblable que l'érythrocyte de *N. latericeus* subit au terme de son existence une hémolyse comparable à celle du globule rouge de Mammifères (BESSIS, 1972) caractérisée par une diffusion de pigment à travers la membrane cellulaire. Une observation semblable a été rapportée par BOILLY (1974) à propos des hématies anucléées de *Magelona papillicornis*. Dans ce dernier cas toutefois l'existence de systèmes membranaires extracellulaires témoigne de la destruction des cellules ; nous n'avons pas observé de telles membranes chez *N. latericeus* ; le mode de préparation de nos échantillons (centrifugation de liquide coelomique) ou l'absence d'hémolyse brutale pourrait rendre compte de cette situation. Par contre, comme chez *Magelona*, l'érythrocyte de *N. latericeus* se caractérise par la présence de formations membranaires intracellulaires ouvertes ou de type vacuolaire et d'un matériel dense riche en fer libre dans le cytoplasme ou à l'intérieur de vacuoles. Ces formations membranaires, dont

l'évolution reste difficile à interpréter en raison du caractère statique de nos observations électroniques, rappellent celles décrites dans les cellules sanguines de divers Invertébrés (COWDEN, 1966 ; STANG-VOSS, 1970 ; SEAMONDS et SCHUMACHER, 1972 ; FONTAINE et LAMBERT, 1973) et interprétées comme des structures de type lysosomal (COWDEN, 1966 ; SEAMONDS et SCHUMACHER, 1972 ; FONTAINE et LAMBERT, 1973) ou à des vésicules de pinocytoses (FONTAINE et LAMBERT, 1973). Quant aux formations denses les auteurs les considèrent, en l'absence de critères cytochimiques, comme des lysosomes (COWDEN, 1966 ; FONTAINE et LAMBERT, 1973), des inclusions lipidiques (SEAMONDS et SCHUMACHER, 1972), du matériel "ferritin-like" (STANG-VOSS, 1970).

Chez *Notomastus*, comme chez *Magelona* d'ailleurs (BOILLY et Galle 1973) il s'agit sans aucun doute d'inclusions riches en fer analogues à celles décrites dans des tissus assurant la synthèse de pigments respiratoires (BRETON-GORIUS, 1963 ; LINDNER, 1965 ; POSTWALD, 1969 ; DALES et PELL, 1970) et notamment dans les érythroblastes de Mammifères (BESSIS, 1972). Dans ce dernier cas, la présence de fer, bien qu'interprétée différemment par les auteurs (réserve de fer, excédent de fer, manifestation de certaines érythropathies), apparaît liée au métabolisme de l'hémoglobine. Il en est vraisemblablement de même chez *Notomastus* ; il importera néanmoins d'approfondir l'étude cytochimique de ces formations afin d'apprécier la signification précise de ces accumulations de fer notamment en recherchant une activité lysosomale éventuelle à leur niveau ou dans les systèmes vacuolaires correspondants.

CHAPITRE II

ETUDE CYTOLOGIQUE ET CYTOCHIMIQUE DE
L'ERYTHROCYTE DE GLYCERA CONVOLUTA KEFERSTEIN

Comme les Capitelliens et *Polycirrus haematodes* (Terebellien) les glycères sont dépourvus d'appareil circulatoire et caractérisés par la présence d'hématies coelomiques nucléées chargées d'érythrocrucorine.

L'étude de ces cellules a été effectuée chez l'espèce *Glycera convoluta* ; elle a été conduite aux microscopes photonique et électronique de la même façon que pour l'érythrocyte de *Notomastus latericeus* Sars.

I - EXAMEN IN VIVO

Les érythrocytes de *Glycera convoluta* K. présentent, sur le vivant, une forme généralement subsphérique, présentant peu de déformations. Ils restent le plus souvent isolés et en particulier ne s'agglomèrent pas comme les érythrocytes de *Notomastus*. Le noyau est bien visible au microscope à contraste de phase ; il est relativement petit, sphérique et placé le plus souvent à proximité du centre de la cellule. Le cytoplasme contient de très petites granulations verdâtres.

II - ÉTUDE HISTOLOGIQUE

Un premier examen montre que les érythrocytes de *Glycera* sont moins aisément déformables que ceux de *Notomastus*. La forme reste subsphérique (diamètre moyen 20μ) sauf pour quelques cellules de grande taille et de forme irrégulière caractérisées par la présence de plusieurs noyaux accolés ou non (Pl. VII, figs 1 et 2). Toutes ces cellules, qu'elles soient mononucléées ou plurinucléées, se caractérisent par leur cytoplasme uniformément coloré et la présence de petits

(diamètre 1μ) granules cytoplasmiques denses dispersés dans toutes la cellule (Pl. VII, figs 1 et 2). Tous les noyaux, sphériques, ont une taille pratiquement identique (4μ de diamètre).

III - ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE

L'érythrocyte de *Glycera* se caractérise de prime abord par sa forme pleine et la grande quantité de matériel granuleux occupant l'ensemble du cytoplasme ; ce matériel, apparemment tassé dans la cellule, donne à celle-ci un caractère à la fois d'homogénéité et de densité (Pl. VIII). La membrane cellulaire légèrement plissée sur toute la périphérie de l'érythrocyte évoque parfois des images de pinocytose ; elle apparaît en outre en certain endroit rompue ; à ce niveau le contenu cytoplasmique se répand à proximité immédiate de la cellule comme sous l'influence d'une surpression interne (Pl. VIII). Le noyau, subsphérique, est particulièrement riche en hétérochromatine) ; l'espace périnucléaire apparaît souvent dilaté (Pl. IX, fig. 1), le nucléole est parfois visible (Pl. X, fig. 2). Le cytoplasme renferme quelques rares organites dispersés à travers toute la cellule : des mitochondries et des formations vacuolaires.

Les mitochondries sont en nombre très restreint, de petite taille ($0,4\mu$ de longueur) et de forme subsphérique ou ovoïde ; leurs crêtes, en nombre limité, sont généralement longues (Pl. IX, figs 1, 2, 3).

Les formations vacuolaires présentent le plus souvent un contenu clair ; certaines contiennent cependant des formations

de densité électronique élevée.

Les vacuoles claires, de petite taille ($0,1 \mu$ de diamètre), sont le plus souvent placées à proximité immédiate de la surface cellulaire (Pl. VIII) ; certaines apparaissent même en relation directe avec la membrane cellulaire évoquant un processus d'échange entre l'érythrocyte et le milieu extracellulaire ; d'autres serrées les unes contre les autres rappellent des figures golgiennes.

Les vacuoles à contenu dense, plus grandes que les précédentes, ne présentent pas de localisation préférentielle ; elles sont en nombre restreint. Leur contenu est constitué de granulations agglomérées de densité électronique élevée (Pl. IX, fig. 2).

IV - ETUDE CYTOCHIMIQUE

A - RECHERCHE DU FER

Des granules riches en fer sont mis en évidence par la méthode du Bleu de Prusse ; ils sont en nombre limité (2 granulations en moyenne) de petite taille et non observables dans tous les érythrocytes (Pl. VII, fig. 3).

B - RECHERCHE DE L'ACTIVITE PSEUDO-PEROXYDASIQUE

Sur coupe semi-fine les érythrocytes de *Glycera* présentent une activité pseudo-péroxydasique intense et identique d'une cellule à l'autre. Le noyau montre apparemment peu ou pas d'activité (Pl. VII, fig. 4). Au microscope électronique le

cytoplasme apparaît comme fortement réactif, le noyau beaucoup moins (Pl. X, figs 1 et 2). Les vacuoles restent claires ; seul leur contenu granulaire présente la même densité électronique sur les échantillons témoins incubés en l'absence de DAB et non colorés, les autres structures n'ayant aucun contraste (Pl. X, fig. 3).

V - DISCUSSION

Les érythrocytes de *G. convoluta* présentent sur le plan structural beaucoup d'analogies avec ceux de *N. latericeus*. Dans les deux cas il s'agit de cellules nucléées dont le cytoplasme, chargé d'érythrocrucorine et contenant relativement peu d'organites cellulaires, se caractérise par la présence de structures denses aux électrons et vraisemblablement riche en fer. Toutefois les érythrocytes de *G. convoluta* diffèrent de ceux de *N. latericeus* par un certain nombre de caractères structuraux liés au métabolisme cellulaire. En effet, alors que l'érythrocyte de *Notomastus* ne comporte aucun des organites classiques de la cellule mais présente par contre certains aspects que nous considérons comme étant en relation avec la brièveté de la vie de cette cellule (importantes inclusions denses et systèmes membranaires intravacuolaires et surtout variabilité importante de la densité électronique du cytoplasme d'une cellule à l'autre) l'érythrocyte de *G. convoluta* contient des mitochondries et relativement peu d'inclusions denses intracytoplasmiques et pratiquement pas de formations membranaires intravacuolaires ; cette observation suggère que les érythrocytes de *G. convoluta*

sont métaboliquement plus actifs que ceux de *N. latericeus*. D'ailleurs le caractère homogène de la densité électronique du contenu cytoplasmique des érythrocytes observés sur une même préparation permet de penser que l'espérance de vie de ces cellules est supérieure à celle des érythrocytes de *N. latericeus* ; d'autre part la présence constante de vésicules sous-plasmalemmiques claires suggère un processus de pinocytose, critère d'une certaine activité cellulaire. Des observations semblables ont été rapportées par SEAMONDS et SCHUMACHER (1972) à propos des érythrocytes d'une espèce voisine *G. díbranchiata*. Ceux-ci comportent en effet un certain nombre de mitochondries et même des systèmes vacuolaires interprétés comme étant des dictyosomes ainsi que des granules isolés ou associés assimilés à des ribosomes donnant à cette cellule l'aspect d'un globule rouge immature de Mammifère (SEAMONDS et SCHUMACHER, 1972) ; néanmoins, selon ces auteurs, la synthèse protéique des érythrocytes de *Glycera* se situerait, si elle a lieu, à un niveau très bas. Quant aux corps denses intracytoplasmiques interprétés par SEAMONDS et SCHUMACHER comme des dépôts lipidiques, ils apparaissent beaucoup plus nombreux que chez *G. convoluta* par contre les vésicules claires et les vacuoles à contenu plus ou moins dense présentent un aspect et une distribution pratiquement semblable chez les deux espèces de *Glycera*. Nous pensons comme SEAMONDS et SCHUMACHER (1972) et COWDEN (1966) que les vacuoles dont la présence est fréquente dans les érythrocytes de *Glycera* correspondent à un processus d'autophagie ; ces formations, analogues d'ailleurs à celles rencontrées chez *Notomastus*, correspondraient peut être aux premières phases de la mort cellulaire.

CHAPITRE III

RECHERCHE DES SITES DE SYNTHÈSE
DE L'ERYTHROCRUORINE ET DE LA CHLOROCRUORINE

Nous avons vu que les hématies coelomiques de *Glycera* et de *Notomastus* peuvent être caractérisées par la présence de fer et une activité pseudo-peroxydasique typique des groupements hémiques. Nous avons appliqué ces techniques cytochimiques à la recherche des sites de synthèse des pigments porphyriniques d'Annelides en considérant *à priori* que les cellules hématopoïétiques assurant cette synthèse présentent les mêmes caractères cytochimiques que les hématies. Cependant, étant donné que la présence de fer et d'une activité peroxydasique peut être considérée comme des indices à la fois d'une synthèse ou d'une destruction de pigment, nous avons eu recours à l'autoradiographie afin de déterminer si les cellules détectées par la cytochimie sont capables d'incorporer des précurseurs de l'hème : le ^{55}Fe et l'acide Δ aminolevulinique 2,3 ^3H .

Enfin, afin d'éviter de confondre cellules hématopoïétiques et hématies qui, nous l'avons vu, possèdent aussi du fer et une activité pseudo-peroxydasique, nous avons limité notre étude aux pigments dissouts, l'érythrocrurine et la chlorocrurine. Quatre espèces ont été étudiées : *Arenicola marina* Linné et *Nephtys hombergii* AUDOUIN et Edwars pour l'érythrocrurine, *Sabella pavonina* Linné et *Pomatoceros triqueter* Linné pour la chlorocrurine.

I - RECHERCHE DU FER

L'examen des coupes histologiques traitées par la méthode du Bleu de Prusse (Réaction de Perls) nous a permis de détecter des granules Perls positifs dans divers tissus des quatre espèces étudiées et de distinguer des zones particulièrement riches en fer.

Celles-ci correspondent à un tissu périvasculaire localisé soit sur le vaisseau ventral, soit sur le vaisseau dorsal (ou sur les deux à la fois); soit encore sur des ramifications vasculaires de faible diamètre. Ce tissu riche en fer s'étend sur des portions relativement limitées de vaisseaux mais dont l'étendue varie néanmoins selon l'âge et la taille du ver considéré.

Chez l'Arénicole, le tissu périvasculaire riche en fer est localisé autour de ramifications du vaisseau dorsal ou ventral (ou des deux à la fois) ; ces ramifications, en nombre très important, constituent des fins coecums (40μ de diamètre) à partir de la zone de jonction estomac-intestin jusqu'à la partie postérieure en donnant à cette zone un aspect chevelu.

Ces coecums sont bordés par un tissu décrit par de nombreux auteurs sous le vocable de tissu chloragogène (voir Breton - Gorius, 1963). Ce tissu se rencontre aussi autour des vaisseaux longitudinaux dorsal et ventral, et parfois sur certains vaisseaux de la paroi du corps (Pl XI fig 1) ; il est représenté par une seule couche de cellules allongées perpendiculairement à l'axe du vaisseau qu'elles bordent. Chez les jeunes arénicoles, le tissu chloragogène ne forme pas une couche continue, les cellules n'étant pas toujours jointives ; chez l'animal âgé, le nombre de cellules est très important et le revêtement chloragogène continu. Dans tous les cas, les cellules chloragogènes ont une structure d'aspect vacuaire et se caractérisent par des inclusions brunâtres de 1 à 2μ de diamètre.

Chez *Nephtys* le tissu périvasculaire riche en fer se situe sur des petits vaisseaux (10 à 20 μ de diamètre) irriguant les parapodes de la portion du corps allant du 20e au 40e segment environ ; cette zone peut être plus étendue chez les individus de grande taille (Pl XI fig 2) Le tissu riche en fer est constitué de cellules polymorphes à contour irrégulier caractérisées par la présence d'inclusions arrondies de 2 μ de diamètre.

Chez *Pomatoceros* le tissu périvasculaire riche en fer est localisé dans les deux premiers segments thoraciques sur les vaisseaux placés latéralement entre le tube digestif et la musculature. (Pl XI, fig 3). Il est formé d'une seule couche de cellules disposées régulièrement sur la paroi du vaisseau comme les cellules chloragogènes de l'Arénicole ; comme celles-ci, elles possèdent aussi des inclusions cytoplasmiques, qui parfois, se confondent avec des évaginations du vaisseau à l'intérieur du tissu périvasculaire.

Chez la *Sabella* le tissu périvasculaire riche en fer entoure le vaisseau longitudinal ventral et sur certaines ramifications latérales dans une zone comprise entre le 20 e et le 60e segment (Pl XI, fig 4). Il est généralement localisé sur certaines parties seulement de la paroi vasculaire, et montre comme le tissu chlorogène, un aspect lacuneux dû à la présence de nombreuses vacuoles.

II - RECHERCHE DE L'ACTIVITE PSEUDO-PEROXYDASIQUE

Avant de rechercher les zones présentant une activité pseudo-peroxydasique, nous nous sommes assurés que les pigments porphyriniques dissouts oxydent aussi le DAB en présence d' H_2O_2 .

Nous avons pu constater que dans tous les cas étudiés (*Arenicola*, *Nephtys*, *Sabella*, *Pomatoceros*), le sang présente une activité pseudo-péroxydasique intense (Pl XII, fig 4 et 5) ; cette réaction permet d'ailleurs de visualiser de façon très claire le réseau vasculaire (Pl XII fig. 1, 2 et 3).

L'étude des échantillons traités par le DAB a permis de déceler une activité pseudo-péroxydasique nette au niveau des tissus péri-vasculaires dans lesquels nous avons détecté la présence de fer par la méthode du Bleu de Prusse (chapitre précédent), c'est-à-dire dans le tissu chloragène de l'Arénicole, dans le tissu entourant les vaisseaux parapodiaux de *Nephtys*, les vaisseaux latéraux antérieurs de *Pomatoceros*, le vaisseau ventral et ses ramifications chez la *Sabella* (Pl XIII, fig 1, 2, 3 et 4). Dans tous ces cas, l'activité peroxydasique se situe au niveau de granule de 1 à 2 μ de diamètre ; cette activité apparaît d'ailleurs toujours plus intense que celle du sang. Lorsque les échantillons sont incubés dans le milieu de Graham et Karnovsky dépourvu du DAB, les granules et le sang ne sont pas colorés.

III - RESULTATS AUTORADIOGRAPHIQUES

Notre travail a été limité à la biosynthèse de l'érythrocrucorine chez les deux espèces étudiées ("*Nephtys* et *Arenicola*) et constitue une étude préliminaire de l'incorporation de 55 fer et de l'acide Δ amino-levulinique $2-3^3\text{H}$ après injection coelomique.

Dans les conditions de nos expériences, nous avons constaté une incorporation rapide du fer et relativement lente de l'acide Δ aminolevulinique. Pour une incubation de 3 h, on obtient un marquage important pour le fer et relativement faible pour l'acide Δ aminolevulinique ; pour ce dernier, une incubation prolongée (18h) nous a donné des résultats satisfaisants.

1) NEPHTHYS

Les résultats obtenus chez cette espèce sont particulièrement nets. Les deux précurseurs utilisés sont incorporés de façon intense dans le tissu accolé aux petits vaisseaux parapodiaux (Pl XIV, fig 3 et 5) aucun autre marquage n'ayant été décelé ailleurs.

2) ARENICOLA

Chez cette espèce, nous avons observé une incorporation de l'acide Δ aminolevulinique dans le tissu chloragène (Pl XIV, fig 4) et l'épiderme. Le fer a été incorporé dans le tissu chloragène (Pl XIV, fig 1 et 2) et les tissus péritoneaux (feuillet coelomique péri-intestinal, disséminatoire et musculaire.)

IV - DISCUSSION

Nos observations montrent que dans chacune des espèces étudiées existe un tissu riche en fer et présentant une activité peroxydasique permettant de le distinguer nettement de toutes les autres structures de l'Annélide. Ce tissu apparaît toujours localisé à la périphérie de vaisseaux de faible calibre (cas des vaisseaux parapodiaux de *Nephtys*, des coecums chloragènes de l'*Arenicole*, des vaisseaux latéraux antérieurs de *Pomatoceros*) mais aussi de vaisseaux de plus gros diamètres comme les vaisseaux longitudinaux dorsal ou ventral (cas de l'*Arénicole* et de la *Sabelle*). Le plus souvent le tissu périvasculaire riche en fer et à activité peroxydasique est localisé dans une certaine région du corps qui peut être étendue (cas de l'*Arénicole* de *Nephtys* de la *Sabelle*) ou réduite (cas de *Pomatoceros*).

La présence de fer à l'intérieur de tissus supposés hématopoiétiques a été soupçonnée par quelques auteurs sur la base d'arguments morphologiques (présence de Ferritine - Breton-Gorius, 1963 ; Roche, 1964 - ou de matériel "Ferritin"- like - Postwald, 1969 ; hématine - Dales et Pell, 1970), mais non vérifiée cytochimiquement.

Par contre, de la coproporphyrine III a été mise en évidence biochimiquement chez un certain nombre d'Annelides Polychètes (Kennedy et Dales, 1958 ; Mangum et Dales, 1965). Là encore, aucune recherche cytochimique des porphyrines n'a été entreprise, mais les auteurs considèrent que la présence de cette substance correspond à une synthèse de pigment respiratoire dans des tissus tels que le corps cardiaque. Dans ce dernier tissu Dales (1965) a d'ailleurs montré l'existence d'hématine par spectrophotométrie. Il apparaît donc que les résultats et observations de ces différents auteurs ne permettent pas d'apporter d'arguments décisifs quant à l'origine tissulaire du pigment respiratoire. Dans le cas des espèces que nous avons étudiés, la présence simultanée de fer et d'une activité peroxydasique dans le tissu périvasculaire de certaines zones du corps permet de penser que ce tissu est impliqué dans le métabolisme du pigment respiratoire.

Toutefois, nos observations ne permettent pas de considérer la présence de fer et l'activité peroxydasique de ces cellules comme étant en relation avec une synthèse de pigment ; en effet, la dégradation de pigment peut aussi se manifester cytochimiquement de la même façon. Il importe donc, dans ces conditions, d'apprécier le métabolisme de ces cellules par l'autoradiographie. Nos résultats bien que encore préliminaires permettent de penser que, au moins pour *Nephtys* et *Arenicola*, le tissu périvasculaire caractérisé cytochimiquement par une richesse en fer et une activité peroxydasique assure la synthèse d'érythrocrurine car il incorpore le fer et l'acide Δ aminolevulinique

intermédiaire de la biosynthèse de ce pigment alors que les autres tissus ne manifestent aucune activité particulière vis à vis de ces substances. Une incorporation de fer (^{59}Fe) a aussi été observée chez une Annélide Polychète par un tissu supposé hématopoiétique (le corps cardiaque) mais le métabolisme des porphyrines n'a pas été étudié par cette méthode (Dales et Pell, 1970). Par contre, l'utilisation simultanée de ces deux précurseurs a permis dans d'autres groupes la localisation de cellules responsables de la synthèse de pigment respiratoire comme celles de la lignée rouge chez *Lineus montagu* (Vernet et Gontcharoff, 1975) et le corps gras de *Chironomus thummi* (Bergstrom et Robinson, 1977).

CHAPITRE IV

ULTRASTRUCTURE DES ZONES
RICHES EN FER ET DAB POSITIVES.

Nous avons constaté que chez chaque espèce étudiée existe un tissu situé autour de certains vaisseaux, particulièrement riches en fer et présentant une forte activité peroxydasique. Une étude autoradiographique basée sur l'incorporation de deux précurseurs de l'hème, le fer et l'acide Δ aminolevulinique et pratiquée sur deux espèces à érythrocrurine dissoute nous a permis de considérer ces zones comme des sites possibles de synthèse de pigment respiratoire. Dans ce chapitre, nous décrirons l'ultrastructure de ces tissus et rapporterons nos observations cytochimiques relatives à la recherche de l'activité peroxydasique de ces tissus à l'échelle du microscope électronique.

I - LE TISSU CHLORAGOGÈNE DE L'ARENICOLA MARINA L

A - OBSERVATIONS

Il est constitué d'une couche de cellules allongées perpendiculairement à l'axe du vaisseau sur lequel elles sont attachées ; caractérisées par un nombre important d'inclusions cytoplasmiques (Pl. XV, fig 1). Celles-ci peuvent être groupées en trois catégories : inclusions très denses, inclusions de densité électronique moyenne et inclusions granuleuses.

1) Inclusions denses (Pl. XV, fig 2 ; Pl. XVI, fig 1).

De densité électronique élevée, ces inclusions, parfois entourées d'une membrane, se présentent comme des sphères de diamètre 1μ environ, dans quelques cas où la densité électronique est moins forte, une structure granuleuse est décelable à l'intérieur de ces inclusions.

2) Inclusions de densité électronique moyenne (Pl. XV, fig. 2 Pl XVI fig. 1).

Moins compactes que les inclusions précédentes, elles présentent des formes plus variées qui résultent vraisemblablement de la pression exercée par les inclusions denses au moment de la fixation ; la plupart ont néanmoins une forme sphérique (diamètre compris entre $1,5 \mu$ et 2μ). A faible grossissement, ces inclusions apparaissent comme étant relativement homogènes. Un examen plus attentif révèle néanmoins une légère différence de densité électronique entre la périphérie (+ claire) et le coeur de l'inclusion ; d'autre part, certaines contiennent des structures denses de $0,4 \mu$ diamètre environ ainsi que de très fines granulations denses situées généralement à la périphérie (Pl. XVI, fig. 1). Aucune membrane limite ces inclusions.

3) Inclusions granuleuses (Pl. XVI, fig. 1)

Il s'agit de formations sphériques non limitées par une membrane dont la densité électronique varie en fonction de la quantité de granules présents à l'intérieur de l'inclusion ; dans certains cas, les granules apparaissent sous la forme de cristaux ; (Pl. XVI, fig. 2) un matériel de densité électronique identique à celles des inclusions denses décrites précédemment se rencontre parfois dans certaines inclusions granuleuses, évoquant une filiation entre ces deux types d'inclusions.

En dehors de ces inclusions, le cytoplasme contient les organites classiques de la cellule, mitochondries, réticulum endoplasmique.

Toutefois, la fixation n'est jamais excellente en dépit des soins apportés à la préparation des liquides fixateurs. On observe aussi de nombreuses plages granulaires plus ou moins denses résultant vraisemblablement de la dispersion d'inclusions granulaires ainsi qu'un système vacuolaire caractérisé essentiellement par l'existence d'une grosse vacuole apicale occupant toute la largeur de la cellule et contenant un matériel granulaire peu abondant dispersé dans toute la vacuole (Pl. XV, fig. 2). L'application de la technique de Graham et Karnovsky sur le tissu chlorogène révèle une activité peroxydasique intense sur les inclusions granulaires. Celles-ci semblent présenter une dureté particulière qui fait vibrer la coupe à leur niveau (Pl. XVI, fig. 3). Cette activité est aussi décelable au niveau des inclusions denses mais apparaît moins nettement en raison de la densité même de ce type d'inclusion. Nous n'avons pas observé de réaction à l'intérieur du réticulum endoplasmique et des dictyosomes.

B) DISCUSSION

La présence d'hémoglobine à l'intérieur des cellules chlorogènes a déjà été démontrée au microscope photonique par la coloration au Cyanol, l'examen des coupes dans la longueur d'onde 414 nm (bande de Soret) et au microscope électronique grâce à la forme caractéristique de la molécule (Breton - Gorius 1963). Nous avons pu confirmer cette observation par la technique de Graham et Karnovsky qui révèle une activité peroxydasique à la fois sur les inclusions denses (chlorosomes de Breton-Gorius 1963) et les inclusions granulaires ; si ces dernières représentent sous conteste de l'hémoglobine, il est plus difficile cependant d'interpréter l'activité peroxydasique sur les inclusions denses.

Selon Romieu (1923), les chloragosomes seraient des concrétions puriques à noyau d'urate acide de sodium, entourés d'une écorce lipoïde chargée d'une peroxydase. Breton-Gorius (1963) a observé comme nous-même une relation morphologique entre les chloragosomes et les inclusions granulaires (existence de matériel dense à l'intérieur d'une inclusion granulaire - aspect granulaire de certaines inclusions denses) sans pour autant pouvoir affirmer l'existence d'une relation entre ces deux structures ; la présence d'une activité peroxydasique dans les inclusions denses pourrait constituer un argument supplémentaire en faveur d'une parenté entre ces deux structures.

II - TISSU PERIVASCULAIRE LATERAL DE *Nephtys hombergii* AUD. ET EDW.

A) OBSERVATIONS

Les cellules périvasculaires de *Nephtys* sont caractérisées par un polymorphisme important et la présence dans le cytoplasme de nombreuses inclusions (Pl. XVII, fig. 1). Leur noyau présente souvent la particularité de posséder un ou parfois deux agglomérats sphériques (jusqu'à 2μ de diamètre) constitués par des particules de $0,03\mu$ de diamètre environ (Pl XVII, Fig 2). Outre les inclusions, le cytoplasme possède le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi particulièrement bien développés (Pl. XVIII fig. 1 et 2), le glycogène est très abondant (Pl XVIII, fig. 2). Les inclusions cytoplasmiques sont de plusieurs types (Pl XVII, fig. 2).

1) Inclusions denses

Ce sont les plus nombreuses. Souvent sphériques (diamètre $0,5$ à 2μ) elles présentent un contenu granuleux de densité électronique élevée relativement homogène et réagissant positivement à la technique de Graham et Karnovsky (Pl. XVIII, fig. 4)

Ces inclusions voisinant avec des formations de même structure mais dont la densité électronique est moins élevée.

2) Inclusions à contenu hétérogène

Ces inclusions rappellent des cytolysomes ; de même taille que les précédentes, elles contiennent différents types de structures membranaires et de petits agglomérats présentant une activité pseudo-péroxydasique importante (Pl. XVIII, Fig. 4).

3) Inclusion à faible densité électronique

Celles-ci, relativement rares sont reconnaissables à leur forme irrégulière plus ou moins étoilée ; elles sont, contrairement aux précédentes, dépourvues de membrane limitante (Pl. XVII, fig. 2).

Il existe aussi de petites inclusions sphériques (0,2 μ de diamètre environ) à contenu dense placées à proximité des dictyosomes (Pl. XVIII, fig. 1) ; celles-ci, correspondant vraisemblablement à des vésicules golgiennes réagissent aussi positivement à la technique de Graham et Karnovsky (Pl XVIII, fig. 3).

B) DISCUSSION

Les cellules périvasculaires de la région parapodiale des *Nephtys* se présentent comme des cellules présentant une activité synthétique élevée, eu égard à leur richesse en ergastoplasme et en dictyosomes. L'activité de ces derniers semblent se traduire par la production d'un nombre important de vésicules golgiennes caractérisées par un contenu dense et DAB positif.

Toutefois, la filiation entre ces vésicules et les grosses inclusions denses reste hypothétique. D'autre part, le problème de la destinée de ces formations et notamment de leur rôle dans l'érythropoïèse reste posé d'autant que certaines inclusions présentent un aspect cytolosomal (inclusion à contenu hétérogène).

III - TISSU PERIVASCULAIRE VENTRAL ET LATERAL DE *SABELLA PAVONINA* L.

A) OBSERVATIONS

Comme chez l'Arénicole et *Nephtys*, le tissu périvasculaire riche en fer et DAB positif est caractérisé par l'abondance d'inclusions (Pl. XIX, fig. 1) que l'on peut grouper en deux catégories en fonction de leur densité électronique.

1) - Inclusions denses

Ces inclusions d'aspect granuleux sont parfois entourées par un matériel moins dense et d'aspect floconneux ; un matériel finement granuleux existe dans certains cas autour des inclusions denses. Souvent sphérique (diamètre compris entre $0,4 \mu$ et 1μ), elles peuvent néanmoins présenter des contours angulaires (Pl XIX, Fig. 2).

2) - Inclusions de densité électronique moyenne

Ces inclusions généralement sphériques (diamètre compris entre $0,6 \mu$ et $1,8 \mu$) se caractérisent dans certains cas par la présence de formes para-cristallines (Pl. XIX, fig. 3 ; Pl. XX, fig.1) ; celles-ci peuvent occuper l'ensemble de l'inclusion ou affecter une partie seulement de celle-ci notamment sur sa périphérie.

Ces deux types d'inclusions réagissent positivement à la technique de Graham et Karnovsky (Pl. XX, fig. 2) . Cette technique révèle aussi les limites cellulaires.

Les cellules du tissu périvasculaire se caractérisent aussi par leur richesse en ribosomes libres ; L'ergastoplasme est représenté par quelques tubules situés à la périphérie de la cellule, l'appareil de Golgi très peu développé, voire absent. Le cytoplasme contient un certain nombre de vacuoles dont certaines contiennent un matériel analogue à celui constituant les inclusions denses ; d'autres riches en vésicules et systèmes membranaires évoquent des cytolysomes.

B) DISCUSSION

Le tissu périvasculaire ventral et latéral de *Sabella* se caractérise comme celui des espèces à érythrocrurine par la présence d'inclusions plus ou moins denses. De telles inclusions ont aussi été décrites chez deux autres espèces possédant de la chlorocrurine *Myxicola infundibulum* (Dales et Pell, 1970) et *Spirorbis vitreus* (Potswald, 1969) ; elles sont considérées comme de l'hématine (Dales et Pell, 1970) ou du matériel "Ferritin-like" (Potswald, 1969). Dans le cas de *Sabella* , il est vraisemblable que les inclusions moyennement denses représentent de la chlorocrurine comme en témoigne l'aspect para-cristallin de leur contenu. Toutefois, le contenu des inclusions denses est plus difficile à interpréter ; il est vraisemblable que sa nature est proche de celui des inclusions moyennement dense en raison de son caractère DAB positif ; cependant l'aspect ultrastructural suggère qu'il correspond à un état intermédiaire du métabolisme du pigment sans que l'on puisse pour autant préciser s'il s'agit de synthèse ou de dégradation.

IV - TISSU PERIVASCULAIRE DE *Pomatoceros triqueter* L.

A) OBSERVATIONS

L'identification au microscope électronique des cellules périvasculaires de *Pomatoceros* ne présente pas de difficulté. Ce tissu se caractérise notamment par le développement considérable du réticulum endoplasmique granulaire, le caractère granuleux du cytoplasme, la présence de nombreuses inclusions denses et d'évagination du vaisseau sanguin qu'elles bordent. Les cellules constituant ce tissu forment un tissu relativement lâche dont une faible surface seulement est en contact avec le vaisseau. (Pl. XXI, fig. 1)

1) Organites cytoplasmiques



La presque totalité de la cellule est occupée par le réticulum endoplasmique granulaire. Celui-ci est constitué par un ensemble de tubules et de vésicules correspondant vraisemblablement à des sections de tubules (Pl. XXI, fig. 2. Le plus souvent, les tubules se présentent sous la forme d'empilements concentriques. La lumière du réticulum est occupée par un matériel très ténu d'aspect filamenteux. (Pl. XXI, fig. 3). L'appareil de Golgi n'apparaît pas particulièrement développé ; ses vésicules contiennent un matériel granulaire évoquant le pigment respiratoire (Pl XXII, Fig. 1).

2) Inclusions cytoplasmiques

Cinq types d'inclusions se rencontrent dans le cytoplasme.

- Inclusions de densité électronique élevée.

Ces inclusions, d'aspect compact, présentent un contour irrégulier et apparaissent constituées d'un agglomérat d'inclusions plus petites, elles mêmes formées de granules grossières (Pl. XXI, fig. 2).

- Inclusions finement granuleuses

Celles-ci peu abondantes sont formées de granulations très petites se détachant nettement sur un fond clair ; elles sont dépourvues de membranes limitantes (Pl XXI, Fig. 3)

- Inclusions circulaires

De densité électronique moyenne, elles se caractérisent par leur forme circulaire bien définie, et la présence de plages claires à l'intérieur ; dans certains cas, elles contiennent des structures denses (Pl XXII Fig. 2).

- Formations myéliniques

Ces formations cotoient les inclusions denses décrites ci-dessus et semblent dans certains cas, faire partie de ces inclusions (Pl. XXI, fig. 2)

- Lacunes sanguines

Elles apparaissent à première vue comme des vacuoles cytoplasmiques remplies de chlorocrucorine. Un examen attentif montre cependant qu'elles sont bordées comme les vaisseaux sanguins par une lame basale ; il s'agit donc très vraisemblablement d'évaginations du vaisseau sanguin isolées de celui-ci par le plan de coupe (Pl XXII, fig. 3)

Toutes ces inclusions (exception faite des formations myéliniques) réagissent positivement à la technique de Graham et Karnovsky. (Pl. XXII, fig. 4)

B) DISCUSSION

Le tissu périvasculaire de *Pomatoceros* présente une activité synthétique élevée attestée par le développement considérable de l'ergastoplasme. Toutefois l'appareil de Golgi apparaît peu important. Potswald (1969) a aussi observé, dans les cellules périvasculaires de *Spirorbis*, un important reticulum endoplasmique granulaire dont la lumière contient soit un matériel floconneux analogue à celui que nous avons décelé chez *Pomatoceros*, soit des particules considérées comme étant de la chlorocruorine. Selon cet auteur, la chlorocruorine serait synthétisée par l'ergastoplasme sans intervention de l'appareil de Golgi et acheminée *via* ce dernier à l'intérieur de vésicules jusque dans la lumière du vaisseau. Nous avons aussi observé des vésicules contenant de la chlorocruorine, mais dans notre cas, la plupart d'entre elles au moins correspondent à des évaginations du vaisseau qui pénètre à l'intérieur de la cellule, et ne correspondent donc pas à une forme de transport du pigment synthétisé. Chez *Spirorbis* Potswald a aussi décrit des inclusions denses et des cytolysomes à l'intérieur des cellules périvasculaires ; selon cet auteur les inclusions denses correspondraient aux chloragosomes de l'Arénicole et constitueraient des réserves de fer nécessaire à la synthèse du pigment.

V - DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE

L'étude au microscope électronique des tissus périvasculaires riches en fer et DAB positifs révèle un certain nombre de points communs qui semblent devoir être en relation avec le métabolisme des pigments respiratoires.

Tous ces tissus se caractérisent en particulier par la présence dans leur cytoplasme d'inclusions de densité électronique plus ou moins élevée et le plus souvent d'aspect granulaire ; ces inclusions denses cotoient généralement des structures de type lysosomal. Le cytoplasme contient dans la plupart des cas des organites tels que ergastoplasme et appareil de Golgi en relation avec les activités de synthèse de la cellule, mais dont le développement est plus ou moins important : développement considérable chez *Pomatoceros*, faible chez *Arenicola*. L'ensemble de ces observations ne peut être interprété qu'avec prudence tant qu'une étude autoradiographique de l'incorporation des précurseurs des pigments n'aura pas été effectuée. Il est vraisemblable que ces cellules puissent être considérées comme hématoïétiques, mais leur métabolisme reste à préciser. En particulier, il importe de déterminer la signification des inclusions denses caractéristiques de ces cellules ; deux hypothèses peuvent être avancées : ou bien ces formations représentent une forme de stockage de produits nécessaires à la synthèse du pigment ou encore résultent des produits de destruction ; le tissu périvasculaire aurait, dans ces conditions une double fonction : synthèse et destruction du pigment, impliquant le recyclage permanent de ce dernier.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les pigments porphyriniques d'Annélides polychètes (érythrocrurine et chlorocrurine) possèdent une activité pseudopéroxydase qui a pu être mise à profit pour caractériser les cellules transportant (coelomocytes) ou synthétisant ces pigments. Il s'agit de cellules présentant un certain nombre de points communs en relation avec leur métabolisme particulier. Elles sont en particulier riche en fer et contiennent des inclusions denses et des formations membranaires évoquant des cytolosomes. Il importera toutefois de rechercher l'activité lysosomiale à la fois des hématies et des cellules responsables de la synthèse du pigment pour apprécier la signification de ces formations compte tenu de la spécialisation de ces deux types de cellules. Il est vraisemblable que dans les hématies, les formations de type cytolysosomal soient en rapport avec l'agonie cellulaire comme en témoignent certains aspects hémolytiques de cellules sanguines. Dans les tissus supposés hématopoïétiques, l'interprétation est plus délicate en l'absence de données cytochimiques et autoradiographiques appropriées ; Il est possible que ces formations soient aussi de type lysosomal, la présence de cytolosome n'étant pas incompatible avec une activité synthétique (Napolitano, 1963). Il est vraisemblable aussi qu'elles interviennent dans la synthèse du pigment et constitueraient alors des réserves de substances destinées à être utilisées dans l'édification de la molécule de pigment. Il conviendra donc d'établir les relations existant entre ces inclusions et les organites assurant la synthèse du pigment ; seule l'autoradiographie à haute résolution permettra d'apporter un élément de réponse à ce problème.

BIBLIOGRAPHIE

=°=°=°=°=°=°=°=°=°=°=°=°=

BIBLIOGRAPHIE

- BENHAM W.B., 1897 - The blood of Magelona. Quart. J. Microscop. sc., 39, 1-19.
- BERGSTROM G. et ROBINSON J.M., 1977 - Ultrastructural localization of the site of hemoglobin synthesis in Chironomus thummi (Diptera). J. Ultrastruct. Res., 60, 395-405.
- BESSIS M., 1972 - Cellules du sang normal et pathologique. Masson et Cie ed., 815 p.
- BOILLY B., 1974 - Ultrastructure des hématies anucléées de Magelona papillicornis F. Müller (Annelide polychète). J. Microscopie, 19, 47-58.
- BOILLY B. et GALLE P., 1973 - Détection de fer dans les hématies anucléées de Magelona papillicornis F. Müller par cytochimie et microanalyse par sonde électronique. C.R.Acad. Sc., Paris, 277, 2513-2515.
- BRETON-GORIUS J., 1963 - Etude au microscope électronique des cellules chlorogènes d'Arenicola marina L. Leur rôle dans la synthèse de l'hémoglobine. Ann. Sc. Nat. Zool., 5, 211-271.
- BRETON-GORIUS J., 1974 - Mise en évidence des activités peroxydasiques endogènes des cellules animales. J. Microscopie, 21, 275-282.
- COWDEN R.R., 1966 - A cytochemical study of nucleated, hemoglobin-containing erythrocytes of Glycera americana. Trans. Amer. micr. Soc., 85, 45-53.
- DALES R.P., 1964 - The coelomocytes of the terebellid polychaete, Amphitrite johnstoni. Quart. J. Micr. Sci., 41, 263-279.
- DALES R.P., 1965 - Iron compounds in the heart-body of the Terebellid polychaete Neoamphitrite figulus. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 45, 341-351.
- DALES R.P., 1967 - "Annelids" Hutchinson University Library 200 p.

- DALES R.P. et PELL J.S., 1970 - Cytological aspects of Haemoglobin and chlorocruorin synthesis in polychaete annelids. *Z. Zellforsch.*, 109, 20-32.
- DAVIES H.G., 1961 - Structure in nucleated erythrocytes. *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, 9, 671-687.
- DHAINAUT A., 1969 - Etude ultrastructurale des cellules sanguines de Nereis diversicolor O.F. Müller (Annelide polychete). *C.R.Acad. Sc. Paris*, 268, 711-712.
- ECONOMIDES A.P. and WELLS R.M., 1975 - The respiratory fonction of the blood of Neanthes (= Nereis) virens (Sars) (Polychaeta : Nereidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, 51 A, 219-223.
- FONTAINE A.R. et LAMBERT P., 1973 - The fine structure of the haemocyte of the holothurian, Cucumaria niniata (Brandt). *Can. J. Zool.*, 51, 323-332.
- FOX H.M., 1949 - On chlorocruorin and haemoglobin. *Proc. Roy. Soc., B* 196, p. 378.
- FLORKIN M., 1969 - Respiratory proteins and oxygen transport. *Chem. Zool.*, 4, 111-134.
- GARLICK R.L. and TERWILLIGER R.C., 1974 - Coelomic cell hemoglobin of the Terebellid polychaete, Thelepus crispus Johnson. Structure and oxygen equilibrium. *Comp. Biochem. Physiol.*, 47 B, 543-553.
- GRAHAM R.C. and KARNOVSKY M.J., 1966 - The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase into the proximal tubules of mouse kidney : ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.*, 14, 291-302.
- HOFFMANN R.J. and MANGUM C.P., 1970 - The function of coelomic cell hemoglobin in the polychaete Glycera dibranchiata. *Comp. Biochem. Physiol.*, 36, 211-228.
- JONES J.D., 1955 - Observations on the respiratory physiology and the haemoglobin of the polychaete Genus Nephtys, with special reference to N. Hombergii (Aud et M. Edw). *J. Exp. Biol.*, 32, 110-125.

- KEILIN F.R.S. and HARTREE E.F., 1951 - Relationship between haemoglobin and erythrocrucorine. *Nature*, 18, 266-269.
- KENNEDY G.Y. et DALES R.P., 1958 - The function of the heart-body in polychaetes. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 37, 15-31.
- LANKESTER R., 1868 - Abstract of a report on the spectroscopic examination of certain animal substances. *J. Anat. and Phys.*, 2e série, t. 111.
- LANKESTER R., 1873 - A contribution to the knowledge of haemoglobin. *Proc. Roy. Soc., B*, 21, 71.
- LINDNER E., 1965 - Ferritin und Hämoglobin im chloragog von Lumbriciden (Oligochaeta). *Z. Zellforsch.*, 66, 891-913.
- MACHIN J. et DONNELL M.J.O., 1977 - Volume regulation in the coelomocytes of the blood worm *Glycera dibranchiata*. *J. Comp. Physiol.*, 117, 303-311.
- MANGUM C.P. et CARMART A.J., 1972 - Oxygen equilibrium of coelomic cell hemoglobin from the bloodworm *Glycera dibranchiata*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 43 A, 949-957.
- MANGUM C.P. et DALES R.P., 1965 - Products of haem synthesis in polychaetes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 15, 237-257.
- MANGUM C.P., WOODIN B.R., BONAVENTURA C., SULLIVAN B. and BONAVENTURA J., 1975 - The role of coelomic and vascular hemoglobin in the annelid family terebellidae. *Comp. Biochem. Physiol.*, 51 A, 281-294.
- MANWELL C., 1960 (a) - Comparative physiology : blood pigments. *Annu. Rev. Physiol.*, 22, 191-244.
- MANWELL C., 1960 (b) - Histological specificity of respiratory pigments. I. Comparisons of the coelom and muscle hemoglobins of the polychaete worm *Travisia pupa* and theechiuroid worm, *Arhynchite pugettensis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1, 267-276.
- MILNE-EDWARDS, 1857 - *Physiologie et anatomie comparées*. Paris, t. 1.

- NAPOLITANO L.M., 1963 - Cytolysomes in metabolically active cells. J. Cell. Biol., 18, 478-481.
- POTSWALD H.E., 1969 - Cytological observations on the so-called neoblasts in the serpulid Spirorbis. J. Morph., 128, 241-260.
- RAPHAEL B., 1939 - Localisation, formation et destruction de l'hémoglobine chez les annélides polychètes. Ann. inst. Océan, 19, 1-78.
- ROCHE J., 1964 - Etude au microscope électronique des hémoglobines de poids moléculaire élevé (érythrocrurines) et des chlorocrurines. Anal. Univ. Bucarest 13, 9-34.
- ROCHE J., BESSIS M., BRETON-GORIUS J., STRALIN H., 1961 (a) - Molécules d'hémoglobine et de ferritine dans les cellules chloragènes d'Arenicola marina L. C.R.Soc. Biol., 155, 1790.
- ROCHE J., BESSIS M., BRETON-GORIUS J., STRALIN H., 1961 (b) - Mise en évidence de molécules d'hémoglobine et de ferritine dans certaines cellules d'Arenicola marina L. C.R. Acad. Sci., 252, p. 3886.
- ROCHE J., BESSIS M. et THIERY J.P., 1960 (a) - Etude au microscope électronique d'hémoglobines et de chlorocrurines d'annélides. C.R.Soc. Biol., Paris, 154, p. 949.
- ROCHE J., BESSIS M. et THIERY J.P., 1960 (b) - Etude de l'hémoglobine d'Arenicola marina L. au microscope électronique. C.R.Soc. Biol., Paris, 154, p. 73.
- ROCHE J., BESSIS M. et THIERY J.P., 1960 (c) - Etude de l'hémoglobine plasmatique de quelques annélides au microscope électronique. Biochim. Biophys. Acta, 41, p. 182.
- SEAMONDS B. et SCHUMACHER H.R. Jr., 1972 - Fine structure of erythrocytes of the common bloodworm Glycera dibranchiata. Cytologia, 37, 359-363.
- STANG-VOSS C., 1970 - Zur Ultrastruktur der Blutzellen wirbelloser tiere. II. Uber die Blutzellen von Golfingia gouldi (Sipunculidae). Z. Zellforsch., 106, 200-208.

- SVEDBERG T. et ERIKSSON I.B., 1933 - The molecular weight of erythrocrucorin.
J. Amer. Chem. Soc., 55, p. 2834.
- TERWILLIGER R.C., GARLICK R.L. and TERWILLIGER N.B., 1976^a - Hemoglobins of Glycera robusta : structure of coelomic cell hemoglobin and body wall myoglobin. Comp. Biochem. Physiol., 54 B, 149-153.
- TERWILLIGER R.C. and KOPPENHEFFEY T.L., 1973 - Coelomic cell hemoglobins of the polychaete annelid, Pista pacifica Berkeley. Comp. Biochem. Physiol., 45 B, 557-566.
- TERWILLIGER R.C., TERWILLIGER N.B. et ROXBY R., 1975 - Quaternary structure of Pista pacifica vascular hemoglobin. Comp. Biochem. Physiol., 50 B, 225-232.
- TERWILLIGER R.C., TERWILLIGER N.B. and SCHABTACH E., 1976 (b) - Comparison of chlorocruorin and annelid hemoglobin quaternary structures. Comp. Biochem. Physiol., 55 A, 51-55.
- TERWILLIGER R.C., TERWILLIGER N.B., SCHABTACH H.E. and DANGOTT L., 1977 - Erythrocrucorins of Euzonus mucronata Treadwell : evidence for a dimeric Annelid extracellular hemoglobin. Comp. Biochem. Physiol., 57 A, 143-149.
- TOOZE J. and DAVIES H.G., 1963 - The occurrence and possible significance of haemoglobin in the chromosomal regions of mature erythrocyte nuclei of the newt Triturus cristatus cristatus. J. Bio. Cell., 16, 501-511.
- VANBRUGGEN E.F.J. and WEBER R.E., 1974 - Erythrocrucorin with anomalous quaternary structure from the polychaete Oenone fulgida. Biochem. Biophys. Acta, 359, 210-214.
- VERNET G. et GONTCHAROFF M., 1975 - Etude autoradiographique de l'incorporation de l'acide deltaaminolévulinique ³H et du ⁵⁵ Fe dans les éléments figurés du sang de Lineus lacteus Montagu (Hétéronémertes). C.R.Acad. Sci. Paris, 280, 1413-1415.
- VINOGRADOV S.N., MACHLIK C.A. and CHAO L.L., 1970 - The intracellular hemoglobins of a polychaete, some properties of the hemoglobin of Glycera dibranchiata. J. Biol. Chem., 245, 6533-6538.

- WAXMAN L., 1971 - The hemoglobin of Arenicola cristata. J. Biol. Chem., 246, 7318-7327.
- WAXMAN L., 1975 - Structure of annelid and mollusc hemoglobins. J. Biol. Chem., 250, 3790-3795.
- WEBER R.E., 1973 - Functional and molecular properties of corpuscular haemoglobin from the bloodworm Glycera gigantea. Neth. J. Sea, Res. 7, 316-327.
- WEBER R.E. et HEIDEMANN W., 1977 - The coelomic haemoglobin from the bloodworm Glycera rouxii molecular and oxygenation properties. Comp. Biochem. Physiol., 57 A, 151-155.
- WEBER R.E., MANGUM C., STEINMAN H., BONAVENTURA C., SULLIVAN B., and BONAVENTURA J., 1977 - Hemoglobins of two terebellid polychaetes : Enoplobranchus sanguineus and Amphitrite ornata. Comp. Biochem. Physiol., 56 A, 179-187.
- WELLS R.M.G. et WARREN L.M., 1975 - The function of the cellular haemoglobins in Capitella capitata (Fabricius) and Notomastus latericeus Sars (Capitellidae : polychaeta). Comp. Biochem. Physiol., 51 A, 737-740.
- ZENTGRAF H., LAUBE-BOICHUT E., FRANKE W.W., 1972 - On the presence of hemoglobin in the avian erythrocyte nucleus. Cytobiol., 6, 51-57.

PLANCHE I

Erythrocytes de *Notomastus Latericeus* Sars : examen *in vivo*

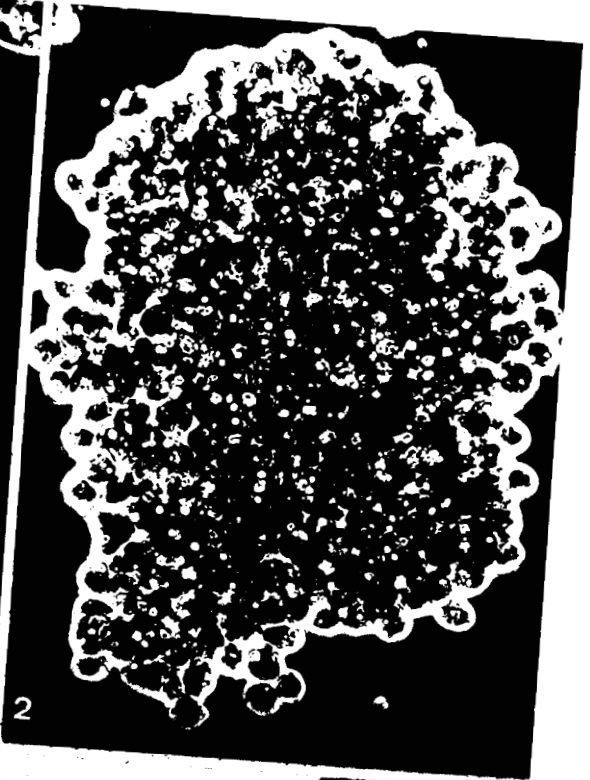
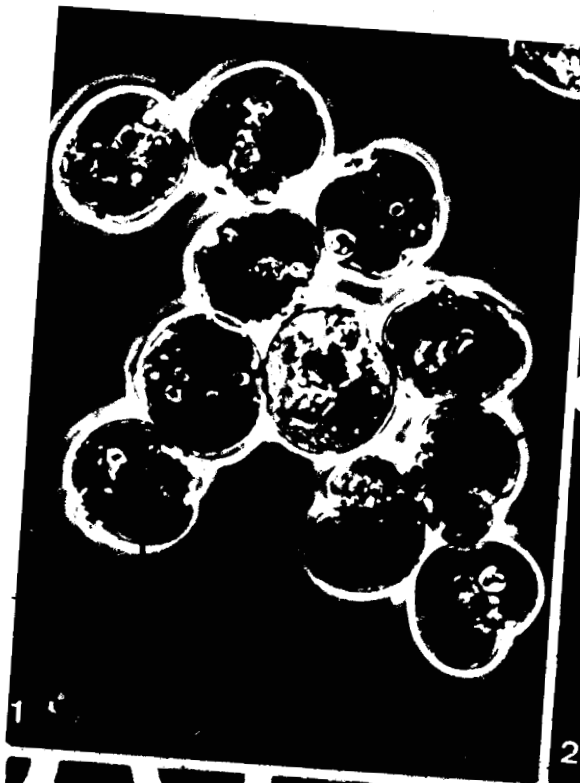
Fig. 1 : Petit groupe d'érythrocytes tendant à se séparer l'une de l'autre.
Noter la déformation plus ou moins importante de certaines d'entre
elles et la présence de nombreuses vacuoles pourvues ou non de
grains denses isolés ou groupés ; Flèche : noyau

Fig. 2 : Agglomérat d'érythrocytes observé à l'extérieur du corps

Frottis coloré au May Grunwald et Giemsa

Fig. 3 : Remarquer la diversité de la forme de l'érythrocyte, la présence
de 2 noyaux dans certaines cellules (Flèche), l'état groupé des
inclusions cytoplasmiques de la majorité des cellules.

Fig. 4 : Remarquer l'aspect cristallin de certaines inclusions et la pré-
sence de petites granules sphériques basophiles (astérisques).



5μ
SIS
LILLE

PLANCHE II

Erythrocyte de *Notomastus Latericeus* Sars : Microscope électronique

Erythrocyte, vue générale : Noter l'aspect granuleux du noyau et du cytoplasme, la présence des vacuoles à contenu opaque aux électrons, l'aspect plissé de la membrane cellulaire.





31'S
LILLE

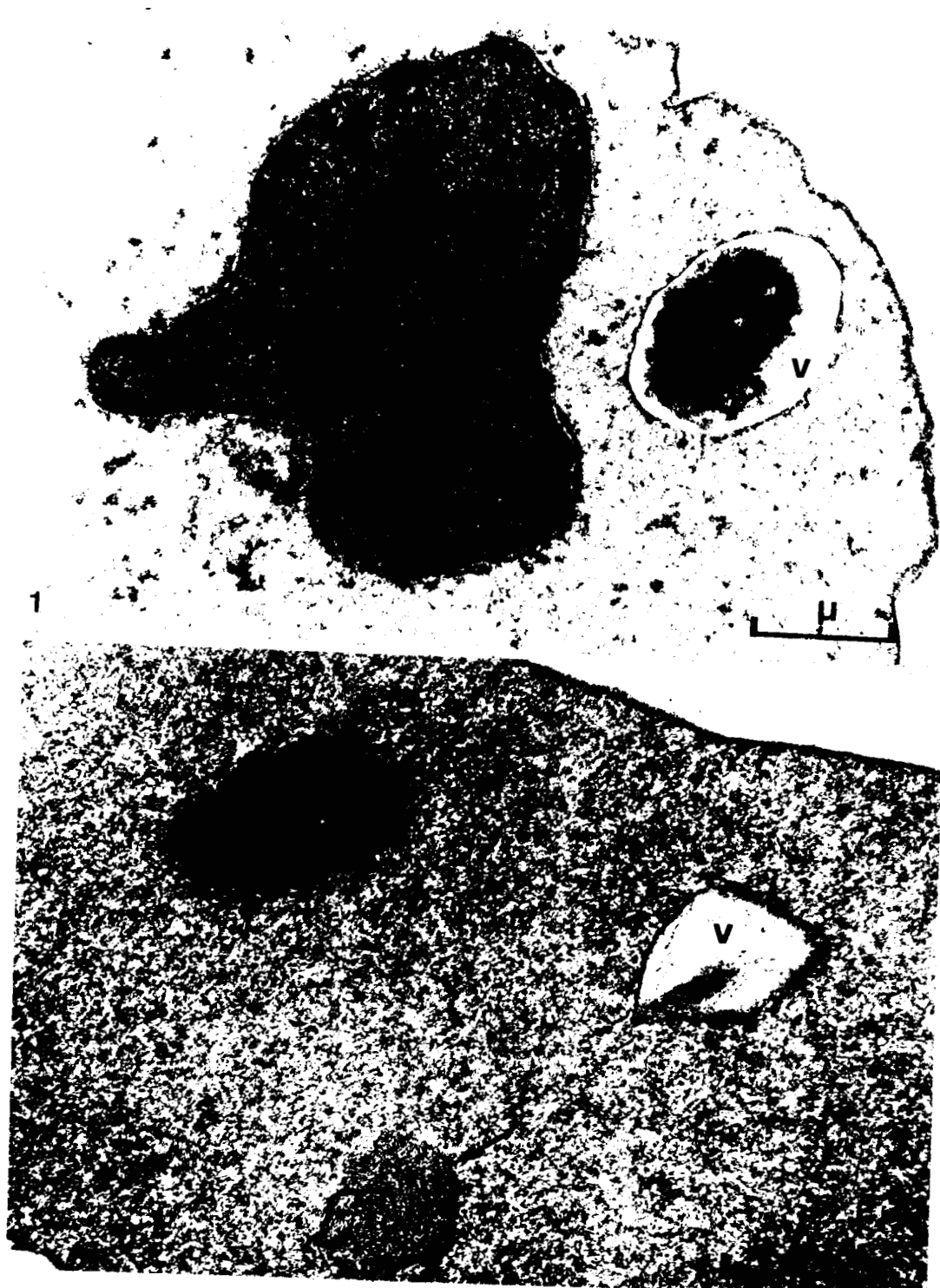
PLANCHE III

Erythrocyte de *Notomastus Latericeus* Sars : microscopie électronique

Fig. 1 : Détail du noyau : Le nucléole est présent, les 2 feuilletts de l'enveloppe nucléaire bien visibles, le nucléoplasme dense. Comparer la densité du cytoplasme avec celui de la fig. 2 v. vacuole.

Fig 2 : Agglomerats granulaires libres dans le cytoplasme (flèche). Noter la densité cytoplasmique. v. vacuoles.





1

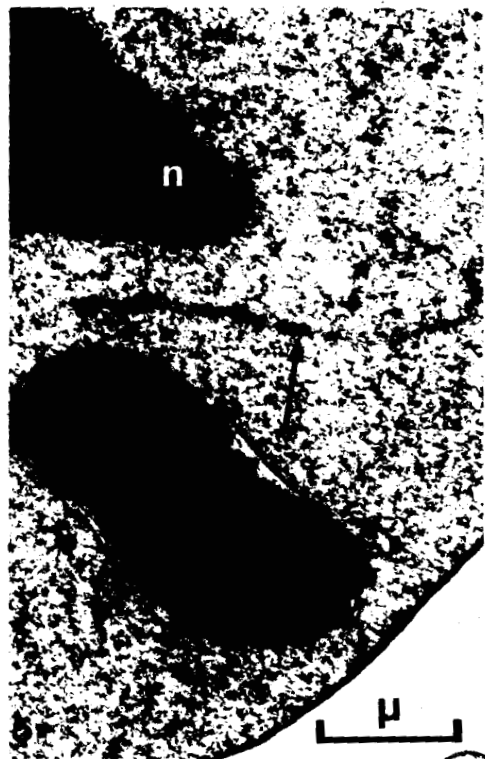
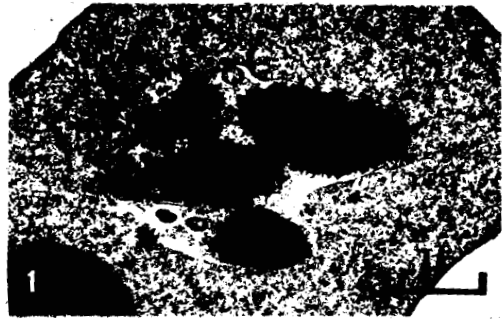
BUS
LILLE

PLANCHE IV

Erythrocytes de *Notomastus Latericeus* Sars : microscopie électronique

- Fig. 1 : Amas de concrétions granulaires intravacuolaires ; remarquer les zones de rupture de sa membrane vacuolaire (astérisque), la présence de vésicules intravacuolaires.
- Fig. 2 : Détail de concrétions vacuolaires. Même légende que la fig. 1
- Fig. 3 : Vacuole à membrane partiellement rompue : remarquer à côté des formations granulaires et vésiculaires, la présence des membranes non fermées dont les bords s'enroulent sur eux-mêmes. Noter la présence d'une formation évoquant le réticulum endoplasmique (flèche).
- Fig. 4 : Détail de vacuoles à contenu fibrillaire et membranaire (flèche)
n : noyau
- Fig. 5 : Formation membranaire évoquant le réticulum endoplasmique (flèche) ; à côté une vacuole à contenu granulaire n : noyau





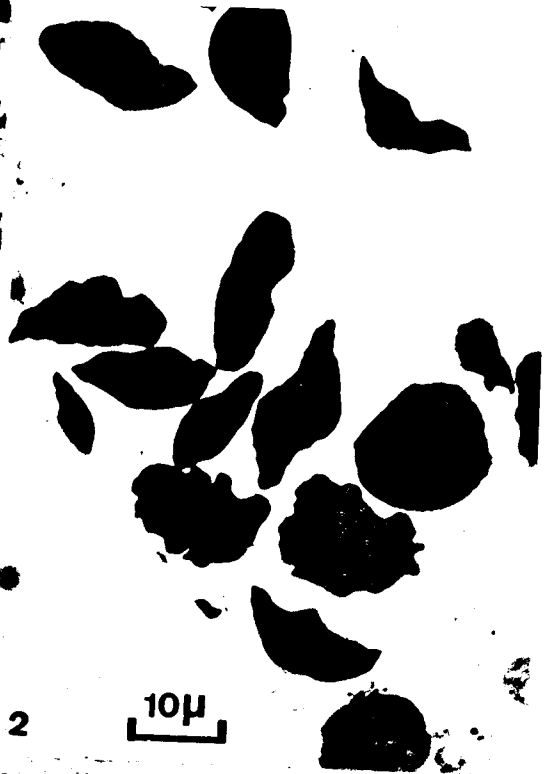
BI'S
LILLIE

PLANCHE V

Erythrocytes de *Notomastus Latericeus* Sars : Etude cytochimique

- Fig. 1 : microscope PHOTONIQUE : Réaction de Perls, sans coloration de fond : de nombreux granules analogues à ceux observés sur frottis réagissent positivement à la réaction de Perls.
- Fig. 2 : microscope PHOTONIQUE : réaction pseudopéroxydasique (coupe semi-fine non colorée) ; l'intensité de la réaction pseudopéroxydasique varie d'une cellule à l'autre ; le noyau et le cytoplasme réagissent positivement au DAB.
- Fig. 3 : microscope électronique : réaction pseudo-péroxydasique l'intensité de la réaction pseudo-péroxydasique du cytoplasme est égale à celle du noyau (n) ; les agglomérats granulaires (flèches) présentent la même densité électronique que sur les échantillons témoins (fig 4).
- Fig. 4 : Microscopie Electronique : Témoin sans DAB, non coloré (voir légende fig 3).





RIS
LILLE

PLANCHE VI

Erythrocytes de *Notomastus latericeus* Sars : Etude cytochimique

Fig. 1 : microscope électronique : réaction pseudo-péroxidasique :
le cytoplasme présente une réaction pseudo-péroxidasique
plus faible que le noyau
L'ovocyte (flèche) ne réagit pas.

Fig. 2 : Détail d'un érythrocyte : même légende que fig. 1 ; le
nucléole est visible (flèche).



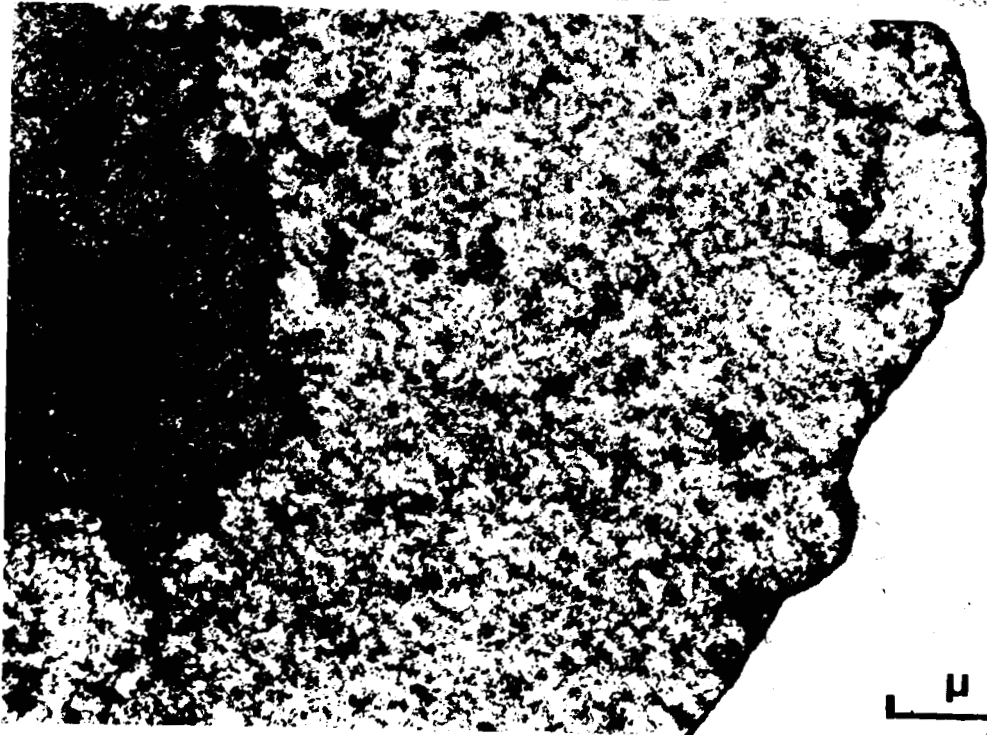


PLANCHE VII

Erythrocyte du *Glycera convoluta* K. : microscopie photonique

Frottis coloré au May - Grunwald et Giemsa

Fig. 1 : Erythrocyte à noyau dense (flèche)

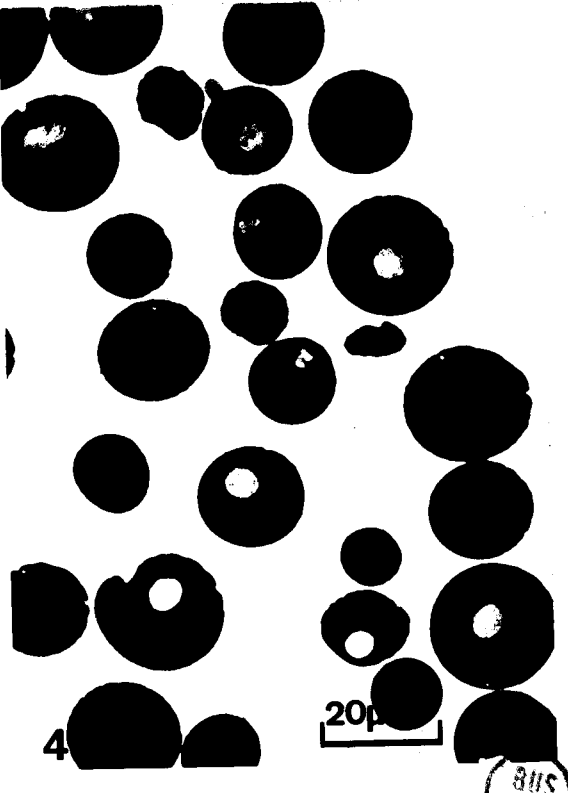
Fig. 2 : Erythrocyte à trois noyaux (flèche)

Etude cytochimique

Fig. 3 : Réaction de Perls ; les flèches indiquent les granules réagissant positivement à la réaction de Perls.

Fig. 4 : Réaction pseudo-péroxydasique (coupe semi-fine non colorée).
Le noyau ne présente pas d'activité ; l'activité du cytoplasme est très élevée.





BUS
LILLE

PLANCHE VIII

Erythrocyte de *Glycera convoluta* K. :Microscopie Electronique

Vue générale d'un érythrocyte. Noter le caractère compact du contenu cytoplasmique, la présence de petites vacuoles corticales (flèches).

Le noyau (n) est très hétérochromatique.

La membrane est rompue en certains endroits, laissant échapper dans le milieu ambiant, du cytoplasme et parfois certains corps denses (astérisque).



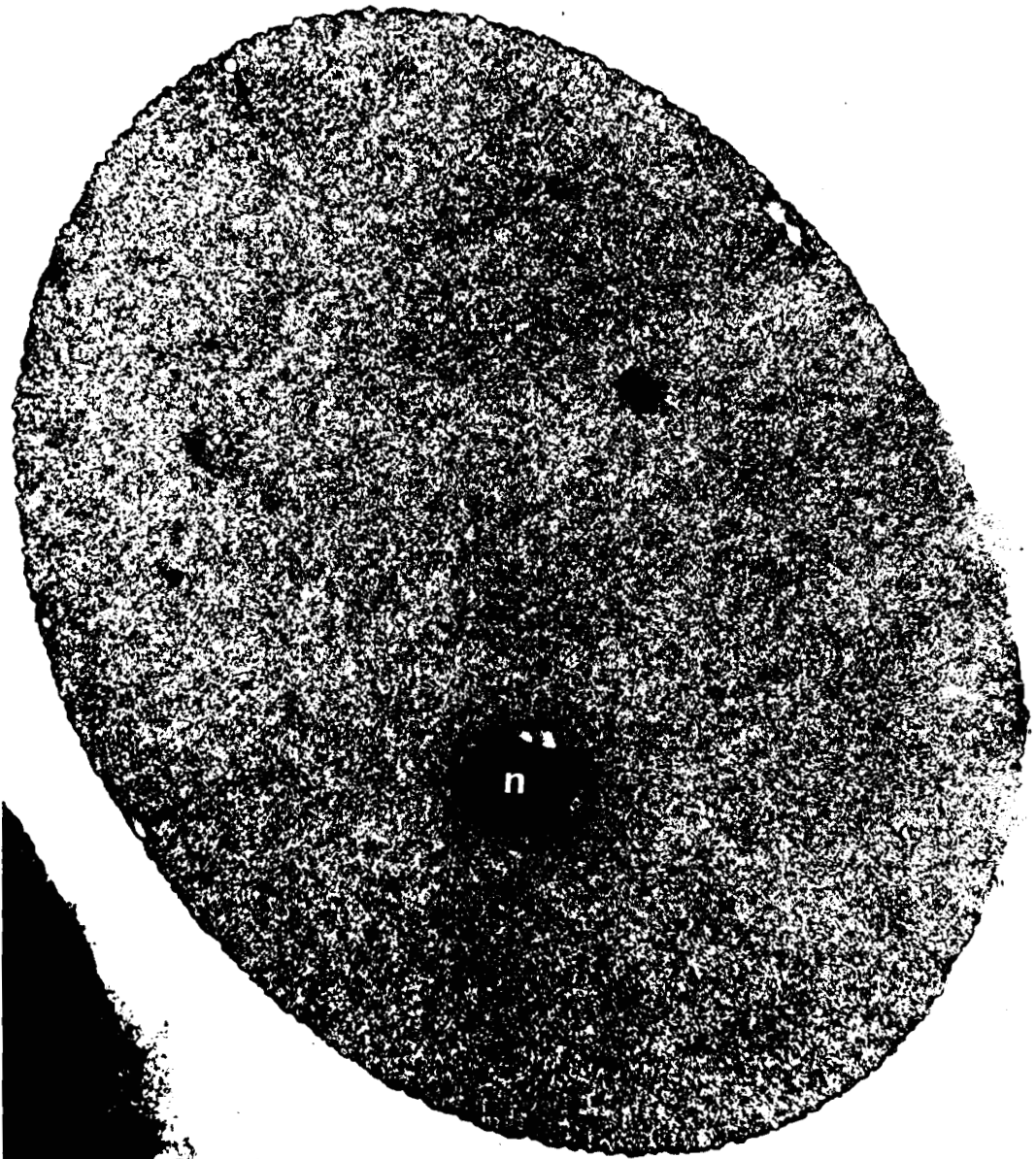


PLANCHE IX

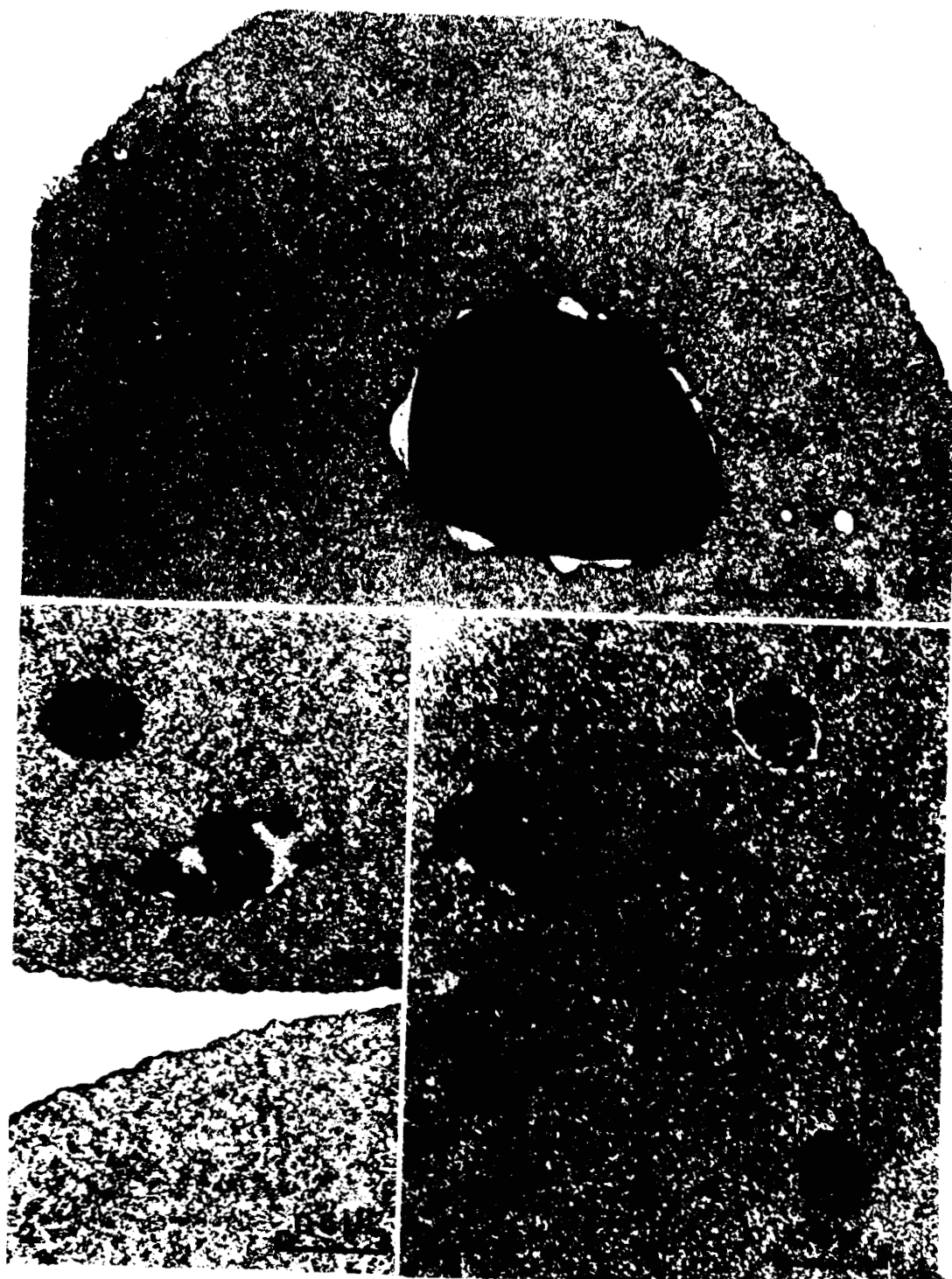
Erythrocyte de *Glycera convoluta* K. : Microscopie photonique

Fig. 1 : Détail d'érythrocyte montrant le noyau, une mitochondrie et quelques vésicules claires.

Fig. 2 : Détail d'érythrocyte montrant des amas granulaires denses intravacuolaires à proximité d'une mitochondrie.

Fig. 3 : Détail d'érythrocyte montrant trois vacuoles contenant un matériel granulaire de densité variable d'une vacuole à l'autre, en bas à droite, une mitochondrie.





BUS
LILLE

PLANCHE X

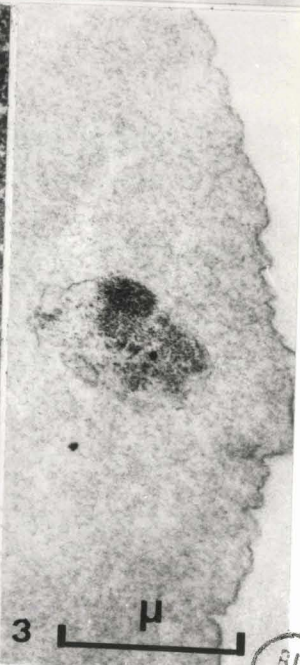
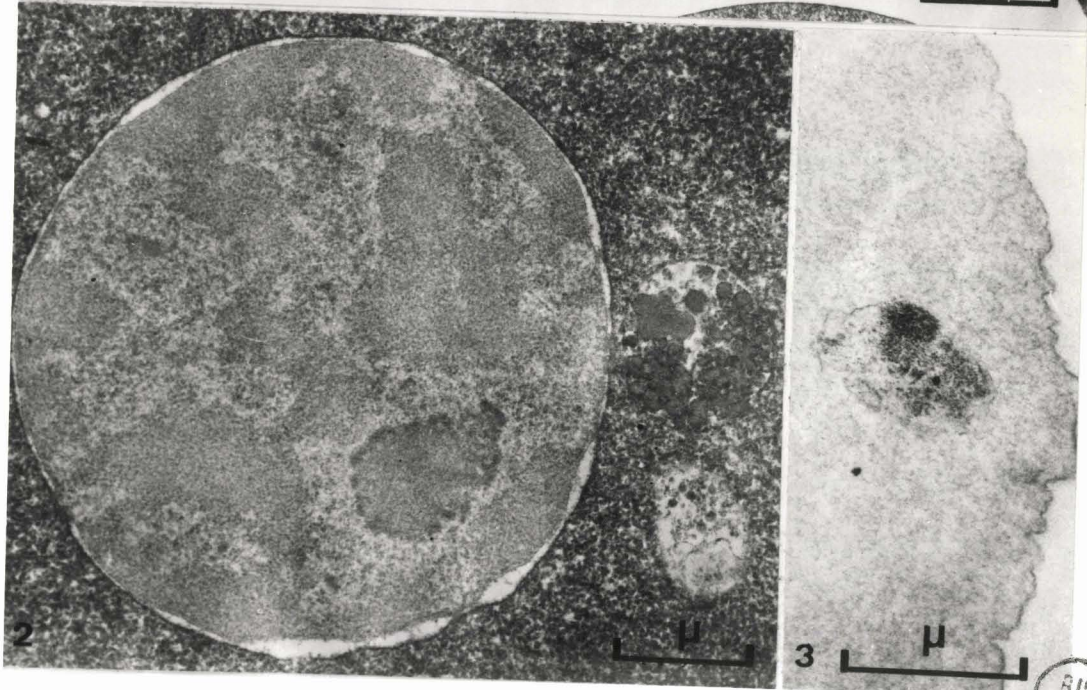
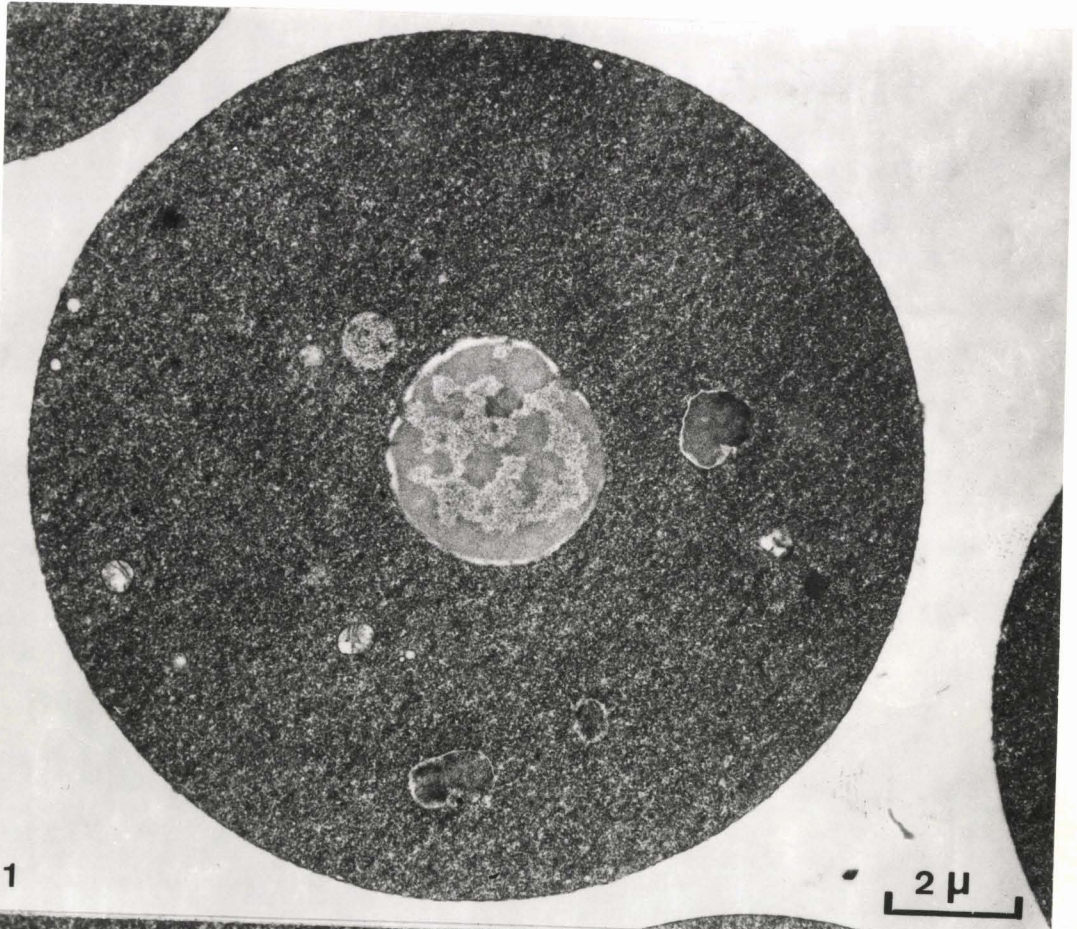
Erythrocyte de *Glycera convoluta* K. Activité pseudo-péroxydasique

Fig. 1 : Vue générale d'un érythrocyte. Le cytoplasme présente une activité pseudo-péroxydasique intense, le noyau reste clair ; les vésicules et les mitochondries ne montrent aucune réaction.

Fig. 2 : Détail du noyau. Son contenu ne semble pas présenter d'activité pseudo-péroxydasique ; la chromatine et le nucléole sont bien visibles.

Fig. 3 : Détail d'un érythrocyte témoin (incubation en l'absence du DAB sans coloration). Le cytoplasme reste clair ; par contre, le contenu vacuolaire reste dense.





BUS
LILLE

PLANCHE XI

HISTOCHIMIE DES TISSUS SUPPOSES HEMATOPOÏTIQUES : REACTION DE PERLS

AVEC COLORATION DE FOND

- Fig. 1 : Tissu chloragène (Flèche) d' *Arenicola marina* L.
Fig. 2 : Tissu périvasculaire (Flèche) de *Nephtys hombergii* Aud et Edw.
Fig. 3 : Tissu périvasculaire (Flèche) de *Pomatoceros triqueter* L.
Fig. 4 : Tissu périvasculaire (Flèche) de *Sabella pavonina* L.

Les zones denses indiquent la présence de Fer. Toutefois, chez l'arénicole, la plupart des granules visibles sur la photographie sont verdâtres ; les plus foncés relativement rares, correspondent à des granules Perls positifs. v = vaisseau sanguin.





RIP'S
LILLE

PLANCHE XII

ACTIVITE PEROXYDASIQUE DU SANG VASCULAIRE

Microscope PHOTONIQUE

Fig. 1 : *Nephtys hombergii* Aud. et Edw. : Réseau vasculaire de la région antérieure du corps ; le tégument de la zone du tronçon a été découpé pour montrer la cavité coelomique (t = trompe dévaginée).

Fig. 2 : *Nephtys hombergii* Aud et Edw. : réseau vasculaire du tube digestif isolé.

Fig. 3 : *Pomatoceros triqueter* L. : réseau vasculaire de la membrane thoracique.

Microscope ELECTRONIQUE

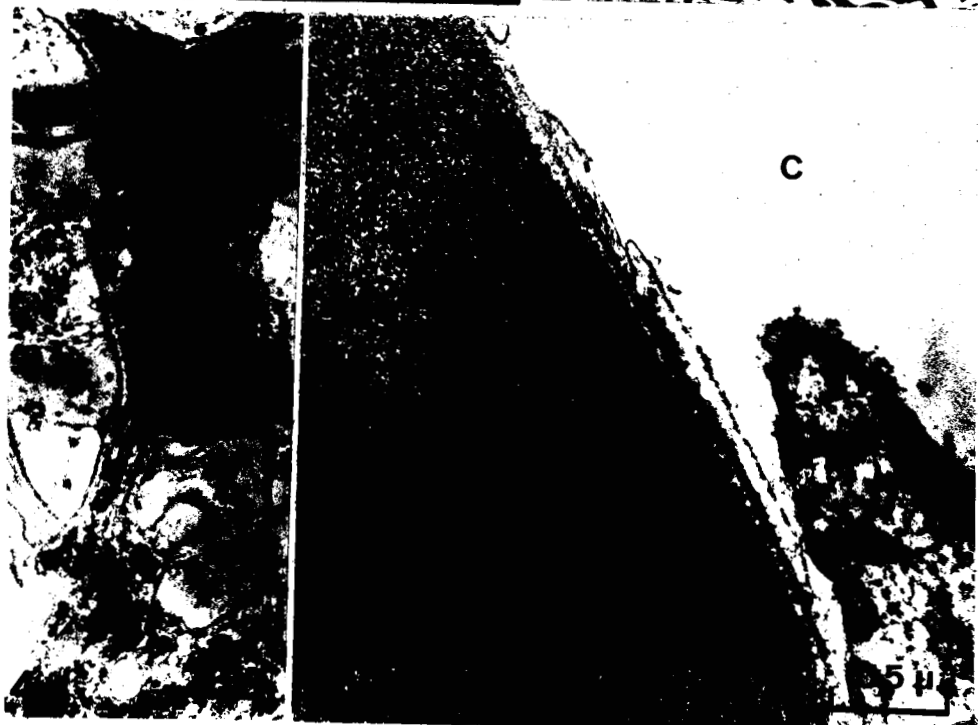
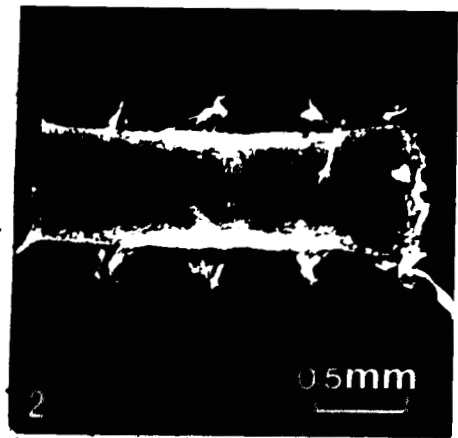
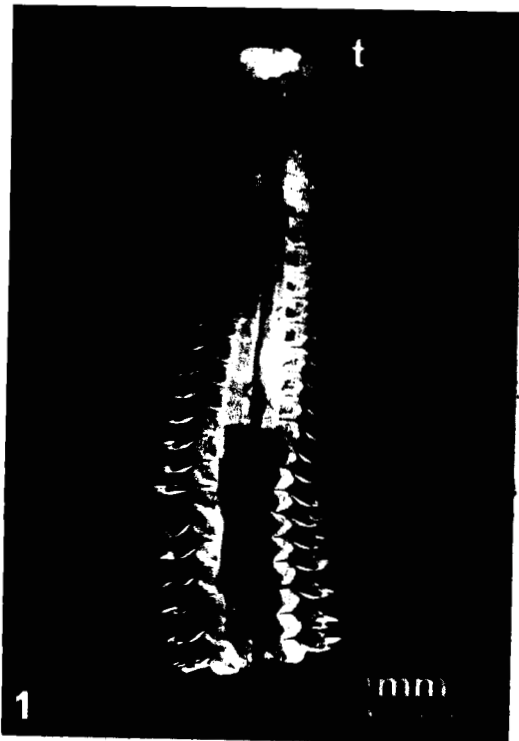
Fig. 4 : *Arenicola marina* L. (coupe non colorée)

L'érythrocrurine réagit positivement au DAB

v = vaisseau sanguin c = coelome.

Fig. 5 : même légende que Fig. 4





BUS
LILLE

PLANCHE XIII

ACTIVITE PEROXYDASIQUE DES ZONES SUPPOSEES HEMATOPOIETIQUES

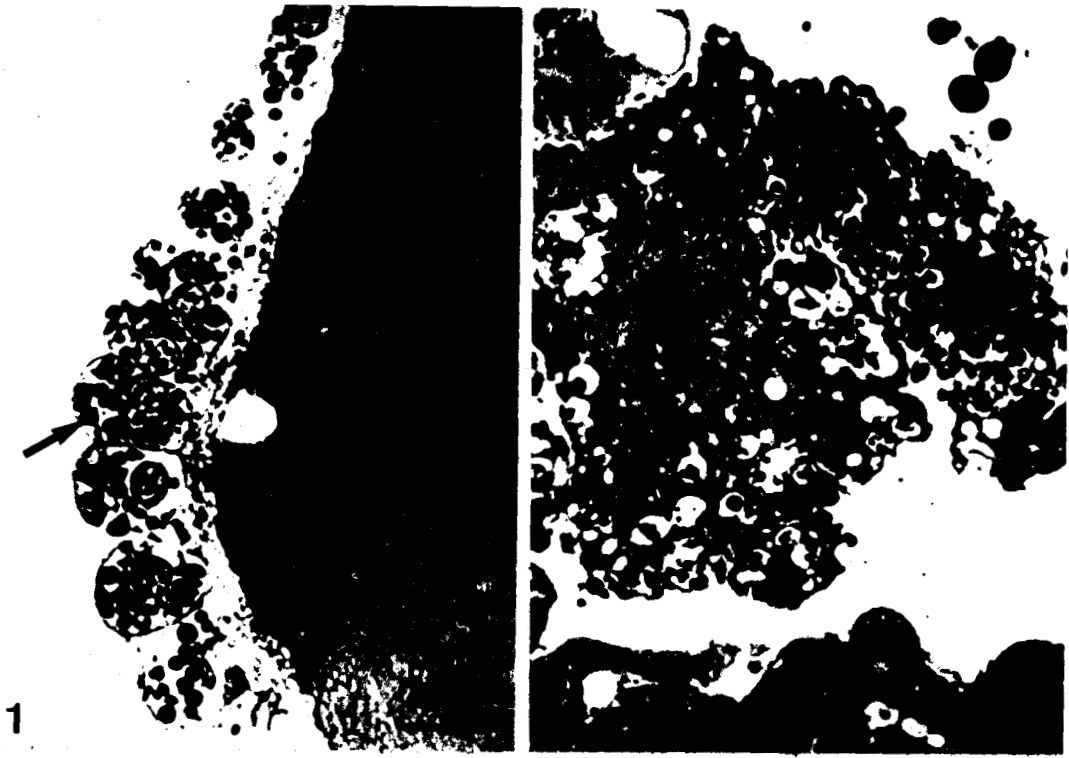
Fig. 1 : Tissu chloragène d' *Arenicola marina* L. (coupe semi-fine non colorée). De nombreux granules réagissent positivement au DAB (Flèche)

Fig. 2 : Tissu périvasculaire de *Nephtys hombergii* Aud. et Edw. (coupe semi-fine colorée) même légende que Fig. 1

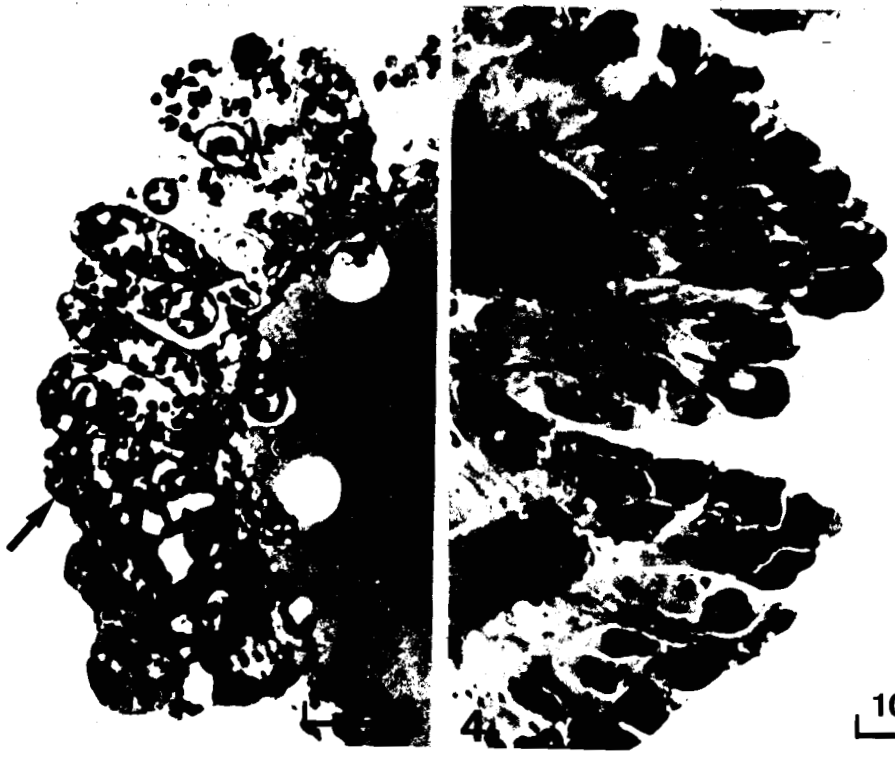
Fig. 3 : Tissu périvasculaire de *Sabella pavonina* L. (coupe semi-fine colorée) même légende que fig. 1

Fig. 4 : Tissu périvasculaire de *Pomatoceros triqueter* L. (coupe semi-fine colorée) même légende que Fig. 1
v = vaisseau sanguin.





1



3

4

10μ

BUS
LILLE

PLANCHE XIV

ETUDE AUTORADIOGRAPHIQUE : MICROSCOPIE PHOTONIQUE

Fig. 1 : Tissu chloragogène de petits vaisseaux d' *Arenicola marina* L. :
incorporation de ^{55}Fe (Flèche).

Fig. 2 : Tissu chloragogène d'un gros vaisseau d' *Arenicola marina* L. :
incorporation de ^{55}Fe (Flèche).

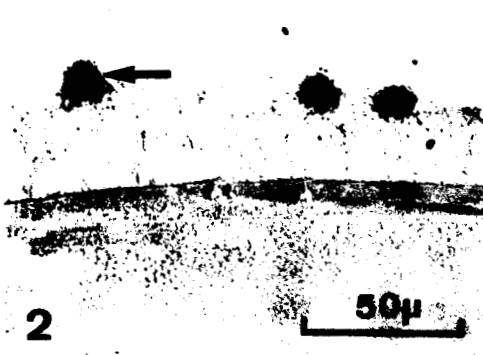
Fig. 3 : Tissu périvasculaire de *Nephtys hombergii* Aud. et Edw. :
incorporation de ^{55}Fe (Flèche).

Fig. 4 : Tissu chloragogène d' *Arenicola marina* L : incorporation de
l'acide Δ aminolevulinique.

Fig. 5 : Tissu périvasculaire de *Nephtys hombergii* Aud. et Edw. :
incorporation de l'acide Δ aminolevulinique.

v = vaisseau sanguin.





BUS
LILLE

PLANCHE XV

TISSU CHLORAGOGÈNE D'*Arenicola marina* L. : microscopie électronique.

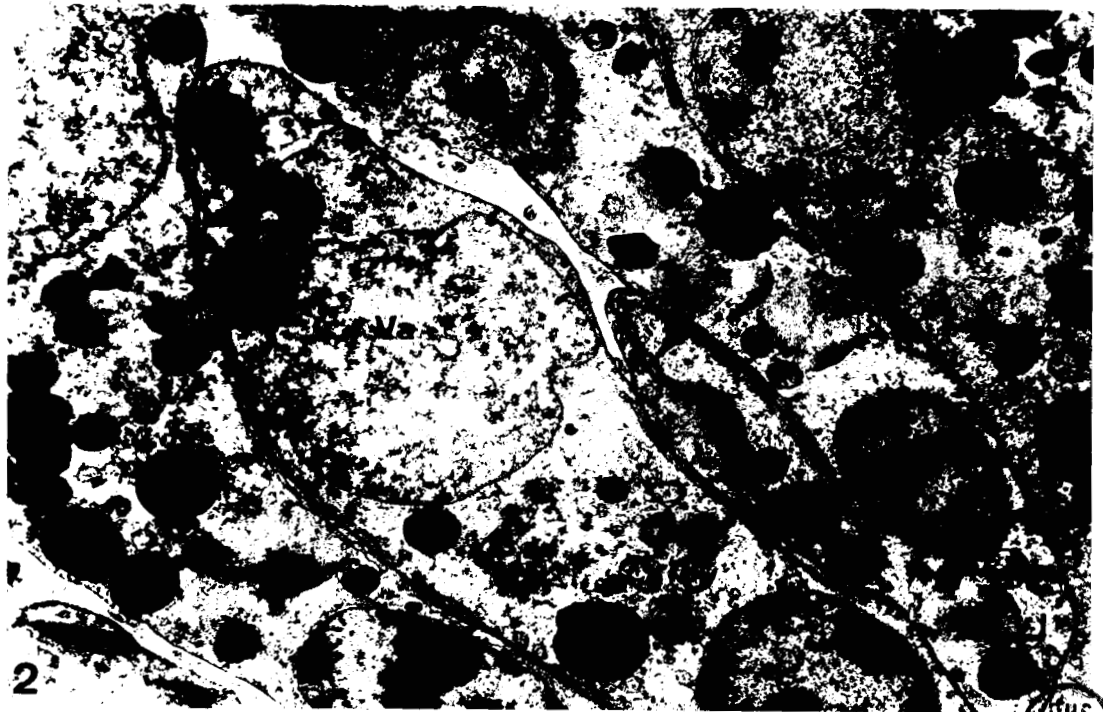
Fig. 1 : Tissu chloragogène, vue générale : noter la présence des inclusions opaques aux électrons.

Encart : vue d'ensemble du tissu chloragogène au microscope photonique (coupe semi-fine)

v : vaisseau sanguin.

Fig. 2 : Détail du tissu chloragogène ; remarquer le système vacuolaire (va) et l'ergastoplasme (flèche).





BHS
LILLE

PLANCHE XVI

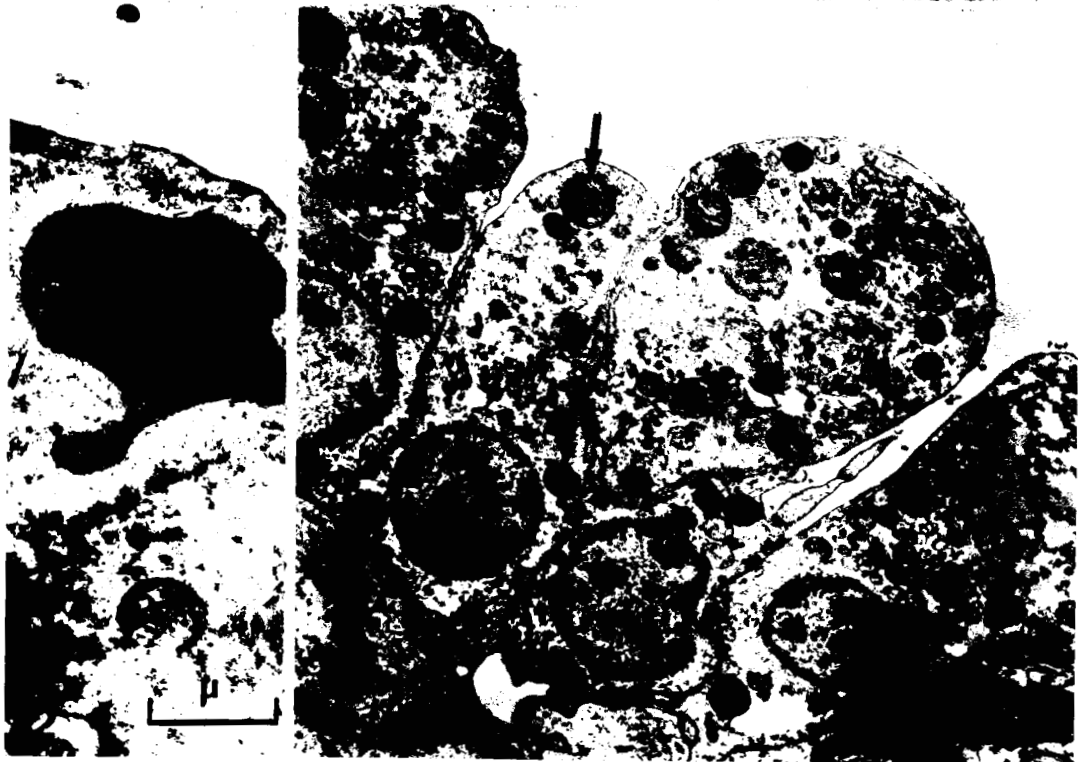
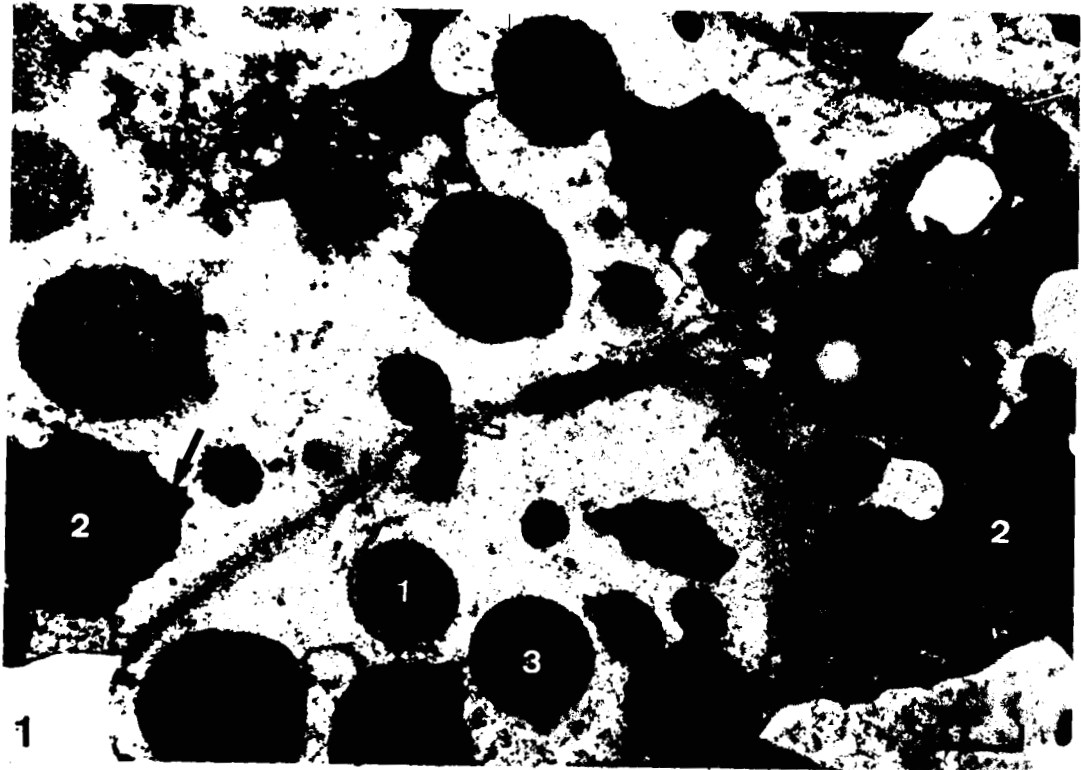
TISSU CHLORAGOGÈNE D' *Arenicola marina* L. : MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

Fig. 1 : Détail du tissu chloragène : Noter les différents types d'inclusions : inclusion dense (1), inclusion moyennement dense (2), inclusion granulaire (3) ; remarquer l'aspect particulier d'inclusion moyennement dense : différence de densité à la périphérie, présence de zone dense (flèche) certaines inclusions granulaires contiennent des formations para-cristallines.

Fig. 2 : Détail d'une structure para-cristalline à l'intérieur d'une inclusion granuleuse.

Fig. 3 : Histochimie : noter l'activité peroxydasique au niveau des inclusions denses et granulaires (flèches).





BIS
LILLE

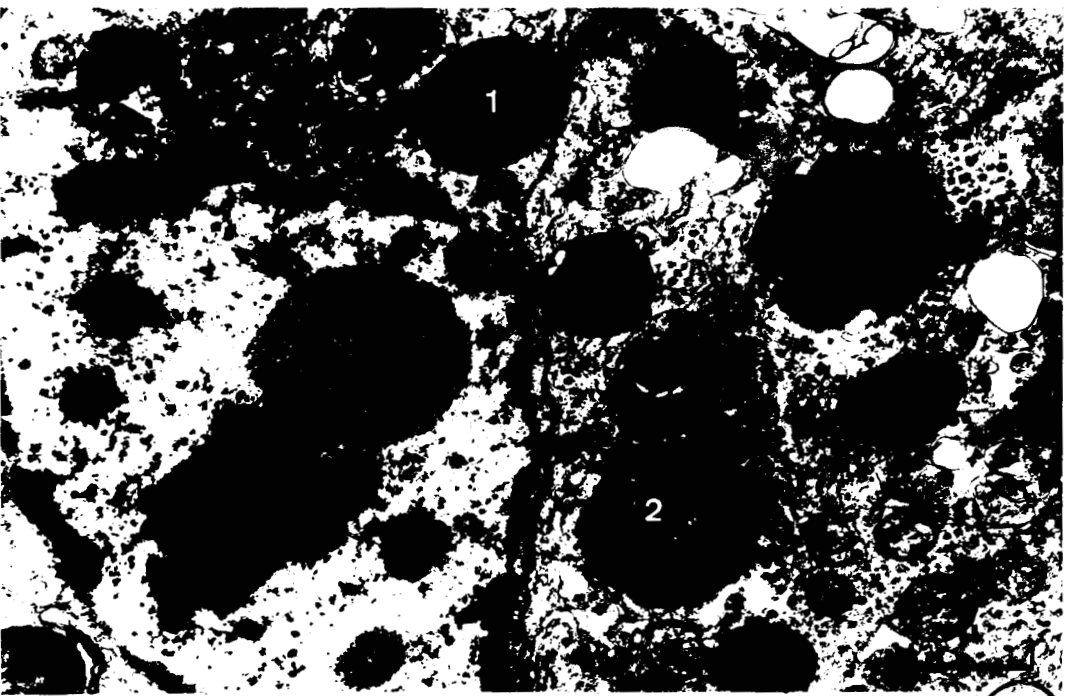
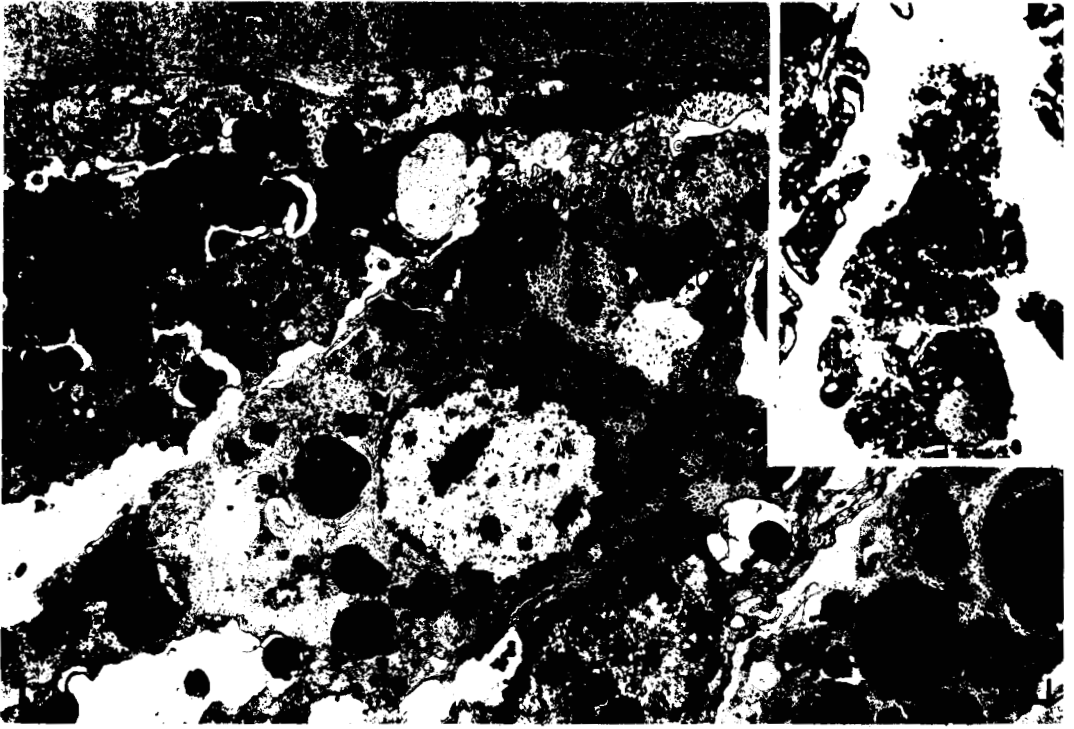
PLANCHE XVII.

TISSU PERIVASCULAIRE DE *Nephtys hombergii* Aud. et Edw : MICROSCOPIE

ELECTRONIQUE

- Fig. 1 : Tissu périvasculaire, vue générale ; remarquer l'aspect granuleux du cytoplasme ; la présence de nombreuses inclusions opaques aux électrons.
- Encart : vue d'ensemble du Tissu périvasculaire (coupe semi-fine) v = vaisseau sanguin.
- Fig. 2 : Détail du tissu périvasculaire : Remarquer la présence d'agglomérats de particules dans le noyau et dans le cytoplasme les inclusions denses (1), les inclusions à contenu hétérogène (2) et les inclusions à faible densité électronique (3).





BUS
LILLE

PLANCHE XVIII

TISSU PERIVASCULAIRE DE *Nephtys hombergii* Aud. et Edw. : MICROSCOPIE

ELECTRONIQUE

Fig. 1 : Zone cytoplasmique riche en réticulum endoplasmique granulaire et les dictyosomes. Les vésicules golgiennes sont caractérisées par leur contenu granuleux dense aux électrons (flèche), noter l'abondance de glycogène.

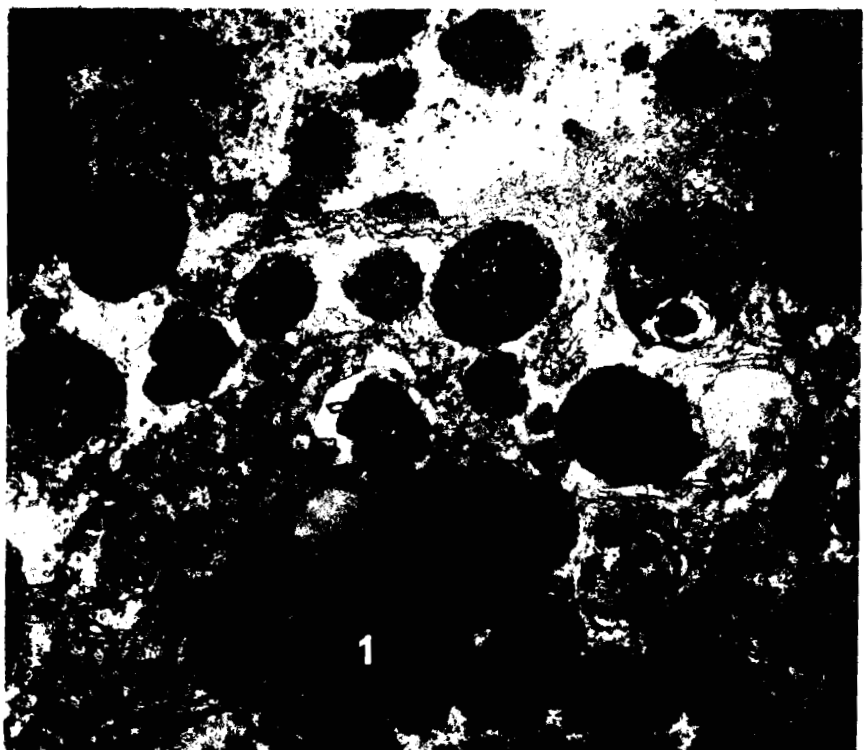
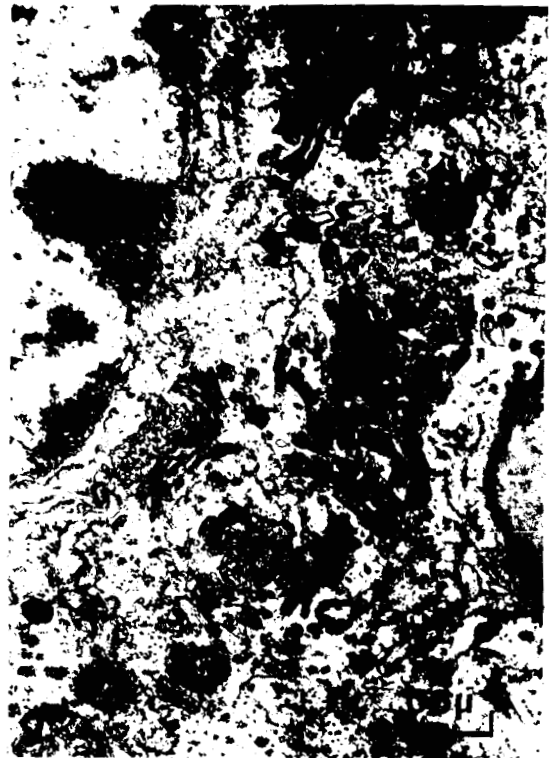
Fig. 2 : même légende que Fig. 1, remarquer l'abondance vésicules golgiennes à contenu granuleux

ETUDE CYTOCHIMIQUE

Fig. 3 : Remarquer l'activité peroxydasique des inclusions sphériques situées à proximité des dictyosomes (flèche) celles-ci représentent vraisemblablement les vésicules golgiennes. La réaction s'observe également dans certaines mitochondries.

Fig. 4 : L'activité peroxydasique des inclusions denses (1) et les inclusions à contenu hétérogène (2).





BUS
LILLE

PLANCHE XIX

TISSU PERIVASCULAIRE DE *Sabella pavonina* L. : microscopie électronique.

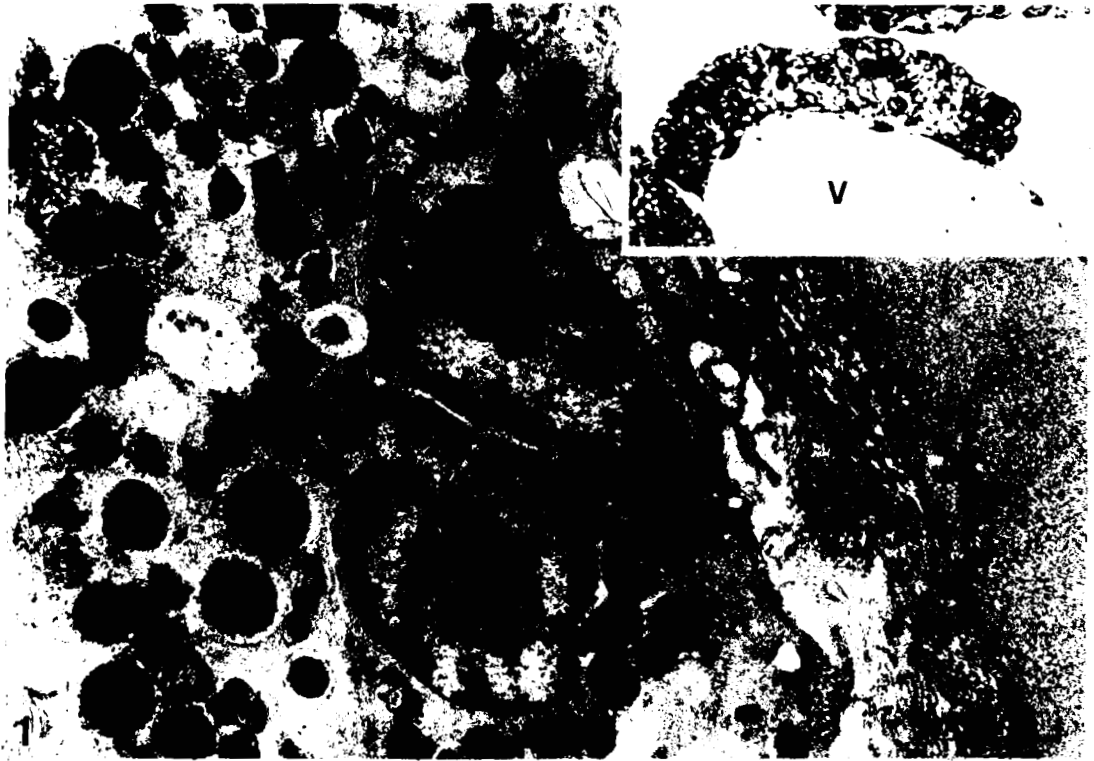
Fig. 1 : Tissu périvasculaire, vue générale : remarquer l'abondance d'inclusions denses aux électrons, l'aspect granuleux du cytoplasme, le noyau à grosse nucléole.

Encart : vue d'ensemble du tissu périvasculaire (coupe semi-fine) v = vaisseau sanguin.

Fig. 2 : Zone cytoplasmique montrant les différents aspects d'inclusions denses et l'ergastoplasme (flèche) ; noter l'abondance de ribosomes.

Fig. 3 : Zone cytoplasmique renfermant les inclusions denses (1) et les inclusions de densité électronique moyenne (2). Ces dernières peuvent se présenter dans certains cas sous la forme para-cristalline (flèche).





BUS
LILLE

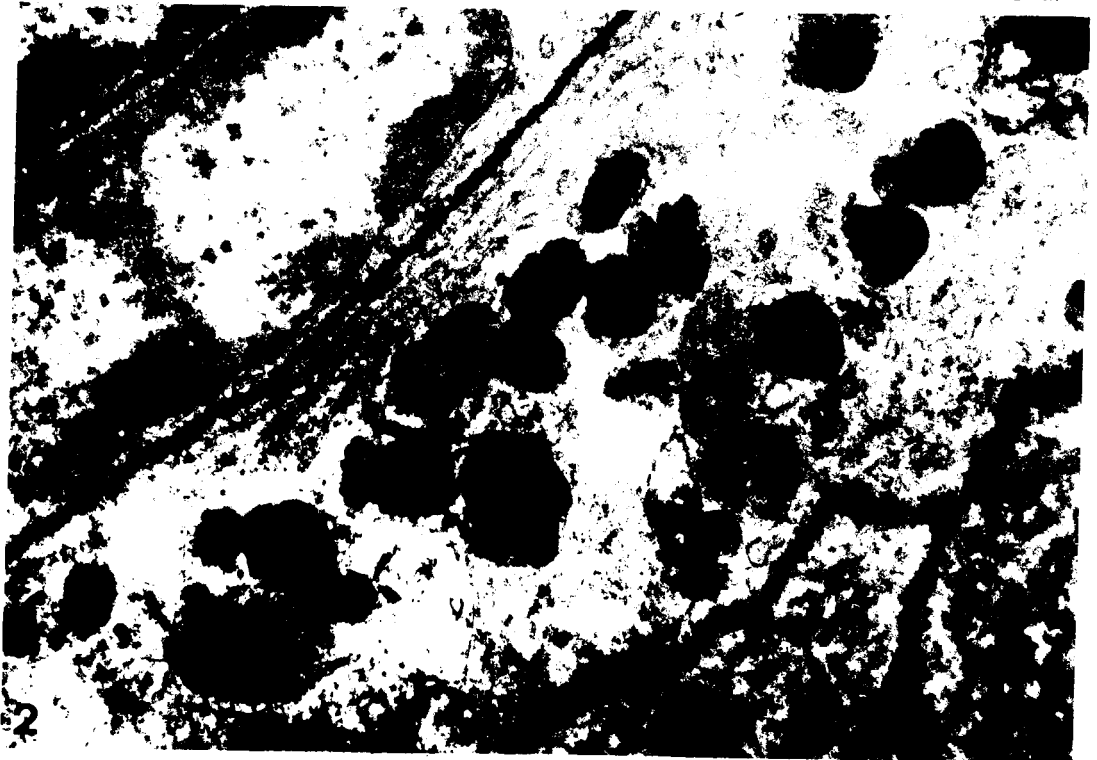
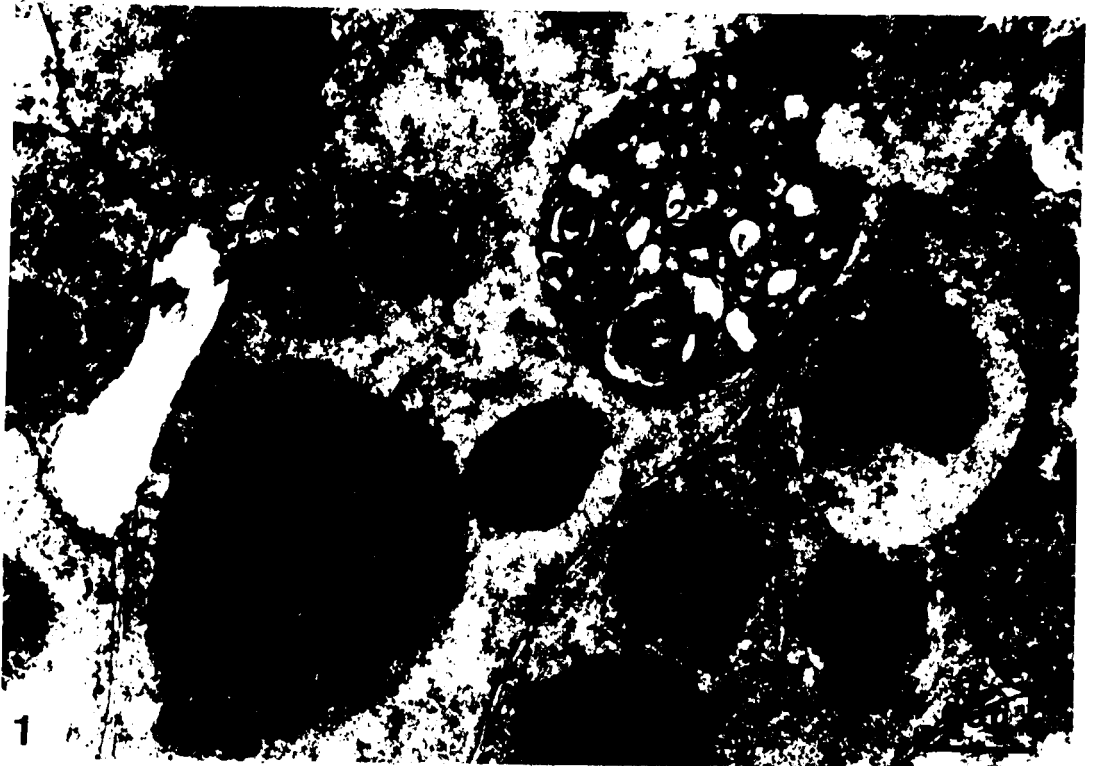
PLANCHE XX

TISSU PERIVASCULAIRE DE *Sabella pavonina* L. : MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

Fig. 1 : Remarquer l'aspect para-cristallin d'une inclusion de densité électronique moyenne (flèche), la présence des vacuoles à contenu dense (1) et du corps multivésiculaire (2).

Fig. 2 : cytochimie : l'activité peroxydasique est concentrée dans les inclusions denses, les inclusions de densité électronique moyenne et les limites cellulaires.





BIPS
LILLE

PLANCHE XXI

TISSU PERIVASCULAIRE DE *Pomatoceros triqueter* L. MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

Fig. 1 : Tissu périvasculaire, vue générale : remarquer le développement considérable du réticulum endoplasmique. La présence de nombreuses inclusions denses et d'évagination du vaisseau sanguin (flèche).

encart : vue d'ensemble du Tissu périvasculaire (coupe semi-fine) v = vaisseau sanguin.

Fig. 2 : Vue de détail du réticulum endoplasmique granulaire, noter la présence d'inclusions de densité électronique élevée dont certaines cotoient les figures myéliniques

Fig. 3 : Inclusions finement granuleuses (flèche). Noter l'aspect filamenteux du contenu du réticulum endoplasmique.





BUS
LILLE

PLANCHE XXII

TISSU PERIVASCULAIRE DE *Pomatoceros triqueter* L. : MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

Fig. 1 : Vue de détail du cytoplasme avec un dictyosome dont les vésicules contiennent des particules de taille analogue aux macromolécules de chlorocruorine. Ces particules présentent parfois un aspect para-cristallin (flèche).

Fig. 2 : Remarquer les différents types d'inclusions : Les inclusions de densité électronique élevée (1), les inclusions circulaires (2) et l'inclusion finement granuleuse (3)

Fig. 3 : Lacunes sanguines intracytoplasmiques ; noter la présence de la lame basale à la périphérie de la lacune (flèche).

Fig. 4 : Cytochimie : noter l'activité peroxydasique des inclusions cytoplasmiques.





500
LILLE