

# HISTOLOGIE ET CYTOLOGIE DES STADES DE MATURITÉ CHEZ LES CHÉTOGNATHES

par Elvezio GHIRARDELLI

Les études des cycles de maturité des Chétognathes ont été généralement liées à d'autres et notamment à celles qui avaient pour but l'utilisation de ces derniers comme indicateurs hydrologiques (RUSSEL, 1932; CLARKE, 1943); elles peuvent avoir également une importance pour la pêche parce qu'on a démontré qu'il peut exister un rapport entre la distribution des Chétognathes et celle de certains poissons. LE BRASSEUR (1959), par exemple, a constaté que le long des côtes de l'Alaska, *Sagitta lyra* est plus abondante dans les eaux qui, à 150 m de profondeur, ont une température plus élevée que 6° C et une salinité dépassant 33‰; par contre, les prises du saumon (*Oncorhynchus sp.*) sont très pauvres là où *S. lyra* est plus fréquente.

Plusieurs échelles de classification des stades de maturité sexuelle ont été proposées depuis celle de KRAMP (1917), qui a été la première, le nombre de stades variant, selon les auteurs, de trois à six. RUSSEL (1932), qui est un des auteurs les plus suivis, reconnaissait trois stades seulement, tandis que COLMAN (1959) en distingue six. De plus, il y a des auteurs qui classent uniquement les stades d'ovogénèse, tandis que d'autres tiennent compte, en plus des stades d'ovogénèse, également de ceux de la spermatogénèse. (A ce dernier point de vue on peut se rapporter au travail dans lequel j'ai résumé les données essentielles de la question, GHIRARDELLI 1959 a, 1960).

C'est pour cette raison que dans une communication présentée à la XVI<sup>e</sup> Réunion plénière de la Commission pour l'exploration de la Méditerranée en 1958, (dont le travail cité est le texte), je proposais qu'on étudie la possibilité de fixer des règles pour l'appréciation uniforme de la maturité des Chétognathes et fasse la révision de leurs espèces, étant donné que cette réglementation présente une grande importance pour l'écologie des Chétognathes (TRÉGOUBOFF, 1960, p. 245) et que l'exacte connaissance des cycles a une importance capitale pour la connaissance de leur biologie. Je soulignais que pour une meilleure classification des stades de maturité, une étude cytologique était nécessaire qui devait avoir pour but d'établir la correspondance entre les aspects des gonades tels qu'on peut les distinguer aux faibles grossissements des loupes binoculaires utilisées par les planctonologues, ainsi que leur cytologie; c'est-à-dire qu'on devrait se rapporter aux phases nucléaires de la multiplication, de la meiose et de l'accroissement des cellules germinales.

C'est pour ces raisons que j'ai entrepris l'étude cytologique des stades de maturité, l'étude qui s'intègre dans les recherches que j'ai poursuivies sur l'ovogénèse et la spermatogénèse des Chétognathes.

J'en donnerai ici les premiers résultats obtenus, en particulier chez *Sagitta inflata*.

Cette espèce a été choisie parce qu'elle avait été l'objet d'un de mes travaux (GHIRARDELLI, 1951), dans lequel j'avais proposé, moi aussi, une échelle de quatre stades ovariens en corrélation avec les quatre stades de maturité des testicules, puisque les Chétognathes sont des animaux hermaphrodites.

Je vais maintenant résumer, pour chaque stade de maturité des gonades mâles et femelles de *Sagitta inflata*, les caractéristiques décrites dans mon précédent travail (GHIRARDELLI, 1951).

et donner en même temps une description succincte des aspects cytologiques correspondants.

*Stade I.* Au stade I, les gonades deviennent visibles; chez les individus les plus petits (7-11 mm, environ), dans les coupes des ovaires on observe seulement des ovogonies ou de petits ovocytes au début de leur accroissement, le croissant et la poche séminale n'étant pas encore formés. Dans le testicule, on n'aperçoit que des spermatogonies. Dans la gonade mâle, ce stade doit être très fugace. En effet, déjà à 9 mm, on peut voir qu'à côté des spermatogonies apparaissent les premiers spermatocytes. Il n'est pas rare d'ailleurs de voir chez les individus plus grands, à partir de 12 mm, à peu près, les premiers amas d'éléments germinaux qui se détachent de la région germinative de la gonade et s'accumulent dans la partie distale de la queue. Il y a donc des individus qui ont leur gonade femelle au stade I, tandis que la gonade mâle a déjà les caractères qui seront décrits pour le stade suivant, fait qui correspond à la protérandrie de cette espèce.

*Stade II.* Au faible grossissement, les premiers ovocytes sont déjà visibles tandis que dans le testicule on peut apercevoir des éléments mâles en liberté. Sur les coupes des ovaires on peut distinguer aisément le croissant qui commence à se former; au centre du croissant, sont situés les ovocytes du 1<sup>er</sup> ordre à la première période d'accroissement; leurs noyaux montrent très nettement les stades de synapse (1). Ils ne sont pas distribués uniformément mais se trouvent accumulés en petits nœuds irrégulièrement disposés le long de la ligne médiane du croissant sur toute la longueur de l'ovaire. Ils sont très petits, leurs noyaux ne dépassant pas 5-10  $\mu$ , leur cytoplasme est bien réduit. Ils sont complètement entourés par d'autres ovocytes à la deuxième période d'accroissement, dont les chromosomes sont au stade diplotène, stade caractéristique dit « lampbrush »; leurs noyaux peuvent atteindre de 25 à 30  $\mu$  environ, tandis que le diamètre des cellules est de 35-40  $\mu$ ; leur cytoplasme est ainsi encore assez réduit. Toutefois, il peut exister également quelques ovocytes de 100  $\mu$  de diamètre et qui sont au début de la troisième période d'accroissement.

La membrane nucléaire est entourée par une série de plaquettes dont la longueur atteint 4-5  $\mu$  (substance chromidiale des auteurs). Elles sont riches en ARN et, peut-être, ont les fonctions comparables à celles des substances dérivées des nucléoles qui n'existent pas dans les ovocytes des Chétognathes. Le cytoplasme des ovocytes est également très riche en ARN. C'est à ce stade que les ovocytes se mettent en rapport avec la poche séminale par l'intermédiaire des cellules de fécondation. La poche ne renferme jamais de spermatozoïdes et chez les animaux les plus jeunes il peut arriver qu'elle ne soit pas encore complètement développée.

Dans la région germinative du testicule, les spermatozoïdes se multiplient très activement. Dans la partie postérieure de la queue, où sont situés les éléments mobiles, on trouve, le plus souvent, des spermatocytes du 1<sup>er</sup> ordre. Toutefois chez les individus plus grands on peut observer soit des spermatocytes du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>e</sup> ordre, soit des spermatides et, parfois aussi, les premiers spermatozoïdes. Les spermatocytes du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>e</sup> ordre sont groupés en rosettes: « polyplastes » de BOLLES-LEE, « cumuli spermatici » de GRASSI.

*Stade III.* Même au faible grossissement, les ovocytes sont bien visibles, on peut aussi distinguer aisément leurs noyaux. Le testicule est rempli de « rosettes » et de spermatozoïdes en mouvement. Commencent à se développer les vésicules séminales.

Dans les coupes, on observe le croissant bien développé, ainsi que la poche séminale qui est parfois remplie de spermatozoïdes. Les ovocytes, à la première et à la deuxième périodes d'accroissement, sont collés au croissant, les plus petits au centre, ceux plus développés aux ailes; dans sa partie médiane, l'ovaire est rempli d'ovocytes à la troisième période d'accroissement; ces ovocytes augmentent rapidement leur volume et peuvent atteindre 150  $\mu$  environ

---

(1) Il est peut-être utile de préciser que lorsque je parlerai des *stades de maturité* je me rapporterai au stade du développement des gonades, tandis que les *périodes d'accroissement* doivent être rapportées seulement aux ovocytes selon la classification proposée par VANNINI (1954), en rapport avec l'aspect des noyaux, l'accumulation de ribonucléoprotéines dans le cytoplasme et la vitellogénèse.

pour le diamètre le plus grand. Leur colorabilité à la pyronine est moindre que celle observée au stade précédent, ce qui indique une diminution de la concentration des ribonucléo-protéine cytoplasmiques. Moins évidente est également la distribution des plaquettes chromidiales autour du noyau. L'appareil de suspension est bien développé et dans ses cellules sont nettement visibles les vacuoles qui forment le canal de fécondation.

Dans le testicule, il y a une quantité plus grande de cellules libres, à tous les stades du développement, les spermatozoïdes sont nombreux; les vésicules séminales commencent à se développer mais elles sont toujours vides.

*Stade IV.* Au stade IV, les ovaires sont très développés; les ovocytes sont à la fin de la troisième période d'accroissement et on les voit très bien à la loupe binoculaire. Dans les coupes, près du croissant, on observe encore les ovocytes à la 1<sup>re</sup> et à la 2<sup>e</sup> période d'accroissement, mais ceux qui sont nettement plus éloignés du croissant ont accompli la vitellogénèse et ils sont, comme il a été dit, à la fin de la troisième période. Leur diamètre est à peu près de 200  $\mu$ . et ils ont ainsi des dimensions très voisines de celles des œufs au moment de la ponte.

Ces ovocytes se trouvent éloignés du croissant seulement en apparence; en effet, ils sont bien en contact avec le croissant par l'intermédiaire de l'appareil pluricellulaire de fécondation qui s'insinue entre les ovocytes plus jeunes. Au stade IV, on observe également la 1<sup>re</sup> division de maturation, dont le fuseau est typique, à fibres parallèles. Ce stade est reconnaissable également au faible grossissement, car la membrane nucléaire disparaît et le cytoplasme devient plus opaque.

Une demi-heure après la disparition de la membrane nucléaire, les ovocytes passent dans l'oviducte temporaire qui se forme par décollement des deux feuillets de la paroi de la poche séminale, et en peu de temps ils sont pondus. Les œufs dans l'oviducte, par la compression réciproque, sont polygonaux (GHIRARDELLI, 1959b).

La poche séminale renferme toujours des spermatozoïdes. Le testicule en est rempli presque entièrement ainsi que les vésicules séminales, maintenant bien développées.

Après la ponte, l'aspect de l'ovaire a bien changé, en premier lieu à la suite des déplacements provoqués par le passage des œufs dans l'oviducte temporaire, ensuite par le remaniement après lequel se rétablissent les rapports topographiques primitifs entre les éléments de l'ovaire. Après la ponte, l'ovaire peut ressembler à celui des animaux plus jeunes, qui, pour la première fois, ont atteint le stade II. Toutefois, généralement ces individus peuvent être reconnus, parce que les ovocytes à la 2<sup>e</sup> période d'accroissement sont en petit nombre et sont disposés sur une seule rangée à l'intérieur du croissant; la paroi des ovaires dans la région médiane n'est pas en contact avec les ovocytes. Je crois qu'il n'est pas nécessaire d'établir un nouveau stade pour ces individus car, de fait, au point de vue cytologique, ils sont tout à fait au stade II.

Les changements qu'on constate dans le testicule après l'émission des spermatozoïdes sont moins prononcés que ceux observés dans l'ovaire. La modification la plus importante concerne les vésicules séminales qui se vident et perdent leurs calottes caractéristiques; une partie des spermatozoïdes passe immédiatement du testicule aux vésicules séminales qui ne tardent pas à se remplir de nouveau. Il est toutefois impossible d'apprécier ces différences dans la région postérieure du testicule dues à la petite quantité de spermatozoïdes que les vésicules peuvent renfermer. Les individus qui ont émis les spermatozoïdes peuvent être confondus, tout au plus, avec ceux qui sont encore au stade III, étant donné que le stade IV des gonades mâles est caractérisé principalement par les vésicules séminales complètement développées. S'il y avait une émission de plusieurs spermatozoïdes de suite, le testicule pourrait se vider au moins en partie, et alors il paraîtrait être à un stade encore plus jeune.

On voit ainsi que les différences qu'on observe dans les gonades mâles sont principalement d'ordre quantitatif: en effet, comme on l'a vu, déjà au stade II il y a des spermatozoïdes dans la partie caudale du corps. Chez des individus plus âgés augmente la quantité d'éléments et particulièrement de spermatozoïdes. Toutefois, comme on le verra par la suite, une différenciation suffisamment précise des stades est possible si on prend en considération soit l'aspect du testicule, soit celui des vésicules séminales.

Les stades de maturité des ovaires sont au contraire plus facilement différenciables sur la base des périodes d'accroissement des ovocytes, mais il est évident qu'il faut rechercher une correspondance plus précise entre l'aspect des ovaires et lesdites périodes d'accroissement.

Une classification des stades de maturité devrait ainsi comprendre quatre stades de maturité et pas plus, parce que sur la base des caractères cytologiques et histologiques des gonades il n'est pas facile d'en fixer un nombre plus élevé. On devrait, en effet, dans ce dernier cas prendre en considération plusieurs stades de passage parfois très rapides, qu'il est toujours difficile de définir avec une précision suffisante. Tout au plus, pour les espèces qui ont des larves et des jeunes facilement déterminables, on pourrait tenir compte d'un stade initial proposé par COLMAN (1959) représenté par des jeunes dont les gonades ne sont pas encore visibles à un grossissement de 100 x. (Il faut toutefois préciser que, quoique les gonades organisées ne soient pas visibles, les gonocytes primaires, qui dérivent des cellules germinales primordiales, sont toujours présents).

Sur la base des considérations faites, il est maintenant possible de proposer une classification des stades de maturité qui n'est pas, comme on le constatera facilement, une nouveauté absolue par rapport à celles qu'on a suivies jusqu'à présent, mais qui est plutôt leur complément logique, ou mieux, le complément de celle que j'avais proposée (GHIRARDELLI, 1951). Elle en est quelque peu différente ainsi que de celle qui a été prise comme base dans cette note pour l'étude cytologique. Les différences sont dues principalement au fait que j'ai cherché à faire correspondre à un stade donné une période autant que possible définie des processus de maturation des gonades. Particulièrement pour les gonades femelles, il a fallu caractériser les stades surtout par des périodes d'accroissement des ovocytes, qui intéressent principalement le cytoplasme, tandis que les noyaux sont presque tous au stade diplotène. A cette occasion, la classification des périodes d'accroissement des ovocytes proposée par VANNINI (1954) s'est révélée très utile. Il est nécessaire, enfin, de préciser que les ovocytes qui caractérisent les stades de maturité ne sont pas nécessairement les plus nombreux, mais seulement les plus volumineux, c'est-à-dire les plus éloignés du croissant.

## OVAIRES

### STADE O

*A la loupe binoculaire. Grossissement 100x.* Gonades non visibles; chez les espèces transparentes on peut voir les gonocytes primaires.

*Dans les coupes.* Gonocytes primaires (1).

### STADE I

*A la loupe binoculaire.* Gonades non encore bien développées; elles ont l'aspect d'un petit amas légèrement allongé, fait de cellules sphériques.

*Dans les coupes.* Ovogonies en multiplication. Ovocytes du 1<sup>er</sup> ordre à la première période d'accroissement ou au début de la deuxième. Autour du noyau peu de cytoplasme assez colorable. Granulations périnucléaires apparentes. Stades de synapse du noyau. Poche et croissant non formés.

## TESTICULES

### STADE O

*A la loupe binoculaire. Grossissement 100 x.* Gonades non visibles; chez les espèces transparentes on peut voir les gonocytes primaires.

*Dans les coupes.* Gonocytes primaires (1).

### STADE I

*A la loupe binoculaire.* Testicules apparents, quoique assez petits. Pas d'éléments mâles libres dans le coelome.

*Dans les coupes.* Spermatogonies en multiplication.

(1) Les coupes ont été colorées avec l'hématoxiline ferrique, la pyronine et le vert de méthyle selon GEROLA et VANNINI (1949) et la réaction de Feulgen.

#### STADE II

*A la loupe binoculaire.* Ovocytes très petits mais bien reconnaissables.

*Dans les coupes.* Ovocytes à la 2<sup>e</sup> période d'accroissement, quelques-uns seulement sont au début de la troisième. Granulations autour du noyau bien visibles. « Lampbrush » chromosomes. Cytoplasme encore assez colorable. Les ovocytes à la 2<sup>e</sup> période se mettent en contact avec la poche par l'intermédiaire des cellules de fécondation.

#### STADE III

*A la loupe binoculaire.* Ovocytes de grandes dimensions dans la partie médiane des ovaires, plus petit sur la ligne latérale.

*Dans les coupes.* Ovocytes à la fin de la 2<sup>e</sup> période d'accroissement, la plupart sont à la troisième. Leur cytoplasme est moins colorable. Enclaves vitellines présentes. Noyaux gros et vésiculeux. « Lampbrush » chromosomes. Granulations autour du noyau encore visibles, quoique plus petites qu'au stade précédent. Croissant, poche séminale et appareil de fécondation bien développés. Spermatozoïdes à l'intérieur de la poche.

#### STADE IV

*A la loupe binoculaire.* Ovaires bien développés avec des ovocytes dont le volume est nettement plus grand que celui des ovocytes près de la poche. Membrane nucléaire disparue ou en voie de disparition. Parfois ovocytes polygonaux.

*Dans les coupes.* Ovocytes ayant accompli la troisième période d'accroissement. Granulations autour du noyau, quand elles sont encore présentes, très petites. Parfois les 1<sup>res</sup> métaphases dans le noyau. Cytoplasme peu colorable. Poche séminale et appareil de fécondation bien développés. Spermatozoïdes à l'intérieur de la poche.

#### STADE II

*A la loupe binoculaire.* Commencent à apparaître dans le coelome les premiers éléments mâles libres.

*Dans les coupes.* Spermatogonies en multiplication. Libres dans le coelome petits amas de spermatocytes du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>e</sup> ordres.

#### STADE III

*A la loupe binoculaire.* Des amas globuleux très mobiles en grande quantité sont libres dans le coelome. Parfois sont déjà visibles les spermatozoïdes.

*Dans les coupes.* Sont représentées toutes les étapes de l'évolution spermatogénétique.

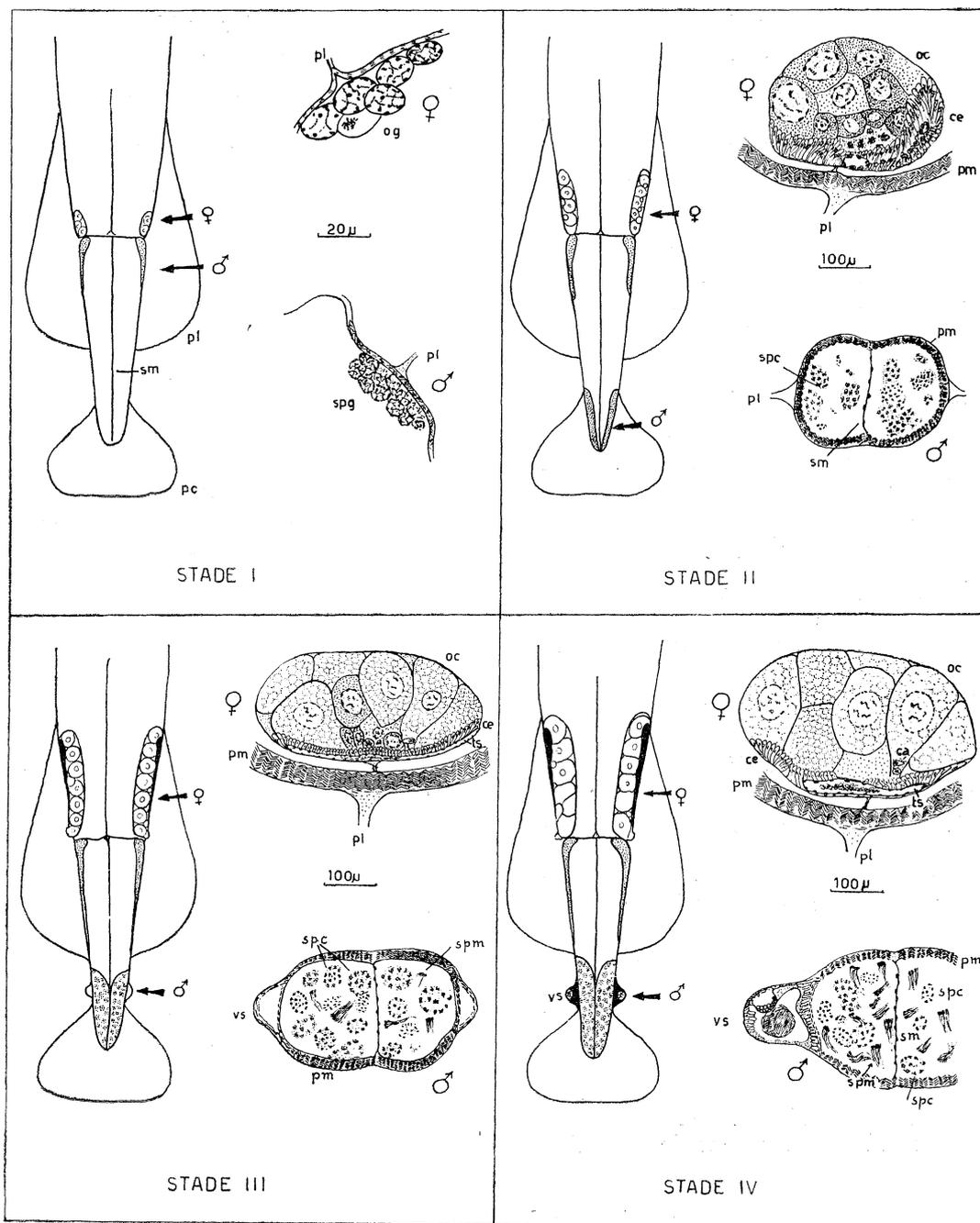
#### STADE IV

*A la loupe binoculaire.* Testicules bourrés d'éléments mâles, particulièrement de spermatozoïdes en mouvement. Vésicules séminales bien développées, avec leurs ornements caractéristiques.

*Dans les coupes.* Tous les stades de l'évolution spermatogénétique, comme au stade III, mais avec prédominance des spermatozoïdes.

Dans le tableau ci-dessus et dans les figures (qui se rapportent à *Sagitta inflata*), sont indiqués les aspects les plus typiques de chaque stade; autrement dit les aspects qui le caractérisent le mieux. Naturellement la variabilité dans chaque stade est assez grande parce qu'il s'agit de processus qui se déroulent en continuité; il est toutefois possible, comme il a été indiqué, d'en fixer les moments les plus démonstratifs.

Cette classification est basée principalement, comme je l'ai déjà indiqué, sur les études faites sur *Sagitta inflata*; mais étant donné que la structure des gonades est assez semblable chez tous les Chétognathes, même s'ils appartiennent à des genres différents (GHIRARDELLI, 1959b),



FIGURES. — Pour chaque stade, à gauche : dessins schématiques de la partie postérieure du corps de *Sagitta inflata*; les flèches indiquent les niveaux des sections représentées à droite. À droite, en haut : figures schématiques des sections des testicules; à droite, en bas : figures schématiques des sections des testicules. *ca* cellules de fécondation (appareil de suspension), *ce* croissant, *oc* ovocytes, *og* ovogonies, *pc* nageoire caudale, *pl* nageoire latérale postérieure, *pm* paroi musculaire du corps, *sm* septum, *spc* spermatozytes de 1<sup>er</sup> et de 2<sup>e</sup> ordres, *spg* spermatogonies, *spm* spermatozoïdes, *tr* réceptacle séminal, *vs* vésicules séminales.

elle pourrait être appliquée, sans trop de difficulté, à l'étude de plusieurs espèces afin, de pouvoir suivre, avec une précision suffisante, le développement des gonades, l'alternance éventuelle des périodes d'activité et de repos et la durée de ces processus (1). Ceci est important, soit pour des recherches écologiques, soit pour celles qui concernent particulièrement la biologie de la reproduction, parce que l'évolution des gonades des Chétognathes est liée, en partie, aux conditions et aux lieux de leur habitat et peut-être aussi à l'existence des races différentes de la même espèce.

J'ai maintenant le plaisir de remercier MM. les Directeurs des stations zoologiques de Villefranche-sur-Mer et de Naples et le Directeur du Centre d'étude pour la Biologie près de la station zoologique de Naples, pour le matériel vivant et fixé qu'ils m'ont fourni.

Un remerciement particulier à MM. les Prof. TRÉGOUBOFF et VANNINI pour les suggestions et les conseils qu'ils ont bien voulu me donner.

*Institut de zoologie de l'Université de Bologne Italie.*

### BIBLIOGRAPHIE

- CLARKE (G.L.), PIERCE (E.L.) et BUMPUS (F.D.), 1943. — The distribution of *Sagitta elegans* of George BANK in relation to the hydrographical conditions. — *Biol. Bull.*, vol. **85**, (3), p. 201-226.
- COLMAN (J.S.), 1959. — The « Rosaura » Expedition 1937-38. Chaetognatha. — *Bull. Brit. Mus. nat. Hist.*, vol. 5, (8) **5**. 219-253.
- FURNESTIN (M.-L.), 1957. — Chaetognathes et Zooplancton du secteur Atlantique marocain. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, vol. **21** (1-2), p. 1-356.
- GHIRARDELLI (E.), 1951. — Cicli di maturità sessuale delle gonadi di *Sagitta inflata* GRASSI del golfo di Napoli. — *Boll. Zool.*, vol. **18** (4,5,6), p. 149-162.
- 1959 a. — Habitat e biologia della riproduzione nei Chetognati. — *Arch. oceanogr.*, vol. **11** (3), p. 1-18.
- 1959 b. — L'apparato riproduttore femminile nei Chetognati. — *Rend. Accad. Nazionale XL.*, vol. **10**, p. 1-46, tav. I-XV.
- 1960. — Habitat e Biologia della riproduzione nei Chetognati. — *Rapp. et P. V. Comm. int. Explor. sci. Mer Médit.*, vol. **15** (2), p. 347-358.
- GEROLA (F.M.) e VANNINI (E.), 1949. — La colorazione con verde di metil pironina nella ricerca degli acidi ribonucleici. — *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, vol. **25**, p. 644-646.
- KRAMP (P.L.), 1917. — Chaetognatha collected by Tjalfe Expedition to West-Coast of Greenland in 1908-09. — *Vidensk. Medd. fra Dansk. Natur. Forens.*, vol. **69**, p. 17-55.
- LE BRASSEUR (R.J.), 1959. — *Sagitta lyra*, a biological indicator species in the subarctic waters of the eastern Pacific Ocean. — *J. Fish. Res. Board Canada.*, vol. **16** (6), p. 795-805.
- MASSUTI-OLIVER (M.), 1954. — Sobre la biologia de las *Sagitta* del plancton del Levante español. — *Publ. Inst. Biol. aplicada.*, vol. **16**, p. 137-148.
- RUSSEL (F.S.), 1932. — On the biology of *Sagitta*. The Breeding and Growth of *Sagitta elegans* VERRILL in the Plymouth Area 1930-31. — *J. Mar. Biol. Ass.*, vol. **18**, p. 131-145

---

(1) *Sagitta inflata* présente, par exemple, deux périodes de maturité sexuelle dans la Méditerranée (GHIRARDELLI, 1951; MASSUTI-OLIVER 1954) et elle en a trois ou quatre dans l'Atlantique (FURNESTIN, 1957).

TRÉGOUBOFF (G.), 1960. — Rapport du Président sur l'activité du Comité du Plancton pendant la XVI<sup>e</sup> Assemblée plénière. — *Rapp. et P. V. Comm. int. Explor. sci. Mer Médit.*, vol **15** (2), p. 227-247.

VANNINI (E.), 1954. — Il nucleolo nella vita della cellula. — *Boll. Zool.*, vol. **21** (2) p. 649-708.

Une bibliographie plus étendue sur les Chétognathes comme indicateurs hydrologiques et sur leur biologie est rapportée dans mes travaux de 1959 et de 1960 cités ici.

---