

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR L'HERMAPHRODISME D'ASTERINA GIBBOSA. GREFFES DE GONADES JEUNES.

par

Robert Delavault

Laboratoire de Biologie animale S.P.C.N.,
Faculté des Sciences d'Orsay et C.S.U. d'Orléans.

Résumé

Un travail antérieur a montré que chez l'Etoile de mer *Asterina gibbosa*, des homogreffes de gonades semblent réussir tout aussi bien que des autogreffes. La comparaison adoptée alors ayant été indirecte, un nouveau mode opératoire est mis ici au point pour apprécier directement la validité du résultat. La technique consiste à pratiquer une autogreffe de contrôle chez tout animal qui fournit la gonade transplantée.

De cette manière on a pu confirmer le résultat en question.

Par ailleurs, *Asterina gibbosa* étant hermaphrodite protérandre, on a constaté, à la suite d'homogreffes de gonades jeunes, une atténuation de la spermatogenèse s'accompagnant, peut-être, d'un regain de l'ovogenèse.

On émet ici l'hypothèse que les résultats pourraient être encore plus significatifs en pratiquant les interventions à une date plus précoce que lors des expériences précédentes. On s'appuie sur l'idée que dans ces conditions, les gonades étant encore plus jeunes, le nombre de gonocytes indifférenciés pourrait être plus important.

En réalité, les résultats obtenus à la suite d'autogreffes et de transplantations ainsi conduites, mettent en évidence un arrêt de l'activité des gonades, en dépit de leur survie. Par conséquent, si l'on ne vérifie pas l'hypothèse, on montre cependant que l'état génital des gonades, lors de l'intervention, doit conditionner leur sort ultérieur. Cet état dépend sans doute de la migration des gonocytes, de l'anneau aboral vers les gonades.

INTRODUCTION

Rappel des recherches précédentes.

Asterina gibbosa est une petite Etoile de mer hermaphrodite s'élevant facilement en laboratoire, ce qui permet de l'utiliser à des fins expérimentales en vue d'élucider le déterminisme de la cyto-différenciation gamétique des deux lignées.

A cet égard, une publication antérieure (Delavault, 1963) a fait état d'un certain nombre de résultats obtenus à la suite de greffes de gonades, cette méthode visant à perturber les cycles génitaux.

Ceux-ci sont différents selon que la spermatogenèse ou l'ovogenèse domine au cours de la vie des individus. En effet, cette espèce est

généralement représentée par des animaux protéandriques chez lesquels se manifeste, peut-être périodiquement, une nouvelle poussée spermatogénétique discrète, à laquelle Cognetti (1956, 1958) a donné le nom de « spermatogenèse secondaire ».

Les *Asterina* provenaient de Dinard et, à ce titre, suivant la terminologie de Bacci (1951), appartiennent à une race se rapprochant du type « équilibré » (Delavault, 1960) où l'hermaphrodisme est de règle, les individus accomplissant leur virage sexuel sensiblement au même âge.

Les résultats obtenus précédemment peuvent se résumer ainsi :

1. La réussite d'homogreffes semble tout aussi bonne que celle d'autogreffes.
2. De tous les transplants, ce sont ceux provenant d'individus jeunes, s'orientant vers une activité spermatogénétique dominante, qui doivent surtout retenir l'attention. En effet, non seulement ils ne subissent aucune dégénérescence, mais ils permettent de vérifier qu'il existe une compétition entre les deux lignées sexuelles.
3. Cette compétition peut être perturbée à la suite d'homogreffes. La perturbation se traduit par un amoindrissement de l'activité spermatogénétique s'accompagnant, peut-être, d'un regain de l'activité ovogénétique.

Nécessité de nouvelles recherches.

Un certain nombre de points demeurent en suspens. Parmi eux, on peut en retenir deux.

Le premier concerne le sort des gonades autogreffées et des gonades transplantées. Nous savons que, dans l'une comme dans l'autre éventualité, les proportions de succès sont comparables. Mais cette constatation reposait sur une comparaison *indirecte* des résultats. Je signalais donc à ce propos (Delavault, 1963, cf. p. 481), qu'il fallait, dans l'avenir, pratiquer une autogreffe de contrôle chez tout animal dont une gonade est utilisée en homogreffe. De cette manière, la comparaison se soustrait à toute critique.

Le second point vise le comportement des transplants provenant d'animaux dont les gonades en place subissent une orientation mâle dominante. Ce comportement, nous le savons, leur est particulier. Mais il convient désormais de préciser que les transplantations ont été effectuées à *la fin du mois de novembre*. On peut donc se demander quel serait le sort des greffons si les interventions avaient lieu plus tôt, ce qui revient à dire qu'elles porteraient sur des gonades dont l'état génital est moins avancé.

En effet, pour interpréter la présence des jeunes ovocytes dans les greffons, alors que les gonades témoins en sont dépourvues (Delavault, 1963, cf. p. 490, fig. 10), j'ai présumé que certains gonocytes pourraient être sexuellement indifférenciés au moment du transport de la gonade. Ainsi, placés hors de leur milieu habituel, ils pourraient subir une orientation sexuelle diamétralement opposée à celle qui les destine normalement à la formation de spermatozoïdes. Dès lors, on peut espérer, en procédant comme je viens de l'indiquer,

que les transplants contiendront davantage de gonocytes indifférenciés et que les résultats seront plus significatifs.

C'est l'étude de ces deux points qui fait l'objet du présent travail.

Technique.

Etant donné le plus grand intérêt des animaux jeunes, seuls ces derniers ont été retenus pour fournir des transplants. On entend par animaux jeunes, ceux dont la longueur moyenne des bras s'échelonne de 4 à 11 mm. Comme dans les expériences antérieures, les *Asterina* proviennent de Dinard.

Ici, une nouvelle technique a été mise au point (Fig. 1) ; elle

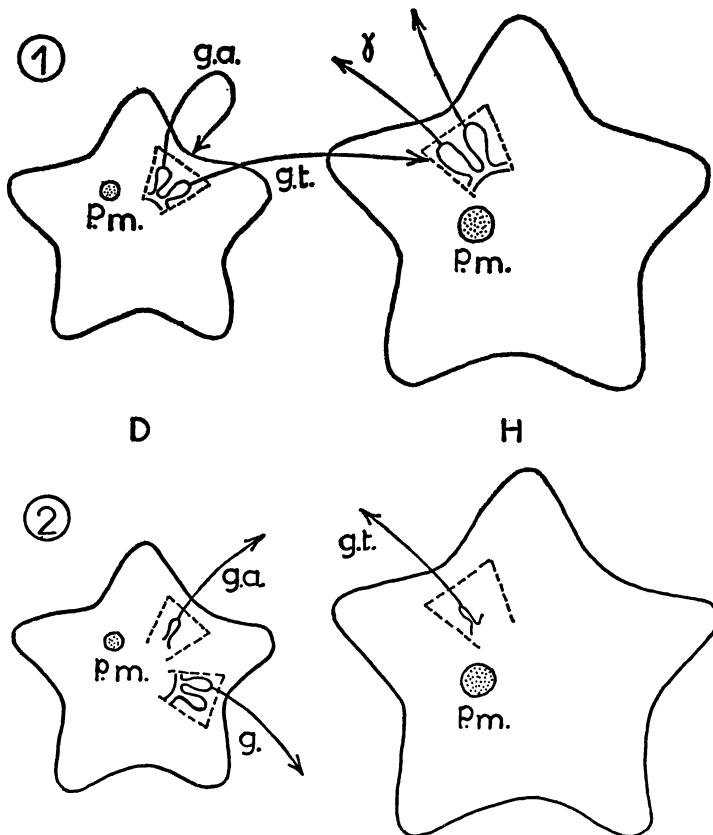


FIG. 1
Technique des homogreffes et des autogreffes de contrôle.

- 1 : *Première intervention* : Le donneur D fournit une gonade : g.t. qui est transplantée dans l'hôte H. La glande sœur de g.t. est détachée puis remise en place ; c'est la glande autogreffée : g.a. On connaît l'état génital de l'hôte grâce à l'examen d'une de ses gonades : γ ; la gonade de la même paire est retirée et jetée.
- 2 : *Deuxième intervention* : A une date ultérieure, on recherche g.t. et g.a. Le donneur fournit une gonade g. qui permet de connaître l'état génital des glandes qui sont demeurées en place.
p.m. indique l'emplacement de la plaque madréporique qui est utilisée comme repère.

intéresse, comme autrefois, des donneurs dont les gonades sont transplantées chez des hôtes de plus grande taille dont on peut présumer qu'ils sont en phase femelle dominante.

A une date donnée, on prélève chez chaque donneur une gonade : g.t., qui est transplantée chez l'hôte. On pourra vérifier que ce dernier est bien en phase femelle dominante en examinant la gonade γ qu'on en extrait en même temps qu'on effectue la transplantation. Chez ce même animal, la gonade de la même paire est également extirpée puis jetée.

Chez le donneur, on prélève la glande sœur de g.t. et on la replace immédiatement dans l'interradius ; c'est la gonade autogreffée : g.a. Cette glande est coupée de ses connexions avec le sinus génital, comme la gonade transplantée. A une date ultérieure, on recherche g.t. et g.a. Le donneur fournit alors une gonade témoin : g. qui précise, à cette date, l'aspect génital des glandes demeurées en place.

Toutes ces interventions sont effectuées dans l'eau de mer, sans anesthésie des animaux.

I - OBSERVATIONS MACROSCOPIQUES

Elles portent sur la récupération des gonades implantées, la durée de leur survie et leur taille.

J'utiliserai ici les résultats fournis par 10 « couples » d'*Asterina*.

A) Proportions de gonades retrouvées.

Sur dix *Asterina* prises comme donneur, deux ont eu des gonades qui se sont orientées vers une activité femelle dominante ; sur les huit autres, les glandes traitées suivant une autogreffe ont été retrouvées chez quatre individus alors que celles ayant fait l'objet d'une homogreffe ont subsisté chez six animaux.

Les proportions respectives, exprimées sous forme décimale, sont donc :

$$\begin{aligned} \text{g.a.} &= 0,50 \\ \text{g.t.} &= 0,75 \end{aligned}$$

L'avantage est, ici, au profit des homogreffes.

B) Durée de survie des gonades.

Les premières interventions ont toutes été faites le même jour. Ensuite, la recherche des gonades s'est étalée sur quatre mois, avec des investigations poursuivies à différentes dates. De ce travail résultent les données du tableau 1.

TABLEAU 1

Durée, en semaines, séparant deux opérations successives avec la technique des homogreffes et des autogreffes de contrôle.

g.t. : glande transplantée ; g.a. : gonade autogreffée ; le signe + témoigne de la présence de la glande, le signe — de sa disparition.

	7	9	13	17	19	
g. t.	+	+	+	+	—	—
g. a.	+	+	—	+	—	—

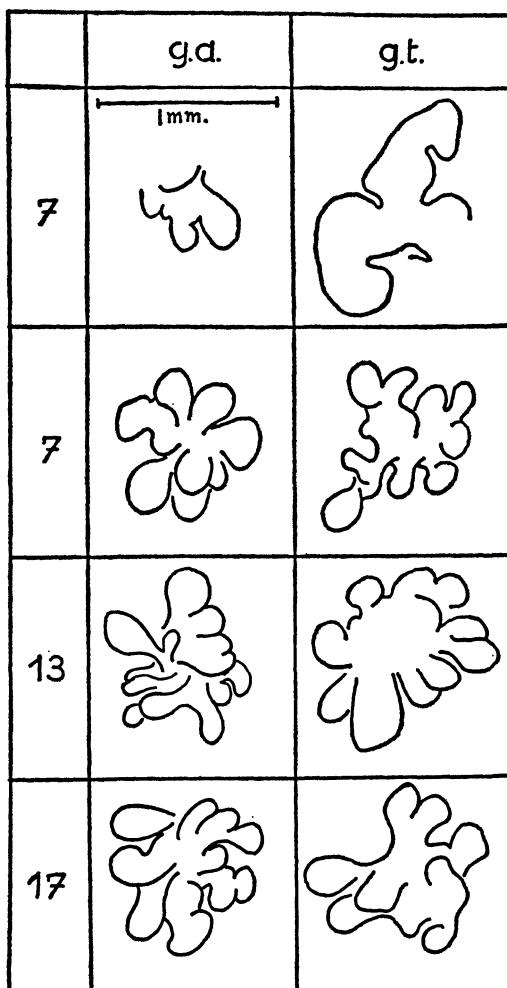


FIG. 2

Dessins de gonades autogreffées et des gonades transplantées correspondantes.

— La colonne de gauche indique le temps, en semaines, du séjour des gonades chez le donneur (g.a.) et chez l'hôte (g.t.).
L'échelle est commune à tous ces dessins.

C) Comparaison des tailles des gonades.

Pour avoir une idée de la taille des glandes greffées, on peut en dessiner les contours ; ce travail est exécuté, avant leur fixation, à l'aide d'une chambre claire. Le tableau 1 nous indique qu'on peut effectuer la comparaison des tailles des glandes autogreffées et des glandes transplantées dans quatre cas.

Les dessins concernant ces gonades font l'objet de la Fig. 2.

On voit qu'aucune glande transplantée n'est plus petite que la glande autogreffée correspondante. Bien au contraire, dans deux cas, la taille de g.t. excède celle de g.a. : greffon ayant séjourné sept semaines (dessins du haut) et greffon ayant séjourné treize semaines dans l'hôte.

II - OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES

Elles concernent les gonades dont nous venons de faire l'étude macroscopique. Toutes les glandes génitales ont été fixées au Helly, les coupes étant colorées à l'hématoxyline ferrique.

Rappelons que lors des expériences antérieures (Delavault, 1963), les homogreffes avaient été faites fin novembre. J'ai donc procédé ici à des interventions se plaçant au début du mois d'octobre.

Parmi les cas où les deux glandes : transplantée et autogreffée, ont été retrouvées, j'en retiendrai deux : celui où le délai entre les opérations successives est de treize semaines, et celui où il se chiffre à dix-sept semaines.

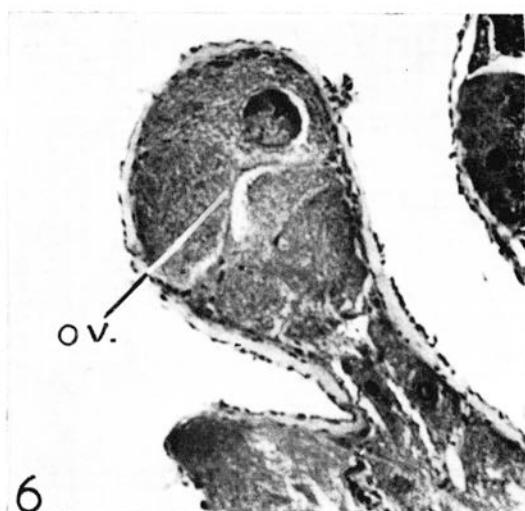
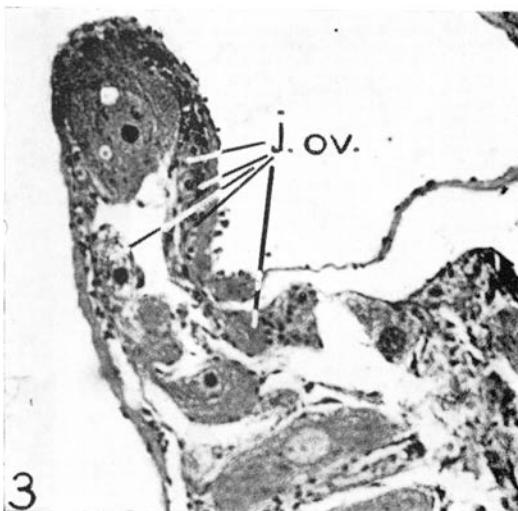
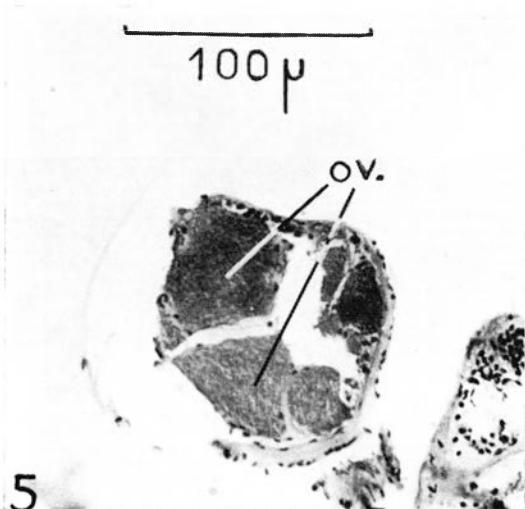
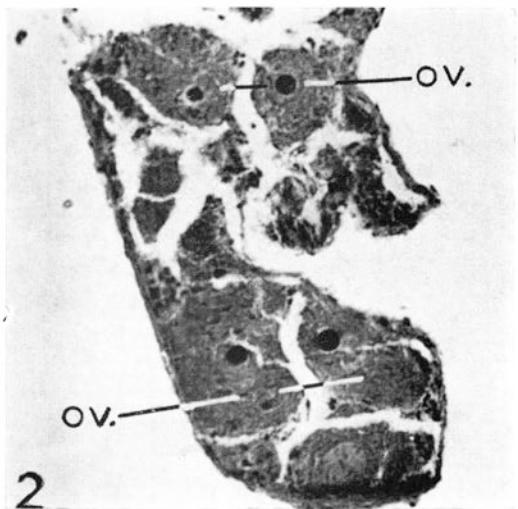
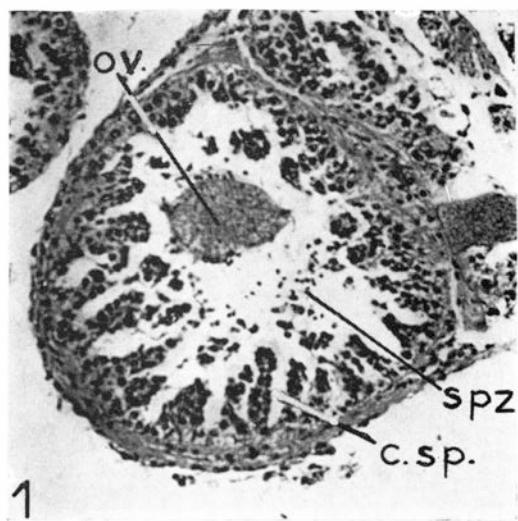
A) Durée du séjour des gonades : 13 semaines (Pl. I, 1, 2 et 3).

Manifestement, la gonade témoin : g. s'est orientée vers une activité spermatogénétique (1) : elle montre en effet de nombreuses colonnettes spermatiques le long desquelles s'effectue l'évolution des spermatocytes. On y voit en outre quelques spermatozoïdes, épars dans la lumière de la glande. Enfin, on observe, comme dans toute glande en phase mâle dominante, quelques ovocytes dont un est visible sur la portion de coupe photographiée ici. Par contre, la glande autogreffée : g.a. présente une structure très différente (2) : on

PLANCHE I

*Structure de gonades autogreffées, transplantées, et des gonades témoins.
(Helly ; hématoxyline ferrique)*

- 1, 2 et 3 : durée de l'expérience : 13 semaines.
1 : gonade témoin, g. ; 2 : gonade autogreffée, g.a. ; 3 : gonade transplantée, g.t.
- 4, 5 et 6 : durée de l'expérience : 17 semaines.
4 : gonade témoin ; 5 : gonade autogreffée ; 6 : gonade transplantée.
- *Légende : c.sp. : colonnettes spermatiques ; spz. : spermatozoïdes ; ov. : ovocytes ; j.ov. : très jeunes ovocytes.*
- *(L'échelle indiquée sur la photo 5 est commune à tous les documents).*



ne peut en effet y discerner que des ovocytes dont la physionomie est celle de cellules encore jeunes.

Quant à la glande transplantée : g.t., il est évident que son aspect (3) rejoint de très près celui de la gonade autogreffée. Tout au plus, en observant très attentivement la coupe, décèle-t-on, de-ci de-là, quelques très jeunes ovocytes de fort petite taille appliqués contre la paroi de la gonade.

B) Durée du séjour des gonades : 17 semaines (Pl. I, 4, 5 et 6).

Ici encore, il est flagrant que la gonade témoin est en phase mâle dominante (4).

La glande autogreffée, elle (5), ne présente que des ovocytes et sa physionomie n'est pas différente de celle que nous avons vue à propos de la glande homologue (Pl. I, 2), dans l'expérience précédente.

La glande transplantée, enfin (6), a une structure tout à fait identique à celle de la glande autogreffée.

En résumé :

Si les gonades témoins demeurées en place ont effectivement évolué vers la phase mâle dominante, les gonades ayant subi soit une autogreffe, soit une homogreffe, présentent toujours une structure de gonade jeune. Pour en être convaincu il suffit de comparer cette structure à celle déjà présentée dans le travail de 1963 (cf. p. 486, photos 1 et 4).

III - INTERPRÉTATION ET DISCUSSION

Nous porterons d'abord notre intérêt sur la survie des greffons, puis sur leur structure.

A) La survie des greffons.

On peut l'apprécier en s'appuyant sur les proportions de glandes retrouvées. Or, si l'on compare les chiffres obtenus, on voit que l'avantage appartient aux homogreffes.

Quant à la durée de survie (cf. tableau 1), elle est assez incertaine, mais, là encore, les homogreffes résistent tout aussi bien, sinon mieux, que les autogreffes.

Nous vérifions ainsi directement ce qui était avancé dans le travail précédent (Delavault, 1963), c'est-à-dire qu'une homogreffe ne nuit pas davantage à une gonade qu'une autogreffe.

Nous serions même tentés de penser le contraire à la suite de l'examen des tailles des gonades (Fig. 2), puisque, dans la moitié des cas, le bénéfice de la taille profite aux glandes transplantées.

B) Signification de la structure des greffons.

Ici, comme autrefois (Delavault, 1963, cf. p. 477, fig. 4), les gonades transplantées : g.t. sont traitées dans les mêmes conditions.

Or, contrairement aux résultats précédents, ces gonades ne présentent plus désormais les mêmes aspects. En fait, elles ont très certainement conservé la structure qu'elles possédaient au moment de leur transport dans l'hôte. En d'autres termes, leur évolution s'est trouvée bloquée.

Il convient aussi de retenir que les gonades autogreffées ont subi le même sort. Leur identité d'aspect avec les gonades transplantées autorise à formuler cette remarque. A leur propos donc, nous devons admettre que la simple rupture des cordons qui les rattachent aux autres gonades s'accompagne de l'arrêt de leur fonctionnement.

Cette remarque nous porte à penser que le blocage de l'activité des gonades autogreffées est lié au fait que la migration des gonocytes en leur sein s'est trouvée interrompue. On sait en effet (Lender et Huet, 1962 a et b, Huet, 1965) qu'une telle migration existe ; elle se déroule de l'anneau aboral vers les gonades grâce à un transit dans les cordons génitaux.

En bref, les gonades ont été prélevées *trop tôt* ; elles survivent, mais sans plus. Dès lors, contrairement à l'hypothèse formulée dans l'introduction, le nombre des gonocytes contenus dans les gonades au moment de l'intervention doit être insuffisant pour que celles-ci manifestent ensuite une activité.

Quelques mots doivent être dits cependant à propos des très jeunes ovocytes observés dans l'une des gonades transplantées (Pl. I, 3).

Deux éventualités au moins sont possibles : ou bien ces ovocytes existaient déjà dans la gonade au moment de son transport, ou bien ils sont apparus au cours de son séjour dans l'hôte. Dans la seconde éventualité, ce résultat n'aurait pas lieu de nous surprendre puisque de tels ovocytes ont déjà été observés (Delavault, 1963). Ces jeunes cellules pourraient donc tirer leur origine de quelques gonocytes indifférenciés, propres à cette gonade et s'orientant exceptionnellement vers le sexe femelle.

S'il est impossible de trancher, nous pouvons du moins retenir que cette observation n'est pas en contradiction avec celles faites autrefois.

IV - CONCLUSION

En confirmant ici le succès de la technique des homogreffes de glandes jeunes chez *Asterina gibbosa*, on s'assure avec beaucoup de sécurité d'un procédé expérimental qui peut contribuer à éclaircir le problème de la cytodifférenciation des gamètes chez cet hermaphrodite.

On arrive en effet, de cette manière, à maintenir une gonade hors de ses rapports anatomiques et physiologiques habituels. Dès lors, on peut espérer connaître les modifications éventuelles de son activité. On sait d'ailleurs qu'on peut perturber le déroulement normal de l'activité mâle dominante. On pouvait espérer, ici, de nouvelles informations sur ce sujet. S'il n'en est rien, on ne doit pas, pour autant, négliger les résultats obtenus car ils présentent un réel intérêt.

Ils prouvent en effet que, de toute manière, l'état génital de la gonade, au moment de sa transplantation, doit avoir des répercussions sur le sort ultérieur qu'elle subit au sein de l'hôte qui l'héberge.

Riassunto

In un lavoro precedente è stato dimostrato che nella stella di mare *Asterina gibbosa* tutti gli omotriplanti di gonadi sembrano attecchire benissimo analogamente a quanto si verifica per gli autotriplanti.

Poiché la comparazione che allora era stata adottata era indiretta, nel presente lavoro viene messo a punto un nuovo metodo operatorio per rendersi conto direttamente della validità del risultato. La tecnica consiste nel praticare un autotriplanto di controllo in ciascun animale che fornisce la gonade per il trapianto. In questa maniera è stato possibile confermare il risultato in questione.

D'altra parte dato che l'A. *gibbosa* è un ermafrodita proterandrico, si è constatato, in seguito a omotriplanti di gonadi giovani, una diminuzione della spermatogenesi a cui fa riscontro forse un ritorno dell'ovogenesi.

Si fa l'ipotesi che i risultati potrebbero essere ancora più significativi praticando gli interventi a una data più precoce di quella delle esperienze precedenti. Ciò in base al fatto che in queste condizioni, essendo le gonadi ancora più giovani, il numero dei gonociti indifferenziati potrebbe essere maggiore. In realtà i risultati ottenuti con i metodi descritti precedentemente, mettono in evidenza un arresto dell'attività delle gonadi che pur sopravvivono. Di conseguenza se l'ipotesi non si verifica, viene tuttavia dimostrato che lo stato genitale delle gonadi, al tempo dell'intervento condiziona il loro ulteriore destino. Questo stato dipende senza subbrio dalla migrazione dei gonociti dall'anello aborale verso le gonadi.

Zusammenfassung

Eine Frühere Arbeit hat gezeigt, dass beim Seestern *Asterina gibbosa* die Homotransplantation der Gonaden ebenso erfolgreich ist, wie die Autotransplantation. Da der damals vorgenommene Vergleich indirekt war, ist eine neue Operationsmethode entwickelt worden, die eine direkte Bewertung der Gültigkeit der Resultate ermöglicht. Die Technik besteht in einer zum Zweck der Kontrolle durchgeföhrten Autotransplantation für jedes Tier, das eine Gonade für die Transplantation liefert hat.

Auf diese Weise hat das genannte Resultat bestätigt werden können.

Da *Asterina gibbosa* ein protandrischer Hermaphrodit ist, war es ausserdem möglich, nach der Homotransplantation junger Gonaden eine Werminderung der Spermatogenese festzustellen, die vielleicht von einer Vermehrung der Ovogenese begleitet ist.

Es wird die Hypothese aufgestellt, dass die Resultate vielleicht noch deutlicher wären, wenn die Eingriffe an einem früheren Datum vorgenommen würden, als das bei den vorhergehenden Experimenten der Fall war. Man kann sich dabei auf die Tatsache stützen, dass unter solchen Bedingungen die Gonaden jünger wären, und dass deshalb die Zahl der undifferenzierten Gonozyten grösser sein könnte. Die Resultate, die nach unter diesen Bedingungen durchgeföhrten Autotransplantationen erhalten wurden, zeigen in Wirklichkeit einen Stillstand der Gonaden, obwohl dieselben überleben. Obwohl das Experiment infolgedessen die aufgestellte Hypothese nicht bestätigt, zeigt es immerhin, das Stadium der Gonaden, in dem sie sich im Moment des Eingriffes befinden, ihr späteres Schicksal bestimmen. Dieses Stadium hängt zweifellos von der Wanderung der Gonozyten vom aborale Ring zu den Gonaden ab.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BACCI, G., 1951. — On two sexual races of *Asterina gibbosa* (Penn.). *Experientia*, 7, pp. 31-37.
- COGNETTI, G., 1956. — Autofecondazione in *Asterina*. *Boll. Zool.*, 23, pp. 275-278.
- COGNETTI, G., 1958. — La spermatogenesi secondaria in *Asterina* e la colorazione degli individui proteroginici di *Asterina gibbosa*. *Rend. Acc. Naz. Lincei*, 24, pp. 325-327.
- DELAVAULT, R., 1960. — Les cycles génitaux chez *Asterina gibbosa* de Dinard. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 251, pp. 2240-2241.
- DELAVAULT, R., 1963. — Recherches expérimentales sur la sexualité des hermaphrodites chez *Asterina gibbosa*: Greffes de glandes génitales. *Arch. Anat. Micr. Morphol. Exp.*, 52, pp. 469-496.
- HUET, M., 1965. — Action des rayons X sur la lignée germinale et la régénération de l'appareil génital d'*Asterina gibbosa* Penn. (Echinoderme). *C.R. Acad. Sc. Paris*, 260, pp. 707-709.
- LENDER, TH. et HUET, M., 1962, a. — Sur la régénération des gonades d'*Asterina gibbosa* (Penn.). *C.R. Acad. Sc. Paris*, 254, pp. 2447-2449.
- LENDER, TH. et HUET, M., 1962, b. — Etude de la régénération de l'appareil génital d'une Astéride: *Asterina gibbosa*, Penn. *Bull. Soc. Zool. France*, 87, pp. 191-196.