

INFLUENCE DE L'ÉCLAIREMENT SUR LA PONTE DE *CIONA INTESTINALIS* L. (TUNICIER ASCIDIACÉ).

par

Danielle Georges

Laboratoire de Zoologie de la Faculté des Sciences de Grenoble (1).

Résumé

L'éclairement permanent exerce une forte inhibition sur la ponte de *Ciona intestinalis*. L'inversion des périodes de lumière et d'obscurité par rapport au cycle diurne normal entraîne un déplacement de l'heure de ponte : celle-ci se produit régulièrement peu avant la fin d'une période d'obscurité. L'action inhibitrice de la lumière est prépondérante sur l'effet stimulateur de l'ablation de la glande neurale : en éclaircissement permanent l'ablation de la glande neurale n'est pas suivie d'une augmentation de l'activité de ponte.

Introduction

Malgré divers travaux récents (P. Sengel et M. Kieny, 1963 ; C. Bouchard-Madrelle, 1967), le rôle et le fonctionnement de la glande neurale restent encore passablement obscurs. J.M. Pérès (1943) a contesté l'activité ocytotique attribuée à la glande à la suite des expériences de Z.M. Bacq et M. Florkin (1935) : il s'agirait plutôt d'un organe phagocytaire. Cependant, des recherches ultérieures ont amené D.B. Carlisle (1951) à homologuer la glande neurale et le pavillon cilié des Ascidies à l'hypophyse des Vertébrés. Des expériences réalisées au cours des étés 1965 et 1966 sur des Ascidies de l'espèce *Ciona intestinalis* L. nous avaient permis d'établir des relations entre le complexe neural, plus particulièrement la glande neurale, et la libération des produits génitaux (P. Sengel et D. Georges, 1966) : chez des animaux maintenus dans des conditions normales d'éclairement (alternance jour-nuit), l'ablation de la glande neurale stimule la ponte. Nous avons d'autre part constaté que l'éclairement permanent diminue le pourcentage des animaux capables de pondre. J.M. Pérès avait pensé que l'alternance normale de lumière et d'obscurité était l'un des facteurs essentiels du déclenchement *initial* de la ponte, mais que, le cycle de ponte une fois amorcé, les émissions ultérieures ne pouvaient plus être entravées par l'expérimentation.

J'ai repris le problème de l'influence de l'éclairement sur la ponte en essayant de répondre aux questions suivantes :

(1) Domaine universitaire, 38 - Saint-Martin-d'Hères.

1° - des variations des conditions d'éclairement sont-elles capables de perturber l'activité de ponte de *Ciona* intactes ayant déjà effectué plusieurs cycles de ponte ?

2° - étant donné l'effet stimulateur de l'ablation de la glande neurale sur la libération des ovules, quel est le rôle joué par la lumière chez des animaux privés des différentes parties du complexe neural ?

Matériel et méthodes

Les expériences ont été réalisées à la Station biologique de Roscoff (1) sur *Ciona intestinalis* L. Ces animaux, vivant à faible profondeur à l'abri de la lumière, sont détachés de la paroi des pierres et maintenus en aquarium à une température de 18° C.

Pendant les expériences, les Ascidies sont élevées dans des coupelles individuelles dont l'eau est renouvelée une ou deux fois par jour. Chaque matin le nombre d'animaux ayant pondu est noté.

L'éclairement permanent est réalisé à l'aide de tubes fluorescents de 2560 Lm situés à 60 cm au-dessus des coupelles d'élevage.

Avant les opérations (ablation du ganglion nerveux ou de la glande neurale), les animaux sont anesthésiés pendant 1/2 heure dans une solution à 0,04 p. 100 de MS 222 dans de l'eau de mer filtrée. La tunique est fendue au niveau du complexe neural et l'excision des différentes parties se fait à l'aide de ciseaux à iris de Pascheff-Wolff. Les conditions particulières d'élevage seront précisées pour chaque type d'expérience.

RÉSULTATS

I. - Influence des conditions d'éclairement sur l'activité de ponte d'animaux non opérés.

a. *Inversion des périodes de lumière et d'obscurité par rapport au cycle diurne.*

Placés dans les conditions normales d'alternance du jour et de la nuit, les animaux pondent généralement le matin entre 3 h 30 et 4 h.

2 lots de 25 animaux sexuellement mûrs (oviducte plein d'ovules) sont mis en expérience le 31.8.1965 à 10 h (Fig. 1).

Le premier lot servant de témoin est élevé dans les conditions d'éclairement normal : 13 h de lumière (6 h à 19 h) et 11 h d'obscurité.

Le deuxième lot est placé pendant 13 h en lumière artificielle de 19 h 30 à 8 h 30 et 11 h en obscurité (8 h 30 à 19 h 30). Ces animaux restent donc exposés à la lumière depuis le 31 août à 10 h au 1^{er} septembre à 8 h 30.

(1) Je tiens à remercier M. le Professeur Teissier, qui m'a autorisée à séjourner plusieurs mois à la Station biologique de Roscoff.

Dans les 2 lots, les pontes sont obtenues dès la fin de la *première* période d'obscurité, entre 3 h 30 et 4 h pour les témoins et entre 17 et 18 h pour les animaux expérimentaux. Pour ces derniers, dont le cycle diurne est inversé, la première ponte après la mise en expérience est retardée de 14 à 15 h par rapport à celle des témoins.

Le volume des pontes est semblable dans les 2 lots.

L'alternance de lumière et d'obscurité a donc une influence déterminante sur le rythme de ponte de *Ciona*. L'émission des ovules se place invariablement un peu avant la fin d'une période d'obscurité. La question se pose alors de savoir si cette alternance est nécessaire ou si l'une des deux phases suffit à l'accomplissement normal de la ponte.

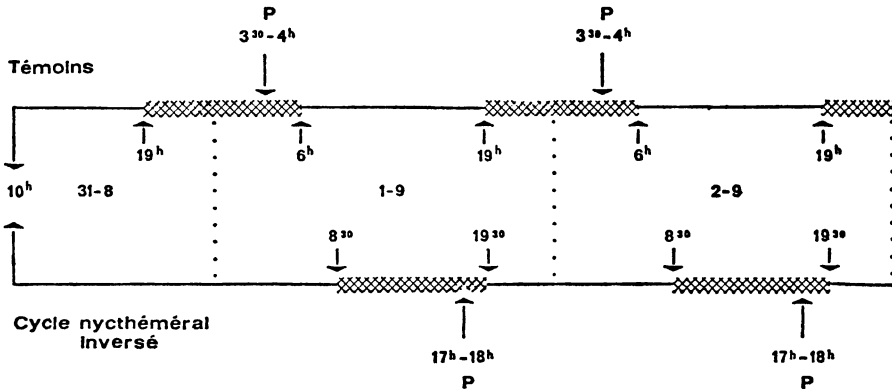


FIG. 1

Comparaison de l'heure de ponte de *Ciona intestinalis* élevées selon un cycle nycthéral inverse de celui d'animaux témoins maintenus dans des conditions normales d'éclairement, au cours des 3 premiers jours de l'expérience.

P : ponte.

Les zones quadrillées représentent les périodes d'obscurité.

b. Eclairement permanent.

Pour répondre à cette question j'ai soumis un lot de 45 *Ciona* adultes à un éclairage permanent.

30 témoins ont été élevés dans des conditions d'éclairement normal. Les résultats sont donnés par le tableau I et la figure 2.

Il faut remarquer tout d'abord que la mortalité est beaucoup plus importante chez les animaux soumis à un éclairage continu (26 sur 45) que chez ceux qui ont un rythme nycthéral normal (4 sur 30), malgré les précautions prises pour maintenir une température de 18° C.

Les courbes sont caractérisées par une alternance de pics et de creux, ce qui traduit le fait que les *Ciona* en élevage pondent régulièrement tous les deux ou trois jours. L'éclairage permanent diminue fortement le pourcentage des animaux capables de pondre ($\chi^2 = 10,1$; $P < 0,005$) mais ne modifie pas cette périodicité de la ponte.

Pour préciser l'action inhibitrice de l'éclairage permanent sur la ponte des animaux, j'ai placé pendant une semaine une série de

4 lots, comportant chacun 10 *Ciona*, dans différentes conditions d'éclairage.

Lot 1 : éclairage nycthéméral normal.

Lot 2 : éclairage normal pendant 2 jours puis éclairage permanent.

Lot 3 : éclairage permanent.

Lot 4 : obscurité permanente.

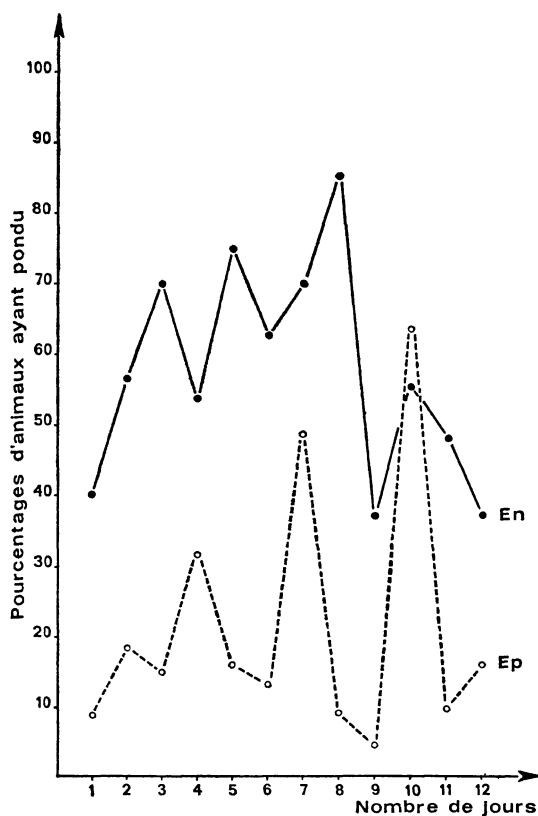


FIG. 2

Activité de ponte chez des *Ciona intestinalis* maintenues en éclairage permanent (Ep : trait continu) et en éclairage normal (En : trait interrompu).

L'expérience a été réalisée avec 2 autres séries dans les mêmes conditions et les effets ont été semblables. Les résultats de la première série sont exprimés par la figure 3 représentant le nombre d'animaux ayant pondus chaque jour :

— l'obscurité permanente n'empêche pas les animaux de pondre, ce qui n'est pas étonnant puisque, dans la nature, les *Ciona* sont généralement fixées à l'abri de la lumière ;

— la plupart des animaux du lot 3 ne pondent pas. Quelques sujets pondent les premiers jours de l'expérience. Dès le 5^e jour on n'observe plus aucune libération d'œufs ;

— en ce qui concerne le lot 2, les animaux pondent normalement les deux premiers jours, lorsque les conditions d'éclairement sont normales, puis ils cessent de pondre à partir du moment où ils sont exposés de façon continue à la lumière ;

— pour les lots 2 et 3, l'arrêt de ponte ne peut s'expliquer que par une action inhibitrice de la lumière car l'oviducte de ces animaux est plein d'œufs.

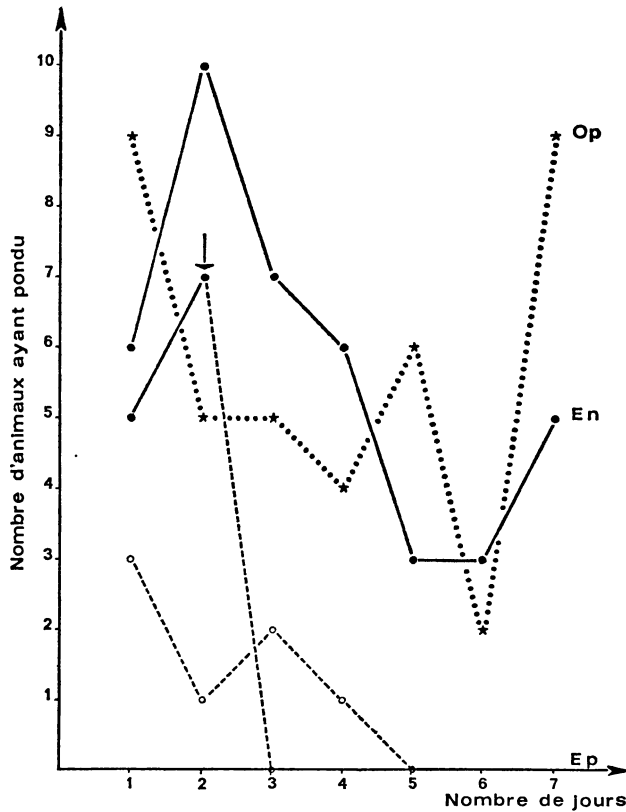


FIG. 3

Comparaison de l'activité de ponte chez des *Ciona intestinalis* placées dans différentes conditions d'éclairement.

En (trait continu) : éclairage nycthéral normal ; Ep (trait interrompu) : éclairage permanent ; Op (pointillé) : obscurité permanente. La flèche indique la mise en éclairage continu des animaux du lot 2.

II. - Influence de l'éclairement sur les animaux opérés.

Nous avons repris en éclairage continu certaines expériences déjà réalisées en éclairage normal (P. Sengel et D. Georges, 1966) :

- ablation du ganglion nerveux ;
- ablation de la glande neurale et de l'extrémité des siphons où sont situés les ocelles ;
- ablation des ocelles seuls.

Les témoins subissent un simulacre d'opération consistant à inciser la tunique au niveau du complexe neural.

a. *Ablation du ganglion nerveux N.*

Les résultats sont exprimés par le tableau I et la figure 4.

Dès le 6^e jour, les moignons des nerfs commencent à régénérer (cf. Th. Lender et C. Bouchard-Madrelle, 1964) et parfois un filet nerveux est déjà visible au-dessus de la glande. On n'observe pas de différences importantes, en ce qui concerne le pourcentage des animaux ayant pondu, entre les témoins et les opérés. La même constatation avait été faite pour les expériences réalisées en éclairage normal. Quelles

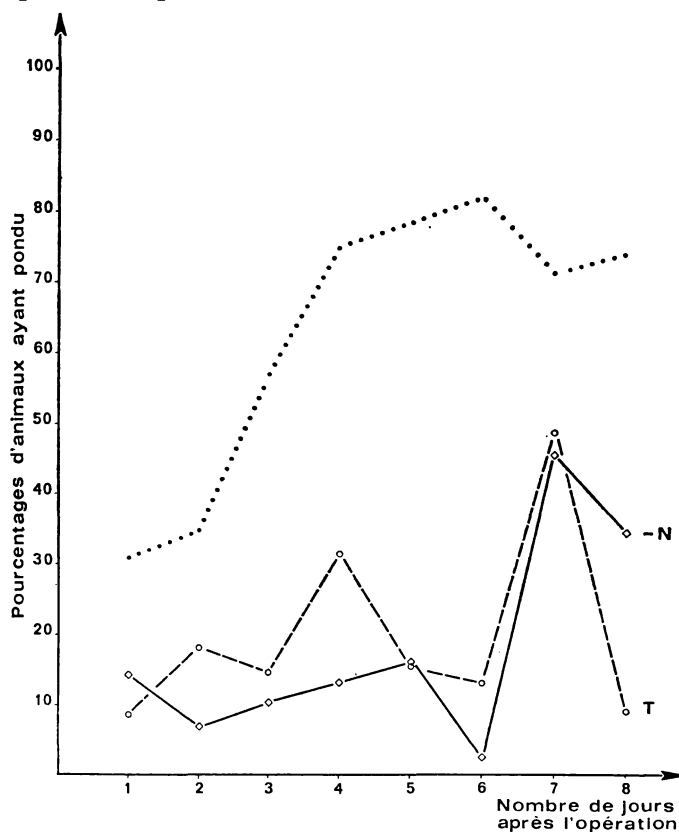


FIG. 4

Activité de ponte chez des *Ciona* maintenues en éclairage permanent et ayant subi l'ablation du ganglion nerveux (— N : trait continu). T (trait interrompu) : témoins ayant subi une opération simulée. Le pointillé reproduit la courbe correspondant à l'activité de ponte des animaux ayant subi l'ablation du ganglion nerveux et élevés dans des conditions d'éclairage normal (cf. Sengel et Georges, 1966).

que soient les conditions de lumière, l'ablation du ganglion semble supprimer la périodicité de la libération des œufs toujours observée chez les animaux non opérés. Mais, dès le 6^e jour après l'opération, tous les sujets reprennent un rythme normal de ponte.

b. *Ablation de la glande neurale et des ocelles.*

Nous avons constaté, en éclairage nycthéméral normal, que l'ablation de la glande neurale et des ocelles avait le même effet que

l'ablation du complexe neural ; ce qui s'expliquait puisque les mêmes voies nerveuses et humorales étaient détruites : ces ablations produisaient dès le jour suivant l'opération une forte stimulation de la ponte (P. Sengel et D. Georges, 1966). J.M. Pérès (1943) avait constaté que l'ablation des ocelles n'avait pas d'effet sur la ponte.

Au cours de cette expérience, 12 animaux sont privés de la glande neurale et des ocelles, 12 ne subissent que la section des siphons sur

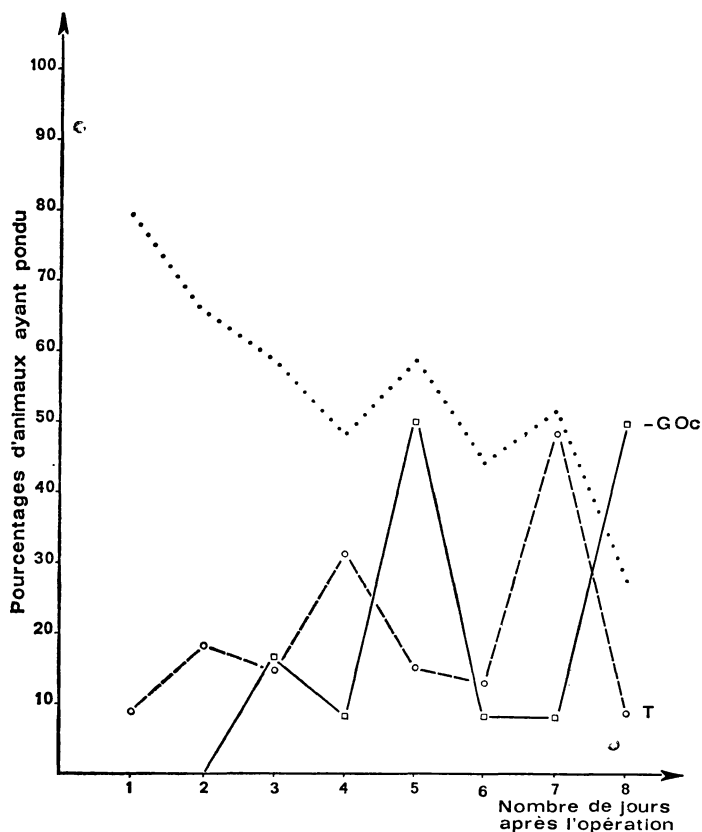


FIG. 5

Activité de ponte chez des animaux maintenus en éclairage permanent et ayant subi l'ablation de la glande neurale et des ocelles (— G Oc : trait continu). T (trait interrompu) : témoins ayant subi une opération simulée. Le pointillé reproduit l'activité de ponte des animaux élevés en éclairage normal et ayant subi la même opération (cf. Sengel et Georges, 1966).

lesquels sont situés les ocelles. Leur activité de ponte est comparée à des animaux ayant subi seulement une opération simulée.

— Les résultats de l'ablation des ocelles seuls confirment les expériences de J.M. Pérès (voir Tableau I).

— Contrairement à ce qui se produit en éclairage normal, l'ablation de la glande neurale et des ocelles n'augmente pas les pourcentages des animaux ayant pondu (Fig. 5). Les courbes traduisant l'activité de ponte des sujets témoins et des animaux opérés ne montrent pas de différences caractéristiques.

— L'éclairement permanent supprime l'effet stimulateur de l'ablation de la glande neurale sur la ponte, mais n'intervient pas dans la périodicité.

TABLEAU I

J	E n			E p			— N			— G Oc			— O c		
	A	P	p.100	A	P	p.100	A	P	p.100	A	P	p.100	A	P	p.100
1	30	12	40	45	4	8,9	50	7	14	12	0	0	12	2	16,7
2	30	17	56,7	44	8	18,2	43	3	7	12	0	0	12	1	8,3
3	30	21	70	41	6	14,6	39	4	10,3	12	2	16,7	12	5	41,6
4	28	15	53,6	38	12	31,6	38	5	13,2	12	1	8,3	11	4	36,3
5	28	21	75	38	6	15,8	37	6	16,2	12	6	50	11	3	27,3
6	27	17	63	38	5	13,2	36	1	2,8	12	1	8,3	10	2	20
7	27	19	70,4	37	18	48,6	35	16	45,7	12	1	8,3	10	3	30
8	27	23	85,1	22	2	9,1	23	8	34,8	12	6	50	10	5	50

J : nombre de jours après l'expérience ; A : nombre d'animaux mis en expérience ; P : nombre d'animaux ayant pondu ; p. 100 : pourcentage de ponte ; En : animaux intacts en éclaircissement normal ; Ep : animaux intacts en éclaircissement permanent ; — N : ablation du ganglion nerveux ; — G Oc : ablation de la glande neurale et des ocelles ; — Oc : ablation des ocelles.

Conclusion

Les Ascidies en élevage pondent régulièrement tous les 2 ou 3 jours. L'éclairement permanent a un effet direct qui n'est pas limité au déclenchement *initial* de la ponte : il diminue le nombre des animaux capables de pondre mais n'affecte pas le rythme périodique de la libération des œufs. Cette périodicité ne semble modifiée que par l'ablation du ganglion nerveux.

Dans le cas de l'ablation de la glande neurale, l'effet de l'opération est inhibé par l'action inhibitrice prépondérante de l'éclairement continu.

Chez les animaux non opérés, la libération des œufs est liée au cycle diurne : si l'on inverse les phases de lumière et d'obscurité par rapport aux conditions normales, la ponte s'effectue toujours peu avant la fin de la période d'obscurité.

Summary

Permanent lighting strongly inhibits the spawning of *Ciona intestinalis*. The inversion of light and darkness with regard to the normal day and night cycle results in a shifting of the time of spawning, which occurs with regularity shortly before the end of a period of darkness. The inhibitory action of light prevails over the stimulating effect of the removal of the neural gland: in permanent lighting the removal of the neural gland is not followed by an increase of the spawning rate.

Zusammenfassung

Fortwährendes Beleuchten übt eine starke Hemmung auf das Laichen von *Ciona intestinalis* aus. Die Umkehr der Licht- und Dunkelheitsperioden im Vergleich zum normalen Tag- und Nachtablauf hat eine Verschiebung der Eiablagezeit zur Folge : die Ablage setzt regelmässig kurz vor dem Ende einer Dunkelheitsperiode ein. Die hemmende Wirkung des Lichtes überwiegt gegenüber dem stimulierenden Effekt der Extirpation der Neuraldrüse : bei dauernder Belichtung führt die Extirpation der Neuraldrüse keine Erhöhung der Legetätigkeit herbei.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BACQ, Z.M. et FLORKIN, M., 1935. — Action pharmacologique d'un extrait d'hypophyse et de ganglion nerveux d'une Ascidie (*Ciona intestinalis*). *C.R. Soc. Biol. Paris*, 118, pp. 814-815.
- BOUCHARD-MADRELLE, C., 1967. — Influence de l'ablation d'une partie ou de la totalité du complexe neural sur le fonctionnement des gonades de *Ciona intestinalis* (Tunicier, Ascidiacé). *C.R. Acad. Sc. Paris*, 264, pp. 2055-2058.
- CARLISLE, D.B., 1951. — On the hormonal and neural control of the release of gametes in Ascidians. *J. Exp. Biol.*, 28, pp. 463-472.
- LENDER, TH. et BOUCHARD-MADRELLE, C., 1964. — Etude expérimentale de la régénération du complexe neural *Ciona intestinalis* (Prochordé). *Bull. Soc. Zool. Paris*, 89 (4), pp. 546-554.
- PÉRÈS, J.M., 1943. — Recherche sur le sang et les organes neuraux des Tuniciers. *Ann. Inst. Océan. Monaco*, 21, pp. 229-359.
- SENGEL, P. et GEORGES, D., 1966. — Effets de l'éclairement et de l'ablation du complexe neural sur la ponte de *Ciona intestinalis* L. (Tunicier Ascidiacé). *C.R. Acad. Sc. Paris*, 263, pp. 1876-1879.
- SENGEL, P. et KIENY, M., 1963. — Culture de gonades de *Molgula manhattensis*, isolées ou associées au complexe formé par la glande neurale, le ganglion nerveux et l'organe vibratile. *Ann. Epiphyties*, 14, pp. 95-111.