

Étude cytologique des Gonades au cours de la maturation sexuelle des seiches *Sepia officinalis* L. de la baie de Seine : intérêt pour une étude expérimentale

N. Koueta⁽¹⁾, E. Boucaud-Camou et A.M. Renou

Laboratoire de Biologie et Biotechnologies Marines,
Université de Caen, 14032 Caen Cedex

Résumé : L'étude cytologique de l'évolution des cellules germinales et des cellules folliculaires de la seiche *Sepia officinalis* a été réalisée au cours de la maturation sexuelle dans la population de la baie de Seine. Les résultats obtenus montrent qu'au cours de la seconde année de vie, une phase de multiplication intense des cellules germinales mâles (spermatogonies et spermatoctes) a lieu en août et septembre et que la suite de la maturation sexuelle est surtout une phase de différenciation (spermiogenèse). Dans l'ovaire, la multiplication des cellules folliculaires (prévitellogenèse) s'effectue en octobre et novembre, alors que la synthèse du vitellus (vitellogenèse) commence en décembre et s'étend sur tout l'hiver.

Il apparaît clairement que, pour une étude expérimentale de l'action mitogène de la glande optique, les périodes de multiplication intense ainsi définies sont celles où les cellules germinales (spermatogonies et spermatoctes) et les cellules folliculaires sont qualitativement disposées à donner une réponse optimale.

Abstract : A cytological study of germ cells and follicular cells was carried out during the sexual maturation of cuttlefish (*Sepia officinalis*) population from the bay of Seine. The results obtained show that, during the second year of life, an intense multiplication of male germ cells occurs during August and September, the remaining period of maturation being mostly a differentiation phase (spermiogenesis). In female, follicular cell multiplication (previtellogenesis) occurs in ovary during October and November whereas vitellogenesis begins in December and is pursued during winter.

It appears clearly that, in the aim of an experimental study of the mitogenic effect of the optic gland gonadotropin on its target cells, the periods of intense multiplication so established are those in which male germ cells and follicular cells are likely to give an optimal response and should be the most suitable to undertake experimental studies.

INTRODUCTION

Les études expérimentales réalisées par Durchon et Richard (1967), Richard (1971) ont démontré la réalité des contrôles exercés par la glande optique dans la maturation génitale mâle et femelle chez la seiche. En particulier ces travaux, grâce à l'utilisation des cultures d'organes, ont montré l'existence d'un effet mitogène de la gonadotropine de la glande optique de seiche mâle et femelle sur les gonies et les cellules folliculaires. Toutefois, la méthode de culture organotypique apparaissait beaucoup trop longue et fastidieuse comme bio-essai pour la caractérisation de l'hormone. Dans le but d'isoler et de caractériser la gonadotropine de seiche, nous avons recherché un bio-essai plus rapide et quantifiable, les

⁽¹⁾ Laboratoire de Physiologie Animale - Faculté des Sciences Université de Yaoundé - BP 812 Yaoundé (Cameroun)

cultures à très court terme (quelques heures) de cellules isolées paraissant la solution la meilleure (Koueta & Boucaud-Camou, 1991). Un bio-essai sur follicule isolé avait été utilisé avec succès par O'Dor et Wells (1973 et 1975) pour montrer l'action stimulante de la gonadotropine sur la synthèse du vitellus, mais les essais ultérieurs réalisés sur la seiche ont été décevants (Depret, 1979). Il faut rappeler qu'avant toute expérience, Wells provoquait une accélération artificielle de la maturation sexuelle chez les femelles en sectionnant les tractus optiques et les rendait de ce fait très réceptives. Ce genre d'opération étant très difficile chez la seiche, nous avons pensé qu'il fallait choisir les périodes naturellement les plus favorables à l'expérimentation en suivant de manière très détaillée l'évolution des cellules-cibles au cours de l'année. Comme notre choix s'était porté sur la recherche de l'action mitogène de la gonadotropine, nous avons cherché par des méthodes cytologiques à repérer les périodes exactes de multiplication intense des cellules folliculaires et des gonies au cours du cycle sexuel d'une population de seiches fréquentant les côtes normandes. Cette démarche permet d'éviter ainsi tout échec lié aux variations qualitatives et quantitatives des cellules-cibles au cours du cycle sexuel.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les seiches, en cours de maturation et matures, ont été capturées au casier et par chalutage en baie de Seine d'avril à novembre et en Manche ouest de décembre à février. Il s'agit d'une population de seiches qui a été suivie pendant cinq ans pour l'étude de la croissance, de la maturation sexuelle et de la migration (Medhioub, 1986, Boucaud-Camou *et al.*, 1991). Les animaux sont anesthésiés par l'éthanol à 2 % dans l'eau de mer, des prélèvements de gonades mâles et femelles sont effectués tous les quinze jours au cours du cycle sexuel de la seiche (sauf en hiver où ces prélèvements sont plus espacés, en raison de l'éloignement des seiches).

Les fragments de gonade mâle et femelle sont fixés au glutaraldéhyde à 25 % dans un tampon au cacodylate de sodium à 0,4 M (pH 7,4), ajusté à 1 100 milliosmoles avec du saccharose, postfixés au tétroxyde d'osmium dans le même tampon, et inclus dans l'épon. Les coupes semi-fines sont colorées au bleu de toluidine. Les coupes fines sont contrastées à l'acétate d'uranyle suivi de citrate de plomb suivant Reynolds (1963). Les observations ont été réalisées au Centre de microscopie électronique de l'Université de Caen.

RÉSULTATS

Rappel de la structure cytologique du testicule.

Nous avons retrouvé la structure générale du testicule décrite par Richard (1971). Le testicule est formé de tubules séminifères ou cystes très développés chez les animaux sexuelle-

ment mûrs. Ces tubules sont bordés d'une mince couche de tissu conjonctivo-musculaire contenant des fibrocytes, des cellules musculaires, des vaisseaux sanguins et des terminaisons nerveuses. On observe une différenciation centripète des lignées germinales avec une apparition successive des spermatocytes, des spermatides et des spermatozoïdes (Pl. I et Koueta, 1990).

Les spermatogonies sont situées à la périphérie du cyste, tout contre la mince enveloppe conjonctivo-musculaire. Elles présentent un noyau réniforme avec un ou deux nucléoles et de la chromatine distribuée à la périphérie de l'enveloppe nucléaire (Pl. I : 1 et 2). Les spermatocytes I possèdent un noyau de grande taille dans lequel on observe la condensation progressive des chromosomes (Pl. I : 3 et 4).

Les spermatocytes II ont un noyau plus petit. Les spermatides, d'abord sphériques, vont s'allonger ; leur noyau présente une chromatine plus dense que celle des spermatocytes (Pl. I : 4). La spermiogenèse a été décrite par Richard (1971) et Maxwell (1975). Elle est caractérisée par la formation dans la partie antérieure d'un acrosome séparé du noyau et dans la partie postérieure d'un anneau mitochondrial qui entoure une partie du flagelle. Les spermatozoïdes sont situés au niveau de la lumière du cyste et présentent un noyau très allongé, un segment intermédiaire mitochondrial et un flagelle (Pl. I : 5).

Évolution cytologique de différents stades de la maturation des cellules germinales au cours du cycle sexuel.

Au début de la maturation génitale, au mois de juin et de juillet de la deuxième année de vie de la seiche mâle, l'étude cytologique du testicule montre la mise en place des tubules séminifères : les cellules conjonctives et musculaires s'assemblent pour délimiter la périphérie des cystes. A l'intérieur de ceux-ci, on observe des îlots de spermatogonies qui se divisent activement (Pl. I : 1).

A la fin du mois de juillet, on observe la présence des premiers spermatocytes dans les cystes. Les spermatocytes I se repèrent par leur noyau de grande taille caractéristique du phénomène d'accroissement (Pl. I : 3 et 4) ; les chromosomes se condensent progressivement.

Au mois d'août, on observe une augmentation du nombre des spermatogonies et des spermatocytes dans les tubules. Les cellules en division sont très nombreuses. Les spermatogonies présentent en particulier de nombreuses mitoses. On observe également une intense division des spermatocytes (méiose). La spermatogenèse s'accélère. C'est le phénomène le plus caractéristique à cette période de l'année. On commence à observer la présence de spermatides arrondies dans les tubules (Pl. I : 4).

A la fin du mois d'août, la spermiogenèse débute. Au cours de la spermiogenèse, les spermatides se différencient en spermatozoïdes. On observe d'abord des spermatides sphériques, avec un noyau contenant de la chromatine très dense. Les spermatides sphériques vont évoluer pour donner des spermatides à noyau allongé avec des filaments chromatiques. La chromatine devient alors de plus en plus condensée au cours de la différenciation. On note également la formation du flagelle à partir du centriole distal.

En septembre, on observe la poursuite des divisions actives des spermatogonies, des divisions méiotiques et une augmentation de la spermiogénèse. A la fin du mois de septembre, certains animaux possèdent des spermatozoïdes (Pl. I : 5), ce qui coïncide avec l'apparition des premiers spermatophores dans la poche de Needham et témoigne de leur maturité sexuelle.

L'étude cytologique des testicules au mois d'octobre montre que la spermiogénèse se poursuit alors que les spermatogonies et les spermatocytes présentent toujours des figures de division. La spermiogénèse continue jusqu'au printemps (mai, juin), au moment de la reproduction.

Rappel de la structure de l'ovaire.

La nomenclature utilisée pour définir les différents stades de maturation des ovocytes est celle définie par Dhainaut et Richard (1976) légèrement modifiée par Boucaud-Camou *et al.* (1988). Rappelons que chez les Céphalopodes, la maturation des ovocytes s'accompagne d'un développement très important des cellules folliculaires qui forment des cordons profondément enfoncés dans l'ooplasmе. Ce phénomène est particulièrement marqué chez la seiche qui élabore des œufs très volumineux (diamètre 1,2-1,4 cm). A la fin de la vitellogénèse, les cordons folliculaires régressent. Lors de la maturation sexuelle l'ovocyte est libéré dans le coelome génital. Il a alors un aspect lisse qui le distingue des œufs réticulés encore reliés à l'ovaire (la présence d'œufs lisses est le critère de la maturité sexuelle chez les femelles ; Mangold, 1966).

PLANCHE I

Cytologie du testicule : évolution des différents stades de la maturation des cellules germinales au cours du cycle sexuel.

1. Structure d'un testicule de seiche en début de maturation au mois de juillet. Coupe semi-fine. Coloration au bleu de toluidine x 360.

On observe une mise en place des cystes testiculaires (c), des figures de division (métaphase) (d), des spermatogonies à la périphérie du cyste (Sg) et des cellules conjonctives (Cc).

2. Spermatogonies dans le testicule de seiche x 70 000.

Les spermatogonies (Sg) représentent un noyau réniforme avec un ou deux nucléoles (nu) et de la chromatine distribuée à la périphérie de l'enveloppe nucléaire (en).

3. Spermatocyte I dans le testicule de seiche en maturation x 11 600.

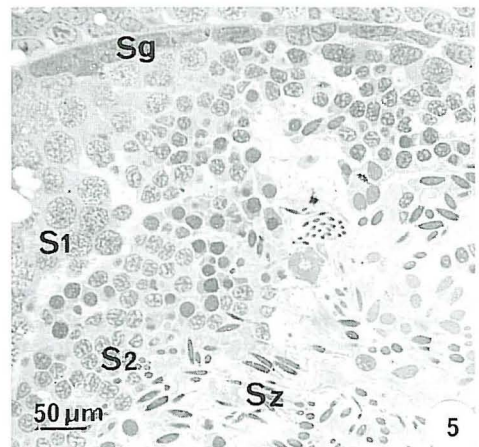
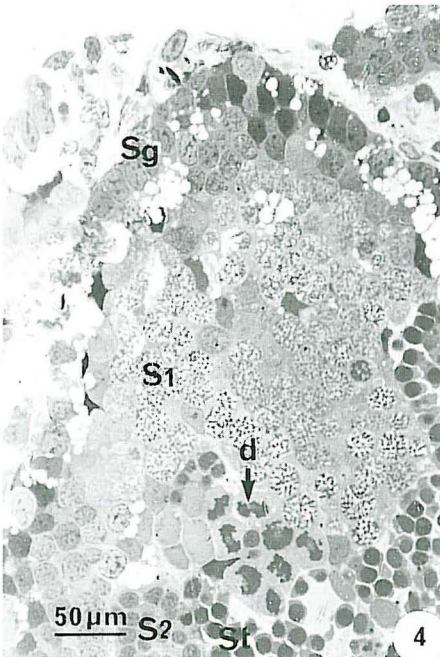
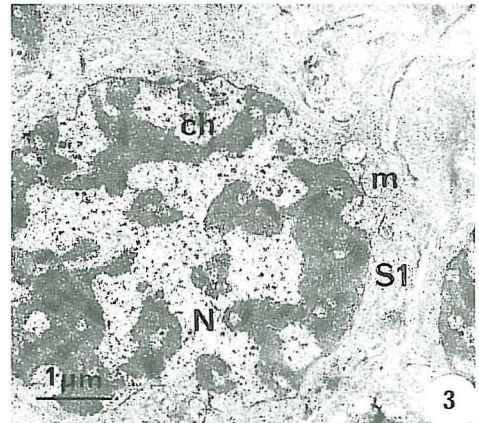
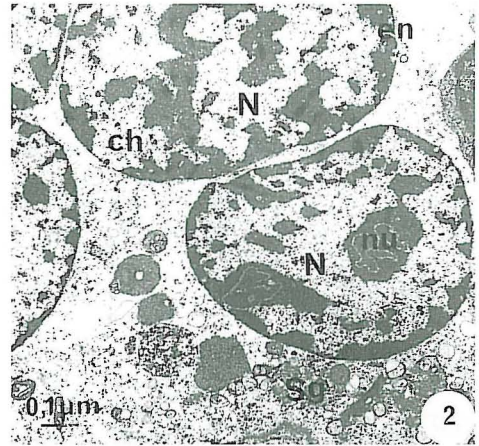
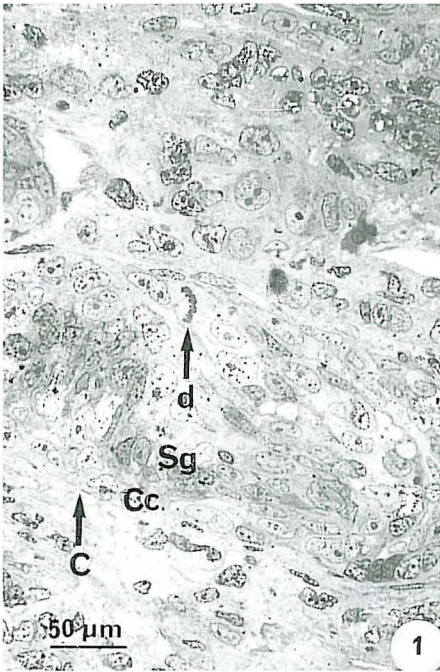
On observe le phénomène d'accroissement. Les spermatocytes en prophase de méiose (S1) ont un noyau nettement plus gros que celui des spermatogonies. La chromatine (ch) commence à se condenser dans le nucléoplasme.

4. Cyste testiculaire au mois d'août chez une seiche en maturation. Coupe semi-fine. Coloration au bleu de toluidine x 200.

On observe de nombreuses divisions (d) des spermatocytes I (S1), la présence des spermatogonies (Sg) et des spermatides.

5. Cyste testiculaire d'une seiche en maturation au mois de septembre. Coupe semi-fine. Coloration au bleu de toluidine x 1 000.

A l'intérieur des cystes, on observe des spermatogonies (Sg) des spermatocytes I (S1) des spermatocytes II (S2) et les différentes étapes de la spermiogénèse. Les spermatozoïdes (Sz) déjà formés dans les cystes vont s'accumuler dans les spermatophores.



La région du hile est constituée d'un tissu conjonctif très vascularisé avec des cellules conjonctives qui se distinguent des cellules germinales par leur noyau très allongé, l'essentiel des ovogonies occupant le centre. Ce sont des cellules ovoïdes séparées par des trames de conjonctif lâche. Chez les femelles sexuellement mûres, la plus grande partie de l'ovaire est occupée par des ovocytes à différents stades : ovocytes en début de prévitellogenèse (stade IIIa), ovocytes en prévitellogenèse (stade IIIb et IIIc) et ovocytes en vitellogenèse (stade IV). Ces stades apparaissent progressivement lors de la maturation sexuelle.

Suivi cytologique de la maturation génitale au cours du cycle sexuel Ovocytes I au stade IIIa.

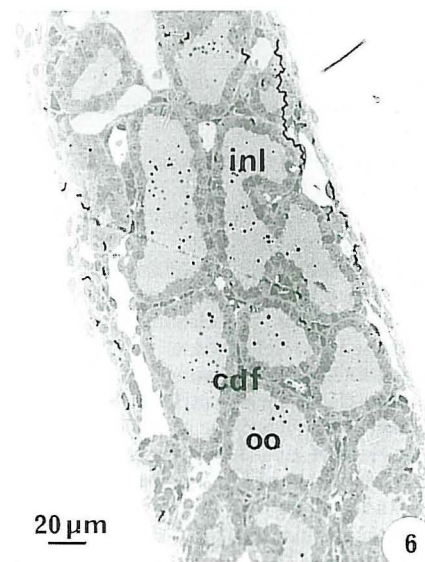
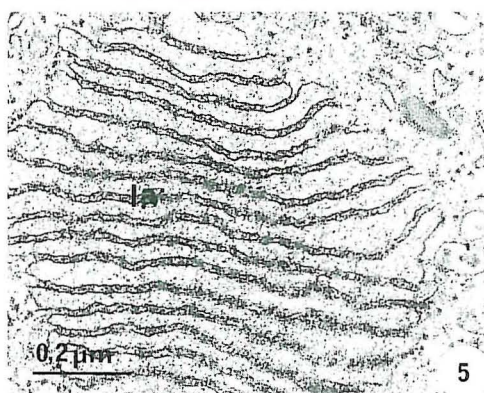
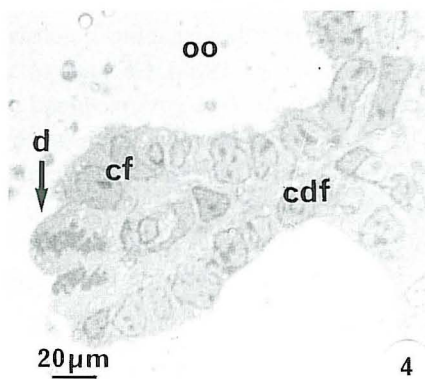
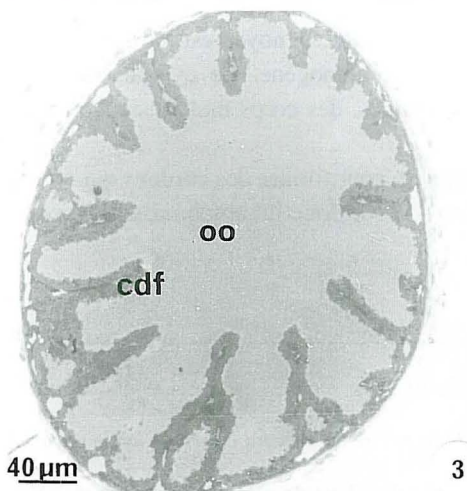
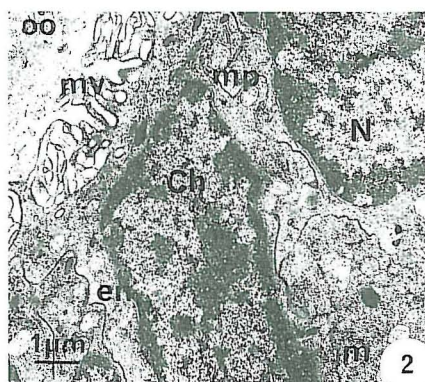
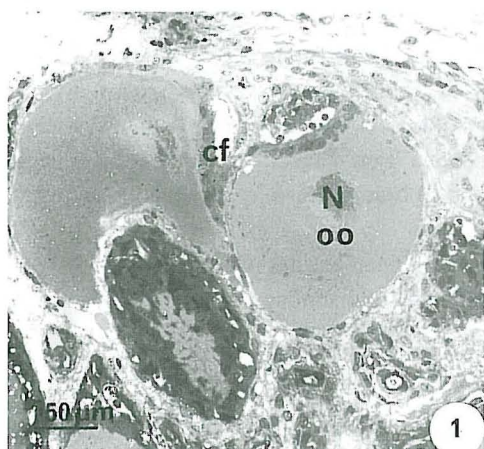
L'étude cytologique de l'ovaire au cours du cycle sexuel montre qu'en juin et juillet au cours de la seconde année de vie, les ovocytes sont au stade IIIa selon Boucaud-Camou *et al.* (1988) (stage III de Cowden, 1968). A ce stade, l'ovocyte, sphérique, est entouré par une seule couche de cellules folliculaires (Pl. II : 1). Le noyau de l'ovocyte est sphérique et présente une chromatine en nodules, en filaments, ou distribuée de façon homogène dans le nucléoplasme. Il n'y a pas d'inclusions lipidiques dans le cytoplasme de l'ovocyte.

Les cellules folliculaires, peu nombreuses, commencent à s'accoler à la périphérie de l'ovocyte et forment ensuite une couche continue autour de l'ovocyte. Elles ont d'abord une

PLANCHE II

Suivi cytologique de la maturation génitale dans l'ovaire de seiche au cours du cycle sexuel.

1. **Coupe dans l'ovaire de seiche en cours de maturation au mois de juillet. Coupe semi-fine, coloration au bleu de toluidine x 215.**
On observe des ovocytes I au stade IIIa. C'est le début de la prévitellogenèse. Le noyau (N) de l'ovocyte est sphérique. Les cellules folliculaires (cf) aplaties commencent à s'accoler autour de l'ovocyte.
2. **Détail des cellules folliculaires entourant l'ovocyte I au stade IIIa dans l'ovaire au mois de juillet x 82 000.**
Les cellules folliculaires forment une seule couche de cellules cuboïdes et établissent des rapports avec l'ovocyte (oo). La zone de contact possède des microvillosités (mv). Le rapport nucléocytoplasmique est élevé. La chromatine (ch) forme des amas répartis à la périphérie de l'enveloppe nucléaire (en). La membrane plasmique (mp) séparant les cellules est bien visible.
3. **Ovocytes I au stade IIIb dans l'ovaire d'une seiche au mois d'octobre. Coupe semi-fine, coloration au bleu de toluidine x 256.**
Les cordons folliculaires (cdf) commencent à pénétrer à l'intérieur de l'ooplasm (oo) de l'ovocyte.
4. **Cordons folliculaires dans un ovocyte I au stade IIIb dans l'ovaire de seiche au mois d'octobre. Coupe semi-fine coloration au bleu de toluidine x 500.**
Les cellules folliculaires (cf) se divisent activement ((d) métaphase) et forment des cordons folliculaires (cdf).
5. **Ooplasm de l'ovocyte au stade IIIb dans l'ovaire de seiche x 81 000.**
A ce stade, on observe des lamelles annelées (Ia) dans l'ooplasm.
6. **Ovocyte I au stade IIIc dans l'ovaire de seiche du mois d'octobre et de novembre. Coupe semi-fine, coloration au bleu de toluidine x 280.**
Les cordons folliculaires (cdf) occupent une grande partie de l'ooplasm (oo) de l'ovocyte. On observe des inclusions lipidiques (inl).



forme allongée (Pl. II : 1), puis prennent une forme cubique et établissent des rapports avec l'ovocyte en formant des interdigitations cytoplasmiques dans la zone de contact avec l'ovocyte (Pl. II : 2). Les cellules folliculaires possèdent un noyau volumineux avec de la chromatine en amas répartie contre l'enveloppe nucléaire et dans le nucléoplasme. Dans la région apicale, on observe de petits dictyosomes à 3 ou 4 saccules. A la base des cellules, les mitochondries sont peu nombreuses, les membranes plasmiques séparant les cellules sont bien visibles (Pl. II : 2).

Au mois d'août et en début septembre, le développement des ovocytes est assez lent. La plupart des ovocytes sont toujours au stade IIIa. On ne distingue aucun phénomène de synthèse ni dans l'ovocyte, ni dans les cellules folliculaires.

Ovocytes I au stade IIIb.

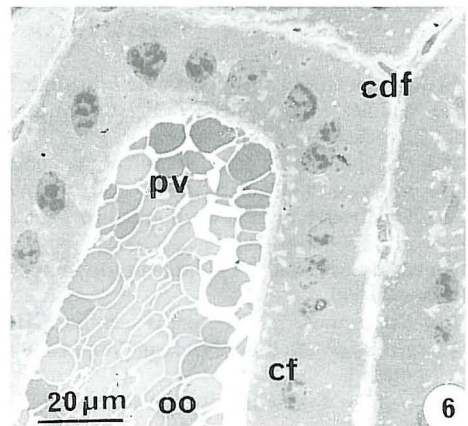
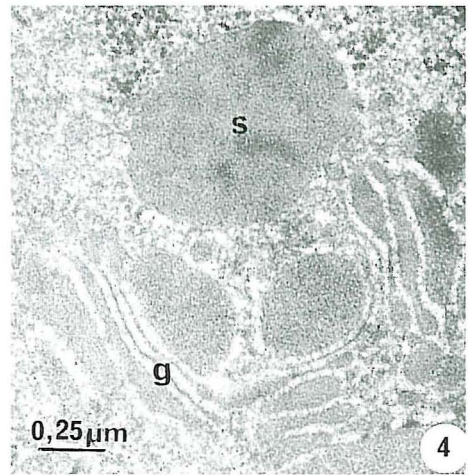
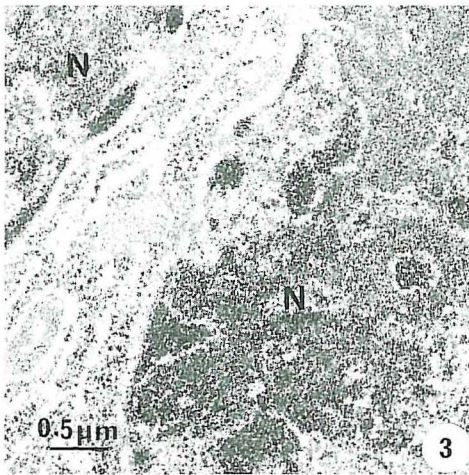
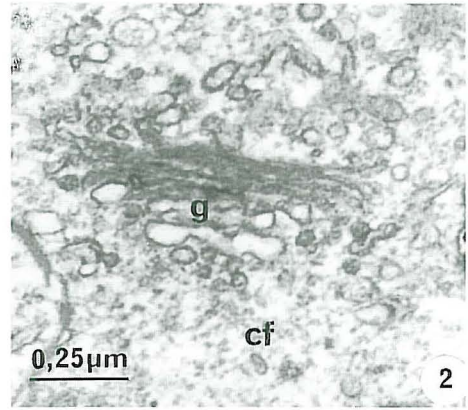
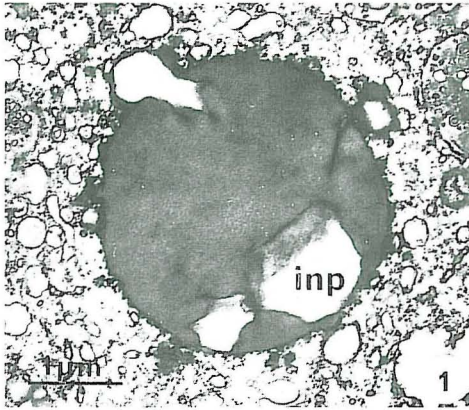
A la fin du mois de septembre, on observe des ovocytes au stade IIIb dans l'ovaire (stage IV et V de Cowden, 1968). Ce stade se caractérise par la formation des premiers cordons folliculaires (Pl. II : 3). L'ovocyte prend une forme ovoïde, le noyau est repoussé à un pôle de l'ovocyte et l'aspect de la chromatine est très homogène. Le cytoplasme contient quelques inclusions lipidiques, des granules protéiques, des corps multivésiculaires et des lamelles annelées (Pl. II : 5).

A ce stade, les cellules folliculaires se multiplient pour former des cordons qui commencent à pénétrer à l'intérieur de l'ooplasm. On observe donc de nombreuses mitoses. (Pl. II : 4).

PLANCHE III

Suivi cytologique de la maturation génitale de la seiche femelle au cours du cycle sexuel.

1. **Ooplasme d'un ovocyte I au stade IIIc dans l'ovaire de seiche du mois d'octobre et du mois de novembre x 18 000.**
Les inclusions protéiques (inp) sont en voie de dégradation : des vacuoles claires apparaissent dans la masse dense.
2. **Dictyosomes dans le cytoplasme d'une cellule folliculaire entourant un ovocyte I au stade IIIc dans l'ovaire de seiche de novembre x 65 000.**
Les dictyosomes (g) n'élaborent pas de granules de sécrétion, mais des vésicules claires.
Ovocyte I en vitellogenèse : stade IV
3. **Détail de la zone de contact des cellules folliculaires entourant un ovocyte au stade IVa dans l'ovaire de seiche en janvier x 34 000.**
La membrane plasmique séparant les cellules folliculaires a disparu. Il se forme alors un syncytium et la masse nucléolaire est importante.
4. **Dictyosomes et réticulum endoplasmique dans une cellule folliculaire entourant un ovocyte I au stade IVa du mois de janvier x 42 000.**
Elaboration du vitellus : les saccules du dictyosome (g) sont en activité et forment des vésicules sur leur face de maturation. Les vésicules fusionnent pour donner des grains de sécrétion (S).
5. **Zone pellucide (zp) dans un ovocyte I au stade IVa dans l'ovaire de seiche x 35 000.**
6. **Ovocyte I au stade IVb. Coupe semi-fine. Coloration au bleu de toluidine x 650.**
On observe des plaquettes vitellines (pv), dans l'ooplasm (oo).



Ovocytes I au stade IIIc.

Pendant le mois d'octobre et en début novembre, les ovocytes sont pour la plupart au stade IIIb et IIIc. Au stade IIIc (stage VI de Cowden, 1968), à la suite d'une multiplication intense, les cordons folliculaires développés envahissent le cytoplasme de l'ovocyte où l'on observe des inclusions lipidiques assez nombreuses (Pl. II : 6). Les inclusions protéiques sont en dégradation dans le cytoplasme de l'ovocyte (Pl. III : 1). Les rapports entre les cellules folliculaires et l'ovocyte sont plus étroits : les microvillosités de la zone de contact sont plus développées. Le cytoplasme contient des citernes de réticulum endoplasmique et un appareil de Golgi peu développé (Pl. III : 2). La membrane de chaque cellule folliculaire reste visible durant le stade IIIc.

Ovocytes I au stade IVa.

On observe des ovocytes au stade IVa (stage VII de Cowden, 1968) dès la fin du mois de novembre. A ce stade, le RCF est le plus élevé (Boucaud-Camou *et al.*, 1988) : les cordons folliculaires atteignent leur développement maximum. C'est le début de la vitellogenèse. Dans l'ooplasmе, on note la présence de nombreuses inclusions lipidiques. Le réticulum endoplasmique n'est pas très développé et les mitochondries peu nombreuses. Les ribosomes libres sont abondants et l'enveloppe nucléaire présente de nombreux pores qui traduisent l'existence de transfert.

Les cellules folliculaires sont beaucoup plus hautes, la membrane plasmique des cellules disparaît, et un syncytium se forme (Pl. III : 3). Les cellules prennent toutes les caractéristiques de cellules sécrétrices : masse nucléolaire très développée (Pl. III : 3), réticulum

PLANCHE IV

Suivi cytologique de la maturation génitale de la seiche femelle au cours du cycle sexuel : Ovocyte I en vitellogenèse - stade IVb.

1. Syncytium entourant un ovocyte I au stade IVb dans l'ovaire de seiche x 4 000.

Les cellules folliculaires forment un syncytium. La chromatine (ch) est très compacte dans le noyau (N).

2. et 3. Cytoplasme de cellules folliculaires entourant un ovocyte I au stade IVb dans l'ovaire de seiche x 40 000 et 20 000.

On observe un réticulum granuleux très développé (reg) avec des citernes très dilatées et des mitochondries (m).

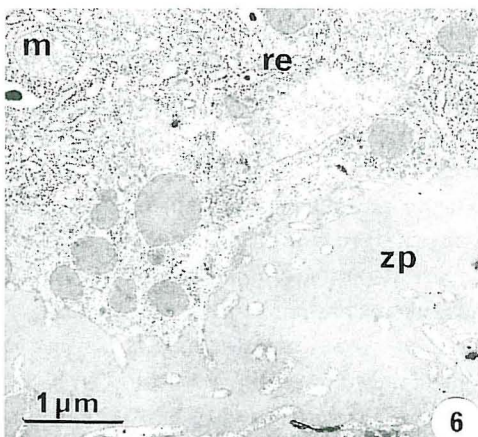
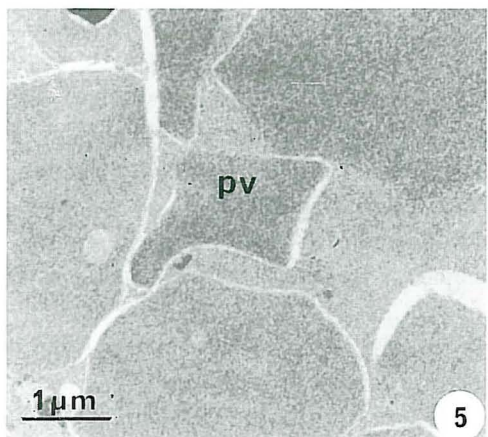
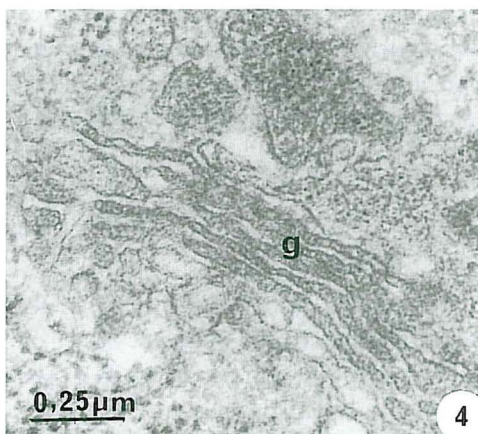
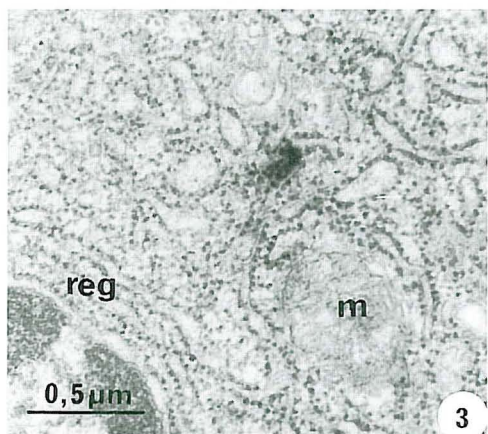
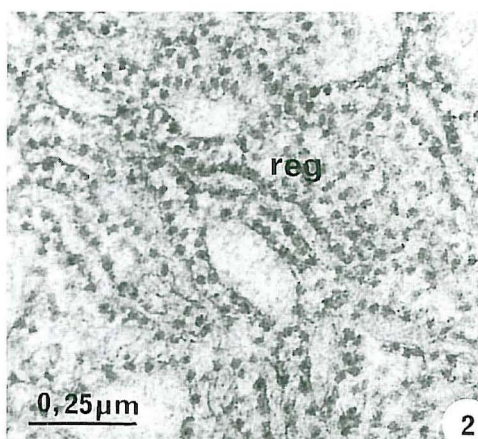
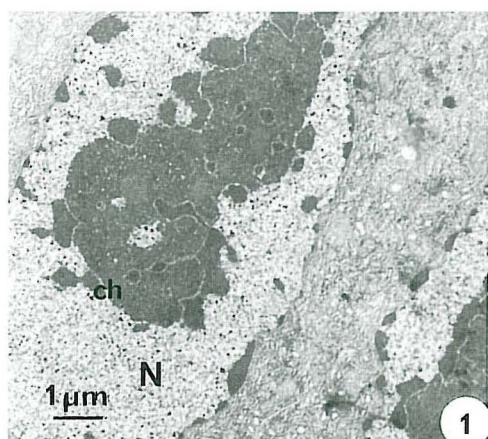
4. Dictyosomes dans le cytoplasme du syncytium folliculaire entourant un ovocyte I au stade IVb x 40 000.

Les dictyosomes (g) élaborent la sécrétion. Ils sont en pleine activité.

5. Plaquettes de vitellus (Pv) dans l'ooplasmе de l'ovocyte I au stade IVb dans l'ovaire de seiche x 15 000.

6. Les cellules folliculaires dans un ovocyte au stade IVb dans l'ovaire de seiche en janvier x 13 500.

Le cytoplasme des cellules folliculaires contient un réseau important de réticulum endoplasmique dilaté (re) et des grains de sécrétion (s) dans la zone apicale. Le chorion est en formation dans la zone pellucide (zp).



endoplasmique granulaire abondant et appareil de Golgi élaborant des grains de sécrétion sur sa face de maturation (Pl. III : 4).

Une zone pellucide se forme entre l'ovocyte et les cellules folliculaires (Pl. III : 5).

Ovocytes I au stade IVb.

Dès la fin du mois de décembre, l'ovaire contient surtout des ovocytes au stade IVb (stage VIII de Cowden, 1968) (Pl. III : 6). Ce stade correspond en fait à la phase d'activité sécrétoire maximale des cellules folliculaires qui présentent un réticulum granuleux très développé et un appareil de Golgi qui élabore la sécrétion (Pl. IV : 1, 2, 3, 4).

Les plaquettes vitellines s'accumulent dans l'ooplasme ovocytaire, le vitellus a une structure plus homogène (Pl. IV : 5) et le RCF diminue. Les cordons folliculaires régressent et les cellules sont repoussées à la surface ovocytaire. On observe la formation du chorion au niveau de la zone pellucide (Pl. IV : 6).

Au mois de janvier, on note la présence des premiers œufs lisses dans l'ovaire de certaines seiches et leur proportion augmente régulièrement. Au printemps, au moment de la reproduction, la proportion des œufs lisses est maximale, mais l'ovaire présente encore de nombreux ovocytes à différents stades d'évolution (prévitellogenèse et vitellogenèse).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Au cours du cycle sexuel, le plus grand nombre de figures de division est observé dans les spermatogonies, les spermatocytes et les cellules folliculaires.

La présence de spermatogonies et de spermatocytes pendant toute la maturation génitale montre que la spermatogenèse est continue. Elle est surtout caractérisée par une phase de multiplication intense des spermatogonies et des spermatocytes pendant la maturation sexuelle (juillet, août, septembre). La phase de différenciation, qui correspond à la spermiogenèse, est très active pendant le reste du cycle. (Fig. 1). La proportion de spermatoïdes et de spermatozoïdes dans les cystes augmente pendant que celle des spermatocytes et des spermatogonies diminue (Koueta & Boucaud-Camou, 1992). Si l'on relie ces observations à l'étude biométrique du rapport gonadosomatique, on peut constater que celui-ci ne commence à augmenter sensiblement qu'au mois d'octobre, donc après la phase de multiplication cellulaire. Ces changements sont décelables alors que la maturité sexuelle est déjà acquise (Boucaud-Camou *et al*, 1991) donc les études biométriques ne permettent pas de suivre la maturation sexuelle chez le mâle.

Au cours de l'ovogenèse, le fait le plus marquant est la forte multiplication des cellules folliculaires qui entourent d'abord l'ovocyte puis envahissent son cytoplasme et participent alors à la synthèse du vitellus. Au cours du cycle sexuel, les cellules folliculaires peuvent donc être, soit en phase de multiplication intense, soit en phase de synthèse. Les ovocytes aux stades IIIb et IIIc sont ceux où les cellules folliculaires sont en phase de multiplication intense. Durant la maturation génitale, les ovocytes aux stades IIIb et IIIc occupent une

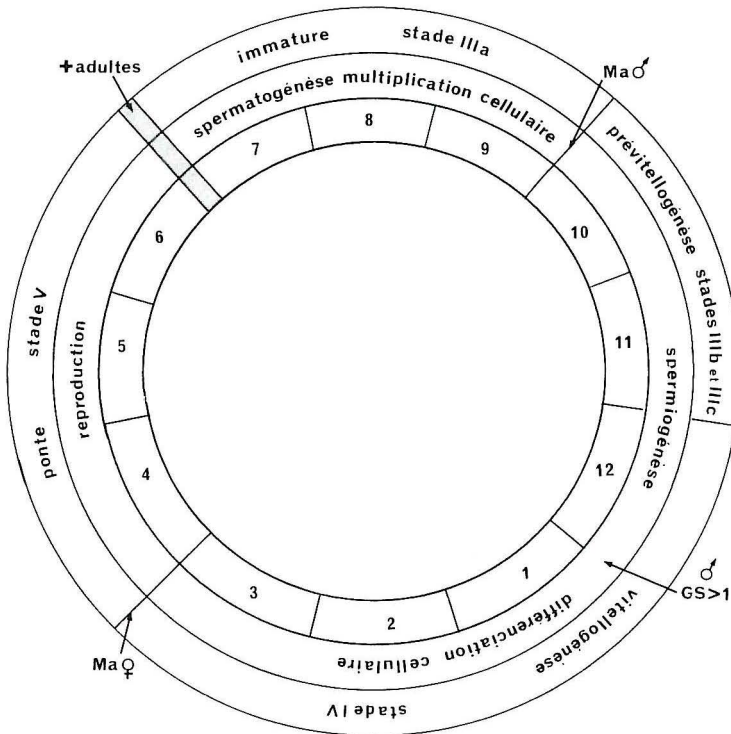


Fig. 1 : Cycle sexuel de la seiche en baie de Seine : évolution gonadique au cours de la seconde année de vie.

Abréviations

Ma♂ : Maturité des seiches mâles

Ma♀ : Maturité des seiches femelles

gs : Rapport gonado-somatique mâle

+ adultes : mort des seiches adultes

Cercle interne : mois

Cercle médian : évolution gonadique chez les mâles

Cercle externe : évolution gonadique chez les femelles

grande partie de l'ovaire entre fin septembre et fin novembre. L'ovaire contient donc à cette période de nombreuses cellules folliculaires ayant des potentialités de division.

En 1988, Boucaud-Camou *et al.* ont utilisé une méthode stéréologique applicable uniquement aux seiches femelles et permettant de quantifier la proportion de cellules folliculaires par rapport à l'oplasme au cours du développement du follicule. La méthode consiste à calculer le rapport du volume des cordons au volume total du follicule, qu'on appelle RCF. Cette étude a montré que le RCF augmente régulièrement pendant la prévitellogénèse, au cours des multiplications intenses des cellules folliculaires. Le RCF se stabilise en début de vitellogénèse pour diminuer ensuite.

La suite de développement (vitellogénèse) est marquée par une grande activité de synthèse des cellules folliculaires qui forment un syncytium et établissent des relations étroites avec l'ovocyte dont le cytoplasme subit également de nombreuses modifications. A notre

connaissance la formation de ce syncytium est signalée pour la première fois chez la seiche, alors qu'il avait été observé chez d'autres Céphalopodes (Aizenshtadt, 1969, 1971, Bottke, 1974, Arnold & Williams-Arnold, 1976 et 1977). Le processus de la synthèse du vitellus est encore mal connu chez les Céphalopodes, mais il semble toutefois que les cellules folliculaires sont responsables de ce processus de synthèse qui serait donc hétérosynthétique comme il a été observé chez d'autres Céphalopodes par Cowden (1968), Arnold et Williams-Arnold (1976 et 1977), Selman et Arnold (1978), Ramirez et Guajardo (1980). Le rapport gonado-somatique, resté très faible durant toute la prévitellogenèse, va brusquement augmenter dès janvier (Boucaud-Camou *et al.*, 1991), traduisant l'effet de la synthèse vitelline.

Il apparaît donc que pendant la prévitellogenèse et la vitellogenèse, l'œuf est bloqué en prophase de la première division de méiose. Les multiplications intenses ne concernent que les cellules folliculaires. Ces résultats confirment ceux de Cowden (1968) chez *Loligo brevis*, de Bottke (1974) chez *Alloteuthis subulata*, de Selman et Wallace (1972 et 1978), de Selman et Arnold (1978), de Ramirez et Guajardo (1980), chez *Loligo pealei*, Bolognari *et al.* (1976) chez *Octopus vulgaris*, de Richard (1971), de Richard et Dhainaut (1973), de Dhainaut et Richard (1972, 1976), de Depret (1979), de Medhioub (1986) chez *Sepia officinalis*, qui ont tous souligné le développement particulier des cordons folliculaires et la participation des cellules folliculaires à la formation du vitellus, alors que chez les bivalves (Lubet, 1959 ; Reverberi, 1966, 1967), chez le Gastéropode *Ilyanassa* (Taylor & Andersen, 1969), la participation des cellules folliculaires à la vitellogenèse reste incertaine.

Cette étude cytologique permet d'avoir des données précises sur la maturation génitale de la seiche en Manche. Les résultats que nous avons obtenus sur la structure des cellules germinales et les cellules folliculaires montrent tous que les multiplications intenses des cellules germinales mâles ont lieu en août et début septembre, alors que celles des cellules folliculaires s'effectuent en octobre et novembre dans l'ovaire. Fin novembre, les cellules folliculaires entrent dans une phase de synthèse active.

L'utilisation d'une technique biochimique, le dosage de l'activité aspartate transcarbamylase (ATCase), nous a donné des résultats similaires à ceux obtenus par cette méthode. En effet, la mesure de l'activité ATCase dans l'ovaire et le testicule au cours du cycle sexuel de *Sepia officinalis* des côtes normandes montre que les pics d'activité enzymatique correspondent aux divisions intenses des spermatogonies et des spermatocytes au cours de la maturation et de la reproduction chez le mâle, et avec celles des cellules folliculaires pendant la prévitellogenèse chez la femelle (Koueta & Boucaud-Camou, 1992). Les variations de l'activité ATCase au cours du cycle sexuel montrent que les pics d'activité enzymatique correspondent parfaitement aux périodes de divisions des cellules folliculaires et des cellules germinales mâles (spermatogonies et spermatocytes) observées par le suivi cytologique du testicule et de l'ovaire. L'activité ATCase apparaît donc comme un bon indice de l'activité gamétogénétique, et plus spécialement des multiplications cellulaires qui y sont associées.

Ainsi, il est apparu que l'étude expérimentale de la caractérisation du facteur mitogène de la glande optique devait être réalisée chez les mâles en août et septembre et chez les

femelles en octobre et novembre afin d'obtenir des réponses optimales, facilement détectables, à l'action mitogène de la gonadotropine. Des études sur l'effet stimulateur des synthèses protéiques devraient être conduites à partir de novembre et pendant l'hiver chez les femelles. Toutefois, à ce stade, la formation d'un syncytium folliculaire interdit de travailler sur des cellules dissociées, et l'on doit alors envisager l'expérimentation sur des follicules entiers, comme le faisaient O'Dor et Wells (1973 et 1975).

REMERCIEMENTS

Ce travail a été partiellement financé par le Conseil régional de Basse-Normandie. Nous remercions l'Université de Caen qui a pris en charge les voyages de Monsieur N. Koueta.

REFERENCES

- AIZENSHADT, J.B., 1969. Cytomorphological study of egg follicles in the cuttlefish. I Fine structure of cells of the follicular epithelium. *Tsito.*, 11 : 401-409.
- AIZENSHADT, T.B., 1971. Cytomorphologic investigations of the follicles in the ovaries of cuttlefish. II. The secretory function of the follicle epithelium. *Tsito.*, 13 : 956-964.
- ARNOLD, J.M. & L.D. WILLIAMS-ARNOLD, 1976. The egg cortex problem as seen through the squid eye. *Am. Zool.*, 16 : 421-446.
- ARNOLD, J.M. & L.D. WILLIAMS-ARNOLD, 1977. Cephalopoda : Decapoda. In *Reproduction of Marine invertebrates*, Vol. 4 : Molluscs : Gastropods and Cephalopods, A. Gieze et J. Pearse, (eds), Academic Press, New York.
- BOTTKE, W., 1974. The fine structure of the ovarian follicle of *Alloteuthis subulata* L. (Mollusca, Cephalopoda). *Cell Tiss. Res.*, 150 : 463-480.
- BOUCAUD-CAMOU, E., A. MEDHIOUB & R. CATANIA, 1988. Développement du follicule ovarien chez la seiche *Sepia officinalis* L. *Bull. Soc. Zool Fr.* 113 : 257-262.
- BOUCAUD-CAMOU, E., N. KOUETA, J. BOISMERY & A. MEDHIOUB, 1991. The sexual cycle of *Sepia officinalis* L. from the Bay of Seine. In the cuttlefish. E. Boucaud-Camou (ed.). Acta 1st Symposium on the cuttlefish *Sepia*. Centre de Publication Univ. Caen, 141-151.
- COWDEN, R.R., 1968. Cytological and cytochemical studies of oocyte development of the follicular epithelium in the squid *Loligo brevis*. *Acta Embryol. Morphol. Expr.*, 10 : 160-173.
- DEPRET, M., 1979. Recherches biochimiques et biologiques sur les gonades et le sang de deux mollusques céphalopodes *Sepia officinalis* et *Loligo vulgaris*, Thèse Doctorat 3^e cycle, Université des Sciences et Techniques de Lille, France, 62 p.
- DHAINAUT, A. & A. RICHARD, 1972. Processus d'élaboration des lamelles annelées dans l'ovocyte de *Sepia officinalis* (Céphalopode). *C.R. Acad. Sci. Paris*, 275 : 417-419.
- DHAINAUT, A. & A. RICHARD, 1976. Vitellogenèse chez les Céphalopodes Décapodes. Evolution de l'ovocyte et des cellules folliculaires au cours de la maturation génitale. *Arch., Anat. Micro. Morph., Exp.*, 65 : 183-208.
- DURCHON, M. & A. RICHARD, 1967. Etude en culture organotypique du rôle endocrine de la glande optique dans la maturation ovarienne chez *Sepia officinalis* L. Moll. Céphalopode. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 264 D : 1497-1500.
- FRANZEN, A., 1967. Spermiogenesis and spermatozoa of the cephalopoda. *Ark. Zool.*, 19 : 323-482.
- KOUETA, N., 1990. Etude expérimentale du contrôle endocrine de la maturation génitale chez la seiche *Sepia officinalis* L. (Mollusque Céphalopode), Thèse Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles, Université de Caen, France, 280 p.
- KOUETA, N. & E. BOUCAUD-CAMOU, 1992. Changes of aspartate transcarbamylase activity in the gonad of *Sepia officinalis* L during sexual cycle. *Comp. Bioch. Physiol.*, 102 B : 413-418.
- LUBET, P., 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les *mytilidae* et les *pectinidae*. Thèse Doctorat ès Sciences naturelles. Université Paris : Rev. Trav., I.S.T.P.M., 23 : 387-548.
- MANGOLD, K., 1966. *Sepia officinalis* de la mer Catalane. *Vie et Milieu*, 17 : 961-1012.

- MAXWELL, W.L., 1975. Spermiogenesis of *Eusepia officinalis* L. *Loligo forbesi* (Steenstrup) and *Alloteuthis subulata* L. (Cephalopoda, Decapoda). *Proc. R. Soc. Lond. B* : 191 : 527-535.
- MEDHIOUB, A., 1986. Etude de la croissance et du cycle sexuel de la seiche (*Sepia officinalis*) des côtes normandes - Thèse Doctorat 3^e cycle : Université de Caen, France, 117 p.
- O'DOR, R.K. & M.J. WELLS, 1973. Yolk protein synthesis in the ovary of *Octopus vulgaris* and its control by the optic gland gonadotropin. *J. Exp. Biol.* 59 : 669-674.
- O'DOR, R.K. & M.J. WELLS, 1975. Control of yolk protein synthesis by *Octopus* gonadotropin in vivo and in vitro (effects of octopus gonadotropin). *Gen. Comp. Endoc.*, 27 : 129-135.
- RAMEREZ, S. & M. GUAJARDO, 1980. A cytological and histochemical analysis of the ovarian follicle cells of the south Texas squid, *Loligo pealei*. *The Tex. Jour. of Sci.*, Vol. XXXII, n° 1 : 43-54.
- REVERBERI, G., 1966. Electron microscopy of some cytoplasmic structures of the oocytes of *Mytilus*. *Expl. Cell. Res.*, 42 : 392-394.
- REVERBERI, G., 1967. Some observations on the ultrastructures of the ovarian *Mytilus* egg. *Acta Embryol. Morph. Exp. Ital.*, 10 : 1-14.
- REYNOLDS, E.S., 1963. The use of lead citrate of high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 17 : 208-212.
- RICHARD, A., 1971. Contribution à l'étude expérimentale de la croissance et de la maturation sexuelle de *Sepia officinalis* L. (Mollusque Céphalopode). Thèse Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles, Université de Lille, France, 264 p.
- RICHARD, A. & A. DHAINAUT, 1973. Evolution des cellules folliculaires au cours de l'ovogenèse de *Sepia officinalis* L. (Mollusque Céphalopode). Note préliminaire. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 277 : 2185 -2188.
- SELMAN, K. & R.A. WALLACE, 1972. Role for the follicle cells during vitellogenesis in the squid *Loligo pealei*. *Biol. Bull*, 143 : 477.
- SELMAN, K. & J.M. ARNOLD, 1978. An ultrastructural and cytochemical analysis of oogenesis in the squid *Loligo pealei*. *J. Morph.* 152 : 381-400.
- SELMAN, K. & R.A. WALLACE, 1978. An autoradiographic study of vitellogenesis in the squid *Loligo pealei*. *Tissue and Cell*, 10 (3) : 599-608.
- TAYLOR, G.T. & E. ANDERSON, 1969. Cytochemical and fine structural analysis of oogenesis in the gastropod *Llyanassa obsoleta*. *J. Morph.* 129 : 211-248.