57269

RÉVISION DE LA GARNITURE CHROMOSOMIQUE DE *SABELLARIA ALVEOLATA* (L.) ET DE *SABELLARIA SPINULOSA* (LEUCK.) (ANNÉLIDES POLYCHÈTES).

par

Gérard Peaucellier
Station biologique de Roscoff

Résumé

La garniture chromosomique de *S. alveolata* et de *S. spinulosa* a été réexaminée par la technique des écrasements. L'étude de la méiose révèle que le nombre haploïde de chromosomes est 16 dans les deux espèces de *Sabellaria*. Il a été également vérifié sur des œufs de *S. alveolata* en segmentation que le nombre diploïde est de 32 chromosomes.

Introduction

L'œuf de *Sabellaria alveolata* a fait l'objet d'une importante monographie de Fauré-Fremiet (1924). Selon cet auteur, l'œuf en métaphase de première division méiotique comporte 16 chromosomes, mais après émission du premier globule polaire il se produit une réduction numérique tardive ramenant à 8 le nombre de dyades, ce chiffre constituant donc le nombre haploïde de chromosomes.

La formule chromosomique de *Sabellaria spinulosa* a été étudiée par Dehorne (1911, 1913). Il conclut de ses premiers travaux sur des cellules épidermiques que le nombre diploïde est également de 16 chromosomes, tandis que de l'observation de la spermatogenèse et de l'ovogenèse il déduit qu'il y a 8 chromosomes à l'état haploïde (Dehorne 1911).

Cependant, au cours d'une étude ultérieure de l'œuf en méiose, il observe 16 chromosomes en croix dans l'ovocyte I, 16 chromosomes dédoublés en métaphase II et 16 chromosomes simples en anaphase II (Dehorne 1913). Comme il ne remet pas en question le nombre diploïde, il conclut que le moment de la réduction numérique reste à trouver.

Les présentes observations, réalisées au cours d'une étude de la parthénogenèse expérimentale chez *Sabellaria alveolata*, ne confirment cependant pas les conclusions de ces deux auteurs.

Cahiers de Biologie Marine
Tome XV - 1974 - pp. 465-469

Matériel et Méthodes

Les *S. alveolata* proviennent du lieudit « Le moulin de la rive », petite plage située quelques kilomètres à l'ouest de Saint-Efflam (Nord-Finistère). Les blocs de tubes sont conservés en aquarium d'eau courante et les animaux restent en parfait état pendant plus d'un mois.

Les *S. spinulosa* proviennent de dragages en différents points :

— au large de l'île de Batz où elles se trouvent sur les galets ;

— en baie de Morlaix (au « Grand-Paradis » ou aux « Cochons-Noirs »), dans le bas de la zone des Laminaires, où les tubes sont abondants sur les coquilles vides. Les animaux peuvent être conservés plusieurs semaines en aquarium d'eau courante.

Pour l'obtention des gamètes, les *Sabellaria* sont extraites en effritant à la main les blocs. Chaque mâle est rincé sous le robinet d'eau de mer et mis dans un verre de montre contenant de l'eau de mer filtrée. Les femelles sont prises à la pince et rincées quelques secondes sous le robinet d'eau douce pour éliminer les spermatozoïdes qui pourraient se trouver sur leur corps. Elles sont ensuite passées sous le robinet d'eau de mer et mises à pondre dans des coupelles d'eau de mer filtrée.

Les animaux ainsi isolés émettent spontanément leurs gamètes et la fécondation artificielle est réalisée 45 mn après l'arrêt de la ponte quand les œufs ont effectué leur prématuration. Pour *S. alveolata*, la dilution optimale du sperme s'est avérée être de l'ordre de 15 000 spermatozoïdes par mm^3.

Les œufs sont fixés à l'alcool-acétique (2/3, 1/3) ou au mélange de Carnoy (alcool absolu, chloroforme, acide acétique dans les proportions 6-3-1) pendant 30 mn au minimum. Ils sont ensuite colorés au carmin acétique.

Les écrasements, réalisés selon la technique classique, peuvent être transformés en préparations définitives en posant la lame sur un bloc de carboglace, ce qui permet de décoller la lamelle, puis en passant à l'alcool absolu et en montant au baume du Canada.

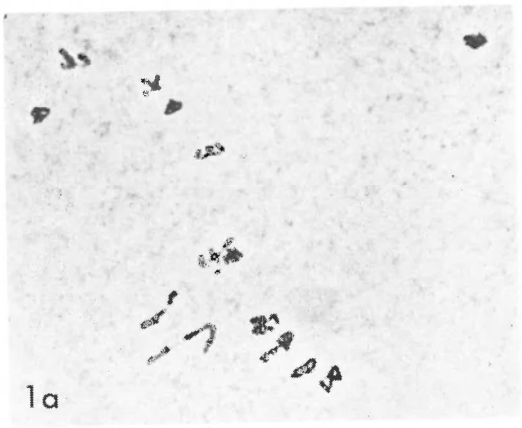
Pour le dénombrement des chromosomes en début de segmentation, les œufs sont traités 30 mn par une solution de colchicine (Merck) à 0,15 p. 100 avant la fixation.

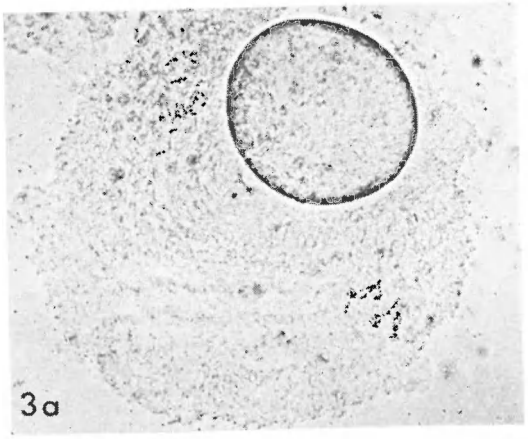
Les observations et les photographies sont faites au microscope Wild M-11 avec des grossissements de 400 à 1000 en contraste de phase.

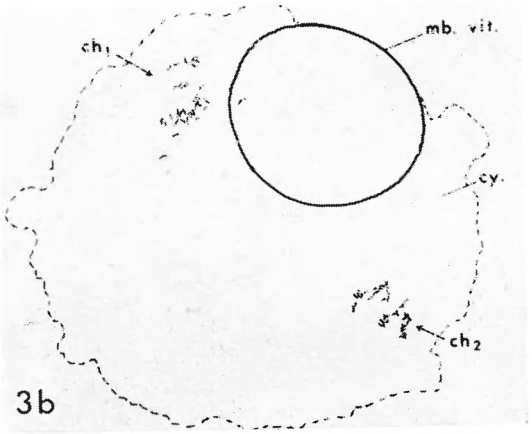
PLANCHE I

1 a : Squash d'un œuf vierge de *S. alveolata* en métaphase I. Les 16 chromosomes sont des tétrades typiques. Contraste de phase. × 1 100 ; 2 a : squash d'un œuf fécondé de *S. alveolata* en métaphase II. On y distingue 16 dyades et le premier globule polaire (gp 1). × 1 500 ; 3 a : squash d'un œuf de *S. alveolata* bloqué en métaphase de deuxième segmentation par la colchicine. La limite d'étalement du cytoplasme (cy.) autour de la membrane vitelline rompue (mb. vit.) est bien visible, ainsi que les chromosomes issus de chaque blastomère (ch 1 et ch 2). Contraste de phase. × 300.

1 b, 2 b, 3 b : schémas explicatifs.

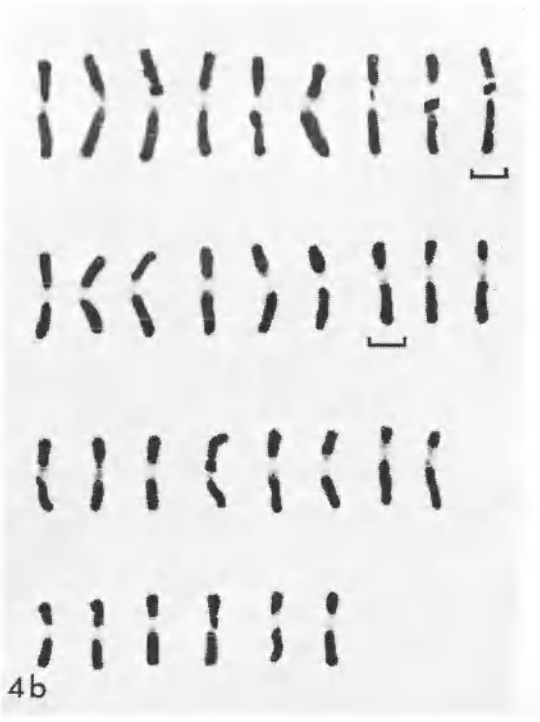


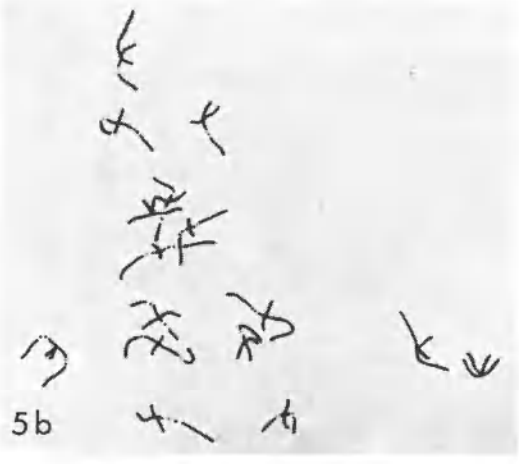


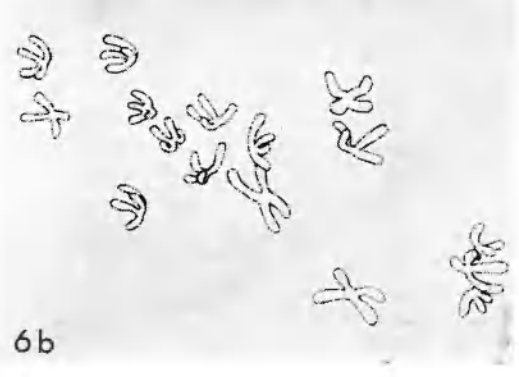


GÉRARD PEAUCELLIER.

PLANCHE I







GÉRARD PEAUCELLIER.

PLANCHE II

RÉSULTATS

I. - Garniture chromosomique de *Sabellaria alveolata*.

Sur les œufs vierges ayant terminé leur prématuration et qui se trouvent donc au stade métaphase I, on observe 16 tétrades typiques avec chiasmas (Planche I, 1).

Dans les œufs fécondés, on compte après émission du premier globule polaire 16 dyades (Planche I, 2). Ce chiffre résulte de l'examen des pontes de dix femelles et a été vérifié sur une vingtaine d'œufs pour chacune.

A l'anaphase II, deux lots de 16 chromosomes simples se séparent, dont l'un est ensuite isolé dans le deuxième globule polaire tandis que l'autre reste dans l'œuf ; ses chromosomes se décondensent alors et donnent le pronucléus femelle.

Après certains traitements traumatisants pendant la méiose (sels biliaires notamment), on peut voir parfois s'individualiser les chromosomes spermatiques qui sont, eux aussi, au nombre de 16.

L'étude du nombre diploïde de chromosomes est faite sur des œufs mis dans la colchicine après la première segmentation lorsque les noyaux des deux blastomères sont en interphase.

A la fin du traitement, alors que les témoins achèvent leur deuxième segmentation, chaque cellule contient 32 chromosomes métaphasiques, chacun étant formé de deux chromatides étroitement accolées sur toute leur longueur (Planche I, 3 et Planche II, 4 a).

Ces chromosomes présentent dans l'ensemble des différences morphologiques modérées (Planche II, 4 b) puisque leur longueur varie seulement dans les proportions de 1 à 2 alors que le rapport du bras le plus long sur le plus court ne dépasse 3 que pour une seule paire de chromosomes.

D'autre part, les mesures faites sur les microphotographies de plusieurs cellules révèlent des variations qui résultent certainement de la manière dont se sont étalés les chromosomes. Il en résulte que les essais d'établissement de caryotypes comportent toujours d'assez nombreuses ambiguïtés et la présence dans la Planche II, 4 b de deux chromosomes auxquels on ne peut attribuer d'homologues n'implique pas forcément l'existence d'une paire dissymétrique et encore moins d'un hétérochromosome.

PLANCHE II

4 : Squash d'un œuf vierge de *S. alveolata* bloqué en métaphase de deuxième segmentation par la colchicine ; a - détail des chromosomes d'un blastomère. Contraste de phase. × 2 600 ; b - essai de caryotype à partir de la même photographie. Les chromosomes sont regroupés par taille décroissante (de haut en bas) et par inégalité croissante des deux bras (de gauche à droite). Les deux chromosomes sans homologues apparents sont soulignés ; 5 : squash d'un œuf vierge de *S. spinulosa*. On y compte 16 tétrades. Contraste de phase. × 1 600 ; 6 : squash d'un œuf fécondé de *S. spinulosa* en métaphase II. Détail des 16 dyades. × 2 200.

5 b, 6 b : schémas explicatifs.

II. - Garniture chromosomique de *Sabellaria spinulosa*.

Elle a été établie à partir de sept pontes et le nombre de chromosomes avancé a été vérifié sur une dizaine d'œufs de chaque ponte.

Le déroulement de la méiose ne présente aucune singularité et, en métaphase I, on compte 16 chromosomes qui sont indiscutablement des tétrades (Planche II, 5).

Après émission du premier globule polaire, à la métaphase II, on observe également 16 dyades qui ne présentent pas de différences apparentes avec celles observées chez *S. alveolata* (Planche II, 6).

A partir de la télophase II, il ne reste donc dans l'œuf que 16 chromosomes d'origine maternelle.

DISCUSSION

Les garnitures chromosomiques observées ici sont donc totalement différentes de celles trouvées par Fauré-Fremiet et Dehorne.

Il ressort en effet que, dans les deux espèces, le nombre haploïde de chromosomes est de 16, le nombre diploïde étant de 32 pour *S. alveolata* et il en est certainement de même pour *S. spinulosa*.

Il semble que ces divergences proviennent des difficultés d'observation dues aux techniques employées par les auteurs précédents.

Fauré-Fremiet utilisait en effet une coloration au carmin alunévert d'iode qui, à la différence du carmin acétique, n'entraîne aucun gonflement des œufs, tandis que Dehorne a effectué ses premières observations sur des coupes histologiques colorées à l'hématoxyline où la numération des chromosomes devait être très délicate vu leur nombre et leur taille réduite. Il est d'ailleurs symptomatique qu'il reconnaisse dans sa deuxième publication (basée sur des observations « in toto ») s'être trompé du simple au double sur le nombre de chromosomes de l'œuf en méiose.

D'autre part, l'hypothèse de races géographiques de ploïdie différente ne peut être retenue puisque, à certains stades (métaphase I pour *S. alveolata*, toute la méiose pour *S. spinulosa*), les observations de ces auteurs concordent parfaitement avec celles du présent travail bien que l'interprétation donnée en soit différente.

La proche parenté de ces deux espèces est d'ailleurs étayée par des expériences de fécondations croisées dans les deux sens (Peaucellier, 1971 et 1973) qui donnent un taux de développement faible mais significatif et fournissent des larves nageuses. L'obstacle à la fécondation ne semble d'ailleurs pas d'origine chromosomique mais semble se situer plutôt au niveau de la pénétration du spermatozoïde puisque, dans tous les cas où elle se produit, il s'ensuit un développement normal.

L'élevage des larves jusqu'à apparition de caractères spécifiques étant très long et très aléatoire (Cazaux, 1964 ; Wilson, 1968) n'a pas été entrepris.

L'existence d'hybrides naturels n'est d'ailleurs pas impossible puisque des *Sabellaria* à caractères spécifiques imprécis ont été observées sur les côtes normandes dans la région de Port-en-Bessin (Bocquet, communication orale).

Summary

Revision of the chromosome number of *Sabellaria alveolata* and *S. spinulosa* (Polychaete annelid).

The number of chromosomes of *S. alveolata* and *S. spinulosa* has been reinvestigated with the squash technique. The study of meiosis reveals that there are 16 chromosomes in haploid stages. Observations on segmented eggs of *S. alveolata* confirm that the diploid number is 32.

Resumen

El número de cromosomas de *S. alveolata* y *S. spinulosa* ha sido verificado mediante la técnica de "squash". El estudio de la meiosis ha revelado la existencia de 16 cromosomas en sus fases haploides. Las observaciones efectuadas en los cigotos de *S. alveolata*, en estados de segmentación, confirman el numero diploide de 32.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

CAZAUX, C., 1964. — Développement larvaire de *Sabellaria alveolata*. *Bull. Inst. Océan. Monaco*, 62, 1296.

DEHORNE, A., 1911. — Recherches sur la division de la cellule. II. Homéotypie et hétérotypie chez les Annélides Polychètes et les Trématodes. *Arch. Zool. exp. gén.*, 9, *pp.* 1-175.

DEHORNE, A., 1913. — Nouvelles recherches sur les mitoses de maturation de *Sabellaria spinulosa*. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 156, *p.* 485.

FAURÉ-FREMIET, E., 1924. — L'œuf de *Sabellaria alveolata*. *Arch. Anat. Micr.*, 20, *pp.* 211-342.

PEAUCELLIER, G., 1971. — Etude de la fécondation artificielle et essais de parthénogenèse expérimentale chez *Sabellaria alveolata* et *S. spinulosa*. D.E.A. Zool. exp., Université Paris VII.

PEAUCELLIER, G., 1973. — Etude de la parthénogenèse artificielle chez *Sabellaria alveolata*. Thèse 3e cycle, Université Paris VI.

WILSON, D.P., 1968. — Some aspects of the development of eggs and larvae of *Sabellaria alveolata*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 48, *pp.* 367-386.