

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LA DANSE NUPTIALE DE *PLATYNEREIS DUMERILII*
AUDOUIN ET MILNE EDWARDS (ANNÉLIDE POLYCHÈTE).
ORIGINE ET MODALITÉS D'ACTION
DE LA SUBSTANCE EXCITATRICE.

par

Yolande Boilly-Marer

Laboratoire de Biologie animale, Faculté des Sciences de Lille et Station biologique de Luc-sur-Mer.

Résumé

L'auteur démontre, à l'aide d'expériences effectuées sur plus de 500 *Platynereis dumerilii* mâles et femelles recueillies en essaimage, que, chez cette espèce, la substance excitatrice (Boilly-Marer, 1968) déclenchant la danse nuptiale et l'émission des produits génitaux est présente à la surface du corps, dans le liquide coelomique, mais absente des produits génitaux lavés, est relativement peu diffusée par les *Heteronereis* et n'est pas spécifique.

D'autre part, l'importance de la concentration de la substance excitatrice et de la durée d'excitation dans le déclenchement de la danse nuptiale est établie.

Le problème de l'origine et des modalités d'action de cette substance et, en particulier, du rôle de la fertilisine de Lillie (1913) dans le comportement nuptial des *Heteronereis*, sont discutés à la lumière de ces résultats.

Chez un certain nombre d'Annélides Polychètes, la reproduction s'effectue à l'occasion d'essaimage, le plus souvent nocturnes, et dont la périodicité coïncide avec les phases lunaires. Généralement, l'émission des produits génitaux a lieu au terme d'une danse nuptiale caractéristique. Ce mode de reproduction a été observé chez les espèces les plus diverses (Herpin, 1926 ; Fage et Legendre, 1927 ; Gravier et Dantan, 1928) et, tout particulièrement, chez les Néréidiens. Chez ces derniers, il est admis depuis les travaux de Lillie et Just (1913) que l'émission des gamètes est déclenchée par une excitation de nature chimique, produite par les partenaires d'un couple d'*Heteronereis*. Toutefois, en ce qui concerne les substances excitatrices, leur origine exacte n'a, le plus souvent, pas été précisée ; d'autre part, leurs modalités d'action ont été rarement recherchées et enfin, on ignore leur nature. Nous avons repris l'étude du déterminisme de la danse nuptiale de ces Polychètes, en utilisant comme matériel *Platynereis dumerilii* Audouin et Milne Edwards.

Nous rapporterons dans cet article les résultats expérimentaux relatifs à l'origine et aux modalités d'action de la substance excitatrice libérée par chacun des partenaires d'un couple de *Platynereis* en essaimage.

Matériel et méthodes

Le matériel utilisé (*Platynereis dumerilii* Audouin et Milne-Edwards) a été récolté lors de l'essaimage (1967 et 1968) à Luc-sur-Mer (Calvados). Les individus ont été capturés au cours de pêches nocturnes (de 22 h à 1 h) au moment du premier et du dernier quartier lunaire (la veille, le jour même et le lendemain du quartier) des mois de juillet et août (1). Les *Platynereis* sont isolées aussitôt après leur capture ; elles sont expérimentées soit la nuit-même, soit le lendemain (dans ce cas, elles sont maintenues au réfrigérateur à 10 °C). Seuls, les Vers intacts et n'ayant pas émis leurs produits génitaux, ont été retenus dans notre travail. L'origine et les modalités d'action de la substance excitatrice déclenchant la danse nuptiale et l'émission des gamètes ont été recherchées par l'observation du comportement de Vers soumis à différentes conditions expérimentales dont le détail sera rapporté au cours de l'exposé. Toutes les expériences sont réalisées dans des cristallisoirs de petite taille (environ 15 cm de diamètre) contenant 100 ml d'eau de mer filtrée (18-20 °C) ; la danse nuptiale des Vers expérimentés est analysée en considérant comme précédemment (Boilly-Marer, 1968) chacune de ses trois phases successives :

- 1 - accélération brutale de la nage ;
- 2 - nage très rapide en cercles étroits ;
- 3 - émission des produits génitaux.

I. - ORIGINE DE LA SUBSTANCE EXCITATRICE.

Nous avons recherché l'origine de la substance excitatrice à différents niveaux du corps et dans le contenu coelomique des *Platynereis*.

A. - Le corps.

1 - Techniques opératoires.

Différentes parties du corps ont été utilisées : la partie non transformée (correspondant aux 23 premiers segments sétigères chez la femelle, et aux 15 premiers segments sétigères pour le mâle) ; la partie transformée ; les prostomiums (au nombre de cinq) ; les cirres parapodiaux renflés et crénelés (provenant de cinq Vers).

Chacune de ces parties a été broyée, soit à l'aide d'un appareil

(1) Nous tenons à remercier M. B. Boilly et le personnel du laboratoire de Biologie marine pour l'aide qu'ils nous ont apportée dans la récolte.

de Potter et Elvejhem, soit avec un petit homogénéiseur à main, puis mélangée à l'eau de mer d'un cristalliseur contenant une *Platynereis* de sexe opposé à celui dont provient le broyat ; l'expérience témoin est réalisée avec des broyats de Vers entiers. Les broyats sont effectués à partir de Vers contenant ou non leurs produits génitaux ; dans le dernier cas, il s'agit d'individus ayant déjà participé à une (femelle) ou plusieurs (mâles) danses nuptiales. Nous avons utilisé soit l'homogénat lui-même, soit le surnageant obtenu par centrifugation du broyat (5.000 t/mn pendant 15 mn à 4 °C). L'activité de ces produits est évaluée en pourcentages d'émission de gamètes qu'ils provoquent.

2 - Résultats (Tableau I).

Les homogénats de parties antérieures ou postérieures (de même que ceux provenant de Vers entiers), utilisés en trop grande quantité (la moitié de l'homogénat d'un Ver par exemple), perturbent le comportement des individus expérimentés ; en particulier, la *Platynereis* soumise à de telles conditions n'entre pas en danse nuptiale au contact de cette substance qu'elle a d'ailleurs tendance à fuir, ni même en présence d'un partenaire du sexe opposé, introduit ultérieurement dans ce récipient ; l'inhibition n'est levée que si la *Platynereis* est remplacée dans une eau de mer pure.

TABLEAU I

Pourcentage d'émission de produits génitaux chez des *Pl. dumerilii* placées en présence d'homogénats provenant d'individus du sexe opposé.

Types d'expériences	Emission de produits génitaux (pourcentage)	
	mâles	femelles
a) <i>Vers avec produits génitaux.</i>		
Homogénat de Vers complets	66 (12)	73 (34)
Surnageant de l'homogénat de Vers complets	73 (15)	88 (17)
Homogénat de têtes	0 (5)	0 (5)
Homogénat de parties antérieures	87 (8)	43 (7)
Homogénat de parties postérieures	85 (7)	62 (8)
Homogénat de cirres parapodiaux transformés	0 (6)	0 (7)
b) <i>Vers « vidés » de leurs produits génitaux.</i>		
Homogénat de Vers complets	16 (6)	—
Homogénat de têtes	0 (3)	—
Homogénat de parties antérieures	12 (8)	—
Homogénat de parties postérieures	28 (7)	—

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de Vers observés. Les tirets correspondent à des expériences non effectuées.

Ajoutés en petite quantité (2 à 10 gouttes soit 10 à 50 μ l) à l'eau du cristalliseur, ces homogénats déclenchent le plus souvent une nage nuptiale caractéristique qui s'achève par l'émission de produits génitaux ; toutefois, il convient de signaler que le pourcentage d'émissions est toujours plus faible pour des homogénats provenant de Vers « vidés » (dépourvus de produits génitaux). Par contre, les broyats de têtes ou de cirres transformés ne provoquent jamais d'émission ; seule, une excitation momentanée des Vers est observée après addition de ces broyats à l'eau de mer.

B. - Le contenu coelomique.

1 - Techniques opératoires.

Le contenu coelomique est prélevé par ponction, à l'aide d'une pipette, et utilisé pour les essais biologiques, soit tel quel, soit après homogénéisation, soit après séparation des éléments figurés du coelome (coelomocytes, cellules génitales) par décantation et filtration (dans le cas des femelles) ou par centrifugation à 5.000/9.000 t/mn pendant 15 à 30 mn à 4 °C (dans le cas des mâles) ; dans tous les cas, les fractions obtenues (dépôt et liquide surnageant) sont éprouvées séparément. En outre, les culots sont « lavés » dans de l'eau de mer pure (en quantité égale à deux ou trois fois le volume du culot) et séparés à nouveau de la phase liquide comme précédemment, soit immédiatement après le « lavage », soit 30 mn à 1 h plus tard ; après chaque « lavage », le liquide surnageant (ou de « lavage ») et le culot sont éprouvés. Enfin, à l'issue du dernier lavage (troisième ou cinquième), l'activité du culot est évaluée après homogénéisation.

L'intégrité morphologique et physiologique des ovocytes et des spermatozoïdes prélevés dans les différents culots a été appréciée par un examen microscopique de ces éléments et par des essais de fécondation ; ces derniers ont été réalisés de la manière suivante : deux gouttes d'eau de mer contenant respectivement des ovocytes et des spermatozoïdes provenant des culots sont placés sur une lame de verre à proximité l'une de l'autre, puis les deux gouttes sont réunies entre elles par un mince filet d'eau et le comportement des cellules génitales est suivi au microscope.

2 - Résultats (Tableau II).

Ajouté à l'eau de mer, soit directement, soit après homogénéisation, le contenu coelomique provoque chez un Ver de sexe opposé la danse nuptiale et l'émission des produits génitaux. Un effet identique est obtenu après décantation ou centrifugation, soit avec le liquide surnageant, soit avec le culot. Toutefois, cette activité s'annule ou décroît après lavage du culot ; en particulier, les liquides de lavage de second ordre pour les femelles et de troisième ordre pour les mâles ne sont plus actifs ; de même, l'effet excitant produit par les culots s'annule après un seul lavage pour le contenu femelle et après quatre ou cinq lavages pour le contenu mâle. D'autre part, l'activité du liquide de lavage ou celle des dépôts apparaît indépendante du temps de contact entre liquide de lavage et dépôt. Enfin, l'homogénéat des culots ayant subi deux (femelles) ou cinq (mâles) lavages s'avère inactif.

L'étude microscopique des culots a montré qu'ils sont constitués essentiellement par des cellules génitales et que celles-ci ne sont pas ou peu altérées par le traitement utilisé (décantation, filtration, centrifugation, lavage) ; en particulier, la plupart des spermatozoïdes sont mobiles (chez quelques-uns seulement le flagelle est endommagé) ; les ovocytes lavés restent fécondables et manifestent une réaction corticale typique lors de la fécondation.

TABLEAU II

Pourcentage d'émission de produits génitaux chez des *Pl. dumerilii* placées en présence de contenu coelomique de Vers de sexe opposé.

Types d'expériences	Emission de produits génitaux (pourcentage)	
	mâles	femelles
Contenu coelomique complet	54 (24)	100 (15)
Surnageant du contenu coelomique (= liquide coelomique)	53 (15)	100 (18)
Contenu coelomique homogénéisé	66 (6)	80 (5)
Après « lavage » et centrifugation (♂) ou décan- tation (♀).		
Surnageant 1	33 (6)	100 (10)
Culot 1	0 (5)	83 (6)
Surnageant 2	0 (6)	60 (5)
Culot 2	0 (6)	80 (5)
Surnageant 3	0 (6)	0 (4)
Culot 3	0 (6)	75 (4)
Surnageant 4	—	0 (5)
Culot 4	—	10 (5)
Surnageant 5	—	0 (4)
Culot 5	—	0 (4)
Culots 2 et 3 femelles homogénéisés	0 (6)	—
Culot 5 mâle homogénéisé	—	0 (5)

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de Vers observés. Les tirets correspondent à des expériences non effectuées.

C. - La surface du corps.

1 - Techniques opératoires.

Pour les essais de l'activité de la surface du corps d'une *Platynereis*, il est nécessaire que celle-ci ne participe pas à la danse nuptiale et, en particulier, n'émette à aucun moment de produits génitaux ; il a donc fallu immobiliser les individus dont la surface du corps est éprouvée ou utiliser des Vers dépourvus de produits génitaux.

a) Immobilisation des *Platynereis*.

Différents artifices expérimentaux ont permis de répondre à cet impératif :

— le Ver est introduit dans un tube de verre étroit, effilé à l'une des extrémités et de diamètre équivalent à celui du corps de l'animal ; l'effilement du tube est tel que, seule, la partie antérieure du Ver (tête et 2 à 3 segments) peut émerger du tube ; le Ver est maintenu dans cette position en plaçant un bouchon à l'intérieur du tube immédiatement derrière l'animal ;

— le Ver est placé dans une boîte de Pétri en plastique dont le fond est percé d'un trou calibré de telle sorte que seule la partie antérieure du Ver, plus fine que la partie postérieure épitoque, puisse passer ;

— une partie du Ver (antérieure ou postérieure) est enveloppée dans un morceau de papier filtre.

Dans chacun de ces trois cas, il est possible de rechercher l'activité de la surface d'une partie du corps de *Platynereis* en plaçant

celle-ci dans l'eau de mer d'un cristalliseur contenant un Ver intact de sexe opposé et sans que l'individu immobilisé libère de gamètes ; l'autre partie est isolée de l'eau de mer, soit parce qu'elle est emprisonnée à l'intérieur du tube de verre étanche (1^{er} cas), soit parce qu'elle est maintenue en dehors de l'eau (2^e et 3^e cas). En outre, il est possible d'éprouver simultanément (2^e cas) ou alternativement (2^e et 3^e cas) l'activité de la surface du corps de la partie antérieure ou postérieure d'un même Ver.

L'expérience témoin a été réalisée en introduisant un leurre (tube de verre) dans l'eau de mer contenant une *Heteronereis* libre.

b) *Utilisation de Platynereis dépourvues de produits génitaux.*

Il s'agit, dans ce cas, de Vers ayant déjà participé à une (femelle) ou plusieurs (mâles) danses nuptiales. La surface du corps de ces Vers est éprouvée, soit immédiatement après l'émission des produits génitaux (après lavage rapide) soit une à deux heures plus tard (dans ce cas, les Vers sont gardés à 10 °C dans de l'eau de mer pure).

2 - Résultats (Tableau III).

a) *Immobilisation de Platynereis.*

Dans tous les cas, les Vers immobilisés n'ont pas émis leurs produits génitaux en présence d'un partenaire de sexe opposé. Par contre, ce dernier se comporte de la même manière qu'en présence d'un Ver libre ; en particulier, l'émission des gamètes se produit au terme d'une danse nuptiale normale et dans les mêmes délais

TABLEAU III

Pourcentage d'émission de produits génitaux chez des *Pl. dumerilii* mises en présence d'une partie du corps d'un Ver immobilisé de sexe opposé ou en présence d'un individu de l'autre sexe ayant déjà libéré ses produits génitaux.

Types d'expériences	Emission de produits génitaux (pourcentage)	
	mâles	femelles
a) <i>Vers immobilisés.</i>		
Tête + 2 ou 3 segments	40 (5)	100 (6)
Partie antérieure	60 (7)	100 (12)
Partie postérieure	70 (10)	80 (10)
b) <i>Vers dépourvus de produits génitaux.</i>		
Femelle utilisée immédiatement après la ponte	0 (6)	—
Femelle utilisée 30 mn à 1 h après la ponte ..	100 (10)	—

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de Vers observés. Les tirets correspondent à des expériences non effectuées.

que pour un couple de *Platynereis* évoluant dans les conditions habituelles ; en outre, un rapprochement suffisant des sexes (4 cm au maximum) prolongé ou répété est indispensable, comme pour les couples normaux, pour que la danse nuptiale puisse être déclenchée, le contact entre les deux partenaires n'étant pas nécessaire.

La présence d'un leurre dans l'eau de mer contenant une *Heteronereis* ne déclenche pas chez celle-ci de comportement nuptial.

b) *Platynereis dépourvues de produits génitaux.*

α) Femelles « vidées ». Au cours de la danse nuptiale, la femelle

émet la totalité de ses ovocytes ; après la ponte, elle reste contractée et continue à nager en cercles étroits pendant 30 mn à 1 h ; puis elle se pose sur le fond du récipient, où elle reprend une forme normale. Deux cas sont à considérer suivant le moment auquel la femelle dépourvue de produits génitaux est expérimentée :

— mis en présence d'une femelle « vidée » peu après la ponte, le mâle, peu excité, libère rarement du sperme ;

— mis en présence d'une femelle « vidée » au repos, environ une heure après la ponte, le mâle, excité de la même manière qu'en présence d'une femelle vierge, émet abondamment ses gamètes ; dans le même temps, la femelle nage en cercles étroits et se contracte violemment quelques secondes avant ou après le début de l'émission du sperme.

β) Mâles « vidés ». Contrairement à la femelle, le mâle n'éjecte qu'une partie de ses produits génitaux lors d'une danse nuptiale et peut participer efficacement à plusieurs fécondations. D'autre part, il est difficile d'obtenir des mâles dépourvus de produits génitaux ; en effet, les mâles les mieux vidés (ayant participé à une dizaine de fécondations et présentant un aspect transparent) ont toujours libéré un peu de sperme en présence d'une femelle ; le comportement de ces dernières ne peut donc être pris en considération.

D. - Discussion.

Les résultats obtenus montrent que, chez *Pl. dumerilii* épitoque, la substance responsable de la danse nuptiale et de l'émission des produits génitaux n'est pas localisée préférentiellement dans une partie du corps ; cependant, le prostomium et les cirres parapodiaux transformés ne la contiennent pas. D'autre part, cette substance se rencontre constamment dans le liquide coelomique et à la surface du corps.

L'ensemble de ces résultats permet de penser que la substance excitatrice est localisée dans le liquide coelomique ; cela pourrait d'ailleurs expliquer la faible activité des broyats de prostomiums et de cirres parapodiaux transformés, organes dépourvus de cavité coelomique ; en effet, l'activité réduite de ces broyats ne peut être imputée au faible volume des tissus mis en jeu dans cette expérience, étant donné qu'un volume inférieur ou égal de liquide coelomique déclenche toujours la danse nuptiale et l'émission des produits génitaux. Ce résultat nous autorise donc à exclure l'hypothèse relative à l'origine cérébrale du facteur excitant ; d'autre part, nous pouvons assurer que l'élaboration de matériel protéique que nous avons mis en évidence au niveau des cirres parapodiaux transformés (Boilly-Marer, inédit), analogue à celle observée chez *N. pelagica* (Boilly-Marer, 1966 a et b) n'intervient pas dans le processus exciteur. Il est vraisemblable, d'autre part, que l'excitation momentanée provoquée par les broyats de prostomiums ou de cirres transformés est occasionnée par la substance excitatrice se trouvant à la surface de ces organes ; la quantité de substance présente à ce niveau serait néanmoins insuffisante pour déclencher l'émission des produits génitaux.

Il apparaît donc que la substance excitatrice est essentiellement coelomique. Un certain nombre d'auteurs ont déjà abouti à cette conclusion chez les Néréidiens (Lillie et Just, 1913 ; Fage et Legendre, 1923 ; Herpin, 1926 ; Just, 1929 ; Townsend, 1939 a et b ; Johnson, 1943 ; Defretin, 1949 ; Allen, 1957). Toutefois, le problème de la localisation de cette substance n'a pas été abordé de façon rigoureuse. En effet, les rôles respectifs des cellules génitales, des coelomocytes et du liquide coelomique n'ont pas été analysés systématiquement ; le plus souvent d'ailleurs, les conclusions apportées par les auteurs ayant abordé ce problème, ne correspondent qu'à des présomptions. C'est ainsi que Lillie et Just (1913) supposent que la substance femelle qui déclenche l'émission du « sperme » chez les mâles de *Nereis limbata* Ehlers (= *N. succinea* Leuckart) serait la même que celle qui provoque l'agglutination des spermatozoïdes (« fertilisine » de ces auteurs) ; elle serait donc produite par les ovocytes. D'après ces mêmes auteurs, contrairement aux femelles, les mâles de *Nereis limbata* Ehlers ne libéreraient pas de substance excitatrice dans l'eau avant ou pendant la phase d'excitation mutuelle du couple ; seul « le sperme » ou, plus précisément les spermatozoïdes, déclencherait la ponte chez la femelle. Les suggestions de Lillie et Just ont été adoptées par la plupart des auteurs ayant étudié le comportement des *Heteronereis* en essaimage sans que des précisions ou preuves supplémentaires aient été apportées. Néanmoins, les résultats de nos expériences et, tout particulièrement celles relatives au lavage des produits génitaux, semblent montrer que chez les *Pl. dumerilii* mûres, le facteur excitant n'existe que dans le liquide coelomique. En effet, l'élimination, chez ces Néréidiens, de tout pouvoir excitant des produits génitaux par lavage, même très court, avec ou sans homogénéisation après lavage, montre que le facteur recherché n'est vraisemblablement pas contenu dans les cellules génitales ; toutefois, il convient de signaler que le lavage pourrait extraire la substance excitatrice à partir des produits génitaux. Cependant, dans les conditions de nos expériences, la faible durée du lavage et l'inactivité des broyats de produits génitaux lavés nous autorisent à écarter une telle hypothèse. Nous pensons que le lavage permet uniquement de diluer le liquide coelomique enrobant les cellules génitales ; il n'est pas impossible d'ailleurs que la substance excitatrice de *Platynereis* pénètre dans le cortex des ovocytes suivant un processus d'imbibition analogue à celui évoqué par Barbieri et Villeco (1966) à propos de la substance « fertilizin like » sécrétée par les oviductes de *Bufo arenarum*.

Néanmoins, si nos résultats nous autorisent à supposer que la substance excitatrice mâle ou femelle de *Pl. dumerilii* n'est pas contenue dans les cellules génitales ou coelomiques au moment de l'essaimage, nous ignorons cependant son origine exacte et si, en particulier, elle ne serait pas produite par les cellules génitales en cours de maturation ; d'ailleurs, dans cette perspective, un certain nombre de structures pourraient être considérées comme étant à l'origine de cette substance. Nous envisageons donc de reprendre l'étude du problème de l'origine de la substance excitatrice par d'autres méthodes et, en particulier, par voie cytochimique, en utilisant les résultats d'une étude actuellement en cours (Boilly-Marer et Cardon) relative à sa nature chimique.

Bien que l'origine de la substance excitatrice ne puisse être

précisée dans l'état actuel de nos recherches, nos résultats nous permettent de penser que la substance libérée par la femelle est, contrairement à l'opinion de Lillie et Just, différente de la « fertilisine » de ces auteurs, puisque des ovocytes lavés ayant perdu tout pouvoir excitant sur les mâles maintiennent leur activité sur les spermatozoïdes au cours de la fécondation et sont, en outre, fécondables ; nous avons, d'autre part, abouti au même résultat tout récemment dans un travail relatif à l'isolement de la substance excitatrice mâle ou femelle chez *Pl. dumerilii* (Boilly-Marer, 1969).

Enfin, il s'avère particulièrement intéressant de considérer la présence de substances excitatrices à la surface de Vers mâles et femelles. Bien que l'origine de celles-ci reste indémontrable par la méthode expérimentale, certaines observations apportent quelques précisions sur ce point. Elles semblent montrer, en particulier, que cette substance proviendrait du coelome après passage par le pore néphridien. L'observation la plus démonstrative de cette hypothèse concerne la période de la danse nuptiale située juste avant l'émission des produits génitaux ; à ce moment et au terme d'une nage effrénée, l'un des partenaires semble s'arrêter et se contracte violemment à l'instant précédant l'émission de ses produits génitaux ; dans la plupart des cas observables, nous avons alors constaté que cette brusque contraction détermine un sursaut du partenaire qui nage à proximité, comme si ce dernier recevait une stimulation brutale.

II. - MODALITÉS D'ACTION DE LA SUBSTANCE EXCITATRICE.

Nous avons tout d'abord tenté de définir l'importance de la libération de substances excitatrices par des *Platynereis* non encore sollicitées par des partenaires de sexe opposé puis nous avons cherché à apprécier le rôle du rapprochement entre les individus d'un couple au cours de l'essaimage. Dans un second temps, nous avons essayé de préciser le degré de spécificité de la substance excitatrice.

A. - Libération de substances excitatrices.

1 - Techniques opératoires.

L'importance de la libération de substances excitatrices par des *Platynereis* non encore sollicitées par des partenaires de sexe opposé a été appréciée en éprouvant l'activité de l'eau de mer dans laquelle elles ont séjourné, sur des *Platynereis* de sexe opposé. La quantité d'eau ayant contenu les Vers varie selon le cas entre 20 ml (un Ver) et 150 ml (trente Vers d'un sexe donné) ; la durée de leur séjour dans l'eau de mer est comprise entre 2 et 24 heures (à 4 °C ou à 20 °C). Seule, l'eau de mer de *Platynereis* n'ayant pas émis leurs produits génitaux au cours de l'expérience a été retenue dans notre travail.

2 - Résultats (Tableau IV).

Les résultats obtenus ne dépendent ni de la durée du séjour de *Platynereis* dans l'eau de mer, ni de la température à laquelle l'expé-

rience a été réalisée. L'eau de mer dans laquelle ont séjourné des mâles ou des femelles de *Platynereis* s'est toujours avérée incapable de provoquer la danse nuptiale et l'émission des produits génitaux chez un partenaire de sexe opposé ; dans quelques cas seulement, elle détermine, chez ces derniers, une légère excitation.

B. - Importance du rapprochement.

1 - Techniques opératoires.

Nous avons apprécié l'importance du rapprochement entre les individus d'un même couple au cours de l'essaimage, en les séparant l'un de l'autre à l'aide de dispositifs n'arrêtant pas les mouvements d'eau (fin grillage, boîte de Pétri en plastique perforée). Nous avons placé au milieu d'un cristalliseur contenant de l'eau de mer (100 ml) et en position verticale, un double manchon de 7 à 10 cm de diamètre de grillage à fines mailles (la distance entre les manchons est de l'ordre de 3 à 5 mm) ; le mâle ou la femelle de *Platynereis* est placé à l'intérieur du manchon central et le partenaire de sexe opposé à l'extérieur.

Nous avons réalisé la même expérience avec une boîte de Pétri perforée, retournée sur le fond du cristalliseur et sous laquelle est emprisonné un Ver. Dans chacun de ces deux cas, nous avons agité régulièrement l'eau du cristalliseur. Le comportement des deux partenaires du couple est observé jusqu'à deux heures après le début de l'expérience.

2 - Résultats (Tableau IV).

Dans la plupart des cas, les *Platynereis* évoluent dans l'eau, indépendamment de leur partenaire et n'émettent pas leurs produits génitaux, même après un séjour prolongé. Dans un cas seulement, une femelle a libéré ses ovocytes dans les deux minutes suivant le début de l'expérience ; par contre, le partenaire mâle n'a pas participé à la danse nuptiale. D'autre part, il convient de signaler un cas particulièrement démonstratif, relatif au comportement d'un couple de *Platynereis* séparées l'une de l'autre par la paroi perforée d'une boîte de Pétri ; un concours de circonstances heureux a fait que les deux partenaires ont nagé dès le début de l'expérience côte à côte, de part et d'autre de la paroi latérale ; après avoir nagé de conserve pendant une minute, les deux individus ont émis leurs produits génitaux comme dans les conditions normales.

C. - Spécificité de la substance excitatrice.

1 - Techniques opératoires.

Nous avons abordé le problème de la spécificité de la substance excitatrice sexuelle, en observant le comportement de *Platynereis* placées en présence d'un partenaire d'espèce différente et de sexe opposé ou d'une petite quantité (environ 20 μ l) de contenu coelomique de celui-ci ; corrélativement nous avons suivi les réactions de ces

derniers en présence des *Platynereis* ou du contenu coelomique de ces dernières. Les expériences ont été réalisées avec trois espèces de Polychètes récoltées en essaimage à la même période que *Pl. dumerilii* ; il s'agit de *Perinereis cultrifera* G. et de *Glycera convoluta* K. capturées

TABLEAU IV
Pourcentage d'émission de produits génitaux chez des *Pl. dumerilii* mises en présence d'eau de mer ayant contenu ou contenant des Vers de sexe opposé.

Types d'expériences	Emission de produits génitaux (pourcentage)	
	mâles	femelles
Eau de mer ayant contenu des Vers de sexe opposé	0 (15)	0 (20)
Eau de mer contenant des Vers de sexe opposé (isolés par une cloison perforée)	11 (9)	22 (9)

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de Vers éprouvés.

en même temps que les *Platynereis*, ainsi que de *Nereis succinea* Leuckart pêchée de nuit dans le canal de Caen à la mer au niveau du « Pegasus bridge » (Bénouville).

2 - Résultats (Tableau V).

Les *Platynereis* mâles ou femelles se comportent en présence d'un Néréidien d'espèce différente et de sexe opposé pratiquement de la même manière qu'en présence d'une *Platynereis* de l'autre sexe. L'excitation mutuelle des deux partenaires se manifeste souvent sans qu'il y ait eu de contact mécanique entre eux ; elle se traduit par une accélération de la nage, puis par une nage individuelle, en cercles étroits, entrecoupée de quelques brèves séquences de nage nuptiale effectuée de conserve ; enfin, l'émission des gamètes se produit dans les deux minutes qui suivent le début de l'expérience. De même, du contenu coelomique prélevé chez un Ver d'espèce (*Perinereis cultri-*

TABLEAU V
Pourcentage d'émission de produits génitaux chez quelques Néréidiens placés en présence d'un partenaire d'espèce différente et de sexe opposé ou du contenu coelomique de ce dernier.

Types d'expériences	Emission de produits génitaux (pourcentage)	
	mâles	femelles
♀ <i>Pl. dumerilii</i> + ♂ <i>P. cultrifera</i>	100 (13)	100 (13)
♂ <i>Pl. dumerilii</i> + ♀ <i>P. cultrifera</i>	100 (3)	100 (3)
♀ <i>Pl. dumerilii</i> + contenu coelomique ♂ de <i>P. cultrifera</i>	—	100 (5)
♂ <i>Pl. dumerilii</i> + contenu coelomique ♀ de <i>P. cultrifera</i>	100 (3)	—
Contenu coelomique ♀ de <i>Pl. dumerilii</i> + ♂ de <i>N. succinea</i>	87 (8)	—
Contenu coelomique ♂ de <i>Pl. dumerilii</i> + ♀ de <i>P. cultrifera</i>	—	100 (3)
♀ <i>Pl. dumerilii</i> + contenu coelomique ♂ de <i>Glycera convoluta</i>	—	100 (4)

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de Vers observés. Les tirets correspondent à des expériences non effectuées.

fera G.) ou de famille (*Glycera convoluta* K.) différente et de sexe opposé, introduit dans l'eau d'élevage d'une *Platynereis*, déclenche chez cette dernière, presque instantanément, une courte danse nuptiale suivie de l'émission des gamètes. Inversement, le contenu coelomique de *Pl. dumerilii* provoque l'émission des produits génitaux chez *N. succinea* ou *P. cultrifera*.

D. - Discussion.

Nos résultats laissent supposer que la substance excitatrice n'est que relativement peu diffusée par les *Platynereis* et qu'elle ne semble efficace qu'à partir d'une certaine concentration et d'un certain temps d'excitation. D'autre part, elle apparaît comme n'étant pas spécifique. Nous envisagerons chacun de ces trois points.

1 - Diffusion de la substance excitatrice.

L'eau de mer dans laquelle ont séjourné des *Platynereis* contient relativement peu de substance excitatrice puisqu'elle s'avère incapable de déclencher la danse nuptiale de partenaires de sexe opposé. Comme la substance excitatrice n'est pas détruite en présence d'eau de mer (Boilly-Marer, 1969), il nous semble logique de supposer qu'elle est très peu diffusée par les *Platynereis* au cours de la période précédant la danse nuptiale.

Il apparaît donc que les *Platynereis* femelles se distinguent des femelles des autres Néréidiens étudiés jusqu'à présent (*Nereis succinea* Leuckart : *N. limbata* Ehlers, Lillie et Just, 1913 ; *Nereis irrorata* M. et *Nereis pelagica* L., Herpin 1926 et Defretin, 1949 ; *P. marionii* Aud. et M. Edw. et *P. cultrifera* G., Herpin, 1926) ou de Syllidiens (*Grubea clavata* Clap., Hauenschield A. et C., 1951). En effet, chez ces espèces, les mâles placés dans une eau ayant contenu des femelles (« eau chargée ») se comportent de la même manière qu'en présence de celles-ci ; en particulier, « l'eau chargée » détermine toujours l'émission des produits génitaux mâles.

Par contre, en ce qui concerne les mâles, nos observations sont identiques à celles effectuées précédemment chez d'autres Néréidiens ; en effet, chez toutes les espèces étudiées (*N. succinea*, Lillie et Just, 1913 ; *N. irrorata* et *N. pelagica*, Defretin, 1949), l'eau ayant contenu des *Heteronereis* mâles n'excite pas les individus femelles. Nos interprétations diffèrent toutefois de celles de Lillie et Just (1913) qui admettent que le comportement des femelles de *N. succinea* Leuckart, en présence d'eau de mer ayant contenu des mâles de la même espèce, est lié à l'absence de libération de substance excitatrice par ces derniers ; selon ces auteurs, seul le sperme déclencherait la ponte. Or, en ce qui concerne l'espèce que nous avons étudiée, il est certain que les mâles produisent une substance excitatrice (Boilly-Marer, 1969) ; il en serait d'ailleurs de même chez *P. marionii* chez laquelle (Herpin, 1926) une substance « émanant du mâle » avant l'émission des spermatozoïdes, déclencherait la ponte chez les femelles.

Il est donc vraisemblable qu'une substance excitatrice est libérée à la fois par les femelles et les mâles des Néréidiens lors de l'essai-

mage ; les comportements des Vers placés en présence d'une « eau chargée », variables suivant l'espèce et le sexe, devraient pouvoir s'expliquer en tenant compte de la concentration de la substance libérée dans l'eau et du seuil d'excitabilité des Vers probablement différent suivant le sexe et l'espèce.

2 - Influence de la concentration et de la durée d'excitation.

Le comportement de *Platynereis* placées dans une eau de mer dans laquelle ont séjourné des partenaires de sexe opposé permet de supposer que la concentration de la substance excitatrice présente dans l'eau de mer est insuffisante pour déclencher la danse nuptiale, alors qu'elle est susceptible d'exciter momentanément les Vers.

L'importance de la concentration de la substance excitatrice dans le milieu sur le comportement des *Platynereis* est mise en valeur par les réactions d'un couple de *Platynereis* séparées l'une de l'autre par une cloison perforée. En effet, en s'opposant aux rencontres ou à des rapprochements de durée suffisante entre les *Platynereis* d'un couple, on empêche le déclenchement de la danse nuptiale. Cette expérience est, en réalité, une variante de celle qu'on effectue avec de l'eau de mer ayant contenu des mâles ou des femelles de *Platynereis* ; la seule différence tient au fait que, dans le premier cas, l'eau du mâle et celle de la femelle sont testées simultanément. Comme précédemment, on peut donc penser que la quantité de substance excitatrice libérée dans ces conditions est insuffisante pour déclencher la danse nuptiale. D'autre part, le comportement de certaines *Platynereis* séparées par la cloison perforée permet de dégager l'importance de la durée d'excitation dans le déclenchement de la danse nuptiale. Il s'agit plus particulièrement de celles qui ont nagé côte à côte pendant un certain temps ; dans ces conditions, il est vraisemblable que la concentration des substances excitatrices mises en jeu dans cette zone limitée est plus importante que dans les cas précédents, compte tenu du rapprochement, et que la durée de ce dernier permet à l'excitation d'atteindre un certain seuil correspondant au déclenchement de la danse nuptiale.

L'importance de la concentration de la substance excitatrice et de la durée d'excitation dans le déclenchement de la danse nuptiale est d'ailleurs souvent illustrée par des comportements caractéristiques observés chez les *Platynereis* dans la période précédant la danse nuptiale. Citons un cas particulièrement instructif.

Dans un cristalliseur contenant déjà une femelle, un mâle est introduit ; ce dernier, n'étant pas venu nager au voisinage de la femelle, n'a présenté de comportement nuptial qu'à partir du moment où il est venu frôler le fond du cristalliseur, à l'endroit où la femelle s'était préalablement posée pendant quelques minutes ; il s'y est arrêté et une fraction de seconde plus tard entra en danse nuptiale et libéra du sperme à deux reprises au-dessus de cette zone.

3 - Spécificité de la substance excitatrice.

La substance excitatrice de *Platynereis* mâles ou femelles n'apparaît pas comme spécifique car elle peut provoquer la danse nuptiale chez d'autres Néréidiens de sexe opposé (*P. cultrifera*, *N. succinea*) ;

réciproquement, ces derniers ou leur contenu coelomique provoquent, de la même manière, la danse nuptiale de *Platynereis* mâles ou femelles. Nos résultats infirment donc ceux de Lillie et Just (1913) qui admettaient, chez *N. limbata* Ehlers, la spécificité de la substance excitatrice (= fertilisine des femelles) ; les résultats de Townsend allaient d'ailleurs déjà à l'encontre des interprétations de Lillie et Just ; en effet, selon cet auteur, tout tissu, pourvu qu'il soit riche en glutathion, serait capable de remplacer la substance excitatrice. Il est d'ailleurs possible que cette substance ait une distribution relativement large, comme le laissent supposer les résultats obtenus avec le contenu coelomique mâle de *Glycera convoluta* K. ; toutefois, une étude systématique s'avère nécessaire pour vérifier cette hypothèse.

III. - CONCLUSION.

Chez les formes épitoques de *Pl. dumerilii* récoltées en essaimage, la danse nuptiale et l'émission des produits génitaux sont provoquées pour le mâle ou la femelle, par une substance provenant du partenaire de sexe opposé. Cette substance, dont la nature chimique est actuellement à l'étude, est présente à la surface du corps, dans le liquide coelomique mais n'a pas été détectée dans les produits génitaux mûrs lavés ; le problème de l'origine exacte de cette substance reste donc posé. Les *Platynereis* libèrent relativement peu de substance excitatrice dans la période précédant la danse nuptiale ; il apparaît, d'autre part, qu'une certaine concentration de substance et qu'une durée d'excitation donnée sont nécessaires pour provoquer l'émission des produits génitaux. Celle-ci peut d'ailleurs être déclenchée par d'autres espèces ou leur contenu coelomique : la substance excitatrice n'est pas spécifique.

Summary

Experimental researchs on the nuptial dance in *Platynereis dumerilii*.

The author demonstrates by means of experiments carried out on more than 500 males and females of swarming *Platynereis dumerilii* that in this specie, the exciting substance (Boilly-Marer, 1968) which evokes the nuptial dance and the gametes emission is present on the surface of the body, in the coelomic fluid, but absent of the washed mature gametes; is very little diffused by the *Heteronereis*; is not specific.

Besides, the importance of the concentration of the exciting substance and of the time of excitation in the reproductive behaviour is shown.

The question of the origin and of the action process of the exciting substance and, particularly, of the influence of fertilizin (Lillie, 1913) on the nuptial behaviour of the *Heteronereis*, is considered in the light of our results.

Zusammenfassung

Experimentalen Untersuchungen über die *Platynereis dumerilii* Hochzeitstanz.

Der Verfasser beweist durch Experimente, die an mehr als 500 männlichen und weiblichen während der Schwärmzeit gesammelten *Platynereis dumerilii* gemacht wurden, daß bei dieser Art die anregende Substanz (Boilly-Marer, 1968), die den Hochzeitstanz und die Erzeugung der Geschlechtsprodukte auslöst an der Oberfläche

des Körpers und in der Cölofluidität, vorhanden, aber bei den gewaschenen Geschlechtsprodukten abwesend ist; von die *Heteronereis* verhältnismäßig wenig diffundiert wird; nicht spezifisch ist.

Andererseits wurde festgestellt, daß die Konzentration der anregenden Substanz und die Dauer der Anregung für die Auslösung des Hochzeitstanzes wichtig sind.

Die Fragen nach der Entstehung und der Wirkungsweisen dieser Substanz, und besonders nach der Rolle, die das Fertilisin von Lillie (1913) in dem Hochzeitsverhalten der *Heteronereis* spielt, werden im Licht dieser Ergebnisse besprochen.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ALLEN, M.J., 1957. — The breeding habits of polychaetous annelids near Parguera, Puerto Rico. *Biol. Bull., Woods Hole*, 113, pp. 49-57.
- BARBIERI, F.D. and VILLECO, E.I., 1966. — A fertilizin-like substance in the egg jelly of the toad *Bufo arenarum*. *Arch. Zool. Ital.*, 51, pp. 227-237.
- BOILLY-MARER, Y., 1966 a. — Contribution à l'étude des cirres parapodiaux dorsaux des formes épitoques chez *Nereis pelagica* L. (Annélide Polychète). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 262, pp. 2052-2054.
- BOILLY-MARER, Y., 1966 b. — Etude ultrastructurale des modifications hétéronériennes des cirres parapodiaux chez *Nereis pelagica* L. (Annélide Polychète). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 263, pp. 142-144.
- BOILLY-MARER, Y., 1968. — Sur le rôle chimiorécepteur des cirres parapodiaux hétéronériens de *Platynereis dumerilii* Aud. et M. Edw. (Annélide Polychète). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 266, pp. 1583-1585.
- BOILLY-MARER, Y., 1969. — Isolement de la substance responsable du déclenchement de la danse nuptiale et de l'émission des produits sexuels chez *Platynereis dumerilii* Aud. et M. Edw. (Annélide Polychète). Premiers résultats. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 268, pp. 93-96.
- DEFRETIN, R., 1949. — Recherches sur la musculature des Nériens au cours de l'épitoque, sur les glandes parapodiales, et sur la spermiogenèse. *Ann. Inst. Océanogr. Monaco*, 24, pp. 117-257.
- FAGE, L. et LEGENDRE, R., 1927. — Pêches planctoniques à la lumière effectuées à Banyuls-sur-Mer et à Concarneau. I. Annélides Polychètes. *Arch. Zool. exp. gén.*, 67, pp. 23-222.
- GRAVIER, C. et DANTAN, J.L., 1928. — Pêches nocturnes à la lumière dans la baie d'Alger. *Ann. Inst. Océanogr., Monaco*, 5, pp. 1-186.
- HAUENSCHILD, A. et HAUENSCHILD, C., 1951. — Untersuchungen über die stoffliche Koordination des Paarung des Polychäten *Grubea clavata*. *Zool. Jahrb.*, 62, pp. 429-440.
- HERPIN, R., 1926. — Recherches biologiques sur la reproduction et le développement de quelques Annélides Polychètes. *Bull. Soc. Sc. nat. Ouest France*, 4^e série, 5, pp. 1-250.
- JOHNSON, M.W., 1943. — Studies on the life history of the marine annelid *Nereis vaxillosa*. *Biol. Bull., Woods Hole*, 84, pp. 106-114.
- JUST, E.E., 1929. — Breeding habits of *Nereis dumerilii* at Naples. *Biol. Bull., Woods Hole*, 57, pp. 307-310.
- LILLIE, F.R. and JUST, E.E., 1913. — Breeding habits of the heteronereis form of *Nereis limbata* at Woods Hole, Mass. *Biol. Bull., Woods Hole*, 24, pp. 147-160.
- TOWNSEND, G., 1939 a. — The spawning reaction and spawning integration of *Nereis limbata* with emphasis upon chemical stimulation. Chicago: *Univ. Chicago Libraries*.
- TOWNSEND, G., 1939 b. — On the nature of the material elaborated by fertilizable *Nereis* eggs inducing spawning in the male. *Biol. Bull., Woods Hole*, 77, pp. 306-307.