

Biologie du développement et de la reproduction / Development and reproduction biology

Ovogenèse de *Perinereis macropus* Claparède 1870 (Annélide, Polychète) dans le golfe de Gabès (Tunisie)

Soumaya Zribi, Fathia Zghal, Saïda Tekaya *

Département de biologie, faculté des sciences de Tunis, campus universitaire, 2092 El Manar II Tunis, Tunisie

Reçu le 8 janvier 2007 ; accepté après révision le 20 février 2007

Disponible sur Internet le 28 mars 2007

Présenté par Pierre Buser

Résumé

Perinereis macropus (Claparède, 1870) est une Annélide polychète présente dans le golfe de Gabès, mais dont la biologie de la reproduction en Tunisie n'est pas encore connue. Des prélèvements mensuels ont été effectués entre août 2004 et juillet 2005 dans une station située au niveau de l'embouchure de l'oued Ferd. Des ponctions coelomiques permettent de décrire l'évolution des ovocytes. Les résultats montrent que l'ovogenèse est asynchrone, contrairement à ce qui est couramment admis. Par ailleurs, l'étude biométrique de la croissance ovocytaire permet de préciser le cycle sexuel femelle. La maturité survient en avril, avec un diamètre moyen de l'ordre de $250 \pm 32,67 \mu\text{m}$, alors que la libération des gamètes ne s'est produite qu'en mai. Ainsi la période de reproduction s'étendra de mars à juin dans le golfe de Gabès. **Pour citer cet article :** S. Zribi et al., C. R. Biologies 330 (2007).

© 2007 Académie des sciences. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Oogenesis of *Perinereis macropus* Claparede, 1870 (Annelida, Polychaeta) in the Gulf of Gabes (Tunisia). The polychaete *Perinereis macropus* (Claparède, 1870) (Nereididae) is present in the Gulf of Gabes, but its reproductive biology is unknown. An intensive study was conducted from August 2004 to July 2005 to characterize the life cycle of a population in the mouth of wadi Ferd in Gabes. The examination of sexual products allows us to describe the morphological oocytes aspects at different stages. The results show that *P. macropus* has an asynchronous oogenesis. Moreover, the biometric study of oocytes growth allows us to clarify the female sexual cycle. The female maturity occurs in April and the mature oocyte diameter is approximately $250 \pm 32.67 \mu\text{m}$. However, spawning occurs in May, when the seawater temperature starts rising. We propose that the reproductive season stretches from March to June in the Gulf of Gabes. **To cite this article:** S. Zribi et al., C. R. Biologies 330 (2007).

© 2007 Académie des sciences. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots-clés : Annélides ; Polychètes ; Néréidés ; *Perinereis macropus* ; Reproduction ; Ovogenèse ; Golfe de Gabès

Keywords: Annelids; Polychaetes; Nereidae; *Perinereis macropus*; Reproduction; Oogenesis; Gulf of Gabes

Abridged English version

P. macropus (Claparède 1870), is an Annelida polychaeta with a large geographic distribution in the Mediterranean Sea. This species is present in the Gulf of

* Auteur correspondant.

Adresses e-mail : saida.tekaya@fst.rnu.tn,
saida.tekaya@laposte.net (S. Tekaya).

Gabès, but its biology is poorly documented. In the aim to obtain information about its reproduction, 30 specimens were monthly collected in the wadi Ferd from August 2004 to July 2005. In the laboratory, each specimen was kept in a small bottle with a little seawater. The sex was determined after examination of coelomic punctures. For females, 30 oocytes were measured using a calibrated eye piece reticle. Males were recognized by the presence of sperm plates in the coelomic fluid and mature ones by the presence of sperm aggregates. The specimens without sexual products were considered to be young and sexually undifferentiated. The female coelomic puncture has a heterogeneous aspect, and shows different oocyte diameters. For this reason, a biometric study of oocytes growth was essential to determine the reproduction period as well as the spawning season. The oocyte average diameter fluctuates between $29.74 \pm 4.65 \mu\text{m}$ in September and $250 \pm 32.67 \mu\text{m}$ in April. Otherwise, the application of statistic tests of variance analysis shows that the sexual cycle is divided into three stages. The period from June to November refers to the first one, where the oocyte average diameter is low (63.35 ± 10.01 to $74.98 \pm 7.18 \mu\text{m}$). The second stage gathers the months from December to March (85.32 ± 11.06 to $122.7 \pm 25.19 \mu\text{m}$), when the females are in vitellogenesis. The last one refers to April, with an average diameter of $250 \pm 32.67 \mu\text{m}$, when the females are mature and preparing to evacuate the gametes. These results allow us to describe the female cycle, which is divided into three stages. Otherwise, we suggest that *P. macropus* has an asynchronous oogenesis, and present a reproductive period stretching from March to June. However, spawning occurs in May when the seawater temperature starts rising.

1. Introduction

Les Polychètes sont des Annélides gonochoriques qui ne présentent pas d'organes génitaux bien différenciés. Cependant, ils possèdent des masses de cellules gamétiques, qui apparaissent comme des renflements du péritonium dans certains segments du corps [1].

Certains auteurs considèrent ces structures, chez les femelles de la majorité des Polychètes, comme des ovaires [2,3]. À maturité, les produits génitaux sont libérés, tombent dans le cœlome, puis sont évacués par les néphridies [4]. Dans le cas de l'épitoquie, les gamètes sont évacués par simple rupture du tégument [5]. L'ovogenèse peut être conventionnellement divisée en deux phases : une phase de prolifération, durant laquelle les

ovogonies se divisent mitotiquement, donnant naissance à des ovocytes, et une phase de développement, durant laquelle les ovocytes accumulent le vitellus.

Par ailleurs, on peut rencontrer deux types fondamentaux d'ovogenèse : ovogenèse extraovarienne et ovogenèse intraovarienne. Dans le premier cas, les cellules germinales quittent l'ovaire précocement, au cours de la prévitellogenèse, et subissent l'ovogenèse dans le cœlome. Dans le cas de l'ovogenèse intraovarienne, les ovocytes restent dans l'ovaire, où se déroule la plus grande partie de la vitellogenèse. Ces derniers, une fois évacués dans le liquide cœlomique, vont subir un accroissement et la différenciation [6]. Enfin, l'ovogenèse peut être synchrone, comme le cas de la plupart des Polychètes, telles que *Nereis diversicolor* et *Perinereis cultrifera*. Dans ce cas, chez le même individu, les ovocytes se trouvent au même stade de vitellogenèse. En revanche, chez d'autres espèces, telles que *Hesiocaea methanica* [7], l'ovogenèse présente une évolution asynchrone, où on rencontre chez le même individu des ovocytes de tailles différentes et appartenant à des stades différents de vitellogenèse. Afin d'obtenir des informations supplémentaires quant à la biologie de reproduction des Nereidae, nous envisageons, dans ce travail, d'étudier l'ovogenèse de *Perinereis macropus* dans le golfe de Gabès. C'est une espèce abondante durant toute l'année, qui présente une prédisposition à l'élevage au laboratoire. En outre, cette espèce n'a fait l'objet d'aucune étude biologique.

2. Matériels et méthodes

2.1. Protocole expérimental

Les spécimens de *P. macropus* ont été récoltés sur les bordures de l'oued El Ferd du golfe du Gabès (Fig. 1). Les prélèvements ont été effectués à marée basse. Le sexe, le stade de développement de chaque individu ainsi que l'étape de la gamétogenèse ont été déterminés par l'examen microscopique de la ponction du liquide cœlomique. Pour les femelles, le diamètre d'une trentaine d'ovocytes est mesuré à l'aide d'un microscope photonique muni d'un micromètre étalonné.

2.2. Analyses statistiques

Les résultats relatifs au diamètre ovocyttaire moyen ont été comparés par l'utilisation du test statistique ANOVA [8] appliqué pour l'analyse des variances.

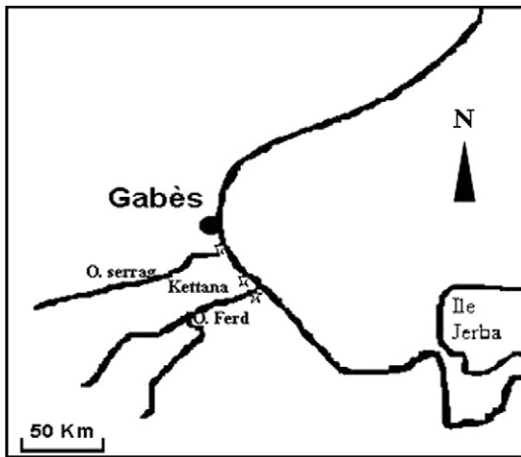


Fig. 1. Situation géographique des stations prospectées.

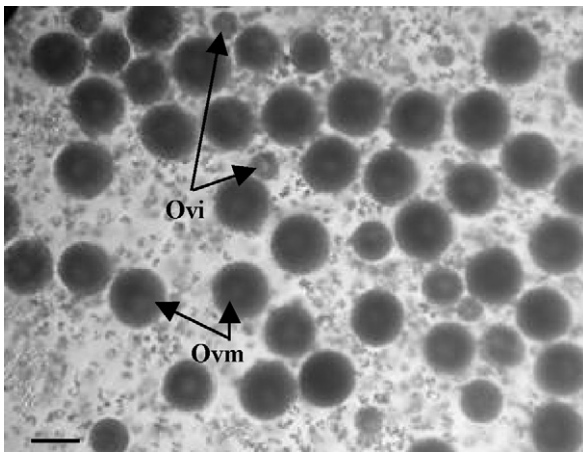


Fig. 2. Structure d'une ponction cœlomique chez un individu femelle au cours du mois de février. Ovm : ovocyte en cours de maturation ; Ovi : ovocyte immature. Échelle : barre = 100 μ m.

3. Résultats

3.1. Étude biométrique de la croissance ovocytaire

L'examen d'une ponction cœlomique d'un individu femelle montre un aspect hétérogène : on observe des cellules sphériques sombres de diamètres différents, les ovocytes (Fig. 2).

Afin de déterminer la période de reproduction ainsi que la saison de ponte, il est indispensable d'évaluer le diamètre ovocytaire moyen. L'étude des histogrammes de fréquence du diamètre ovocytaire (Fig. 3), établis en portant en abscisses les diamètres répartis en 18 classes de 20 μ m d'intervalle et en ordonnées les fréquences correspondantes, montre que la distribution des histogrammes ainsi que son étalement ne sont pas unimo-

Tableau 1

Résultats du test ANOVA appliqué pour l'analyse des variances des diamètres ovocytaires moyens mensuels ($F = 25,49$; $P = 0,0001$)

Groupe	Diamètre moyen	Intervalle de confiance	Mois
A	250	32,67	avril
B	121,7	57,05	mai
B	122,7	25,19	mars
B	88,57	18,14	février
B	86,02	16,60	janvier
B	85,32	11,66	décembre
C	74,98	7,18	novembre
C	63,35	10,01	juin
C	55,85	3,83	juillet
C	34,43	5,45	août
C	29,74	4,65	septembre
C	52,37	3,59	octobre

daux. Ceci est dû à la présence de femelles de différentes tailles dans toutes les récoltes, surtout en mars, avril et mai, où apparaissent les diamètres les plus élevés. L'analyse statistique des résultats (ANOVA ; $F = 25,49$; $P = 0,0001$). Cette analyse permet de diviser le cycle de reproduction en trois groupes (A, B, C) (Tableau 1). Ce test montre que les différences sont statistiquement significatives entre les trois groupes A, B et C. En revanche, les différences entre les diamètres moyens des ovocytes dans le même groupe sont statistiquement non significatives.

Le suivi de la croissance ovocytaire montre une évolution remarquable suivant le mois et la saison et nous a permis de préciser le cycle sexuel femelle durant une période d'un an d'août 2004 à juillet 2005 (Fig. 4). Pendant les mois de septembre à février, les ovocytes ont un diamètre restreint, compris entre 10 et 100 μ m. Ils sont donc en phase de prévitellogénèse. À partir du mois de février, le diamètre moyen commence à augmenter pour atteindre 140 μ m au mois de mars. Ceci indique que les femelles sont au stade de la vitellogénèse. Le diamètre moyen subit une croissance très rapide entre mars et avril, pour atteindre un diamètre dépassant les 200 μ m. Cette augmentation brutale du diamètre moyen observée en avril (250 μ m) est significative et peut être interprétée par le fait que ces derniers sont sur le point d'achever leur vitellogénèse pour devenir matures. Elles pourraient évacuer leurs gamètes pendant le mois suivant. Le pic observé en avril est suivi d'une chute rapide au cours du mois suivant. Cette réduction du diamètre est statistiquement significative. Ce résultat permet de supposer une première ponte au mois de mai. Toutefois, l'examen de la ponction ovocytaire en

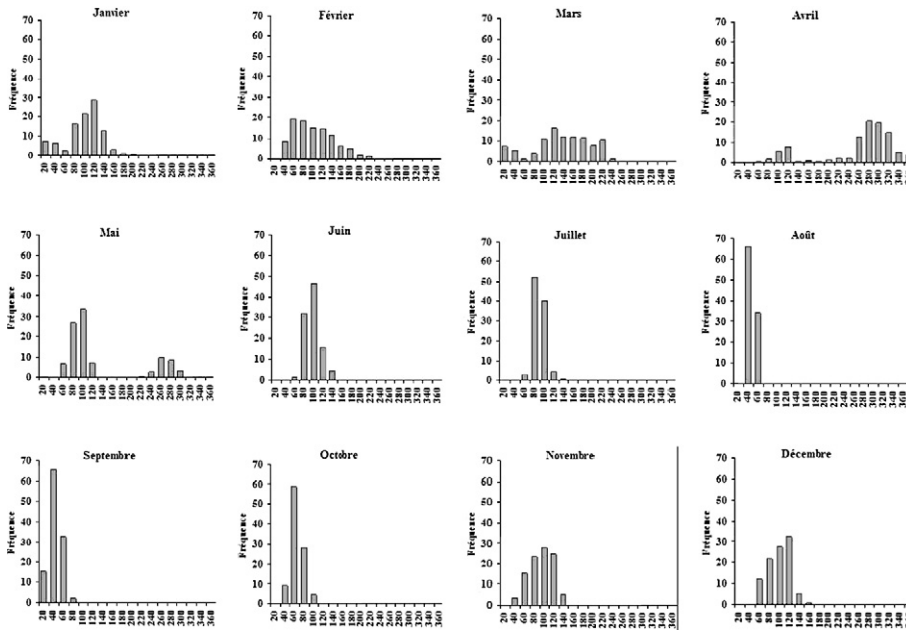


Fig. 3. Histogrammes des fréquences des diamètres ovocytaires.

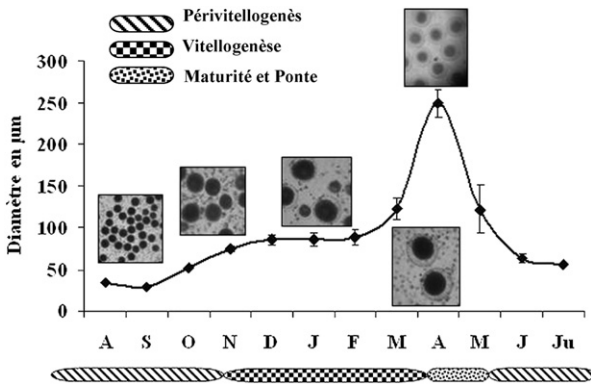


Fig. 4. Cycle sexuel femelle proposé pour *Perinereis macropus* au cours de l’année d’étude août 2004–juillet 2005.

mai révèle encore des ovocytes matures, mais avec une faible fréquence. D’après ces observations, on suppose une deuxième ponte en juin. La différence du diamètre entre mai et juin est statistiquement significative. On pourrait suggérer qu’il existe une seule ponte continue, étalée entre avril et juin. En juillet et août, le diamètre ovocyttaire moyen est respectivement de $55,85 \pm 3,83$ et $34,43 \pm 5,45 \mu\text{m}$. Cette différence, non significative, peut s’expliquer par l’apparition de nouvelles cellules en première phase de l’ovogénèse.

3.2. Déroulement de l’ovogénèse

En nous basant sur les données bibliographiques [5,9–13], ainsi que sur les résultats de l’analyse sta-

tistique, nous avons classé, en fonction de la taille et de l’aspect morphologique, les différentes catégories d’ovocytes en trois groupes.

3.2.1. La prévitellogénèse

Elle correspond à la formation des réserves lipidiques et des globules vitellins [9]. À ce stade, l’ovocyte a une petite taille. Chez *P. macropus*, le diamètre est compris entre 10 et 100 μm . Le cytoplasme est homogène, avec un noyau central. Ces ovocytes sont observés dans les ponctions cœlomiques, quelle que soit la saison. Dans le liquide cœlomique, on note la présence des éléocytes (Fig. 5). Ce sont des cellules somatiques qui jouent un rôle drastique dans le transfert des nutriments et des molécules du soma vers les gamètes [14]. En plus, ils synthétisent la vitellogénine, qui sera accumulée dans les ovocytes sous forme de vitellus [15].

3.2.2. Le grand accroissement ou vitellogénèse

Les cellules en vitellogénèse se distinguent de celles en prévitellogénèse par une taille nettement plus importante. Chez notre espèce, nous l’avons estimé entre 100 et 180 μm . Cette catégorie d’ovocytes commence à apparaître à partir du mois de décembre. Par ailleurs, le cytoplasme devient hétérogène. Cette hétérogénéité pourrait mettre en évidence la biosynthèse et l’accumulation du vitellus (Fig. 6).

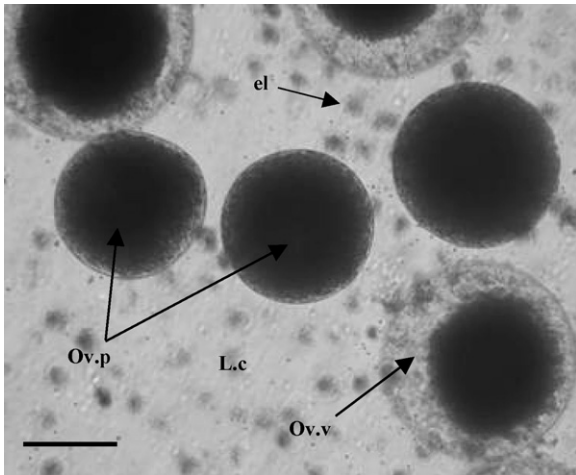


Fig. 5. Ponction cœlomique montrant des ovocytes en prévitellogénèse. el : éléocytes ; ov.p : ovocyte en prévitellogénèse ; ov.v : ovocyte en vitellogénèse ; L.c : liquide cœlomique. Échelle : barre = 60 μ m.

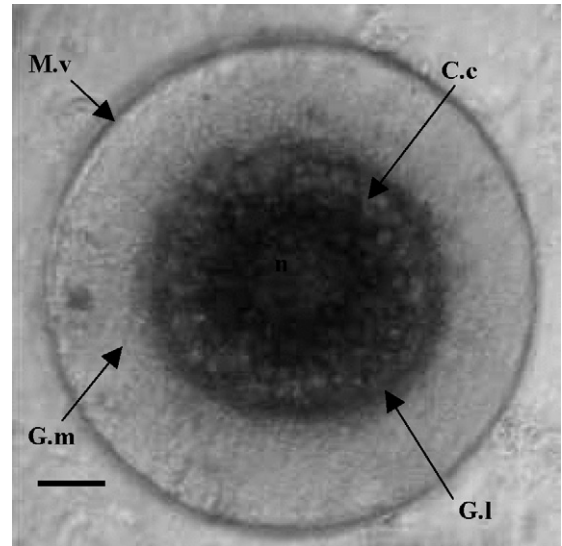


Fig. 7. Aspect morphologique d'un ovocyte mature chez *Perinereis macropus*. M.v : membrane vitelline ; G.m : gangue mucopolysaccharidique ; n : noyau ; CC : cytoplasme clair ; GL : zone des gouttelettes lipidiques. Échelle : barre = 35 μ m.

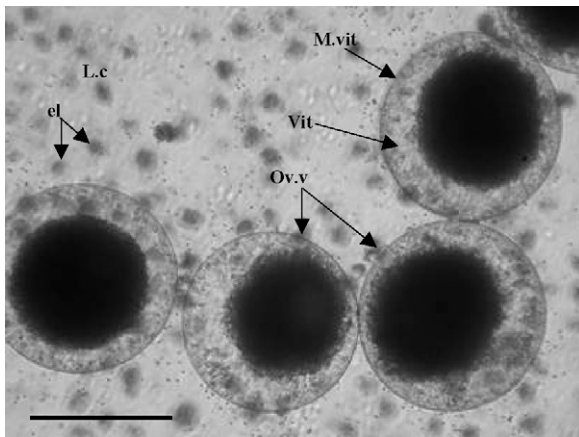


Fig. 6. Ponction cœlomique montrant des ovocytes en vitellogénèse. L.c : liquide cœlomique ; el : éléocytes vit : vitellus ; M.vit : membrane vitelline ov.v : ovocyte en vitellogénèse. Échelle : barre = 150 μ m.

3.2.3. La maturité

Durant ce stade, les gamètes atteignent leur diamètre maximal. Chez *P. macropus*, le diamètre des ovocytes submatures et matures oscille entre 200 et 350 μ m (diamètre moyen = 250 μ m). Ils sont observés aux mois d'avril et de mai. La cellule présente dans son cytoplasme des inclusions régulièrement disséminées (Fig. 7). Les constituants de l'ovocyte se séparent, marquant un nouvel agencement des inclusions cytoplasmiques. Les gouttelettes lipidiques se concentrent près du noyau. Cette structure est observée aussi chez *Nereis virens* [15].

4. Discussion

L'étude biométrique de l'ovogénèse de la population de *P. macropus* permet de dégager des données précieuses sur le cycle biologique de cette espèce. En effet, si les produits génitaux libres dans le cœlome sont présents pendant toute l'année, des fluctuations de diamètre et de nombre sont observées en hiver et au printemps. Ceci suggère que la période de reproduction est concentrée pendant ces deux saisons de l'année. D'autre part, cette étude montre que la croissance ovocytaire est asynchrone, puisque nous avons rencontré chez le même individu des ovocytes présentant des diamètres différents. Par ailleurs, chez les espèces voisines de Néréidés tels que *Perinereis cultrifera* [16] et *Platynereis dumerilii* [17] la croissance ovocytaire est synchrone.

Cette étude nous a permis également de confirmer que l'ovogénèse se déroule de la même façon que chez la plupart de Polychètes [5,9–13,18]. Cette dernière est divisée en trois stades : la prévitellogénèse, la vitellogénèse – ou croissance rapide – et la maturité. Au cours du premier stade, les ovocytes de *P. macropus* présentent un diamètre ovocytaire compris entre 10 et 100 μ m. Cependant, chez *Nereis succinea* [13], le diamètre peut atteindre 120 μ m. Pendant le grand accroissement, le diamètre ovocytaire s'accroît et atteint 180 μ m.

Ce résultat est observé aussi chez *P. cultrifera* [16]. À maturité, les ovocytes atteignent leur diamètre maximal, qui oscille chez notre espèce entre 200 et 350 μ m avec une moyenne de 250 μ m ; parmi ces derniers, cer-

tains peuvent atteindre 360 μm . Chez *P. cultrifera* [16], il a été démontré que le diamètre des ovocytes matures oscille entre 220 et 300 μm , avec une moyenne de 250 μm . Cependant, chez *Platynereis dumerilii* [17], lorsque les ovocytes achèvent leur croissance, ils présentent un diamètre de 165 μm .

Finalement, cette étude nous a permis de conclure que la période de reproduction de *P. macropus* est étalée pendant les mois de janvier à juin. La maturité commence au mois de mars et s'achève en avril. Durant ce dernier mois, on note la présence du plus grand diamètre moyen des ovocytes, qui est estimé à 250 μm . La ponte se déroulerait à la fin d'avril et s'étalerait sur le mois de mai.

Nous envisageons donc, chez *P. macropus*, de comparer le cycle de reproduction ainsi que le déroulement de l'ovogenèse de la population étudiée à l'oued Ferd dans le golfe de Gabès et les autres populations Tunisiennes.

Remerciements

Nous remercions très sincèrement M. Salaheddine Selmi, maître de conférences à la faculté des sciences de Gabès, qui a mis à notre disposition son laboratoire, où nous avons effectué la plus grande partie de ce travail.

Références

- [1] R.D. Barnes, Invertebrate Zoology, Saunders College, Philadelphia, PA, États-Unis, 1980.
- [2] R.B. Clark, P.J.W. Olive, Recent advances in polychaete endocrinology and reproductive biology, Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev. 11 (1973) 175–226.
- [3] P.J.W. Olive, The regulation of ovary function in *Cirratulus cirratus* (Polychaeta), Gen. Comp. Endocrinol. 20 (1973) 1–15.
- [4] C. Hauenschild, Der hormonale Einfluss des Gehirns auf die sexuelle Entwicklung bei dem Polychaeten *Platynereis dumerlini*, Gen. Comp. Endocrinol. 6 (1966) 26–73.
- [5] D.W. Golding, E. Yuwono, Latent capacities for gametogenic cycling in the semelparous invertebrate *Nereis*, Proc. Natl Acad. Sci. USA 91 (1994) 11777–11781.
- [6] K.J. Eckelbarger, C.M. Young, E. Ramirez Llodra, Gametogenesis, spawning behavior, and early development in the 'ice-worm' *Hesiocaeca methanicola* (Polychaeta: Hesionidae) from methane hydrates in the Gulf of Mexico, Mar. Biol. 138 (2001) 761–775.
- [7] D. Desbruyères, A. Toulmoud, A new species of hesionid worm, *Hesiocaeca methanicola* sp. nov. (Polychaeta: Hesionidae), living in ice-like methane hydrates in the deep Gulf of Mexico, Can. Biol. Mar. 39 (1998) 93–98.
- [8] SAS Statistical Institute, SAS/STAT user's guide, Version 8. SAS Statistical Institute, Cary, 1998.
- [9] M. Porchet, A. Dhainaut, Formation et migration des mucopolysaccharides au cours de l'ovogenèse de *Perinereis cultrifera* et *Nereis pelagica*. Étude histochimique et ultrastructurale, C. R. Soc. Biol. 163 (1969) 418–420.
- [10] M. Porchet, Variation of endocrine activity of the brain as a function of species, sex and life cycle in some Nereids (Annelida, Polychaeta), Lab. Zool. 18 (1972) 76–83.
- [11] D.W. Golding, General and Comparative Endocrinology 52 (1983) 456–466.
- [12] R.P. Kostyuchenko, A.K. Dondua, Ooplasmic segregation and axis formation in the Polychaete *Nereis virens* embryo, Russ. J. Dev. Biol. 31 (1999) 95–105.
- [13] J.D. Hardege, H. Bartels Hardege, T. Müller Carsten, M. Beckmann, Peptides pheromones in female *Nereis succinea*: a review, Peptides 25 (2004) 1517–1522.
- [14] A. Fischer, U. Hoeger, Metabolic links between somatic sexual maturation and oogenesis in nereid annelids – a brief review, Invertebr. Reprod. Dev. 23 (1993) 131–138.
- [15] J. Garcia-Alonso, U. Hoeger, N. Rebscher, Regulation of vitellogenesis in *Nereis virens* (Annelida: Polychaeta): Effect of estradiol-17 β on eleocytes, Comp. Biochem. Physiol. A: Mol. Integr. Physiol. 143 (1) (2006) 55–61.
- [16] A. Rouabah, P. Scaps, Life cycle and population dynamics of the Polychaete *Perinereis cultrifera* from Algerian Mediterranean Coast, Mar. Ecol. 24 (2) (2003) 85–99.
- [17] A. Fischer, A. Dorresteijn, The polychaete *Platynereis dumerilii* (Annelida): a laboratory animal with spiralian cleavage, lifelong segment proliferation and a mixed benthic/pelagic life cycle, BioEssays 26 (2004) 314–325.
- [18] K.J. Eckelbarger, Oogenesis and oocytes, Hydrobiologia 535–536 (2005) 179–198.