

Système reproducteur d'un Nématode marin à fécondation par spermatophore⁽¹⁾

Nicole GOURBAULT et Jeanne RENAUD-MORNANT

Laboratoire des Vers, associé au CNRS, Muséum national d'Histoire naturelle,
61, rue de Buffon, 75231 Paris Cedex 05.

RÉSUMÉ

Consécutivement à la mise en évidence, chez l'espèce marine *Prorhynchonema warwicki* Gourbault, 1982, d'un mode de fécondation par spermatophore jusqu'ici inconnu chez les Nematoda, la morphologie fonctionnelle des appareils reproducteurs femelle et mâle est étudiée en détail. Elle montre des structures originales modifiées, en rapport avec ce type d'insémination indirecte par spermatophore porté extérieurement par les femelles.

SUMMARY

The reproductive system of a marine nematode fertilized by spermatophore

Following the report on fertilisation by spermatophore in the marine Nematode *Prorhynchonema warwicki* Gourbault, 1982, additional data are given on functional morphology of female and male reproductive systems. They illustrate the structural modifications occurring with indirect insemination by external spermatophore attached to females, so far unknown in Nematoda.

A la suite des récoltes de méiofaune littorale que nous avons effectuées à la Guadeloupe dans le cadre de la Mission Muséum-Antilles (Renaud-Mornant & Gourbault, 1982) l'une de nous a décrit plusieurs taxons nouveaux de la famille des Xyalidae (Gourbault, 1982). Parmi ceux-ci, l'espèce type d'un genre nouveau, *Prorhynchonema warwicki* Gourbault, 1982, présente des particularités de l'appareil reproducteur en rapport avec un mode original de fécondation par spermatophore, phénomène jusqu'ici inconnu chez les nématodes et que nous venons de signaler (Gourbault & Renaud-Mornant, 1982).

Chez les nématodes, les sexes sont en général séparés ; il existe aussi des cas d'hermaphroditisme et d'intersexualité (Chitwood & Chitwood, 1950 ; De Coninck, 1965). Dans le cas le plus courant, qui est celui de la fécondation croisée, lors de la copulation, le sperme est introduit directement dans

les voies génitales femelles par l'appareil spiculaire du mâle, plus ou moins développé, jouant le rôle d'organe copulateur. Une variante par fécondation traumatique vient d'être décrite chez un oxyure parasite du lapin (Hugot, Bain & Cassone, 1982). Une particularité impliquant l'organe de De Man a été signalée chez *Oncholaimus* par Maertens et Coomans (1979). Chez *P. warwicki*, l'existence de spermatophores, ainsi que celle de pores génitaux distincts de la vulve, illustrent la possibilité d'une fécondation indirecte, assurée par l'ensemble de ces modifications de l'appareil reproducteur.

La structure de l'appareil reproducteur a surtout été étudiée chez les formes parasites (Chitwood, 1950 ; Delavault, 1959 ; Abirached, 1974 ; Mounier, 1978 ; Wolf, Hirsh & McIntosh, 1978). Chez les formes libres, le système femelle, essentiellement, a été observé (cf. Coomans, 1965 ; Geraert, Grootaert

(1) Avec la collaboration technique de Marie-Noëlle Helléouet.

& Decraemer, 1980). Les données concernant plus particulièrement les nématodes marins se trouvent généralement incluses dans les travaux taxonomiques et ont été récemment synthétisées dans un ouvrage sur la morphologie évolutive du groupe (Lorenzen, 1981).

Dans cette note, l'analyse de la morphologie fonctionnelle des appareils copulateurs de *P. warwicki* sera complétée par la description des systèmes reproducteurs femelle et mâle.

Matériel et méthodes

Prorhynchonema warwicki provient du sable corallien moyen et très calcaire, 94% CO₃Ca, du plattier à herbiers de la Plage de Bois Jolan, située sur la côte sud de Grande-Terre, Guadeloupe. Lors de nos premières récoltes (avril 1979), cette espèce, particulièrement abondante, présentait une dominance de 20 à 25%.

La faune, concentrée sur tamis de 40 µm, est fixée sur le terrain au formol neutre-eau de mer à 4%. Les colorations *in toto* ont été faites au noir chlorazol pour la morphologie externe, à la laque nucléaire de gallocyanine, et réaction nucléaire de Feulgen-Rossenbeck à froid, pour la morphologie interne.

Structures génitales femelles (fig. 1)

Comme signalé précédemment (Gourbault, 1982) l'ovaire de *P. warwicki* est unique, antérieur, droit et allongé. Il est situé à gauche de l'intestin.

Entouré d'une membrane à noyaux plats et espacés, il s'étend d'une trentaine de microns en arrière du cardia jusqu'à la vulve qui s'ouvre au tiers postérieur du corps, au-dessus d'une large gouttière ventrale (fig. 1, A). Dans sa partie antérieure, la zone germinative est occupée par un petit nombre d'oogonies à cytoplasme réduit et à noyau granuleux. Dans la zone de croissance qui lui fait suite, les oocytes dont la taille croît de 3 à 7 µm présentent un cytoplasme chargé en granules et des noyaux nettement moins chromophiles. Enfin, au niveau de la zone de maturation, les oocytes acquièrent leur taille maximale 20 µm et accumulent le vitellus. Ils sont caractérisés par un noyau faiblement coloré, à large nucléole (deux plus petits nucléoles supplémentaires sont parfois présents). Les oocytes mûrs s'observent au contact d'un gonoducte large et plissé sous la pression des œufs, à parois ondulées, pauvre en noyaux et

à l'intérieur duquel se trouvent souvent quelques spermatozoïdes épars (fig. 1, B).

L'utérus est très difficile à délimiter mais une formation glandulaire piriforme utérine post-vulvaire est toujours présente en position dorsale. Le vagin est dirigé perpendiculairement à la paroi ventrale du corps; quatre faisceaux musculaires principaux ménageant une lumière étroite sont entourés en leur partie médiane par huit cellules allongées à gros noyau sphérique.

La vulve saillante est couverte d'un opercule cuticularisé en forme d'écusson à pointes latéro-postérieures (fig. 1, B et C). Elle fait saillie entre les bords de quatre anneaux corporels interrompus ventralement dont l'un présente des apophyses bifides (ap). Les anneaux postérieurs complets et incurvés en retrait par rapport à la vulve, ménagent une large gouttière concave (gt); la moitié distale vagino-vulvaire la surplombe.

Deux orifices symétriques subventraux (go) s'ouvrent de part et d'autre de la paroi vaginale, au contact de cette même gouttière. Faisant office de pores génitaux supplémentaires, ils correspondent au départ des canaux cuticulaires (cl) de 1 µm de diamètre qui contournent le vagin en un demi-cercle latéro-dorsal pour déboucher dans sa lumière.

Presque toutes les femelles à maturité génitale portent une capsule (sp) pédonculée sub-sphérique (de 10 à 11 µm de diamètre) légèrement carénée et à paroi plus ou moins épaissie au pôle distal. Le pédoncule (p) s'insère au niveau d'un des gonopores subventraux particulièrement visibles ainsi que leurs canaux chez les spécimens non porteurs de spermatophore. La capsule contient de nombreux éléments accumulés sans ordre apparent. Leur morphologie est parfaitement semblable à celle des spermatozoïdes observés dans les vésicules séminales des mâles de la même population. Leur chromophilie est analogue vis-à-vis de la réaction nucléaire de Feulgen-Rossenbeck. Ces mêmes spermatozoïdes se trouvent dans le pédoncule et dans les canaux latéraux associés au vagin.

Une femelle portant deux spermatophores (fig. 1, C) de part et d'autre de la vulve, illustre le fait que les deux canaux latéraux sont simultanément fonctionnels pour l'ancrage de deux spermatophores. Ceux-ci, de taille semblable, étaient inégalement remplis de spermatozoïdes. La diminution du volume spermique et les transformations de la capsule (épaississement de la paroi) qui s'observent généralement démontrent aussi le transfert actif des spermatozoïdes chez *P. warwicki*. Les femelles ne portent le plus souvent qu'un unique spermatophore qui semble bien protégé contre tout écrasement, déhiscence et perte, par l'aménagement d'une gouttière sous-vulvaire à sa taille.

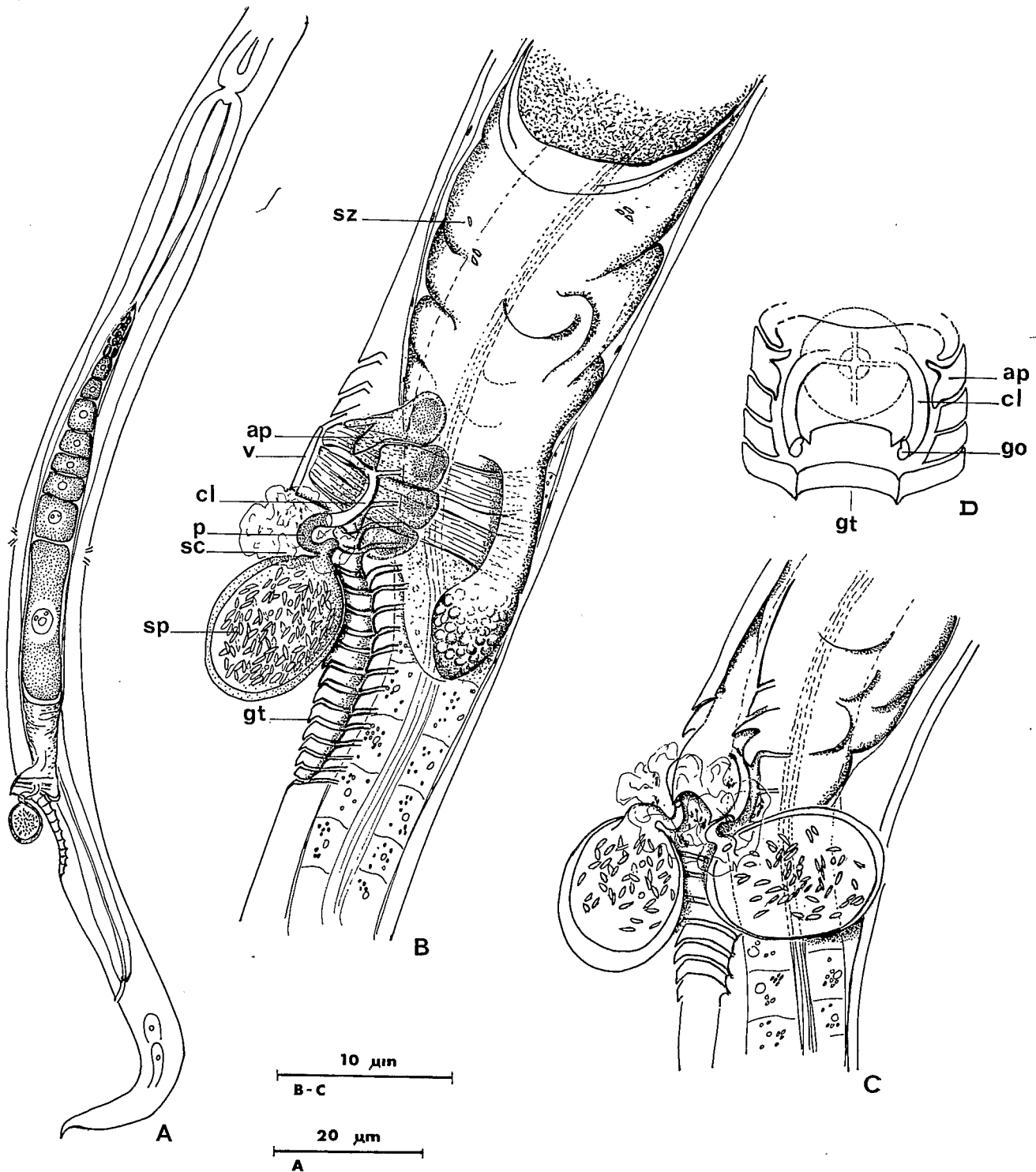


Fig. 1. *Prorhynchonema warwicki*, femelle. A : Vue latérale du système reproducteur ; B : Vue latérale de la région vulvaire et du spermatophore ; C : Vue latéro-ventrale d'une femelle à deux spermatophores ; D : Schéma de la vulve operculée, en vue ventrale (abrév. : ap, apophyse des anneaux ; cl, canal latéral ; go, gonopore subventrale ; gt, gouttière ventrale ; p, pédoncule du spermatophore ; sc, sécrétion avec bactéries ; sp, spermatophore ; sz, spermatozoïdes ; v, vulve).

Prorhynchonema warwicki, female. A : Lateral view of female reproductive organs ; B : Lateral view of vulvar area and spermatophore ; C : Latero-ventral view of vulva with two attached spermatophores ; D : Ventral schematic view of operculated vulva. (Abb. : ap : annules apophysis ; cl : lateral duct ; go : subventral gonopore ; gt : ventral groove ; p : spermatophore peduncle ; sc : secreted fluid with bacteria ; sp : spermatophore ; sz : spermatozoa ; v : vulva).

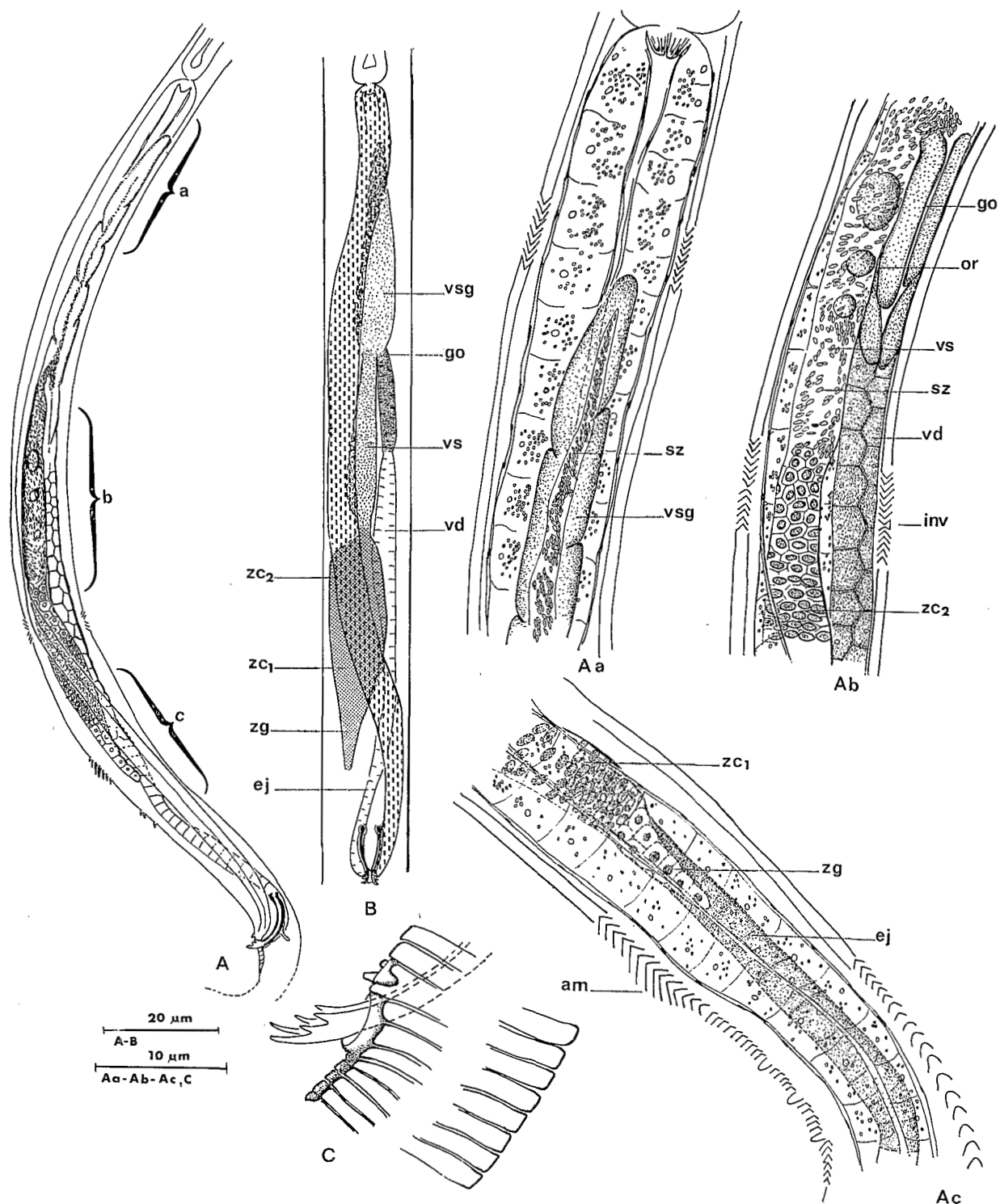


Fig. 2. *Prorhynchonema warwicki*, mâle. A : Vue latérale du système reproducteur ; Aa, Ab et Ac : détails de la figure A : Aa. zone antérieure de l'intestin et vésicule séminale glandulaire ; Ab. vésicule séminale proprement dite, gonoducte et zone de croissance avec spermatozoïdes ; Ac. zone germinative, spermatocytes, canal éjaculateur. B : Schéma général de la disposition de l'intestin et des organes reproducteurs ; C : Partie distale des spicules. Abrév. : am, anneaux corporels modifiés ; ej, canal éjaculateur ; go, gonoducte ; inv, inversion des anneaux corporels ; or, organites Feulgen-négatifs ; sz, spermatozoïdes ; vd, vas deferens ; vs, vésicule séminale ; vsg, formation glandulaire ; zc1, début de la zone de croissance ; zc2, spermatozoïdes ; zg, zone germinative.

Prorhynchonema warwicki, male. A : Lateral view of reproductive organs. Aa, Ab, Ac. Detailed views of fig. A, Aa : view of anterior part of intestine and glandular seminal vesicle ; Ab : seminal vesicle proper, gonoduct and growth area with spermatozoa ; Ac : germinative area, spermatocytes, ejaculatory duct. B : Schematic view of overall location of intestine and reproductive organs ; C : Spicules distal parts. Abb. am : modified annules ; ej : ejaculatory duct ; go : gonoduct ; inv : annules inversion ; or : Feulgen (-) organites ; sz : spermatozoa ; vd : vas deferens ; vs : seminal vesicle ; vsg : glandular formation ; zc1 : origin of growth area ; zc2 : spermatozoa ; zg : germinative area.

Structures génitales mâles (fig. 2)

Le testicule est unique et apparaît réfléchi ; mais il se pourrait en fait, qu'il corresponde au cas où seul T_2 est développé, et en conséquence la maturation des gamètes s'effectue de la partie postérieure vers la partie antérieure de l'animal. En même temps le testicule s'enroule autour de l'intestin (fig. 2, A et B). La zone germinative (fig. 2, Ac), ventrale et située à droite de l'intestin, débute à une cinquantaine de microns de la région spiculaire ; les spermatogonies de 2 à 2,5 μm de diamètre (zg) ont de larges noyaux à granulations nettement colorées. La zone de croissance où s'élaborent les spermatocytes est généralement deux fois plus vaste et atteint le niveau du corps où se fait l'inversion des anneaux corporels (inv.). Dans sa partie postérieure (fig. 2, Ac) les cellules, très tassées ont peu de cytoplasme et des noyaux très chromophiles (zc1) ; dans sa partie terminale antérieure, ces cellules se transforment en spermatides dont le cytoplasme est plus important (zc2), puis en spermatozoïdes fusiformes de 1 à 1,5 μm de longueur, fortement Feulgen-positifs. A ce niveau se produit le chevauchement de l'intestin par le testicule qui s'incurve vers la gauche pour devenir tout à fait dorsal dans sa partie antérieure (fig. 2, B).

Les spermatozoïdes se rassemblent, sans ordre apparent dans une très vaste vésicule séminale qui se compose de deux régions différentes : 1) la vésicule séminale proprement dite (vs) longue d'une quarantaine de microns, à fines parois, renferme en son milieu trois à quatre organites subsphériques de taille croissante (2 à 6 μm de diamètre) Feulgen-négatifs (or). 2) une zone de réserve, constituée par une formation glandulaire lobée (vsg) à parois épaisses, granuleuses, longue d'une cinquantaine de microns se terminant en cul de sac à une vingtaine de microns du cardia (fig. 2, Aa) ; dans sa lumière étroite (2 à 3 μm) sont alignés des spermatozoïdes. Au contact de ces deux zones d'accumulation du sperme, débouche le gonoducte (go). Il débute par une partie glandulaire, à parois épaisses et granulaires, particulièrement fine (go). Lui font suite le *vas deferens* à cellules volumineuses, cuboïdes et petits noyaux (vd), puis le canal éjaculateur à cellules alignées de plus grande taille (ej).

L'originalité de l'appareil copulateur de *P. warwicki* tient à la complexité de l'extrémité des spicules pairs et symétriques, développée en "cornes de cerfs" (fig. 2, A et C). Ils font saillie entre les anneaux corporels interrompus ventralement, dont le deuxième présente une paire d'apophyses distales semblables à celles observées de part et d'autre de la vulve.

Discussion et conclusion

Cette étude de la morphologie des gonades de *P. warwicki* vient confirmer l'hypothèse d'une fécondation par spermatophore que nous avons précédemment conçue pour cette forme de nématode marin (Gourbault & Renaud-Mornant, 1982).

Tout d'abord chez la femelle, la présence de pores génitaux de chaque côté de la vulve operculée, et d'une gouttière sous vulvaire ménageant une logette au spermatophore, indiquent bien une relation entre la morphologie et le mécanisme de la fécondation indirecte. Lorsque le spermatophore est en place, on voit toujours des spermatozoïdes fortement Feulgen-positifs aussi bien dans le canal vulvo-vaginal que dans les replis de l'oviducte au contact d'un ovocyte de grande taille, ce qui démontre bien le déplacement actif des spermatozoïdes. Celui-ci s'accompagne de la diminution de la masse spermique dans le spermatophore et de l'épaississement de la paroi vésiculaire à l'apex. Ces phénomènes de transformation de la paroi ont déjà été signalés chez des Copépodes, lors de l'évacuation du sperme par le col du spermatophore, situé à l'intérieur des voies génitales femelles (Fahrenbach, 1962 ; Gharagozlouvan Ginneken, 1978).

Chez le mâle, l'originalité du système reproducteur tient à la structure, en deux zones distinctes, de la vésicule séminale. D'une part, les organites Feulgen-négatifs réticulés de la zone proximale ne peuvent être assimilés à des cellules de Reinke car il faudrait qu'un faisceau de spermatozoïdes soit agglutiné à de telles cellules nourricières (Thiriot-Quiévreux & Martoja, 1979), mais ils sont vraisemblablement impliqués dans l'élaboration du spermatophore. D'autre part, le très grand développement de la zone distale à paroi glandulaire épaissie où s'alignent les spermatozoïdes, pourrait être lié au maintien en vie des éléments fertilisateurs.

Par ailleurs, la forme des spicules semble en accord avec ce mode de transfert indirect du sperme, n'impliquant pas de pénétration dans la vulve.

L'existence de spermatophore externe du type que nous venons de décrire est inconnue chez les Nématodes. Il est bien entendu que cette existence est forcément liée à un ensemble de structures complexes qui s'observent à un stade très élaboré chez *P. warwicki* mais pourraient se rencontrer à différents degrés d'évolution chez d'autres taxons marins. Il ne serait pas impossible alors de découvrir des modalités de reproduction proches, couvrant toutes les étapes intermédiaires : par exemple possibilité d'un spermatophore interne aux voies génitales femelles chez *Ixonema sordidum* (Magda Vincx, comm. pers.).

Un spermatophore externe n'est pas davantage connu chez les Nématelminthes en général. Cependant, chez une espèce de Gastrotriches, formes hermaphrodites, l'insémination par allosperme s'effectue par l'intermédiaire d'un spermatophore (Teuchert, 1968) à caractères peu évolués il est vrai (Ruppert, 1978).

REMERCIEMENTS

Nos récoltes ont été possibles grâce à la Mission Muséum-Antilles. L'ébauche de ces recherches a été exposée par l'une de nous lors du Symposium sur les Nématodes aquatiques (Plymouth, sept. 1981). Nous tenons à remercier nos collègues pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu y porter et tout particulièrement Magda Vincx et le Professeur A. Coomans (Gand) pour l'observation des lames, leur judicieux conseils et la révision du manuscrit.

RÉFÉRENCES

- ABIRACHED, M. (1974). *Aspects ultrastructuraux de l'ovogenèse de C. elegans, (Nématode libre)*. Thèse de 3^e cycle. Univ. C. Bernard, Lyon, n° 110, 55 p. + pl.
- CHITWOOD, B.G. & CHITWOOD, M.B. (1950). *An introduction to Nematology Section 1, Anatomy*. Baltimore, Monumental Printing Co, 213 p.
- COOMANS, A. (1965). Structure of the female gonads in members of the Dorylaimina. *Nematologica*, 10 (1964), 601-622.
- DE CONINCK, L.A. (1965). Classe des Nématodes. Systématique des Nématodes et sous-classe des Adenophorea. In : Grassé, P.P. (Ed.) *Traité de Zoologie*, Tome IV (2) : 586-681.
- DELAVALT, R. (1959). Développement, croissance et fonctionnement des glandes génitales chez les Nématodes libres. *Arch. Zool. exp. et gén.*, 97 : 109-208.
- FAHRENBACH, W.H. (1962). The biology of a Harpacticoid Copepod. *La Cellule*, 62 : 303-376.
- GERAERT, E., GROOTAERT, P. & DECRAEMER, W. (1980). Structure of the female reproductive system in some Dorylaimida and Enoplida (Nematoda). *Nematologica*, 26 : 255-271.
- GHARAGOZLOU-VAN GINNEKEN, I.D. (1978). Sécrétion et organisation de la paroi stratifiée du spermatophore chez quelques Copépodes : Ultrastructure et cytochimie. *Cytobiol.*, 18 : 231-243.
- GOURBAULT, N. (1982). Nématodes marins de Guadeloupe. I. Xyalidae nouveaux des genres *Rhynchonema* Cobb et *Prorhynchonema* nov. gen. *Bull. Mus. natn. Hist. nat.*, 4, section A : 75-87.
- GOURBAULT, N. & RENAUD-MORNANT, J. (1982). Un nouveau mode de fécondation par spermatophore, chez les Nématodes. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 294 (Ser. III) : 285-287.
- HUGOT, J.-P., BAIN, O. & CASSONE, J. (1982). Insémination traumatique et tube de ponte chez l'Oxyure parasite du lapin domestique. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 294 : 707-710.
- LORENZEN, S. (1981). Entwurf eines phylogenetischen Systems der freilebenden Nematoden. *Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerh.*, suppl. 7 : 472 p.
- MAERTENS, D. & COOMANS, A. (1979). The function of the demanian system and an atypical copulation behaviour in *Oncholaimus oxyuris*. *Annals Soc. r. Belg.*, 108 : 83-87.
- MOUNIER, N. (1978). *La gamétogénèse chez le Nématode hermaphrodite Caenorhabditis elegans, variété Bergerac. Etude cytogénétique de mutants stériles non conditionnels*. Thèse 3^e cycle, Univ. C. Bernard, Lyon, I, n° 681 : 37 p. + 7 pl.
- RENAUD-MORNANT, J. & GOURBAULT, N. (1982). Premières prospections méiofaunistiques en Guadeloupe. I. Les biotopes et leurs peuplements. *Bull. Mus. natn. Hist. nat.*, 1981, 3 sect. A, (4) : 1011-1034.
- RUPPERT, E.E. (1978). The reproductive system of Gastrotrichs. II. Insemination in *Madrosasys* : a unique mode of sperm transfer in Metazoa. *Zoomorphologie*, 89 : 207-228.
- TEUCHERT, G. (1968). Zur Fortpflanzung und Entwicklung der Macrodasyoidea (Gastrotricha). *Z. Morph. Tiere*, 63 : 343-418.
- THIRIOT-QUIEVREUX, C. & MARTOJA, M. (1979). A propos de la notion de spermatogénèse atypique chez *Carinaria lamarcki* (Mollusca, Heteropoda). *Neth. J. Zool.*, 29 : 137-141.
- WOLF, N., HIRSH, D. & McINTOSH, J.R. (1978). Spermatogenesis in males of the free-living nematode, *Caenorhabditis elegans*. *J. Ultrastruct. Res.*, 63 : 155-169.

Accepté pour publication le 4 mai 1982.