

ENDOCRINOLOGIE DE LA DIFFERENCIATION SEXUELLE CHEZ LES MOLLUSQUES PROSOBRANCHES

P. LUBET, W. STREIFF, N. SILBERZAHN
et M. DROSDOWSKY

Groupe d'Endocrinologie comparée U. E. R. des Sciences de la Vie et du Comportement Université de Caen

RESUME

Chez les Gastéropodes, quelques aspects fondamentaux des processus réglant la différenciation sexuelle ont pu être mis en évidence chez des espèces hermaphrodites: *Calyptraea sinensis* (Streiff, 1967 c), *Crepidula fornicata* (Lubet et Streiff, 1969), *Patella vulgata* (Choquet, 1969), *Helix aspersa* (Guyard, 1969) et chez les espèces gonochoriques: *Littorina littorea* (Streiff et Le Breton, 1970 a, b), *Viviparus viviparus* (Griffond, 1969).

1 — Différenciation sexuelle de la gonade: la différenciation de l'ovaire relève d'un processus fondamental d'autodifférenciation ovocytaire qui assure la transformation de la protogonie en ovogonie et en ovocyte jusqu'à la prévitellogénèse (*Calyptraea*, *Crepidula*). Secondairement, trois facteurs de fonctionnement non sexualisés émis par les ganglions cérébroïdes assurent la réalisation de l'ovogénèse: facteur mitogène, facteur de prévitellogénèse et facteur de ponte.

La différenciation du testicule, exception faite pour *Patella*, est due à l'action d'un facteur spermatogénétique d'origine cérébrale, inhibiteur de l'autodifférenciation ovocytaire. Secondairement, un facteur mitogène, non sexué, d'origine cérébroïde assure la multiplication des spermatogonies.

2 — Différenciation du tractus génital: Les cultures organotypiques sur des organes isolés ou associés en milieu an hormonal nous ont permis de montrer que les tractus génitaux mâles ou femelles étaient des organes neutres, qui conservent en culture une remarquable stabilité aussi bien chez les hermaphrodites protandres *Crepidula* et *Calyptraea* que chez les gonochoriques *Littorina* et *Viviparus*.

Toutefois, la réalisation de cultures associées a montré que la morphogénèse du tractus génital mâle est due à un facteur hormonal diffusant à partir du tentacule oculaire droit.

L'involution du tractus génital chez la Crépidule et la Calyptrée est due à une substance élaborée par les ganglions pleuraux. Enfin,

nos plus récentes recherches sur des cultures interspécifiques ont montré que ces actions n'étaient pas spécifiques et qu'elles se rencontraient aussi bien chez les hermaphrodites que chez les gonochoriques.

SUMMARY

In Gastropod, a few fundamental data concerning the control of sexual differentiation could be cleared out, both in hermaphroditic species such as *Calyptrea sinensis* (Streiff, 1967 c), *Crepidula fornicata* (Lubet et Streiff, 1969), *Patella vulgata* (Choquet, 1969), *Helix aspersa* (Guyard, 1969) and gonochoric ones: *Littorina littorea* (Streiff and Le Breton, 1970 a, b) and *Viviparus viviparus* (Griffond, 1969).

1 — Sexual differentiation of the gonad: The differentiation of the ovary depends on a fundamental process of self differentiation of protogonia into oogonia and then young oocytes up to praevitellogenesis stage (*Calyptrea*, *Crepidula*). Afterwards three physiological unsexualized "factors" emitted by the cerebral ganglia will bring ovogenesis to achievement: a mitotic factor, a vitellogenesis factor and an egg-laying hormone. The differentiation of a testis (except for *Patella*) is due to a spermatogenetic factor originating in the cerebral ganglia which inhibits the oogonial self-differentiation. Then a not sexualized mitotic factor, also emitted from the brain, induces the proliferation of spermatogonia.

2 — Differentiation of the genital tract: Our culture techniques of isolated or a associated organs on hormoneless media allowed us to demonstrate that both male and female genital tracts of Prosobranche are neutral systems not capable of self-evolution and having a conspicuous stability in their features and structure as well in dioecious *Calyptrea* or *Crepidula* as in such monoecious species as *Littorina* et *Vivipara*.

Moreover, combined "in vitro" cultures have shown that the morphogenesis of the male genital tract is produced by the diffusion into the haemolymph of an endocrine factor originating from the right ocular tentacle.

On the other hand, the involution of the male tract in *Crepidula* and *Calyptrea*, is due to a substance elaborated by the pleura ganglia. Finally, our very recent research based on interspecific cultures where organs from dioecious and monoecious species were combined allowed us to state factors responsible for the development or the regression of the male tract do not especially belong to definite species or to a given sexual type (mono or dioecious).

Des progrès récents ont été réalisés dans la connaissance de la différenciation sexuelle des Mollusques, c'est-à-dire dans l'étude des mécanismes assurant la réalisation des gamètes, la morphogénèse et le fonctionnement des tractus génitaux. Les techniques mises en oeuvre dans ces recherches appartiennent à l'endocrinologie et à l'embryologie

expérimentales: microchirurgie, ablations et implantations d'organes, injection d'extraits et surtout la pratique des cultures organo-typiques selon diverses modalités qui dérivent toutes de la méthode mise au point en 1952 par Wolff et Haffen.

Nous voulons présenter aujourd'hui quelques résultats encore peu connus ou originaux obtenus chez quelques Mollusques Prosobranches hermaphrodites et gonochoriques, par des chercheurs français et en particulier, par ceux de notre équipe de recherche sur l'Endocrinologie des Mollusques *

Dans le but de dégager quelques notions générales qui seront discutées, nous avons groupé les résultats expérimentaux à l'intérieur des deux grands problèmes: la différenciation sexuelle de la gonade et la différenciation sexuelle des tractus génitaux.

Pour pouvoir interpréter correctement les résultats obtenus chez les différentes espèces, il convient de bien poser les problèmes. Il est nécessaire, dès maintenant, d'établir une distinction fondamentale entre ce qui revient à la différenciation, c'est-à-dire à la sexualisation mâle ou femelle des gonies indifférenciées ou des tractus génitaux et ce qui revient au fonctionnement des gonades ou des tractus génitaux. C'est ainsi que nous distinguerons, chaque fois que cela est possible, les facteurs assurant la différenciation mâle ou femelle de l'ébauche gonadique, des facteurs secondaires de fonctionnement, souvent nécessaires, mais distincts des premiers.

LA DIFFERENCIATION SEXUELLE DE LA GONADE

I. *La gonade femelle*

Les premières études mettant en évidence quelques facteurs fondamentaux de la différenciation ovogénétique ont été réalisées sur *Calyptraea sinensis* par Streiff (1966-1967 c).

* Nous remercions très chaleureusement Monsieur le Professeur G. Peres, Directeur de l'Institut Michel Pacha qui nous a souvent hébergés au laboratoire maritime de Physiologie de Tamaris sur Mer et qui a mis à notre disposition les ressources de son Institut.

1. *Calyptraea sinensis*:

Chez cette espèce, l'hermaphrodisme est de type protandre, la gonade étant mâle chez les jeunes de 3 à 8 mm de diamètre puis devenant femelle au-delà de 8 mm.

a. Autodifférenciation ovocytaire et ses limites:

Streiff (1966) a cultivé en milieu hormonal 64 ébauches de gonades ne présentant que des gonies indifférenciées, prélevées sur des animaux de 2 mm. Au terme de cette culture, 58 gonades se sont transformées en ovaires sans aucune trace de spermatogénèse. Les ovocytes sont en phase de petit accroissement, les plus évolués bloqués au stade IV (Streiff, 1967 a) précédant la prévitellogénèse (accumulation d'ARN dans le cytoplasme). La prolongation de cette culture au delà de 20 jours montre que la vitellogénèse ne peut s'accomplir normalement. L'autodifférenciation ovarienne se limite à une autodifférenciation ovocytaire incapable d'assurer l'évolution normale de l'ovocyte. Pour que cette dernière puisse se poursuivre (prévitellogénèse et vitellogénèse) un facteur extracellulaire est indispensable.

Les cultures réalisées sur des gonades femelles différenciées montrent que la vitellogénèse ne peut s'effectuer que chez des ovocytes ayant atteint le stade prévitellogénèse.

b. Vitellogénèse et facteur de prévitellogénèse:

Des cultures "associées" ont apporté la preuve de l'existence d'un facteur de prévitellogénèse et permis de préciser son origine (Streiff, 1966-1967 a, c). 78 systèmes nerveux prélevés à divers stades du cycle sexuel sont cultivés avec des ovaires différenciés *in vitro*. Seuls, les systèmes nerveux prélevés sur des femelles en prévitellogénèse ont eu une action. Les ovocytes entrent en prévitellogénèse et présentent un début de vitellogénèse caractéristique.

La vitellogénèse ne peut donc se réaliser qu'en présence d'un facteur émis au niveau du système nerveux central pendant la phase de prévitellogénèse (changement de sexe et phases successives du cycle de reproduction femelle). Ce facteur diffuse dans le milieu et se retrouve dans l'hémolymphe de l'individu puisque cette dernière est active en culture.

2. *Crepidula fornicata*:

a. Les travaux de Lubet et Streiff, 1969, ont montré qu'il existe chez cette espèce un *phénomène d'autodifférenciation ovarienne*, mais un peu différent de celui qui vient d'être décrit chez *Calyptraea*. Les gonades mâles juvéniles présentent, après 21 jours de culture en milieu an hormonal, quelques ovocytes alors que les cellules de la lignée mâle dégèrent. Les gonades mâles actives dégèrent totalement en 15 jours de culture sans apparition d'ovocyte.

Ces expériences montrent que la recherche de l'autodifférenciation ovocytaire doit se faire très tôt, au stade de l'ébauche gonadique indéterminée.

b. Des ablations bilatérales des ganglions cérébroïdes (Lubet et Streiff, 1969; Lubet et Silberzahn, 1970; Lubet, 1971; Lubet, Le Gall, Barbier et Silberzahn, 1973), ont montré que cette intervention, parfaitement supportée par les animaux, provoque l'arrêt de la reproduction, la lyse des ovocytes en cours d'évolution et la disparition définitive des ovogonies au bout d'environ 6 mois.

Le même résultat peut être atteint en détruisant seulement la zone dorsale cérébro-pleurale du cerveau (Lubet, Le Gall, Barbier et Silberzahn, 1973). Ces auteurs ont montré également que chez les femelles décérébrées ou chez lesquelles on a détruit la zone dorsale cérébro-pleurale, la réimplantation d'un cerveau de femelle ou de mâle provoquait la reprise de la gamétogénèse (pl. 1 et pl. 2). Catania (1973), Le Gall et Catania (1973), ont étudié les différentes régions de la neurosécrétion dans le cerveau de *Crepidula fornicata*; ils ont pu mettre en évidence une forte densité de cellules neurosécrétrices dans la zone cérébro-pleurale dorsale (Fig. 1).

Ces cellules neurosécrétrices sécrèteraient une *gonadostimuline* permettant la survie de la lignée germinale (ovogonies) et l'activité mitotique de ces cellules ou leur entrée en méiose. Il est intéressant de remarquer que ce facteur hormonal n'est pas "sexualisé" puisque aussi bien un cerveau de mâle que de femelle permet la reprise de l'ovogénèse chez la femelle décérébrée.

Ces résultats confirment et complètent ceux qu'a obtenu Choquet (1965) chez *Patella vulgata*.

3. *Patella vulgata*:

Des recherches récentes de Choquet (1969) ont montré que la gonade de la Patelle est fondamentalement bisexuée dès le stade juvénile. L'hermaphrodisme protandre y est constant. La gonade mâle fonctionnelle présente toujours des ovogonies et des ovocytes bloqués dont le nombre augmente pendant les phases de repos sexuel. Progressivement, la gonade atteint un stade de préinversion. La phase femelle apparaît alors.

Les techniques d'ablation et de cultures organotypiques ont apporté des résultats fondamentaux pour la compréhension des mécanismes de l'ovogénèse chez la Patelle.

Choquet n'a pu retrouver jusqu'ici, chez cette espèce, le phénomène d'autodifférenciation ovarienne mais cela est sans doute dû au fait qu'il a cultivé des gonades trop âgées, la différenciation sexuelle étant sans doute très précoce.

a. Le facteur mitogène:

Les gonades femelles cultivées isolément ne manifestent aucune évolution. Les ovogonies ne se multiplient pas, les ovocytes s'accroissent, mais il n'y a pas de vitellogénèse. En associant aux cultures de gonades en préinversion des ganglions cérébroïdes de femelles en préinversion ou en phase de reproduction, Choquet (1969) obtient une multiplication importante des ovogonies.

Il existe donc un facteur mitogène émis au niveau des ganglions cérébroïdes et responsable de cette multiplication. La gonadostimuline ne serait pas sexualisée car elle agirait aussi bien sur les ovogonies que les spermatogonies: les ovogonies des gonades femelles sont sensibles à l'action d'un cerveau prélevé sur un mâle actif et réciproquement.

b. Le facteur de vitellogénèse:

Comme nous l'avons signalé chez *Crepidula* et *Calyptraea*, Choquet n'a jamais pu obtenir de vitellogénèse dans les cultures de gonades femelles isolées en milieu an hormonal. Les cerveaux de *Patella* prélevés sur des individus en inversion sexuelle ou en début de vitello-

génèse montrent que ce facteur prévitellogénétique agit, comme chez *Calyptraea*, à la façon d'une impulsion.

4. *Viviparus viviparus*:

Chez les espèces gonochoriques de Prosobranches, les résultats se limitent actuellement aux recherches de Griffond (1969) sur la Paludine. La gonade mâle prélevée sur des individus adultes de 10 mm présente en culture isolée, une dégénérescence rapide de la lignée mâle, puis au delà de 8 jours, l'apparition de cellules à aspect ovocytaire. Il y a donc, chez cette espèce gonochorique, un phénomène d'autodifférenciation ovarienne. L'association en culture de gonade mâle et de ganglions cérébroïdes femelle provoque une augmentation des cellules à allure ovocytaire. Cette action féminisante rappelle l'action exercée par ces ganglions chez l'Escargot (Guyard, 1967-1969).

5. *Discussion*:

Ces résultats expérimentaux, encore peu nombreux, montrent un certain nombre de points communs fondamentaux permettant de proposer un schéma provisoire rendant compte de la différenciation et de la réalisation du sexe femelle chez les Mollusques Gastéropodes.

a. La gonie indifférenciée s'autodifférencie en ovogonie. Ce phénomène a été décrit chez les Pulmonés (Guyard, 1967-1969; Badino, 1967). Il est identique au phénomène d'autodifférenciation ovarienne découvert par Charniaux-Cotton (1962) chez le Crustacé *Orchestia gamarella*.

b. Un facteur d'origine cérébrale assure la multiplication des ovogonies. Les ovogonies s'autodifférencient en ovocytes capables d'assurer la phase du petit accroissement et de la préméiose.

En résumé, la sexualisation femelle serait due à une autodifférenciation ovocytaire de l'ébauche gonadique et à deux facteurs d'origine cérébrale assurant secondairement la réalisation complète de l'ovogénèse: multiplication et évolution des ovogonies-vitellogénèse.

II. *La gonade male*

1. *La culture des gonades isolées*, prélevées sur des mâles adultes, conduit dans de très nombreux cas, à une dégénérescence rapide

de la lignée mâle de la spermatogénèse à la spermatide. Tels sont les cas des Gastéropodes Prosobranches gonochoriques: *Viviparus viviparus* (Griffond, 1969), *Littorina littorea* (Streiff, inédit), *Buccinum undatum* (Streiff, inédit) ou hermaphrodites: *Calyptraea sinensis* (Streiff, 1967), *Crepidula fornicata* (Lubet et Streiff, 1969) et de Pulmonés: *Helix pomatia* (Guyard et Gomot, 1964), *Helix aspersa* (Guyard, 1969).

2. L'action du système nerveux:

Des associations d'organes en culture (*Calyptraea*, Streiff, 1967 a, c) montrent que le système nerveux prélevé sur des mâles de 6 mm ou que l'hémolymphe totale de ces animaux, permettent le maintien de la spermatogénèse des gonades mâles cultivées. Cette action a été retrouvée chez *Crepidula* par N. Silberzahn (inédit).

Cette action masculinisante du cerveau pendant la phase mâle revêt deux formes:

- les mitoses spermatogoniales sont maintenues
- la différenciation spermatogoniale semble intéresser toutes les gonies.

Les résultats des ablations bilatérales des ganglions cérébroïdes chez *Crepidula fornicata* (Lubet et Streiff, 1969) confirment les résultats précédents: la spermatogénèse s'arrête après décérébration. Après 6 mois, les opérés sont totalement castrés. La réimplantation de ganglions cérébroïdes chez les décérébrés permet la reprise de l'activité génitale (Lubet, inédit).

En conclusion, la différenciation mâle de la gonade est due à la surimposition, à des gonies indifférenciées dont le développement normal est ovogénétique, d'une différenciation spermatogénétique par un facteur émis par le cerveau, pendant la phase mâle. Des facteurs de fonctionnement permettent ensuite la réalisation complète de la gamétogénèse mâle. Un facteur mitogène, libéré au niveau des ganglions cérébroïdes, assume la multiplication des spermatogonies au début de la gamétogénèse.

3. Cas de *Patella vulgata*:

a. Le fait que les jeunes gonades utilisées par Choquet ne renferment que des cellules déjà différenciées en spermatogonies et ovo-

gonies ne permet pas de mettre en évidence le facteur responsable de la sexualisation mâle ou femelle des gonies. Toutefois, Choquet (1969) a pu mettre en évidence un facteur mitogène en associant des ganglions cérébroïdes de mâles fonctionnels à des gonades mâles en phase de repos. Il a pu ainsi obtenir de nombreuses mitoses spermatogoniales suivies de la spermatogénèse normale. Les gonades mâles associées à des ganglions cérébroïdes femelles jeunes présentent la même évolution.

La "gonadostimuline" n'est donc pas sexuée. C'est un facteur indépendant du sexe de la gonie sur laquelle il agit et dont l'activité maximum correspond au début de la gamétogénèse.

b. Le facteur inhibiteur tentaculaire — Associant en culture des tentacules oculaires et des gonades prélevées à différents stades, Choquet (1965, 1969) a établi que les tentacules empêchaient tout reprise de la spermatogénèse. De nombreuses expériences de cultures de gonades associées aux tentacules et aux ganglions cérébroïdes prélevés à différentes phases du cycle sexuel ont établi que l'inhibition tentaculaire s'exerce de façon continue mais n'affecte pas la production du facteur mitogène cérébroïde.

L'alternance des phases mâles serait alors réglée par le jeu de deux substances antagonistes: un principe issu des tentacules oculaires inhiberait constamment la multiplication des spermatogonies (repos sexuel), le principe cérébroïde favorisant leur division (phases mâles) lorsque ces cellules ont atteint un certain seuil de réceptivité.

4. Discussion:

Des quelques cas étudiés, il ressort que, dans l'ensemble, la spermatogénèse ne peut se réaliser à partir de l'ébauche gonadique, en l'absence de facteurs humoraux. Nous ne connaissons pas encore le facteur responsable de la sexualisation mâle de l'ébauche gonadique chez *Patella*, mais chez *Calyptreaea* et *Crepidula*, un facteur différenciateur spermatogénétique a pu être mis en évidence. Il est émis par les ganglions cérébroïdes.

Un facteur mitogène, sécrété aussi par les ganglions cérébroïdes, assure la multiplication des spermatogonies à chaque phase de la spermatogénèse. Chez les espèces présentant plusieurs cycles mâles (*Pa-*

tella) un facteur inhibiteur d'origine tentaculaire pourrait bloquer les mitoses spermatogoniales.

DIFFERENCIATION SEXUELLE DU TRACTUS GENITAL

De nombreux travaux ont relaté les modifications morphologiques et cytologiques affectant le tractus génital au cours du cycle sexuel. Ils font état d'une étroite corrélation entre l'état de la gonade et le développement du tractus génital.

Garnault (1889), Pelseneer (1906), Wesenberg-Lund (1931), Chaulaux (1935), De Laremborgue (1939), Arvy (1952), Brunnacker-Daur (1955), Joosse (1964) ont signalé chez les Pulmonés présentant une castration parasitaire une atrophie ou une absence totale du tractus génital.

Une telle conception devait recevoir une remarquable vérification expérimentale par les travaux de Laviolette (1954) qui à la suite de Filhol (1938) et d'Abeloos (1943) a mis en évidence l'existence d'un lien humoral entre les parties glandulaires du tractus génital et l'état physiologique de l'ovotestis chez les Arionidés. Les recherches sur les Prosobranches sont beaucoup plus récentes étant effectuées essentiellement sur *Calyptraea*, *Crepidula* et *Littorina*.

1. Les tractus génitaux sont des organes "neutres":

a. Ainsi chez les Prosobranches hermaphrodites *Calyptraea sinensis* (Streiff, 1966) et *Crepidula fornicata* (Lubet et Streiff, 1969), les tractus génitaux mâles complets, des fragments de tractus (pénis, gouttière déférente), des ébauches, des territoires présomptifs et des formes régressées ont été maintenus pendant plus de 200 jours de culture sans présenter aucune involution ou évolution.

b. Chez les formes gonochoriques, le pénis a pu être maintenu en culture sans aucune modification pendant 55 jours pour *Littorina littorea* (Le Breton, 1969), pendant 45 jours pour *Vivipara contectus* (Griffond, inédit) et pendant 73 jours pour *Buccinum undatum* (Streiff, inédit).

c. Pour le tractus génital femelle, le vagin, l'utérus et l'oviducte ou leurs territoires morphogénétiques se révèlent incapables d'évoluer après 212 jours de culture chez *Calyptraea* (Streiff, 1967 b) et chez *Crepidula* (Streiff, inédit).

L'existence de cette neutralité des tractus génitaux en cultures "in vitro" chez les Prosobranches gonochoriques et hermaphrodites, montre que ces animaux ne sont pas fondamentalement sexualisés quant aux tractus génitaux. Cette neutralité implique que toute modification, édification ou régression d'organe ne peut être réalisée que par l'action de facteurs actifs agissant sur une partie ou l'ensemble de l'organe.

2. Les facteurs responsables de la morphogénèse du tractus génital:

a. Le tractus génital mâle

— Chez *Calyptraea sinensis*, hermaphrodite protandre, le pénis subsiste sous une forme régressée chez la femelle. Streiff (1966) a montré que ce pénis régressé acquiert en culture "in vitro" les caractères propres à la phase mâle lorsqu'il est associé à un tentacule oculaire droit de mâle actif. L'ébauche du pénis se développe également lorsqu'elle est associée à un tentacule oculaire de mâle actif et il en est de même pour les autres parties du tractus génital mâle (gonoducte, gouttière déférente). Tout autre type d'association reste sans effet.

— Chez *Crepidula fornicata*, Le Gall (1971, 1973 b), espèce voisine de *Calyptraea*, le pénis régresse totalement pendant la phase femelle. Le pénis en cours de régression, ou son territoire morphogénétique, prélevé chez des femelles ou des mâles immatures, évolue vers une morphogénèse mâle typique, lorsqu'il est associé au tentacule oculaire droit d'un mâle actif (Lubet et Streiff, 1969).

— Chez l'espèce gonochorique *Littorina littorea*, la morphogénèse du pénis est obtenue chez le mâle par l'association de l'ébauche du pénis avec le tentacule oculaire droit de mâle présentant un pénis bien développé (Le Breton, 1969, 1970). Cette morphologie est aussi réalisée à partir du territoire morphogénétique de l'organe prélevé sur une femelle adulte, lorsqu'il est associé à un tentacule de mâle actif (Streiff et Le Breton, 1970).

On ne connaît rien de la nature et de la composition chimique de ce facteur tentaculaire si ce n'est qu'il s'agit d'un facteur humoral, diffusible dans le milieu, agissant à distance et présent dans l'hémolymphe. Des études faites sur l'activité de ce facteur, en fonction de la taille et de l'âge ont montré chez *Calyptraea* (Streiff, 1966) et chez *Crepidula* (Silberzahn, inédit) que l'efficacité maximale chez le mâle

décroit progressivement. La substance apparaît progressivement chez le jeune, présente un maximum d'activité pendant la phase mâle fonctionnelle et disparaît progressivement pendant la phase femelle.

Les expériences effectuées chez *Crepidula* et *Littorina* (Streiff et Le Breton, 1970) ont montré que la substance active n'est pas spécifique mais qu'elle agit entre l'espèce gonochorique et l'espèce hermaphrodite. Le tentacule oculaire droit de *Crepidula*, en phase mâle active induit la formation de l'ébauche pénienne sur le territoire morphogénétique de cet organe prélevé sur une *Littorina* femelle adulte et inversement.

Des expériences d'ablation des ganglions cérébroïdes chez *Crepidula* entreprises par Lubet et Streiff (1969) entraînent chez les mâles, la régression totale du pénis et de la gouttière. L'ablation partielle du cerveau (Lubet et Silberzahn, inédit) accélère la régression du pénis par rapport aux témoins. Il est alors permis de se demander quel est le rôle du tentacule oculaire, d'autant que l'ablation de cet organe n'entraîne pas la régression du pénis. Si l'on confronte ces résultats à ceux obtenus chez *Calyptraea* (Streiff, 1965) par l'action du système nerveux complet du mâle y compris les nerfs tentaculaires, on peut se demander si l'activité du tentacule ne provient pas du nerf qu'il contient. Dans ce cas, le tentacule pourrait n'être que le lien de déversement de la substance active sécrétée par les ganglions cérébroïdes.

b Les facteurs actifs responsables de la régression du tractus génital mâle

Chez *Calyptraea* et *Crepidula*, l'association en culture "in vitro" des ganglions pleuraux et pédieux prélevés chez une femelle active et de tractus génitaux mâles, provoque la régression de ces derniers (Streiff, 1966; Lubet et Streiff, 1969; Silberzahn, Streiff, Le Breton, Lubet, 1969).

Il existe donc chez ces Mollusques un facteur différenciateur du tractus génital mâle présentant tous les caractères d'une substance de nature hormonale. Cette substance émise au niveau du complexe pédio-pleural de la femelle assure la régression du tractus génital mâle pendant la phase femelle des hermaphrodites protandres. Cependant, chez *Calyptraea* (Streiff, 1966) et chez *Crepidula* (N. Silberzahn, inédit), le facteur de différenciation existe chez le mâle.

Enfin, des associations interspécifiques faites entre des pénis de *Crepidula* en phase mâle et de complexes pédio-pleuraux de Littorine femelle (ou inversement) montrent qu'il y a dans tous les cas régression du pénis (Streiff et Le Breton, 1970; Streiff, Le Breton et Silberzahn, 1970).

Le facteur de dédifférenciation n'est donc pas propre à une espèce, il est actif entre individus gonochoriques et hermaphrodites d'espèces différentes.

c. Les facteurs responsables de la morphogénèse du tractus génital femelle

Nos connaissances se limitent aux travaux relatifs à *Calyptraea sinensis* (Streiff, 1967 b). Chez cette espèce, la morphogénèse du tractus génital femelle n'a pu être obtenue en culture "in vitro" qu'en associant le territoire morphogénétique du tractus à l'hémolymphe ou à des ganglions cérébroïdes prélevés sur des animaux changeant de sexe. L'hémolymphe ou les ganglions cérébroïdes prélevés pendant la phase femelle sont inactifs.

Il semble donc que le tractus génital femelle de cette espèce soit édifié par l'action d'une substance sécrétée par les ganglions cérébroïdes pendant un temps très court au moment du changement de sexe. Une fois édifié, la présence de cette substance n'est pas nécessaire au maintien du tractus génital femelle.

3. Discussion et hypothèses:

Ces résultats permettent de proposer un schéma provisoire du déterminisme de la morphogénèse et du cycle du tractus génital chez deux espèces de Prosobranches hermaphrodites, protandres: *Calyptraea sinensis* et *Crepidula fornicata*.

Chez l'individu jeune, le tractus génital mâle est édifié par l'action d'une substance hormonale, émise au niveau du tentacule droit et dont l'origine vraisemblable est les ganglions cérébroïdes. Cette substance assure le maintien du tractus mâle malgré la présence d'une hormone de différenciation émise par le complexe cérébro-pleural. L'activité de cette hormone devient prépondérante à partir du changement de sexe alors que l'activité de la substance edificatrice cérébroïde diminue. La morphogénèse du tractus génital femelle serait due à une impulsion hormonale d'origine cérébrale, au moment du changement de sexe.

Chez les espèces gonochoriques étudiées, les résultats sont encore très fragmentaires. Cependant, les facteurs responsables de la morphogénèse du pénis sont les mêmes. L'absence de tractus génital mâle chez la femelle serait due à l'absence de l'hormone édificatrice du tractus mâle à laquelle s'ajoute la présence de l'hormone dédifférenciatrice.

Plusieurs faits fondamentaux ont été établis:

- la neutralité des tractus génitaux.
- l'existence de facteurs neuroendocriniens d'origine cérébrale responsables de la morphogénèse de ces tractus.
- l'existence d'un facteur de dédifférenciation du tractus mâle d'origine pédio-pleurale.
- la non-spécificité des facteurs hormonaux.
- l'analogie des processus réglant la réalisation du sexe des tractus génitaux chez les hermaphrodites et les gonochoriques.

Il apparaît également que la différenciation des tractus génitaux n'est pas sous la dépendance directe de la gonade.

Existe-t-il des substances sécrétées par la gonade et pouvant agir au niveau du tractus génital ou du cerveau comme l'ont montré Gottfried et Dorfman (1968), chez les *Arionidae*?

Des recherches récentes entreprises au laboratoire par Bardon, Drosdowsky et Lubet, (1971) sembleraient prouver que la gonade mâle ou femelle de *Crepidula fornicata* est capable d'activité stéroïdogène. En effet, à l'aide de précurseurs marqués, il nous a été possible de mettre en évidence la transformation de l'Androsténone en Testostérone. Le rôle d'une telle activité est encore inconnu mais la présence de ces activités a été retrouvée chez la Moule (De Longcamp, Drosdowsky et Lubet, 1970).

B I B L I O G R A P H I E

- ABELOOS, M. (1943) — Effets de la castration chez un Mollusque (*Limax maximus*). C. R. Acad. Sc. Paris, 216:90-92.
- ARVY, L. (1952) — Contribution à l'étude des Trématodes parasites de *Columbella rustica* L. (Gastéropodes Prosobranches). Ann. Parasitol., 27:485-498.
- BADINO, G. (1967) — I fattori della gametogenesis di *Arion rufus* studiate con il metodo della cultura in vitro. Arch. Zool. Ital., 52:271-275.

- BARDON, O.; LUBET, P et DROSDOWSKY, M. (1971) — Byosynthèse des stéroïdes chez un Mollusque gastéropode marin, *Crepidula fornicata* (Phil.). Steroidologia, 2:336-337.
- BRUNNACKER-DAUR, M. (1955) — Die Einwirkungen von Trematoder auf Wassersnecken. Ein Beitrag zum Wirt-Parasit-Verhältnis. Z. Parasitenkunde, 17:193-216.
- CATANIA, R. (1973) — Les cellules neurosécrétices et leur localisation au cours du cycle vital dans le système nerveux central de *Crepidula fornicata*. C. R. Acad. Sc. Paris, 276:801-804.
- CHALAUX, J. (1935) — Sporocystes d'un *Brachylemus dujardini* chez *Helix aspersa*. Bull. Soc. Sc. Bretagne, 12:53-57.
- CHARNIAUX-COTTON, H. (1962) — Preuve expérimentale de l'autodifférenciation ovarienne chez *Orchestia montagui* Audoin (Crustacé Amphipode). C. R. Acad. Sc. Paris, 254:2836-2838.
- CHOQUET, M. (1965) — Recherches en culture organotypique sur la spermatogénèse chez *Patella vulgata* L. (Mollusque gastéropode). Rôle des ganglions cérébroïdes et des tentacules. C. R. Acad. Sc. Paris, 261:4521-4524.
- CHOQUET, M. (1969) — Contribution à l'étude du cycle biologique et de l'inversion du sexe chez *Patella vulgata* L. Thèse Doctorat. Sc. Nat. Lille, 185:1-234.
- FILHOL, J. (1938) — Recherches sur la nature des Lépidosomes et les phénomènes cytologiques de la sécrétion chez les Gastéropodes Pulmonés. Arch. Anat. Micr., 34:155-439.
- GARNAULT, P. (1889) — La castration parasitaire chez *Helix aspersa*. Bull. Sc. Fr. Belg., 20:137-141.
- GOTTFRIED, H. et DORFMAN, R. (1968) — The steröid biochemistry of the Molluscan ovotestes. A general concept of reproductive control mechanisms. IIIrd. Intern. Congress Endocrinol., México.
- GRIFFOND, B. (1969) — Survie et évolution, en culture "in vitro", des testicules de *Viviparus viviparus* L. Gastéropode prosobranchie à sexes séparés. C. R. Acad. Sc. Paris, 268:963-965.
- GUYARD, A. (1967) — Féminisation de la glande hermaphrodite juvénile d'*Helix aspersa*. Müll, associée, "in vitro", au ganglion cérébroïde d'escargot adulte ou de paludine femelle. C. R. Acad. Sc. Paris, 265:145-149.
- GUYARD, A. (1969) — Autodifférenciation femelle de l'ébauche gonadique de l'escargot *Helix aspersa* Müll cultivée sur milieu an hormonal. C. R. Acad. Sc. Paris, 268:966-969.
- GUYARD, A. et GOMOT, L. (1964) — Survie et différenciation de la gonade juvénile d'*Helix aspersa* en culture organotypique. Bull. Soc. Zool. Fr., 89:48-56.
- JOOSSE, J. (1964) — Dorsal bodies and dorsal neurosecretory cells of the cerebral ganglia of *Lymnaea stagnalis* L. Arch. Neerl. Zool., 16:1-103.
- LAREMBERGUE, M. de (1939) — Étude de l'autofécondation chez les Gastéropodes Pulmonés. Recherches sur l'aphallie et la fécondation chez *Bulinus (Isodora) contortus* Michaud. Bull. Biol. Fr. Belg., 73:19-231.
- LAVIOLETTE, P (1954) — Role de la gonade dans les déterminisme humoral de la maturité glandulaire du tractus génital chez quelques Gastéropodes Arionidae et Limacidae. Bull. Biol. Fr. Belg., 88:310-332.

- LE BRETON, J. (1969) — Analyse expérimentale comparée des facteurs déterminants du cycle du tractus génital mâle chez un Gastéropode hermaphrodite *Crepidula fornicata* (Phil) et chez un Gastéropode gonochorique *Littorina littorea* L. Thèse Doctorat en Biologie animale, Caen, 113 p. 9 pl. 21 tb.
- LE BRETON, J. (1970) — Evolution et chute du pénis, étude de l'influence du jeune chez *Littorina littorea*. Mollusque gastéropode prosobranch. C. R. Acad. Sc. Paris, **271**(5):534-536.
- LE GALL, S. (1971) — Evolution du pénis au cours du cycle sexuel chez *Crepidula fornicata* Phil. *Haliotis*, **1**:27-28.
- LE GALL, S. (1972) — Organogénèse du pénis chez *Crepidula fornicata* Phil. Bull. Soc. Zool. Fr. (sous presse).
- LE GALL, P. (1973 a) — Activation de la croissance par les mâles dans les chaînes de *Crepidula fornicata* Phil. (Mollusque mésogastéropode). C. R. Acad. Sc. Paris, **276**(4):615-617.
- LE GALL, P. (1973 b) — Croissance et interaction chez *Crepidula fornicata* Phil. (Moll. mésogastéropode). Bull. Soc. Zool. Fr. (sous presse).
- LE GALL, S. et CATANIA, R. (1973) — Étude ultrastructurale du cycle sécréteur des neurones de la jonction cérébro-pleurale chez *Crepidula fornicata* Phil. Bull. Soc. Zool. Fr. (sous presse).
- LONGCAMP, D. de; DROSDOWSKY, M. et LUBET, P. (1970) — Biosynthèse des Stéroïdes chez les Mollusques. 1 — Mise en évidence d'une 17- β -Hydroxystéroïde deshydrogénase dans les gonades de *Mytilus edulis* L. C. R. Acad. Sc. Paris, **271**:1564-1566.
- LUBET, P. (1971) — Influence des ganglions cérébroïdes sur la croissance de *Crepidula fornicata* Phil. (Mollusque Mésogastéropode). C. R. Acad. Sc. Paris, **273**:2309-2311.
- LUBET, P. et SILBERZAHN, N. (1971) — Recherches sur les effets de l'ablation bilatérale des ganglions cérébroïdes chez la Crepidule (*Crepidula fornicata* Phil.). Effets somatotropes et gonadotropes. C. R. Soc. Biol. Paris, **165**(3): 590-594.
- LUBET, P. et STREIFF, W. (1969) — Étude expérimentale de l'action des ganglions nerveux sur la morphogénèse du pénis et l'activité génitale de *Crepidula fornicata* Phil. (Mollusque Gastéropode). Cours et documents de Biologie, **1**:141-159. Ed. Gordon et Breach, Paris.
- LUBET, P.; LE GALL, P.; BARBIER, J. et SILBERZAHN, N. (1973) — Effets gonadotropes de la zone neuro-sécrétoire cérébro-pleurale du cerveau de *Crepidula fornicata*. Bull. Soc. Zool. Fr. (sous presse).
- PELSENEER, P. (1906) — Trématodes parasites des Mollusques marins. Bull. Sc. Fr. Belg., **40**:161-186.
- SILBERZAHN, N.; STREIFF, W.; LE BRETON, J. et LUBET, P. (1969) — Rôle du complexe pédio-pleural dans la régression du pénis chez *Crepidula fornicata* Phil. et chez *Littorina littorea* L. Gen. Comp. Endocrinol., **18**:3, n.º 134.
- STREIFF, W. (1965) — Analyse en culture in vitro de l'évolution du pénis au cours du cycle sexuel chez *Calyptrea sinensis* L. (Mollusque prosobranch). Abst. 3rd. Conf. Europ. Endocrinol., **50**.

- STREIFF, W. (1966) — Étude endocrinologique du déterminisme du cycle sexuel chez un Mollusque hermaphrodite protandre *Calyptrea sinensis* L. Mise en évidence par culture in vitro de facteurs hormonaux conditionnant l'évolution du tractus génital mâle. Ann. Endocrinol. Paris, 27, suppl. 3 bis:385-400.
- STREIFF, W. (1967 a) — Études cytologiques et endocrinologiques sur le cycle sexuel de *Calyptrea sinensis* L. (Mollusque prosobranch hermaphrodite protandre). Thèse de Doctorat Sc. Nat. Toulouse, 1-261, 29 pl.
- STREIFF, W. (1967 b) — Étude endocrinologique du déterminisme du cycle sexuel chez un mollusque hermaphrodite protandre *Calyptrea sinensis* L. II. Mise en évidence par culture in vitro de facteurs hormonaux conditionnant l'évolution du tractus génital femelle. Ann. Endocrinol. Paris, 28:461-472.
- STREIFF, W. (1967 c) — Étude endocrinologique du déterminisme du cycle sexuel chez un mollusque hermaphrodite protandre *Calyptrea sinensis* L. III. Mise en évidence par culture in vitro de facteurs hormonaux conditionnant l'évolution de la gonade. Ann. Endocrinol. Paris, 28:641-656.
- STREIFF, W. et LE BRETON, J. (1970 a) — Étude comparée en culture in vitro des facteurs responsables de la morphogénèse et de la régression du tractus génital mâle externe chez deux mollusques gastéropodes prosobranches: *Crepidula formicata* Phil. (espèce protandre) et *Littorina littorea* L. (espèce gonochorique). C. R. Acad. Sc. Paris, 270:632-634.
- STREIFF, W. et LE BRETON, J. (1970 b) — Étude endocrinologique des facteurs régissant la morphogénèse et la régression du pénis chez un mollusque prosobranch gonochorique *Littorina littorea* L. C. R. Acad. Sc. Paris, 270:547-549.
- STREIFF, W.; LE BRETON, J. et SILBERZAHN, N. (1970) — Non spécificité des facteurs hormonaux responsables de la morphogénèse et du cycle du tractus génital mâle chez les mollusques prosobranches. Ann. Endocrinol. Paris, 31:548-556.
- WESENBERG-LUND, E. (1931) — Contribution to the development of the *Trematoda digena*. I. The biology of *Leucochloridium paradoxum*. Mem. Ac. Roy. Sc. Litt. Danemark, 4:89-142.
- WOLFF, E. et HAFFEN, K. (1952) — Sur une méthode de culture d'organes embryonnaires "in vitro" Texas Rep. Biol. Hed., 10:462-472.

FIGURES et PLANCHES

FIGURE I

Figure I — Cerveau de *Crepidula fornicata* d'après Catania (1973) modifié: A: vue dorsale, B: vue latérale gauche (animal femelle). En taches noires, les groupes de cellules neuro-sécrétrices, C: ganglion cérébroïde, P: ganglion pédieux, PL: ganglion pleural (ou palléal), SU: ganglion supra-oesophagien, SO: ganglion sous-oesophagien, Z: zone neurosécrétoire dorsale cérébro-pleurale. (Environ grossi 50 fois).

PLANCHE N.° 1

- A: Femelle normale en fin d'ovogénèse (X 350). Les ovocytes murs distendent les acini de la gonade et sont remplis de plaquettes vitellines.
- B: Femelle ayant subi l'électrocoagulation de la zone dorsale neurosécrétrice cérébro-pleurale. Etat de la gonade après 6 mois. Les ovocytes n'ont pas été émis et se sont lysés. Les follicules de la gonade sont vides sans ovogénèse (X 350).
- C: Femelle témoin du lot précédent après 6 mois. Les animaux ont pondu et sont à nouveau le siège d'une ovogénèse intense (X 750).

PLANCHE N.° 2

- A: Femelle ayant subi l'ablation des ganglions cérébroïdes et sur laquelle on a greffé un cerveau total de mâle fonctionnel: Deux mois après l'ablation on constate la lyse in situ des ovocytes (X 750).
- B: Même lot opératoire après 5 mois: les ovocytes en cours de lyse ont disparu mais leur présence est encore marquée par la persistance de quelques plaquettes vitellines. Une nouvelle ovogénèse commence à partir des ovogonies et quelques ovocytes en prévitellogénèse sont présents (X 750).
- C: Même lot sept mois après l'opération. Les phénomènes d'ovogénèse sont en cours dans tous les follicules de la gonade (X 750).

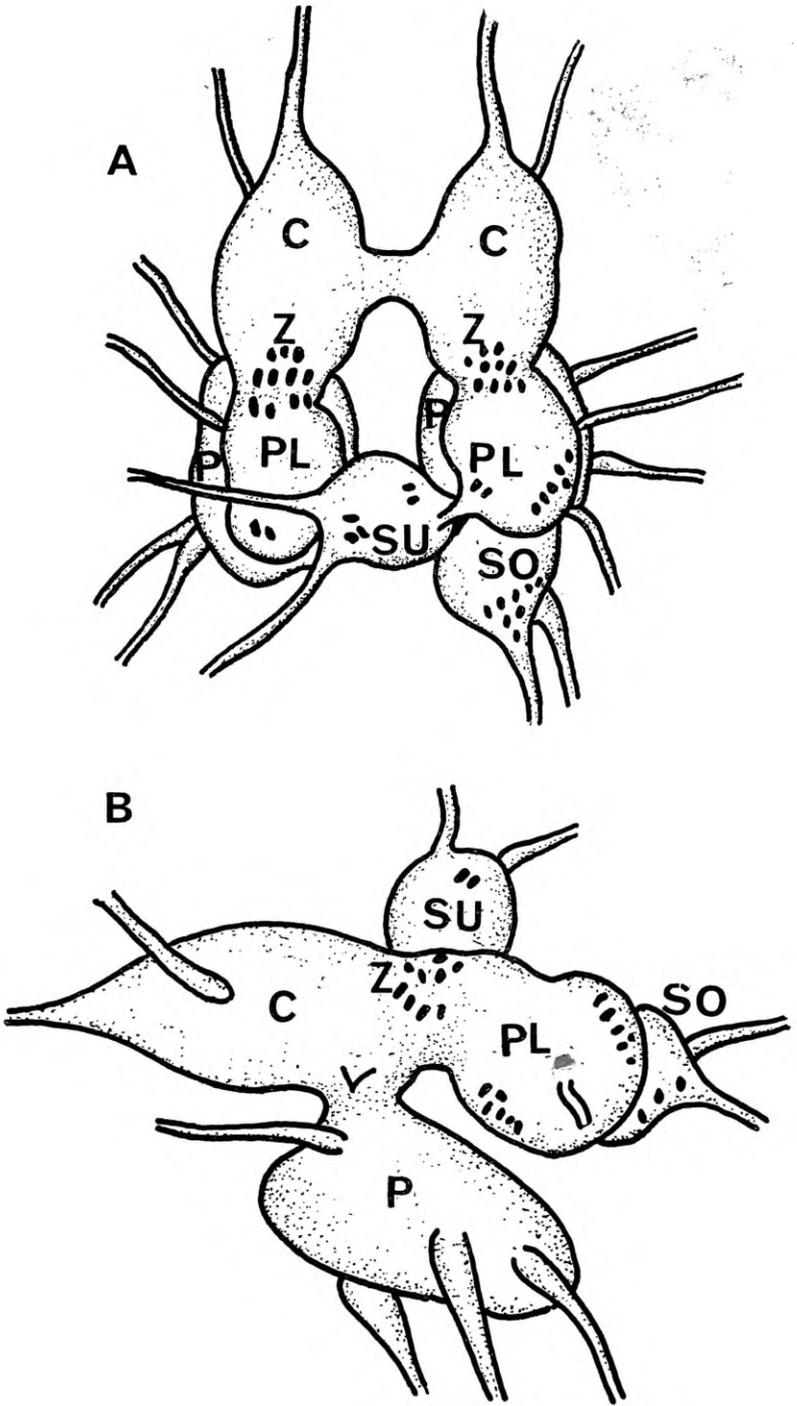


Figure I

