

Embryologie: les oursins

Plan du cours :

- I - Les gamètes
- II - La fécondation
- III - Le clivage
- IV - La gastrulation
- V - La phase larvaire
- VI- La métamorphose



L'intérêt de l'oursin ou des échinodermes pour les études embryologiques réside dans le fait que les ovaires de ces animaux peuvent produire des dizaines de milliers d'ovocytes, ce qui permet d'envisager des études quantitatives. Leur diamètre est de l'ordre du dixième de millimètre, ce qui les rend accessibles à l'expérimentateur sous un simple microscope. Enfin, l'abondance de certaines espèces sur nos côtes rend leur approvisionnement aisé. Du point de vue embryologique, les stades du développement sont faciles à observer. Les étapes successives clairement séparées ajoutées au faible nombre de cellules par embryon en font un organisme dont les mécanismes de développement sont apparemment simples à appréhender. Enfin, chez *Paracentrotus lividus* (l'oursin), la chronologie du développement précoce jusqu'à l'organogenèse du pluteus ne prend pas plus de trois jours à la température de 18°C. Les premières études remontent d'ailleurs à la fin du 19^è siècle, mais c'est surtout dans la première moitié du 20^è siècle que l'embryogenèse de a été approfondie tant sur le plan descriptif qu'expérimental, avec l'embryologiste suédois Sven Hörstadius.

Embryologie: les oursins

I- Les gamètes

Chez les oursins, les sexes sont séparés. A la saison de la reproduction, les gamètes sont émis au niveau du pôle aboral. Hors de l'eau, les produits génitaux s'accumulent en formant une masse orange chez les femelles et blanche chez les mâles (**Fig. 1**).

Au laboratoire, les produits génitaux peuvent être émis spontanément lors de la période de reproduction (figure 1). Il est également possible de provoquer la ponte en injectant, à travers la région orale, de *l'acétylcholine* $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, ou du *KCl* $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$. Il suffit alors de placer les oursins sur un récipient (par exemple, un Bécher) rempli à ras bord d'eau de mer, le pôle aboral vers le bas de façon à ce qu'il soit immergé. On ne tarde pas, alors, à observer la lente descente des produits génitaux vers le fond du récipient où ils s'accumulent (**Fig 2**).

Les produits génitaux proviennent des gonades. Obéissant à la symétrie pentaradiée de ces animaux, les gonades sont au nombre de 5 et disposées de manière rayonnée par rapport à l'axe pôle oral-pôle aboral (**Fig. 3**).



Figure 1. femelle (à gauche) et mâle (à droite) de *Paracentrotus lividus* (oursin).

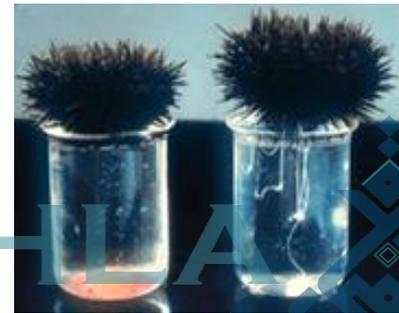


Figure 2. Ponte provoquée chez l'oursin.

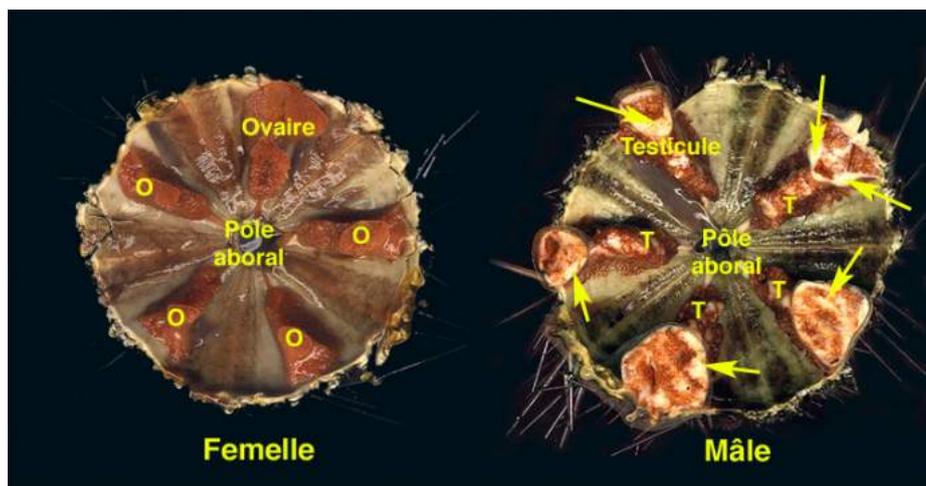


Figure 3. Dissection de la région aborale.

a) L'ovocyte

Le nombre d'ovocytes pondus par une femelle peut être de l'ordre de la dizaine de millions et représente un volume de 10 à 20 millilitres.

L'ovocyte mesure un dixième de millimètre. Sa pauvreté en substances de réserve ou vitellus

le qualifie d'oligolécithe. Dans l'ovaire, l'ovocyte possède un noyau de grande taille appelé vésicule germinative. Par réfringence, on discerne le nucléole (**Fig.4 et 5**).

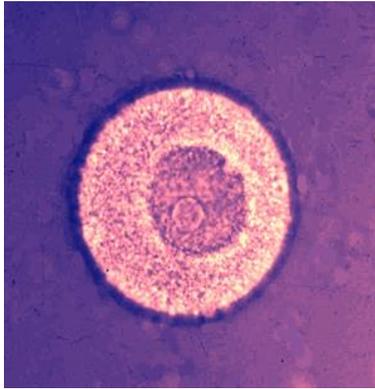


Figure 4. Ovocyte de *Paracentrotus* avant la maturation

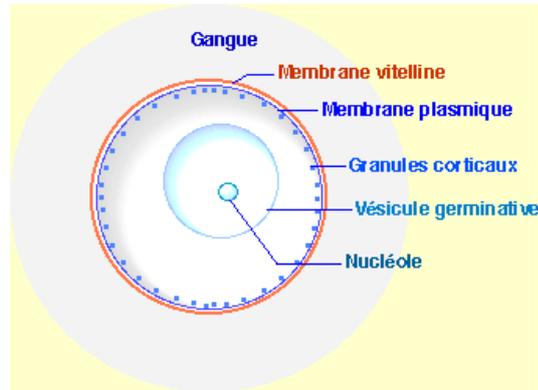
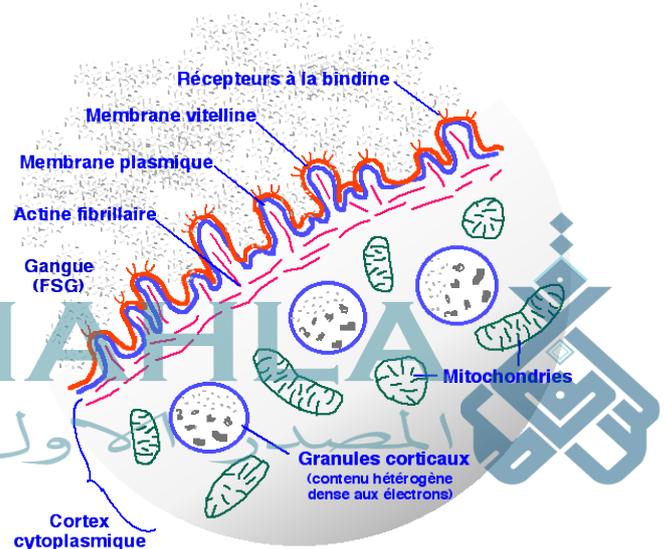


Figure 5. Schéma d'interprétation de la structure d'un ovocyte d'oursin

L'ovocyte est limité par une membrane plasmique garnie de microvillosités et comportant des canaux ioniques. Sous cette membrane, le cortex cytoplasmique renferme de l'actine et des vésicules de type lysosomes. Ce sont les granules corticaux qui sont au nombre de 15000 environ. Chacun mesure 1 micron de diamètre. Leur contenu hétérogène examiné au microscope électronique, est dense aux électrons (**Fig. 6**).

SAH LA MAH LA
 اول للطالب الجزائري

Figure 6. Détail de la région corticale d'un ovocyte avant la fécondation.



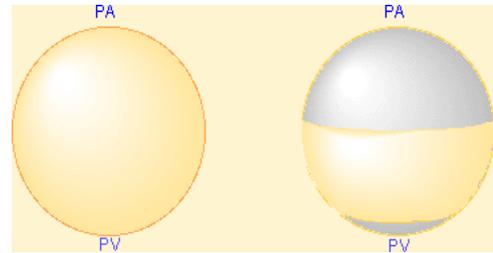
La surface externe de la membrane plasmique est recouverte de glycoprotéines assemblées en une membrane vitelline. Avant la fécondation, la membrane vitelline est étroitement accolée à la membrane plasmique. En plus de ces glycoprotéines, la membrane vitelline porte des protéoglycanes qui jouent le rôle de récepteurs d'une molécule qui sera présente à la surface du spermatozoïde au moment de la fécondation : la bindine.

La membrane vitelline est recouverte par les cellules folliculaires. Celles-ci sont elles-mêmes recouvertes par une gangue comportant des glycoprotéines de haut poids moléculaire. L'une d'entre elles riche en fucose-sulfate (FSG) joue le rôle de ligand pour des récepteurs présents sur la membrane plasmique du spermatozoïde au moment du contact de ce dernier avec la gangue.

Le cytoplasme de l'ovocyte comprend également des réserves informatives: les ARN ribosomiques, messagers et de transfert ; des molécules précurseurs des protéines et des acides nucléiques : acides aminés, nucléotides ; des protéines ; des lipides ; des réserves nutritives : le vitellus. En bref, l'ensemble du cytoplasme renferme toute la machinerie nécessaire aux opérations courantes de la physiologie cellulaire, la traduction des protéines, la transcription des ARN et surtout la réplication de l'ADN qui sera fortement sollicitée après la fécondation, lors de la période de clivage au rythme mitotique intense.

Chez l'oursin *Paracentrotus*, l'ovocyte ovarien présente une pigmentation orangée uniforme. D'ailleurs, les oursins femelles à maturité se reconnaissent par l'émission de leurs produits génitaux orangés. Le pigment se rassemblera sous forme d'un anneau dans l'hémisphère végétatif après la fécondation. C'est le signe extérieur de la polarité axiale pôle animal-pôle végétatif. On parle alors d'hémisphère animal non pigmenté et d'hémisphère végétatif pigmenté (**Fig.7**).

Figure 7. L'ovocyte non fécondé de *Paracentrotus* possède une coloration orange clair uniforme (à gauche). Après la fécondation, le pigment orange se rassemble dans l'hémisphère végétatif (à droite). Les globules polaires 1 et 2 ont été émis au moment de la maturation.



La méiose a lieu au moment de l'ovulation lors de la rupture de l'enveloppe folliculaire. Les cellules folliculaires secrètent une hormone, la 1-méthyladénine, qui déclenche les divisions successives de la méiose. L'ovocyte émet alors consécutivement ses deux globules polaires au niveau du pôle animal, avant la fécondation. L'ovotide ainsi obtenu est fécondable.

b) Le spermatozoïde

Le spermatozoïde est une cellule mobile, de petite taille (quelques microns), au cytoplasme très réduit (**Fig .8**). Il comprend trois parties principales :

- la tête avec le noyau,
- la pièce intermédiaire avec les centrioles et l'ensemble des mitochondries
- la queue ou flagelle, organe de motricité.

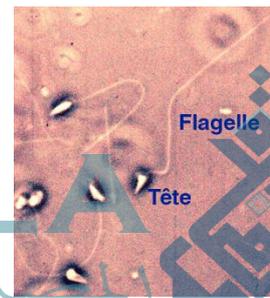


Figure 8. Suspension de spermatozoïdes de l'oursin

Dans la tête, le noyau est formé de chromatine condensée liée à des protéines basiques, les histones et les protamines. L'enveloppe nucléaire dépourvue de pores est rigide et riche en lamine, une protéine de structure de la membrane nucléaire. La transcription est absente d'une telle structure aussi condensée.

Devant le noyau, l'acrosome est formé par une vésicule de type lysosomal et contient des hydrolases ainsi que la bindine liée à la membrane de l'acrosome. Entre le noyau et l'acrosome, une réserve d'actine globulaire ou actine G (non polymérisée) servira à l'élongation du processus acrosomique (**Fig. 9**).

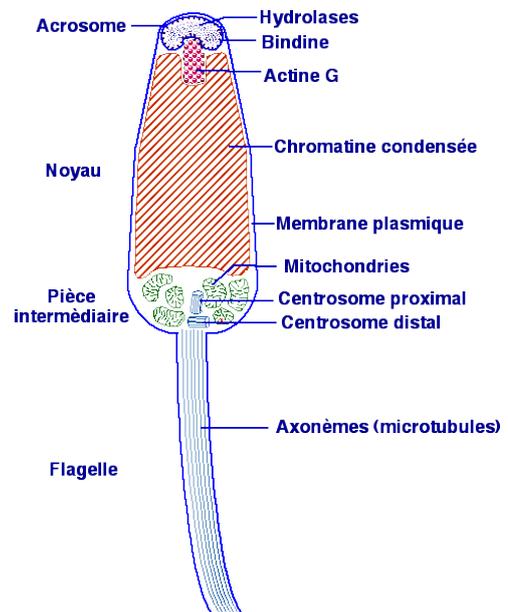


Figure 9. Schéma du spermatozoïde d'oursin.

Le flagelle est formé d'axonèmes constitués majoritairement par des microtubules dont l'extrémité proximale est contiguë avec les centrioles de la pièce intermédiaire. Une coupe transversale du flagelle montre les axonèmes au nombre de 9 doublets disposés en cercle autour de 2 microtubules individuels centraux.

Les axonèmes sont formés par la polymérisation des tubulines a et b, auxquelles s'adjoignent des protéines qui possèdent un rôle dynamique telle que la dynéine. Cette dernière, par son activité hydrolasique de l'ATP, favorise le glissement des microtubules les uns par rapport aux autres (phénomène de sliding), et par voie de conséquence, l'animation du flagelle. Autour des centrioles, une forte concentration de mitochondries est là pour assurer l'alimentation énergétique de la cellule.

Au total les produits génitaux, ovotides pour les femelles et spermatozoïdes pour les mâles sont prêts à se réunir pour effectuer la fécondation.

II- La fécondation

Dans une région donnée, tous les individus d'une même population d'oursin se reproduisent au même moment. Les produits génitaux sont donc émis par millions dans l'eau de mer. Ces populations d'oursin étant généralement très nombreuses, ce sont, en fait, des milliards d'ovocytes et de spermatozoïdes qui sont libérés. Les mouvements de l'eau de mer et les courants contribuent au brassage des gamètes et favorisent leur rencontre. De plus, des mécanismes moléculaires spécifiques d'attraction des spermatozoïdes (chimiotactisme) et d'interaction cellulaire (adhésion du spermatozoïde) préparent le spermatozoïde à sa reconnaissance par l'ovocyte. La spécificité de ces interactions contribue d'autre part à limiter les risques de fécondation croisée interspécifique.

De telles concentrations de gamètes peuvent entraîner un autre risque, celui qu'un même ovocyte soit fécondé par plusieurs spermatozoïdes. C'est ce qu'on appelle la polyspermie. Or, nous verrons que des mécanismes subcellulaires s'opposent à cette anomalie. Ce sont les étapes des blocages de la polyspermie.

Au total, la fécondation déclenche une cascade d'événements dont chaque étape dépend de la précédente. Cet enchaînement, comme d'ailleurs plus généralement le développement embryonnaire, est la traduction de la mise en oeuvre d'un programme génétique du développement.

La fécondation apparaît comme une cascade d'événements cellulaires qui concernent d'abord le spermatozoïde puis l'ovocyte, soit dans l'ordre, 5 étapes :

1- Attraction du spermatozoïde

2 - Réaction acrosomique

3 - Adhésion du spermatozoïde

4 - Activation de l'oeuf (blocage précoce de la polyspermie)

5- Réaction corticale (blocage tardif de la polyspermie)

1 - Attraction du spermatozoïde

C'est un mécanisme de chimiotactisme qui n'est actuellement connu que chez une espèce, *Arbacia punctulata*. Une molécule attractive spécifique de cette espèce et qui diffuse dans l'eau de mer a été isolée des oeufs de cet oursin. Il s'agit de la resact, peptide de 14 acides aminés trouvé dans la gangué. Elle agit sur l'attraction du spermatozoïde à des concentrations très faibles (de l'ordre de la nanomole).

Une expérience simple permet de montrer le pouvoir attractif de cette molécule sur les spermatozoïdes. Lorsque l'on dépose une goutte de suspension de spermatozoïdes sur une lame histologique, l'observation au microscope permet de les voir nager selon une trajectoire circulaire d'un diamètre de 50 microns environ. En quelque sorte, ils "tournent en rond" en l'absence des ovotides. Dès que l'on ajoute une dilution de resact par l'intermédiaire d'une micropipette, les spermatozoïdes les plus proches migrent vers la micropipette et se concentrent à son extrémité. A mesure que la resact continue de diffuser, un nombre croissant de spermatozoïdes converge vers la micropipette et forme un amas volumineux (**Fig.10**).

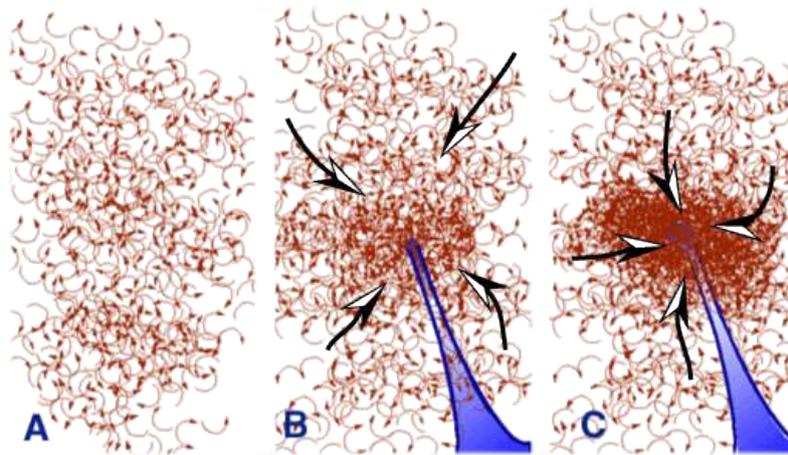


Figure 10. Mise en évidence de l'attraction des spermatozoïdes par une molécule chimiotactique.

Dans les conditions naturelles, on peut donc extrapoler que la diffusion de la resact dans l'eau de mer, à partir des ovotides d'*Arbacia*, crée un gradient de concentration décroissant et centripète qui guide les spermatozoïdes vers les ovotides.

On sait également que la resact possède un rôle activateur de la motilité du spermatozoïde. La membrane plasmique des spermatozoïdes contient des protéines transmembranaires réceptrices de la resact. Par l'intermédiaire de la combinaison avec son récepteur transmembranaire, le signal représenté par la resact déclenche une réaction en chaîne dans le cytoplasme, dite de transduction du signal. A l'extrémité de cette chaîne de réaction, on observe alors une augmentation significative de la consommation en oxygène concomitante à une activation de la fonction ATPasique de la dynéine qui stimule le battement du flagelle du spermatozoïde. Ce dernier parcourt alors une trajectoire linéaire en direction de l'ovotide.

2 - Réaction acrosomique

Une fois au contact de la gangue, le spermatozoïde subit une seconde activation qui se traduit par l'ouverture dans le milieu extérieur de la vésicule acrosomique (exocytose) puis l'extension du processus acrosomique.

Exocytose de la vésicule acrosomique

La réaction acrosomique peut être initiée expérimentalement par des extraits de gangue. Ceci implique que dans les conditions naturelles, c'est le contact avec la gangue qui provoque l'exocytose de la vésicule acrosomique. Ce processus libère des enzymes (hydrolases) qui lysent la gangue dans l'environnement immédiat de la tête du spermatozoïde. De cette façon, à mesure qu'il progresse vers l'ovotide, le spermatozoïde se fraye un chemin à travers l'épaisseur de la gangue. Au niveau moléculaire, la réaction acrosomique est initiée par une

glycoprotéine, la fucose sulfate glycoprotéine (FSG) contenue dans la gangue et reconnue par la membrane plasmique de la tête du spermatozoïde. La FSG induit l'afflux de Ca^{++} (ouverture des canaux calciques) et de Na^+ à l'intérieur de la tête spermatique en échange de K^+ et H^+ . L'augmentation de Ca^{++} dans le cytoplasme spermatique favorise la fusion de la membrane acrosomiale avec la membrane plasmique adjacente. Il s'agit donc d'une exocytose c'est à dire la libération dans le milieu extérieur du contenu d'une vésicule de type lysosomal (**Fig. 11**).

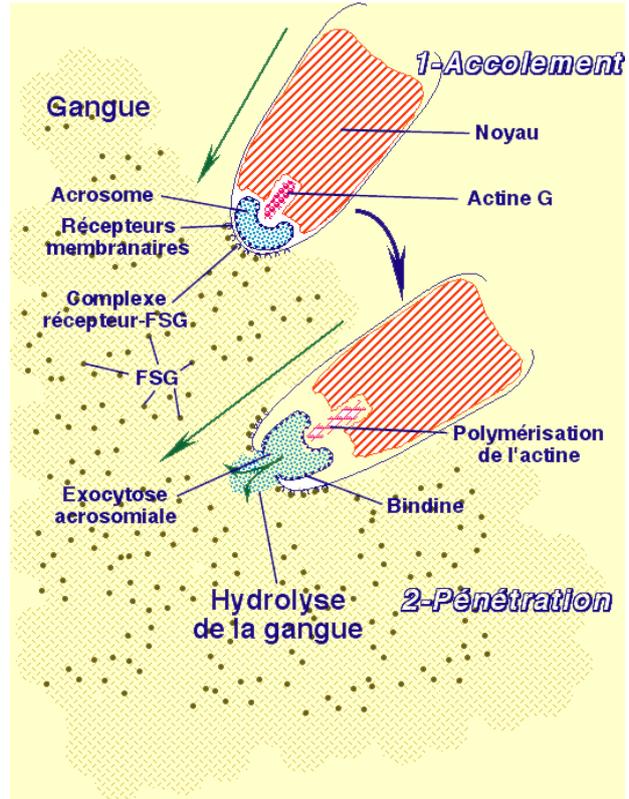


Figure 11. Contact et accolement du spermatozoïde avec la gangue de l'ovotide suivi de la pénétration de la tête spermatique

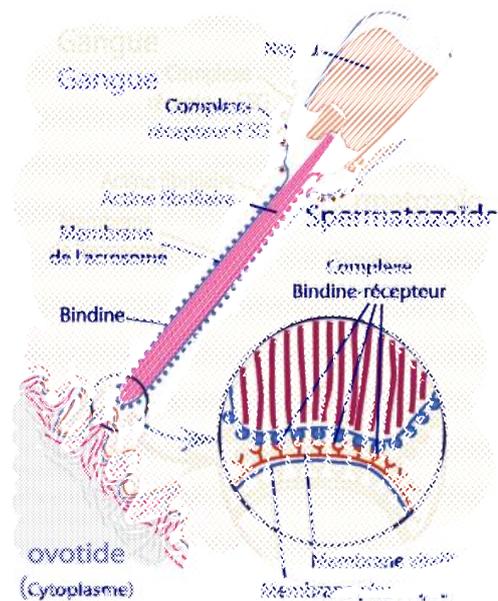
Extension du processus acrosomique

Une fois la réaction acrosomique amorcée, l'extrémité antérieure de la tête du spermatozoïde forme une protrusion qui croît en direction de l'ovotide. Le pool d'actine globulaire situé en arrière de l'acrosome change de conformation. L'actine se polymérise sous forme de filaments. L'extension ainsi provoquée retourne en doigt de gant l'enveloppe de la vésicule acrosomique. L'ensemble actine fibrillaire et membrane acrosomique constitue le processus acrosomique qui traverse la gangue jusqu'au contact de la membrane vitelline (**Fig. 12**)

Figure 12. Traversée du processus acrosomique à travers la gangue.

La polymérisation de l'actine est liée à l'activation des pompes à protons, (entrée de Na^+ , sortie de H^+). En fait le relargage des ions H^+ entraîne une élévation du pH intracellulaire qui inhibe une protéine de régulation chargée de maintenir l'état globulaire de l'actine.

En résumé tous ces processus cellulaires et moléculaires concourent à la progression du spermatozoïde dans la gangue de l'oeuf. Cette progression est facilitée par le contenu de la vésicule acrosomique qui s'est déversé en avant de la tête spermatique et qui est entraîné en profondeur par l'élongation du processus acrosomique.

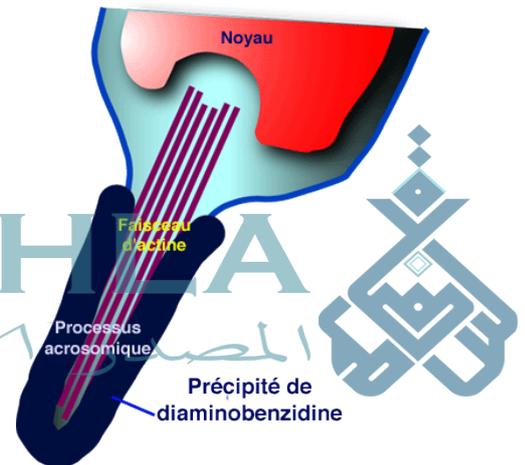


3 - Adhésion du spermatozoïde

L'acrosome contient des hydrolases qui dissolvent la gangue mais aussi des protéines adhérentes à la membrane du processus acrosomique qui se lient à la membrane vitelline par des sites de reconnaissance selon les modalités d'un complexe récepteur-ligand. Ici le ligand est représenté par la bindine de 30500 dalton.

Des expériences d'immunodétection avec des anticorps marqués dirigés contre la bindine ont permis de mettre en évidence sa localisation à la surface du processus acrosomique. Schématiquement, des anticorps (immunoglobulines de type G ou IgG) anti-bindine, confectionnés en immunisant un lapin avec des extraits de bindine purifiée, ont été appliqués sur une préparation de spermatozoïdes. Dans un deuxième temps, des anticorps anti IgG de lapin confectionnés en immunisant par exemple une chèvre, sont marqués avec une enzyme, la peroxydase, et appliqués sur la préparation de spermatozoïdes. Ces anticorps secondaires reconnaissent les IgG de lapin. Un complexe bindine/anticorps-anti-bindine/anticorps-anti-IgG de lapin marqués à la peroxydase, se forme à la surface de la membrane plasmique du processus acrosomique. Il ne reste plus qu'à fournir à l'enzyme son substrat, la diaminobenzidine soluble (DAB), à laquelle on ajoute du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). La peroxydase catalyse l'oxydation de la DAB qui précipite en un composé noir dense aux électrons (**Fig. 13**).

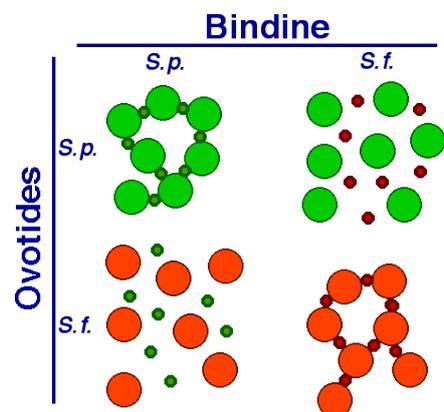
Figure 13. Révélation spécifique de la bindine autour du processus acrosomique par immunofluorescence indirecte.



Les récepteurs de la bindine sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire intégrées à la membrane vitelline. Une fois isolée, cette glycoprotéine est capable d'entrer en compétition avec les oeufs pour les spermatozoïdes. Par exemple, si les spermatozoïdes sont mélangés avec le récepteur isolé de la bindine, les spermatozoïdes fixent le récepteur à leur surface et ne sont plus féconds.

L'un des points importants est que cette interaction entre le spermatozoïde et l'ovotide est spécifique de l'espèce. En effet, la bindine isolée d'une espèce donnée n'est capable d'agglutiner que les ovotides de la même espèce (**Fig. 14**).

Figure 14. Expériences d'agglutination des oeufs dégangués de *Strongilocentrotus purpuratus* (Sp) et *Strongilocentrotus franciscarus* (Sf) avec les bindines correspondantes.



Des études biochimiques ont montré que les molécules de bindine d'espèces différentes sont elles-mêmes différentes, ce qui implique également que leurs récepteurs soient eux aussi spécifiques de l'espèce. En résumé, les interactions bindine-récepteur sont nécessaires pour que le spermatozoïde adhère à la membrane vitelline. De plus, la spécificité d'espèce de ces

interactions instaure une barrière contre de possibles fécondations interspécifiques et contribue à maintenir la séparation naturelle entre les différentes espèces.

Au point d'impact du spermatozoïde, la lyse de la membrane vitelline est effectuée par des hydrolases présentes à la surface de la membrane plasmique du processus acrosomique (enzymes transmembranaires). Une fois la membrane vitelline dissoute à cet emplacement, les deux membranes plasmiques du spermatozoïde et de l'ovocyte entrent en contact. La membrane plasmique de l'ovotide est festonnée de microvillosités. L'actine corticale se polymérise et les microvillosités s'allongent pour entourer la tête spermatique. C'est la formation du cône de fécondation. Les membranes plasmiques des deux partenaires fusionnent alors et le noyau spermatique ainsi que le contenu de la pièce intermédiaire puis le flagelle sont englobés dans le cytoplasme de l'oeuf fécondé. Dès que le contact des membranes plasmiques a lieu, l'oeuf entame une cascade d'événements moléculaires qui constituent l'activation du cytoplasme et mettent en place les processus de blocage de la polyspermie.

4 - Activation de l'œuf - Blocage précoce de la polyspermie

D'une manière générale, la fécondation est le produit de la fusion de deux gamètes haploïdes (noyau à n chromosomes). Le noyau de fécondation ou zygote est donc diploïde ($2n$ chromosomes). La fécondation rétablit ainsi la diploïdie avec un nombre de chromosomes spécifique de l'espèce, à la suite de la pénétration d'un seul spermatozoïde. La règle est donc que la fécondation soit monospermique.

On peut cependant concevoir que de multiples spermatozoïdes entrent au même moment dans l'ovotide, ce qui peut avoir pour effet de générer de la polyploïdie (chromosomes additionnels au nombre $2n$ tels que $3n$ (triploïdie), $4n$ (tétraploïdie) etc...). De plus, l'apport de centrioles additionnels risque d'entraîner la formation de fuseaux mitotiques multipolaires pendant la période de clivage. Dans ces conditions, le partage des chromosomes entre les cellules filles au moment de chaque mitose risque d'être inégal et de générer des noyaux aneuploïdes (nombre aléatoire de chromosomes additionnels au nombre $2n$ de base). On sait que, dans ce cas, le développement est anormal voire abortif.

Nous allons donc voir que la prévention de la polyspermie est assurée par des mécanismes liés à l'activation du cytoplasme de l'oeuf fécondé, laquelle est déclenchée par le spermatozoïde fécondant.

Toutes les étapes de l'activation cytoplasmique de l'oeuf sont dépendantes de changements ioniques qui ont lieu en quelques secondes, et dont les effets se prolongent dans les minutes qui suivent. L'un de ces effets se traduit par un blocage d'une possible fécondation par un spermatozoïde surnuméraire. On parle de blocage primaire ou précoce de la polyspermie. Cependant ces effets étant transitoires, le blocage précoce de la polyspermie n'est que provisoire.

Dès que les membranes plasmiques du spermatozoïde et de l'ovule sont en contact, on assiste successivement à :

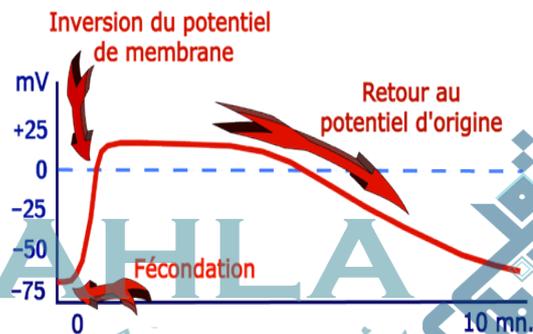
- 1 - un accroissement quasi immédiat de la perméabilité de la membrane plasmique ovulaire aux ions Na^+ venant de l'eau de mer et qui provoque un afflux de sodium dans le cytoplasme ovulaire,
- 2 - une sortie concomitante d'ions H^+ qui entraîne
- 3 - une élévation du pH intracellulaire,
- 4 - un relargage massif de Ca^{++} intracellulaire, préalablement stocké dans le réticulum endoplasmique lisse et qui augmente la concentration du cytosol en Ca^{++} dans les 20 à 30 secondes,

5 - un efflux de Na^+ environ 10 minutes après le contact membranaire, compensé progressivement par un afflux de K^+ provenant du milieu marin.

Avant la fusion des membranes plasmiques entre le spermatozoïde et l'ovotide la concentration du cytoplasme ovulaire en Na^+ est faible comparée à celle de l'eau de mer. La fusion des membranes plasmiques s'accompagne d'un afflux de Na^+ contrebalancé par un efflux de H^+ . Cet afflux de Na^+ provoque la dépolarisation de la membrane qui passe de -70mV à $+20\text{mV}$ en quelques secondes (**Fig. 15**). La relative grande taille de la cellule oeuf de l'oursin permet de mesurer cette différence de potentiel électrique membranaire en plaçant une électrode dans le compartiment cytoplasmique par rapport à une autre électrode restée à l'extérieur de l'oeuf. La dépolarisation membranaire se maintient pendant quelques minutes. Durant cette période, les spermatozoïdes surnuméraires éventuels ne peuvent effectuer de fusion membranaire avec l'oeuf fécondé. Le risque de polyspermie est donc provisoirement écarté.

Bien que le mécanisme moléculaire de ce phénomène soit mal connu, il semble vraisemblable que la dépolarisation de membrane altère la conformation d'une protéine membranaire nécessaire à la fusion des deux membranes ovulaire et spermatique. L'inversion de polarité retourne progressivement à sa valeur d'origine en quelques minutes, et le risque de polyspermie peut donc se représenter.

Figure 15. Modification du potentiel de membrane de l'ovocyte d'oursin, consécutive à la "piqûre" du spermatozoïde.



Avant d'examiner les mécanismes qui instaurent un blocage définitif de la polyspermie, voyons succinctement quelques expériences simples qui apportent les preuves expérimentales du rôle de la dépolarisation de membrane dans le blocage précoce de la polyspermie.

A - Si la fécondation a lieu dans un milieu marin privé de Na^+ , la dépolarisation n'a pas lieu et la polyspermie est possible.

B - En revanche si, avec des électrodes, on inverse la polarité membranaire avant la fécondation, de -70mV à $+20\text{mV}$, aucun spermatozoïde ne fusionne avec l'ovotide.

C - Enfin le rétablissement artificiel de la polarité membranaire d'un oeuf fécondé à -70mV favorise la polyspermie.

Lorsque le potentiel de membrane revient à son niveau d'origine, un deuxième mécanisme se met en place et assure le blocage définitif de la polyspermie. Il s'agit de la réaction corticale.

5 - Réaction corticale - blocage tardif de la polyspermie

L'augmentation en Ca^{++} intracellulaire précédemment citée, est liée à l'exocytose des granules corticaux sous la membrane plasmique. Le relargage du Ca^{++} peut être montré grâce à une molécule qui émet de la lumière après couplage au Ca^{++} . C'est le cas de l'équorine. Les oeufs sont micro-injectés avec de l'équorine puis fécondés. On peut ainsi visualiser l'onde de propagation du relargage du Ca^{++} sous forme d'une bande de lumière blanche qui progresse en 30 secondes, depuis le point d'entrée du spermatozoïde jusqu'à l'opposé de l'oeuf.

De la même manière que pour la vésicule acrosomique du spermatozoïde, les granules corticaux fusionnent avec la membrane plasmique et s'ouvrent pour déverser leur contenu entre la membrane plasmique et la membrane vitelline. Un espace se crée à cet endroit et s'élargit considérablement, provoquant un large décollement de la membrane vitelline qui prend le nom de membrane de fécondation.

Morphologiquement, le phénomène peut être facilement accessible à l'observateur puisque le décollement de la membrane de fécondation est visible au microscope (**Fig. 16**).

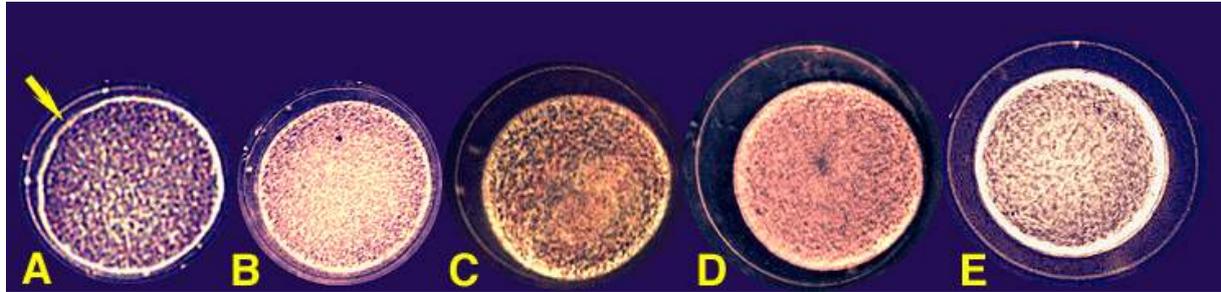


Figure 16. Vues successives du soulèvement de la membrane de fécondation à partir du point d'entrée du spermatozoïde (A) (flèche jaune). Le soulèvement progresse de manière concentrique jusqu'à l'opposé du spermatozoïde (de A à E).

On peut montrer que le Ca^{++} est directement responsable de la réaction corticale. On sait par exemple que les oeufs non fécondés traités par un transporteur du Ca^{++} tel que l'ionophore effectuent leur réaction corticale avec élévation de la membrane de fécondation.

D'autre part la micro-injection de Ca^{++} dans l'oeuf d'oursin non fécondé initie la réaction corticale, la libération du contenu des granules corticaux, alors que la procaine qui bloque le relargage du Ca^{++} inhibe la libération du contenu des granules corticaux et par conséquent la réaction corticale.

La création de l'espace périvitellin est donc la traduction morphologique directe d'événements moléculaires consécutifs à la libération du contenu des granules corticaux qui possèdent tout un arsenal de molécules, d'enzymes, de mucopolysaccharides qui modifient la structure des membranes et l'espace contenu entre elles (**Fig. 17**). Ce sont principalement :

1 - Des enzymes protéolytiques. Des hydrolases rompent les liaisons entre la membrane plasmique et la membrane vitelline, ce qui crée l'ébauche d'un espace périvitellin. D'autres protéines détruisent les glycoprotéines de la membrane vitelline qui libèrent les spermatozoïdes surnuméraires. Le couplage bindine-récepteur est rompu et les spermatozoïdes surnuméraires se détachent de la surface de la membrane vitelline.

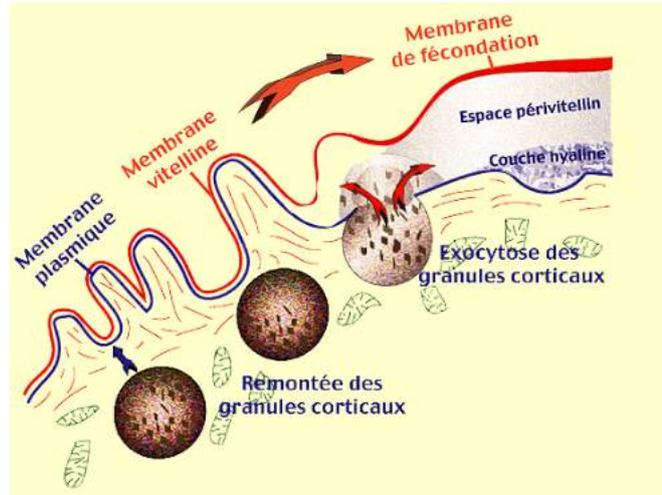
2 - Des mucopolysaccharides (glycoaminoglycane) causent un choc osmotique qui provoque un appel d'eau massif et fait gonfler l'espace périvitellin entre la membrane plasmique et la membrane vitelline.

3 - Une peroxydase *cross-link* les résidus tyrosine sur les protéines adjacentes dans la membrane vitelline renforçant sa solidité pour donner la membrane de fécondation.

4 - Certaines glycoprotéines se lient à la membrane plasmique pour former la couche hyaline, par exemple : l'echinonectine (225Kd) et la hyaline (environ 220Kd). Sa présence contribuera à maintenir la cohésion des blastomères lors de la phase de clivage.

Au total : 15000 granules corticaux qui libèrent leur contenu et assurent la formation d'un espace volumineux ceinturé par une membrane de fécondation renforcée interdisant toute pénétration de spermatozoïdes surnuméraires et ceci définitivement. Le blocage tardif de la polyspermie devient définitif et permanent. On comprend dès lors, qu'avec de telles modifications de structure, toute tentative de fécondation par des spermatozoïdes surnuméraires soit vouée à l'échec.

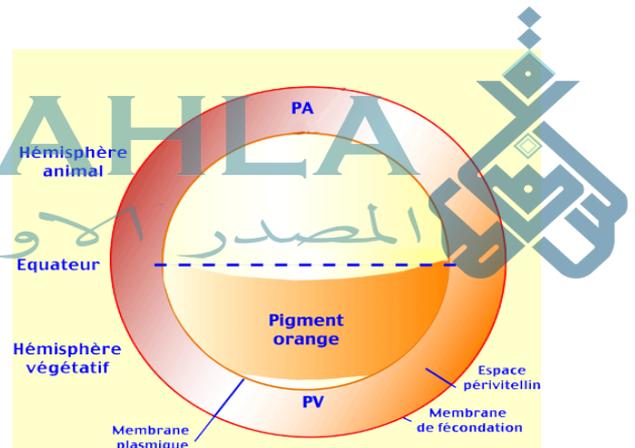
Figure 17. Schéma d'interprétation de la formation de l'espace périvitellin



Parallèlement, les pronucléi mâle et femelle migrent l'un vers l'autre. Leur fusion ou amphimixie, assure le rétablissement de la diploïdie caractéristique de l'espèce au sein du noyau de fécondation ou zygote.

Tous ces événements intimement liés au métabolisme du calcium sont immédiatement suivis par le redémarrage des synthèses, d'abord de protéines dans les 8 minutes, puis de l'ADN dans les 30 à 40 minutes qui suivent la pénétration du spermatozoïde. La suite du développement peut avoir lieu et l'oeuf fécondé (**Fig. 18**) va entamer une série de mitoses rapides. C'est la phase de **clivage** qui conduit au stade blastula.

Figure 18. Schéma de l'oeuf fécondé.



III- Le clivage (La segmentation):

Il caractérise le passage de l'état unicellulaire à l'état pluricellulaire. Des mitoses successives et rapides conduisent à la formation du stade blastula. Chaque blastomère subit une bipartition en cellules filles. La totalité du cytoplasme et des réserves ovulaires est répartie dans les cellules filles. La segmentation est totale, égale et méridienne jusqu'au stade 8 blastomères, puis elle devient inégale à partir du stade 16 blastomères. Au terme de la segmentation, la blastula est composée d'environ 2000 blastomères. Progressivement, une cavité centrale se forme, la cavité de segmentation ou blastocoele.

- **2 blastomères**

Le premier sillon de clivage apparaît environ une heure trente après la fécondation, à la température de 15°C. Une constriction méridienne apparaît en même temps que de nouvelles membranes plasmiques sont élaborées par les deux premiers blastomères naissant (**Fig. 19**).

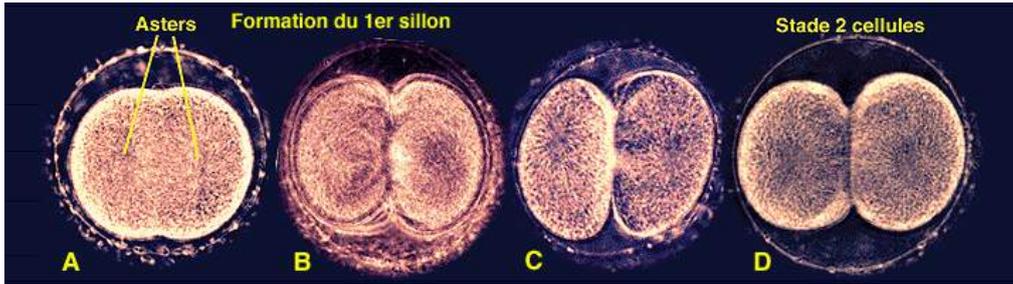


Figure 19. Première mitose conduisant au stade 2 blastomères. Le premier sillon de clivage est méridien. Le premier sillon de clivage débute sous forme d'une contraction corticale (A et B). Puis la membrane plasmique néoformée individualise chaque cellule (CD).

• **4-8 blastomères**

Le deuxième sillon de clivage est également méridien et perpendiculaire au premier, séparant quatre cellules de dimensions identiques. Le troisième sillon de clivage est équatorial et perpendiculaire aux deux précédents. Huit cellules semblables sont formées (**Fig. 20**).

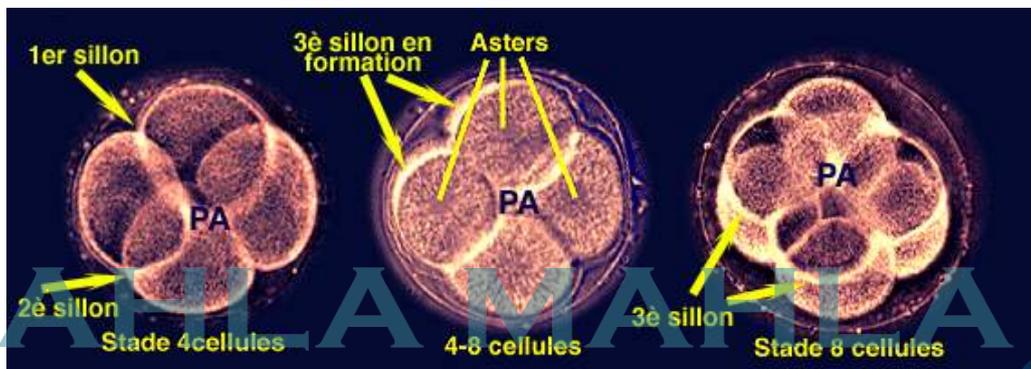


Figure 20. Du stade 4 au stade 8 blastomères. Au stade 4 cellules, le 2ème sillon méridien perpendiculaire au premier. Au stade 8 cellules le 3ème sillon est équatorial et perpendiculaire aux 2 premiers.

• **16 blastomères**

A partir du stade 16 blastomères, les divisions cellulaires deviennent inégales. Dans l'hémisphère animal, les plans de clivage sont méridiens et génèrent huit cellules semblables. Dans l'hémisphère végétatif, les plans de clivage sont latitudinaux et nettement excentrés vers le pôle végétatif. Deux sortes de cellules filles en sont issues : les macromères proches de l'équateur et les micromères au pôle végétatif (**Fig. 21**).

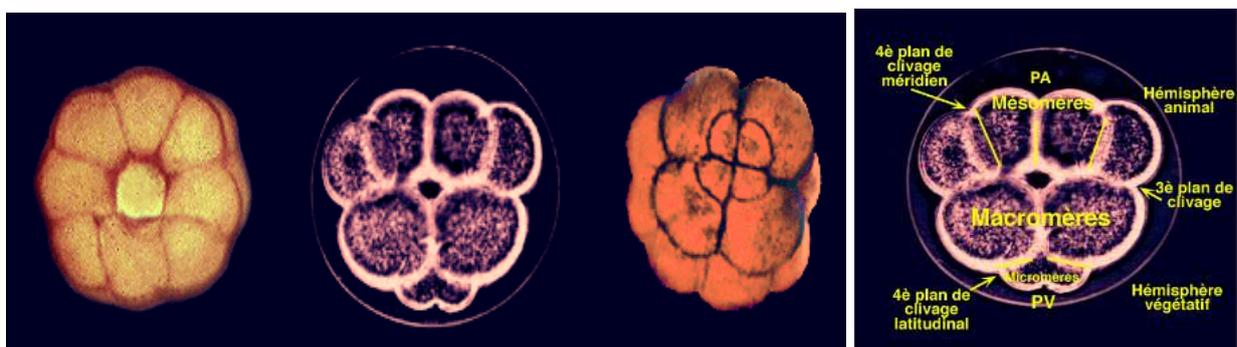


Figure 21. Stade 16 cellules.

La différence de taille entre les macromères et les micromères résulte d'une mitose asymétrique. Le fuseau mitotique est excentré vers le pôle végétatif entraînant une cytotédière inégale qui génère une grande et une petite cellule. Cette différence de taille est particulièrement nette sur la figure 21. La dissymétrie macromères/micromères est liée à une dissymétrie au niveau du fuseau mitotique. Il a été montré que les centrosomes des fuseaux mitotiques végétatifs sont eux mêmes de taille inégale. Ainsi le centrosome situé du côté du pôle végétatif est nettement plus petit que le centrosome situé vers l'équateur de l'embryon (Fig. 22).

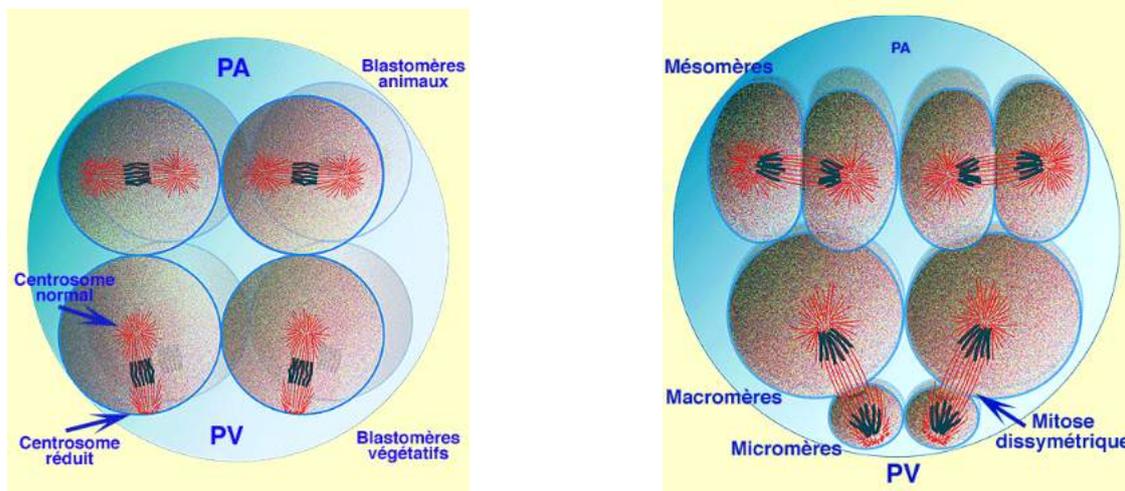


Figure 22. Orientation et dissymétrie des fuseaux mitotiques dans l'hémisphère végétatif entre le stade 8 et 16 cellules.

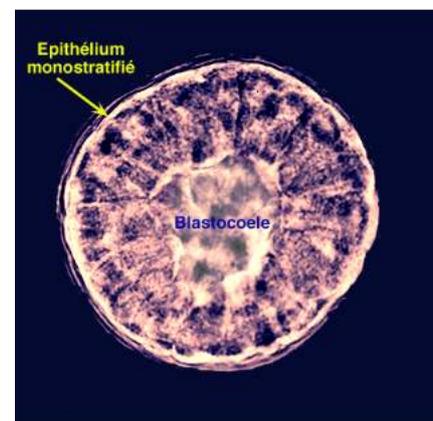
Au stade 8 cellules, les fuseaux mitotiques sont orientés perpendiculairement ou parallèlement à l'axe des pôles selon qu'ils sont situés respectivement dans l'hémisphère animal ou végétatif. Dans les blastomères végétatifs, le fuseau est décentré vers le pôle végétatif. Le centrosome proche du pôle végétatif est plus petit que son homologue opposé et situé contre la membrane plasmique. PA: Pôle Animal, PV: Pôle végétatif.

Au stade 16 cellules. Dans l'hémisphère végétatif, le décentrement vers le pôle végétatif des fuseaux mitotiques, conduit à la formation de deux populations de blastomères inégaux, les macromères et les micromères. PA: Pôle Animal, PV: Pôle végétatif.

• **Blastula**

Dès le stade 32 blastomères, la segmentation inégale s'estompe. C'est à ce stade qu'apparaît une cavité de segmentation centrale, le blastocoele. Au stade 128 cellules, la blastula est formée par un épithélium unistratifié et sphérique (Fig. 23). Il est limité par une membrane basale interne et la couche hyaline externe. Des jonctions serrées contribuent à maintenir la cohésion entre les cellules.

Figure 23. Jeune blastula formée d'un épithélium monostratifié creusée d'un blastocoele central.



La face interne des cellules est tapissée d'une structure extracellulaire formée de glycoprotéines de haut poids moléculaire, la matrice extracellulaire.

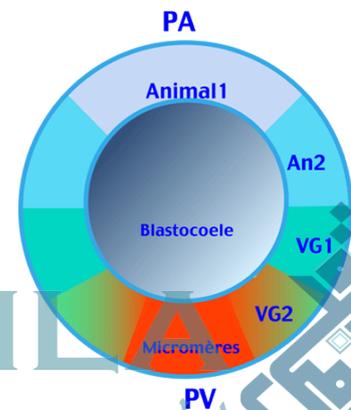
A la fin de la segmentation, la blastula est entièrement ciliée. Le pôle animal porte une touffe de cils plus longs difficiles à mettre en évidence.

L'oeuf d'oursin est qualitativement hétérogène. En morphologie externe, on sait déjà que la répartition du pigment cortical orange ainsi que la différence de taille entre les blastomères du stade 16 cellules sont une indication de cette hétérogénéité. A la fin de la segmentation, la blastula est formée d'une mosaïque de cinq territoires présomptifs disposés de manière concentrique autour de l'axe pôle animal-pôle végétatif (**Fig. 24**). Leur devenir peut être suivi jusque dans la larve.

Dans l'ordre pôle animal-pôle végétatif, on distingue les territoires suivants:

- Animal1 (An1)**, à l'origine de l'épiderme des bras oraux.
- Animal2 (An2)**, à l'origine de l'épiderme des bras anaux.
- Végétatif1 (Vg1)**, à l'origine de l'épiderme des bras anaux et de la face anale ainsi qu'une partie de l'endoderme.
- Végétatif2 (Vg2)**, à l'origine de l'endoderme et du mésenchyme secondaire.
- Micromères**, à l'origine du mésenchyme primaire.

Figure 24. Carte des territoires présomptifs de la blastula d'oursin. Les cinq étages de cellules possèdent des destinées différentes. Animal1 et (An2) contribuent ensemble à l'élaboration de l'épiderme antérieur. Végétatif 1 (Vg1) forme l'épiderme postérieur et une partie de l'endoderme. Végétatif 2 (Vg2) élabore le tube digestif et le mésenchyme secondaire. Les micromères sont à l'origine du mésenchyme primaire. PA: Pôle Animal, PV: Pôle végétatif.

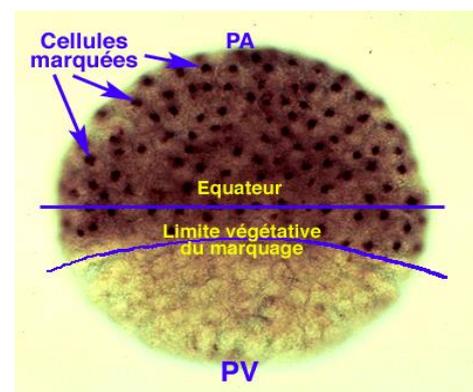


C'est au stade blastula que l'embryon éclos dans le milieu marin. Les cellules de la moitié animale secrètent une enzyme d'éclosion codée par le gène HE (Hatching Enzyme), et qui digère la membrane de fécondation. L'embryon devenu libre se déplace dans le plancton grâce à sa ciliature.

Ce gène de l'éclosion est une protéase régionalisée le long de l'axe Pôle animal-pôle végétatif. Son expression peut être décelée soit par hybridation *in situ* (détection des ARNm dans l'embryon), soit par immunodétection de la protéine traduite à partir des ARNm (détection de la protéine dans l'embryon).

Le gène HE est activé après la fécondation, c'est donc l'un des premiers gènes exprimé par le zygote. Son domaine d'expression couvre la totalité de l'hémisphère animal et la région équatoriale de l'hémisphère végétatif, soit les 2/3 de l'embryon (**Fig. 25**).

Figure 25. Immunolocalisation de l'enzyme HE. Les cellules marquées sont réparties dans l'hémisphère animal ainsi que dans la zone marginale. La limite de marquage est clairement en dessous de la limite équatoriale entre les deux hémisphères. PA: Pôle



Si l'on se reporte à la carte des territoires présomptifs, on s'aperçoit que le domaine d'expression du gène HE correspond aux territoires Animals 1 et 2 ainsi qu'une partie de Végétatif 1, c'est à dire à l'ensemble du territoire présomptif de l'ectoderme. Le gène HE constitue donc un marqueur ectodermique précoce avant même la mise en place de celui-ci (**Fig. 26**).

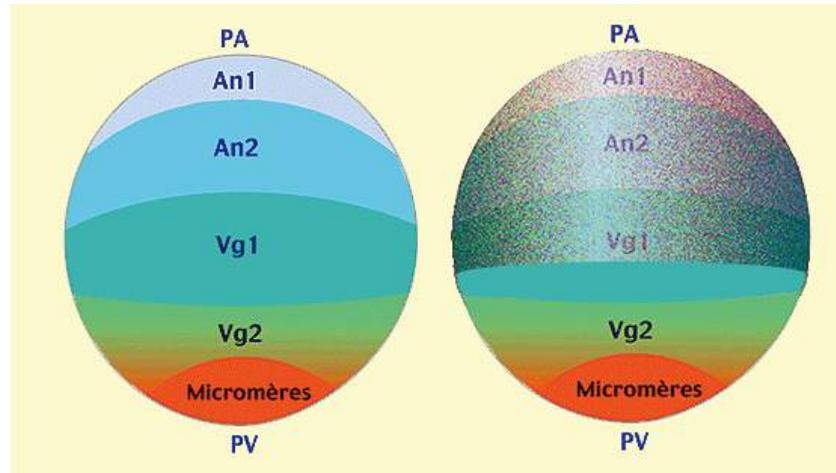
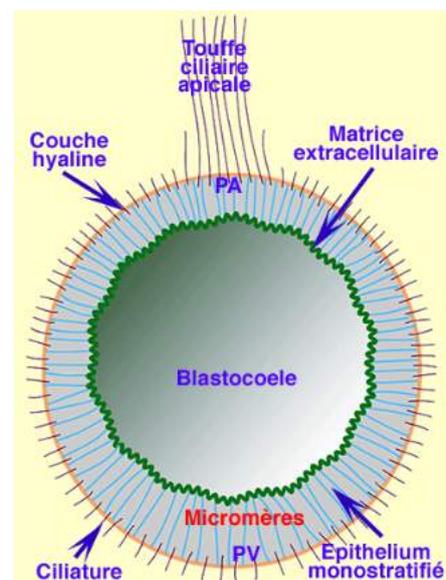


Figure 26. Expression du gène HE. Interprétation de la carte des territoires présomptifs (à gauche) sur laquelle se superpose le domaine d'expression du gène HE (en granité à droite). On remarque que le gène HE s'exprime dans les territoires An1, An2 et une partie de Vg1, tous à l'origine de l'ectoderme. PA: Pôle Animal, PV: Pôle végétatif.

En résumé, au terme de la segmentation, l'embryon sphérique présente un épithélium unistratifié autour d'une large cavité de segmentation, le blastocoele. Une matrice extracellulaire tapisse la paroi du blastocoele et la couche hyaline, héritée du contenu des granules corticaux, tapisse l'extérieur de l'épithélium (**Fig.27**). La carte des territoires présomptifs nous indique que nombre de ceux-ci sont déterminés, notamment les micromères au pôle végétatif. Dès lors, c'est à partir de cette région que la **gastrulation** sera initiée et les micromères seront les premières cellules à s'animer.

Figure 27. Schéma interprétatif de la blastula d'oursin au terme de la période de clivage.



IV- La gastrulation

- 1 - L'apparition des mouvements cellulaires coordonnés (mouvements morphogénétiques).
- 2 - La ségrégation des trois tissus fondamentaux : l'ectoderme, à l'origine de l'épiderme, le mésoderme à l'origine des mésenchymes primaire et secondaire, et l'endoderme à l'origine du tube digestif.
- 3 - L'apparition d'une cavité secondaire digestive, l'archentéron.

Parallèlement, le rythme mitotique diminue et le cycle cellulaire s'allonge

Analyse des mouvements cellulaires au cours de la gastrulation

On peut classer les mouvements cellulaires mis en œuvre au cours de la gastrulation de l'oursin en 4 catégories. Chacun de ces mouvements est lié à une étape de la gastrulation, soit, dans l'ordre chronologique:

- a - Ingression du mésenchyme primaire.
- b - Migration du mésenchyme primaire.
- c - Inflexion du pôle végétatif dans le blastocèle, qui initie la formation de l'archentéron.
- d - Elongation de l'archentéron et individualisation du mésenchyme secondaire.

a - Ingression du mésenchyme primaire

Les prémisses de la gastrulation s'observent au niveau du pôle végétatif. A cet emplacement, l'épithélium s'aplatit (**Fig.28**). Les cellules du pôle végétatif issues des micromères montrent des mouvements pulsatiles sur leur face interne qui aboutissent à la formation de filopodes.

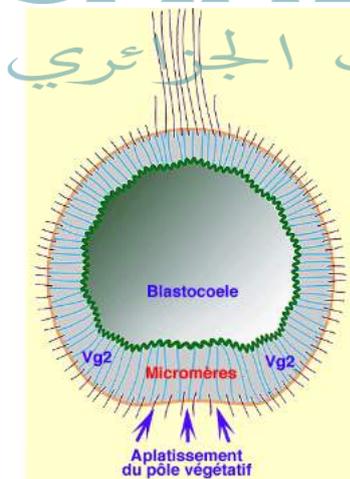


Figure 28. Schéma de la jeune gastrula d'oursin caractérisée par l'aplatissement du pôle végétatif. PA: Pôle Animal, PV : Pôle Végétatif.

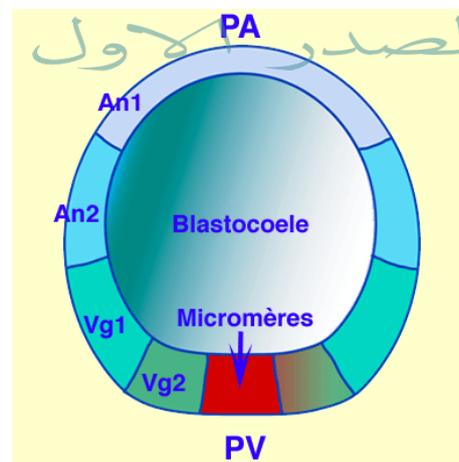


Figure 29. Schéma, avec les territoires présomptifs, de la jeune gastrula d'oursin au moment de l'aplatissement du pôle végétatif. An1: Animal 1; An2: Animal 2; Vg1: Végétatif 1; Vg2: Végétatif 2; PA: Pôle Animal; PV: Pôle Végétatif.

Simultanément, alors que l'ensemble des cellules de la blastula possède une forte affinité pour la couche hyaline externe héritée des granules corticaux, les cellules des micromères perdent

cette affinité et renforcent de 100 fois leur affinité pour la lame basale et la matrice extracellulaire interne. La lame basale se rompt et les cellules passent de l'état épithélial à l'état mésenchymateux. Elles se dirigent dans la cavité du blastocoele au contact de la matrice extracellulaire pour former les cellules du mésenchyme primaire (**Fig.30, 31 et 32**).

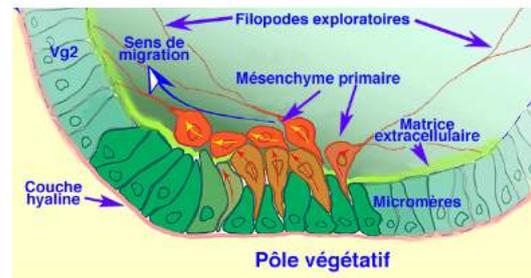
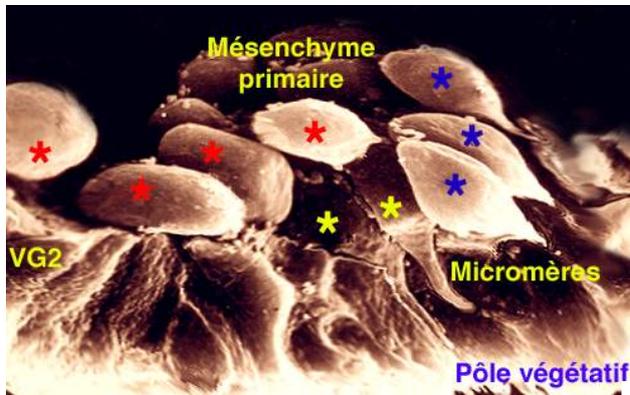


Figure 31. Schéma d'interprétation de l'ingression et de la migration des cellules du mésenchyme primaire d'après la figure 30.

Figure 30. Représentation schématique d'après une vue en microscopie électronique à balayage, de l'ingression et de la migration des cellules du mésenchyme primaire. Les filopodes ne sont pas représentés sur cette figure.

La phase d'ingression: Les micromères, situés au pôle végétatif quittent leur épithélium*. Elles deviennent fusiformes et entrent dans le blastocoele*.

Elles passent donc de l'état épithélial à l'état mésenchymateux. On parle alors de mésenchyme primaire.

La phase de migration:

Une fois dans le blastocoele, les cellules adhèrent à la paroi et migrent sur une courte distance* pour se placer en position latérale.

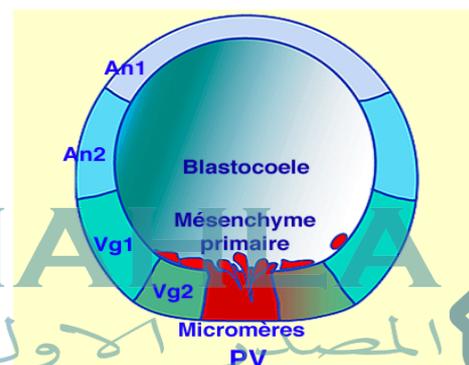


Figure 32. Schéma, avec les territoires présomptifs, de la jeune gastrula d'oursin au moment de l'ingression des cellules du mésenchyme primaire. Pour plus de clarté, les filopodes n'ont pas été représentés. An1: Animal 1; An2: Animal 2; Vg1: Végétatif 1; Vg2: Végétatif 2; PA: Pôle Animal; PV: Pôle Végétatif.

b - Migration du mésenchyme primaire

Les cellules en migration entrent en contact avec la matrice extracellulaire, sur la paroi du blastocoele. Plusieurs molécules jouent un rôle important dans ces événements. Deux d'entre elles sont particulièrement importantes pour l'adhésion et la migration des cellules du mésenchyme primaire, la fibronectine, protéine de 220kDa, constituant majeur de la matrice extracellulaire, et des protéoglycanes sulfatés associés à la surface des cellules du mésenchyme primaire en migration. Il a été montré que pendant la gastrulation, l'affinité des micromères pour la fibronectine s'accroît considérablement.

L'ampleur de cette migration reste relativement réduite dans la mesure où les cellules du mésenchyme primaire restent confinées latéralement dans l'hémisphère végétatif (**Fig.33 et 34**). Elles s'organisent en syncytium (fusion entre les cellules) dans lequel se dépose du

carbonate de calcium à l'origine des spicules calcaires qui constituent le squelette larvaire (voir Fig.42).

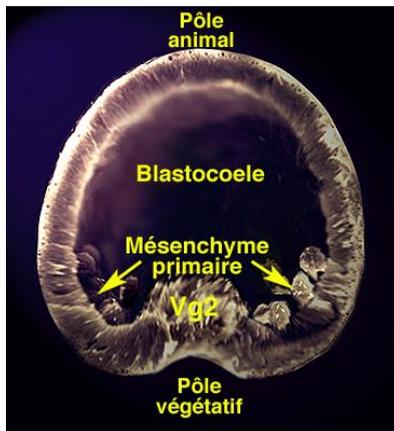


Figure 33. Jeune gastrula d'oursin avec les cellules du mésenchyme primaire en position latérale.

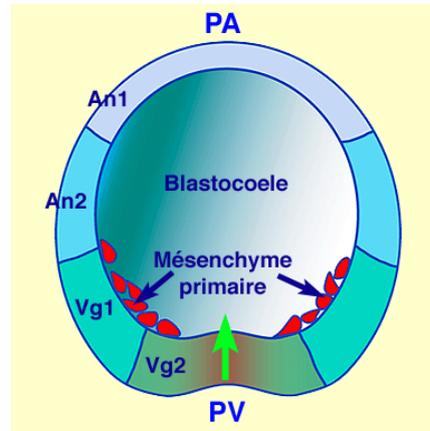


Figure 34. Schéma, avec les territoires présomptifs, de la gastrula, au sortir de la migration des cellules du mésenchyme primaire. Le territoire Vg2 s'infléchit vers le blastocoele (flèche verte). Le mésenchyme primaire se situe en position latéro-végétative. An1: Animal 1; An2: Animal 2; Vg1: Végétatif 1; Vg2: Végétatif 2; PA: Pôle Animal; PV: Pôle Végétatif.

Parallèlement à leur activité migratoire, les cellules du mésenchyme primaire développent de longues expansions cytoplasmiques ou filopodes qui ne paraissent pas être impliqués dans les mouvements de migration. Ces filopodes explorent la paroi du blastocoele et pourraient jouer un rôle dans la reconnaissance de la polarisation dorsoventrale de l'ectoderme. L'acquisition de ces informations permettrait d'établir une régionalisation au sein du mésenchyme primaire et aboutirait à l'élaboration des spicules paires qui marquent la symétrie bilatérale originelle des oursins (Fig.42).

c - Inflexion du pôle végétatif dans le blastocoele

Une fois les cellules du mésenchyme primaire dans le blastocoele, le pôle végétatif est maintenant formé par les cellules du territoire Vg2 à l'origine du tube digestif. Celles-ci restent sous forme d'un épithélium cohérent de cellules adhésives. Leur pôle apical renferme des vésicules de sécrétion contenant un protéoglycane, la chondroïtine sulfate, et est hérissé de microvillosités qui traversent la couche hyaline. Cette dernière, née du contenu des granules corticaux, sert d'ancrage aux cellules qui changent de forme. Par exemple, si on bloque les sites d'adhésion de ces cellules à la couche hyaline par des anticorps qui reconnaissent les protéines constitutives de la couche hyaline, les cellules s'arrondissent et le processus d'inflexion du pôle végétatif est inhibé.

Un examen plus précis fait ressortir que la couche hyaline est composée de deux sous-couches étroitement accolées, la hyaline interne et la hyaline externe, impliquées dans les mouvements d'inflexion du pôle végétatif que l'on conçoit de la manière suivante. Dans un premier temps, les vésicules de chondroïtine sulfate déversent leur contenu dans la hyaline interne. Or, la chondroïtine sulfate étant très hydrophile, la hyaline interne se gonfle d'eau et se dilate, inversement à la hyaline externe dont le volume ne change pas. La résultante de ces changements physiques conduit à des forces de tension entre les deux couches de hyaline. L'expansion latérale de la hyaline interne provoque une courbure concave

vers le blastocoele et repousse les cellules du territoire Vg2, du pôle végétatif vers l'intérieur de l'embryon (**Fig.35, 36 et 37**).

Ce mécanisme peut être comparé à la courbure générée au sein d'une plaque formée de deux matières solidaires et possédant chacune un coefficient de dilatation différent (pour plus d'explications voyez **Fig. 36**).

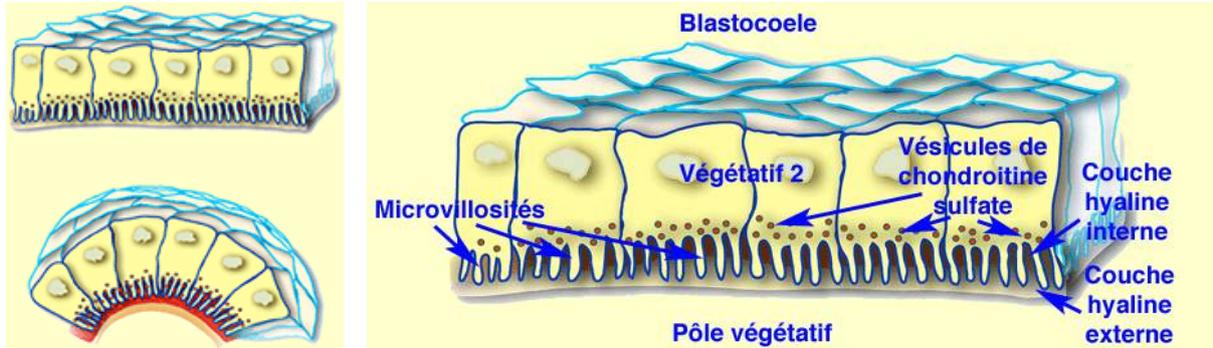


Figure 35. Mouvement d'inflexion du territoire Vg2 au pôle végétatif. Au début de la gastrulation, le pôle végétatif est aplati, alors que les cellules du mésenchyme primaire ont migré dans la cavité du blastocoele. Le pôle végétatif est constitué maintenant par le territoire Vg2 dont les cellules épithéliales sont cohésives.

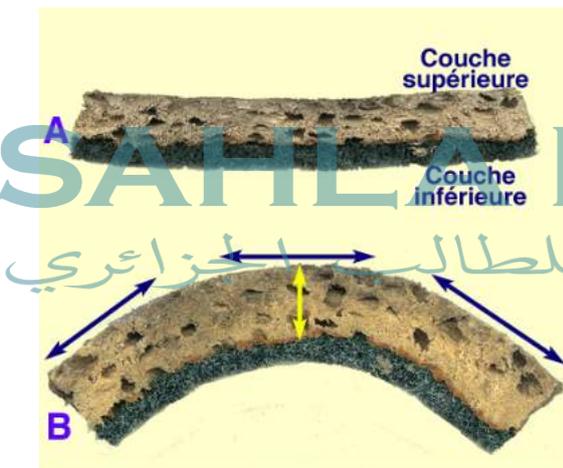


Figure 36. Modèle pour expliquer la génération d'une courbure au sein de deux couches solidaires ayant chacune un coefficient de dilatation différent. Génération d'une courbure provoquée par la dilatation différentielle de deux matériaux solidaires. Dans ce modèle simple, la couche supérieure (ocre) est beaucoup plus hydrophile que la couche inférieure (verte).

A-En absence d'eau, les deux couches sont alignées et l'ensemble est rectiligne.

B-En présence d'eau, la dilatation de la couche supérieure (ocre) est nettement plus importante que celle de la couche inférieure (verte). La couche ocre s'étend donc à la fois en épaisseur (flèche jaune) et en surface (flèches bleues) au détriment de la couche verte.

Les deux couches étant solidaires, la longueur de leur jonction ne change pas. La dilatation se porte donc préférentiellement sur la longueur supérieure de la couche ocre et impose sa courbure à l'ensemble. Pour cette raison, la longueur supérieure de la couche ocre est convexe et inversement, la longueur inférieure de la couche verte est concave

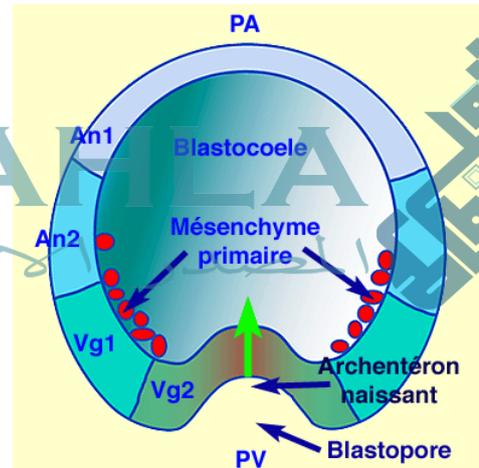
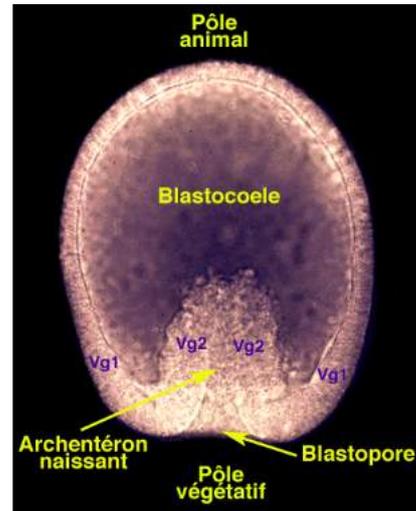


Figure 37. Schéma montrant les mouvements d'inflexion provoquent l'invagination du territoire Vg2 dans le blastocoele, faisant naître une nouvelle cavité, l'archentéron ouvert sur l'extérieur par le blastopore.

Cet évènement est déjà perceptible chez l'oursin sur la figure 33 et particulièrement bien visible dans l'embryon d'étoile de mer (**Fig.38**).

Figure 38. Gastrula d'étoile de mer dont l'inflexion du pôle végétatif est en cours. Vue méridienne d'une jeune gastrula d'étoile de mer montrant la formation de l'archentéron consécutive à l'invagination des tissus endodermiques (Vg2 puis Vg1).

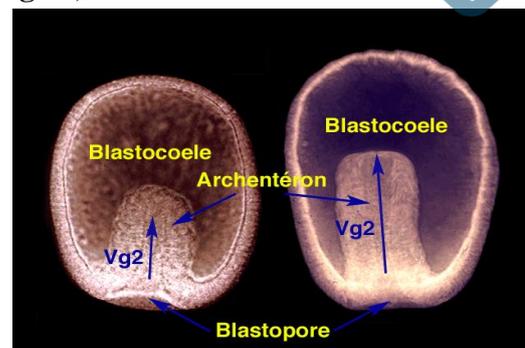


L'inflexion du pôle végétatif constitue le début de l'invagination de l'endoderme (territoire Vg2), et l'ébauche de l'archentéron ouvert sur l'extérieur par le blastopore. Elle ne dépasse pas 1/4 à 1/3 de la distance pôle animal-pôle végétatif. Ceci veut dire que ce mouvement n'est pas suffisant pour assurer la formation complète de l'archentéron et ne permet pas notamment son extension vers le pôle animal.

d - Elongation de l'archentéron et individualisation du mésenchyme secondaire

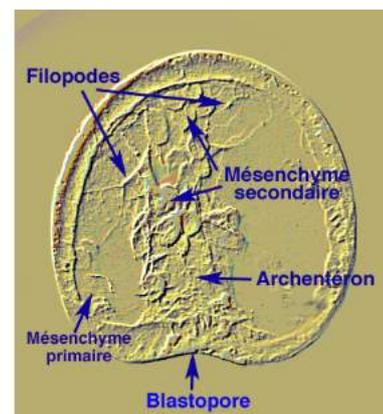
L'élongation de l'archentéron est assurée par l'aplatissement des cellules qui composent ses parois. De plus, des mouvements d'intercalation cellulaire réduisent le diamètre de l'archentéron pour en faire un tube étroit et allongé. On parle de mouvements de convergence extension particulièrement nets chez l'étoile de mer (**Fig.39**).

Figure 39. Deux stades successifs de l'allongement de l'archentéron s'effectue au détriment de la cavité du blastocoele. La cavité archentérique reste en communication avec le milieu extérieur par l'intermédiaire du blastopore.



Un autre mécanisme peut contribuer à cette élongation. Les cellules situées à l'apex de l'archentéron émettent des filopodes, parfois très longs, puisqu'ils vont à la rencontre du toit du blastocoele (**Fig.40**).

Figure 40. Mise en évidence des cellules du mésenchyme secondaire. Les cellules du mésenchyme secondaire émettent de fins prolongements appelés "filopodes" qui entrent en communication avec la paroi du blastocoele.



Une fois cette connexion assurée, les filopodes se contractent, exerçant une force de traction qui contribue à l'allongement de l'endoderme vers le pôle animal. Ces mouvements concernent toujours le territoire Vg2 (**Fig. 41**).

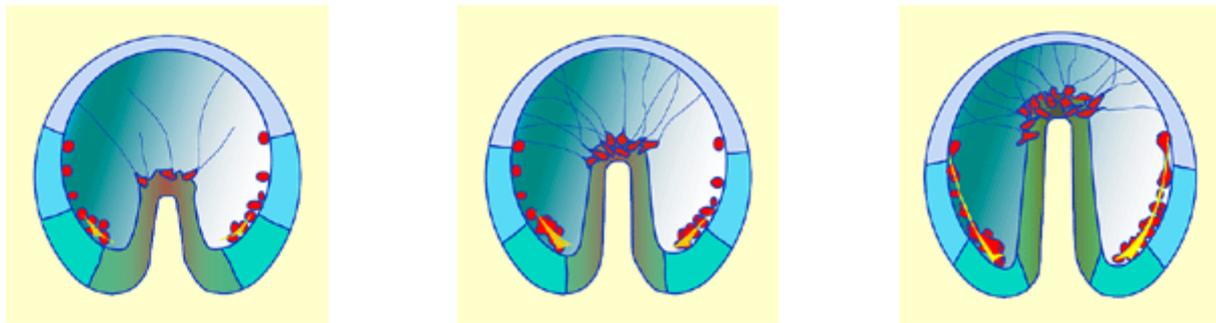
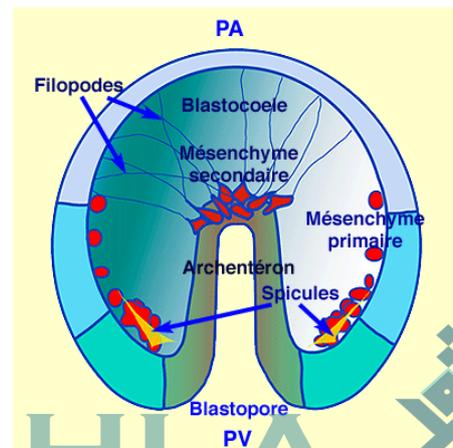


Figure 41. Elongation de l'archentéron et formation du mésenchyme secondaire. Cliquez sur les images pour agrandir. Alors que l'élongation de l'archentéron continue, les cellules du mésenchyme secondaire sont de plus en plus nombreuses. Elles émettent des prolongements cytoplasmiques ou filopodes qui explorent le toit de l'archentéron et participent au processus d'élongation. Latéralement, les cellules du mésenchyme primaire s'associent pour former un syncytium au sein duquel les spicules se développent.



Il est possible de mettre en évidence expérimentalement le rôle des longs filopodes émis par les cellules du mésenchyme secondaire. La rupture des filopodes à l'aide d'un faisceau laser stoppe la phase terminale de l'élongation de l'archentéron. Dans ces conditions, son allongement ne dépasse pas les 2/3 de sa longueur finale. Cependant si on laisse seulement quelques cellules du mésenchyme secondaire en place, l'allongement de l'archentéron s'effectue mais plus lentement que chez les embryons contrôles.

Dans la suite du développement, alors que l'archentéron approche du pôle animal, les cellules du mésenchyme secondaire se séparent de l'endoderme et se dispersent dans le blastocoele où elles constitueront des organes mésodermiques coelomiques tel que l'hydrocoele (**voir le chapitre sur l'organogenèse larvaire**).

Au total, l'embryon parvenu au terme de la gastrulation possède une organisation concentrique où l'on retrouve l'endoderme en position profonde, c'est le tube digestif primitif ou archentéron. L'épiderme constitue le feuillet limitant externe de l'embryon. Quant au mésoderme, il est représenté par les cellules des mésenchymes primaire et secondaire situées dans les espaces laissés libres entre l'épiderme et l'archentéron. Latéralement, les spicules peuvent être mis en évidence au microscope à fond noir (**Fig.42**).

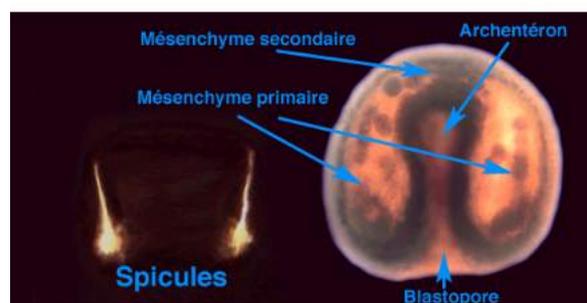


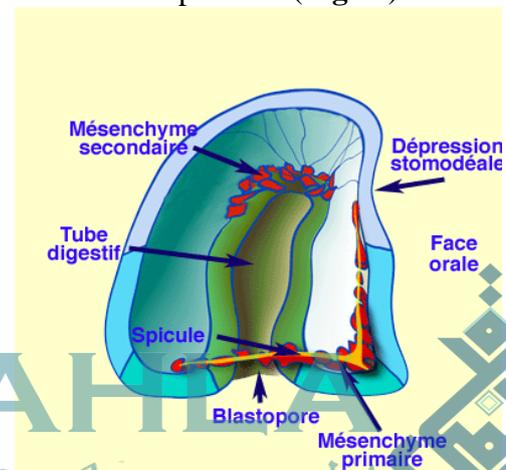
Figure 42. Mise en évidence des spicules au stade gastrula âgé.

V- La phase larvaire

Chez les oursins

Au sortir de la gastrulation, les mouvements morphogénétiques ne sont pas terminés. Le modelage des tissus gastruléens conduit l'embryon vers le stade larvaire. En premier lieu, au cours de son élongation, l'extrémité apicale de l'archentéron s'infléchit vers la future face orale. Cette région semble être déterminée très tôt au cours du développement. Il semble que les cellules du mésenchyme secondaire aient un rôle déterminant dans le processus d'inflexion. En effet, les longs filipodes des cellules du mésenchyme secondaire qui participent à l'élongation de l'archentéron auraient également pour rôle de reconnaître la face ventrale de l'épiderme au cours de leur exploration de la paroi du blastocoele. Une fois cette information récoltée, les cellules du mésenchyme secondaire amèneraient l'extrémité antérieure de l'archentéron au contact de l'épiderme ventral à l'origine de la région orale de la larve. La bouche s'ouvre au contact de l'apex de l'archentéron avec l'épiderme (**Fig.43**).

Figure 43. Passage du stade gastrula âgée au stade larvaire prisme. Modelage de larve prisme à partir de la gastrula âgée. La région orale de la gastrula s'aplatit et l'apex de l'archentéron s'infléchit vers l'épiderme de la dépression stomodéale.



Sachant que le blastopore est destiné à devenir l'anus, l'ouverture secondaire de la bouche qualifie les échinodermes de deutérostomiens auxquels appartiennent également les chordés (dans lesquels sont rangés les vertébrés).

A l'opposé, les protostomiens pour lesquels le blastopore donne la bouche, regroupent l'ensemble des vers, mollusques et arthropodes.

La symétrie radiaire embryonnaire est progressivement remplacée par la symétrie bilatérale de la larve. La région orale s'aplatit. On lui donne le nom de larve prisme (**Fig.44**).

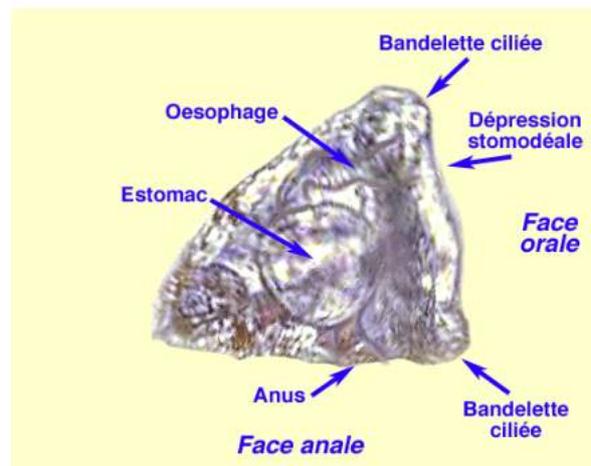
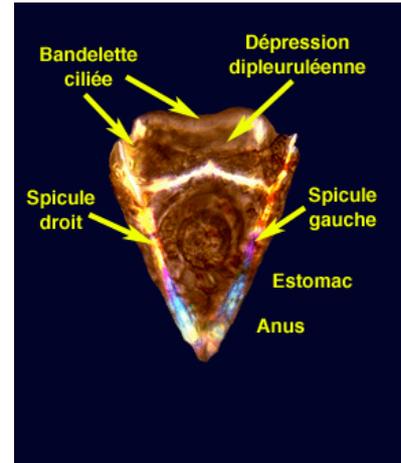


Figure 44. Larve prisme vue du profil droit. La bandelette ciliée encadre la face orale.

La bouche est centrée dans une dépression dite dipleuruléenne, dont les bords sont garnis d'une bandelette ciliée. **La larve est une dipleurula (Fig.45)**. Cette dépression se creuse et la bandelette ciliée forme des expansions soutenues par les spicules en croissance.

Figure 45. Passage de la larve dipleurula à la larve pluteus. La larve dipleurula s'allonge. La face orale bordée par une bandelette ciliée, se creuse. Observée par la face ventrale, en contraste de phase interférenciel, la dipleurula montre une organisation symétrique bilatérale mise en évidence par les spicules droit et gauche.



De ces expansions naissent quatre "bras" dont deux croissent du côté de la bouche et deux du côté de l'anus (les bras oraux et les bras anaux). Postérieurement, la réunion des spicules forme un faisceau qui donne une forme allongée à la larve que l'on appelle désormais la larve pluteus (**Fig.46, 47**).

Figure 46. Jeune larve pluteus d'oursin. Les bras oraux et anaux qui encadrent la dépression dipleuruléenne sont au début de leur allongement.

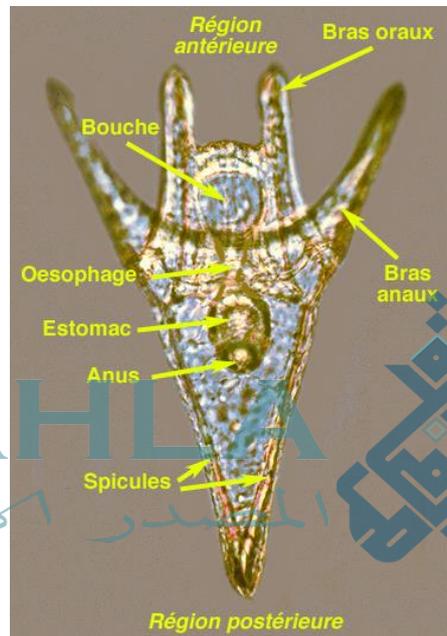
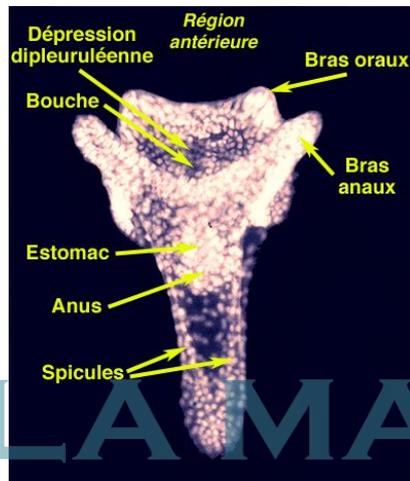
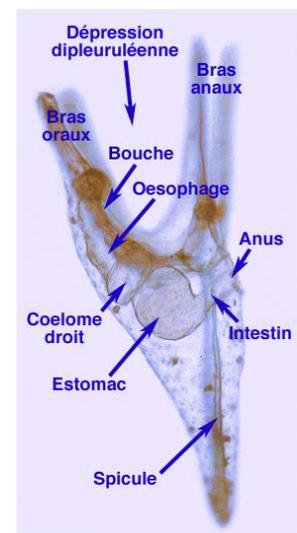


Figure 47. Pluteus en croissance, face ventrale, montrant les quatre bras encadrant la dépression dipleuruléenne. A ce stade, la transparence de la larve permet de voir les différentes régions du tube digestif.

A l'intérieur de la larve, l'archentéron se divise en trois régions. Dans le sens antéropostérieur, on distingue un court oesophage qui débouche dans une poche renflée, l'estomac, auquel fait suite le tube intestinal ouvert au niveau de l'anus (**Fig.47, 48**).

Figure 48. Pluteus vu de profil montrant le tube digestif.



La larve pluteus est nageuse et planctonique. Elle avance en dirigeant sa face orale vers l'avant. La bandelette ciliée, portée par les bras oraux et anaux, permet ce déplacement en même temps qu'elle dirige les courants d'eau vers la bouche. Le pluteus se nourrit de diatomées planctoniques.

La croissance du pluteus peut être résumée sur la figure suivante (**Fig.49**).



Figure 49. Evolution de la larve d'oursin du stade dipleurula (à gauche) au stade pluteus (à droite).

La larve pluteus est caractéristique du groupe des échinides mais aussi des ophiurides. Par contre la morphologie des larves d'astérides et d'holothurides est sensiblement différente de celle de la larve pluteus. Cependant, une étude comparative des formes larvaires de ces quatre groupes montre qu'elles dérivent toutes d'un même plan d'organisation qui est celui de la larve dipleurula.

VI- La métamorphose complexe.

Chez l'oursin

Chez l'oursin, au moment où l'archentéron entre en contact avec l'épiderme pour former la bouche, son extrémité antérieure bourgeonne une vésicule coelomique qui se divise en sacs coelomiques droit et gauche. Celles-ci se placent de manière symétrique de chaque côté du tube digestif (**Fig.51, 52**).

Figure 51. Détail d'un pluteus en vue latérale droite. Un détail de la région du tube digestif met en évidence la vésicule cœlomique droite située à l'angle de l'estomac et de l'œsophage.

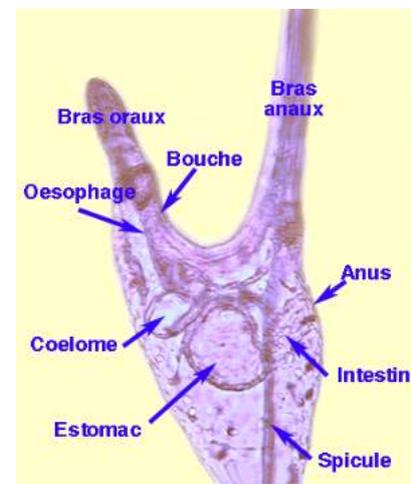
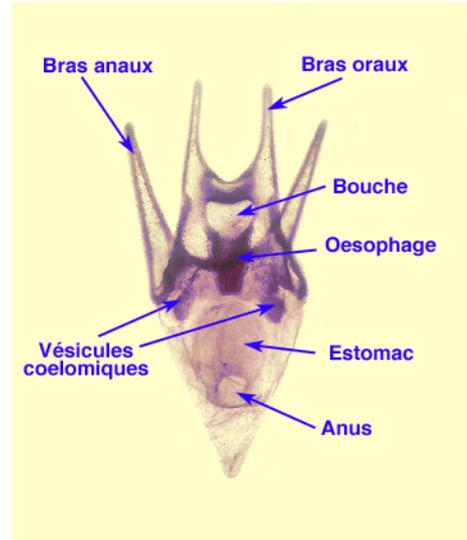


Figure 52. Pluteus face ventrale, coloré pour mettre en évidence le coelome

Chaque vésicule coelomique subit une métamérisation en trois parties ; antérieure, intermédiaire et postérieure. Les vésicules coelomiques postérieures entourent la poche stomacale pour former le coelome gastrique. La vésicule coelomique intermédiaire gauche prend le nom d'hydrocoele (à l'origine du système aquifère de l'adulte), alors que l'équivalent droit subit une forte réduction. La vésicule coelomique antérieure gauche bourgeonne un canal qui se dirige vers l'épiderme et débouche sur le milieu extérieur. Il s'agit du canal madréporique.



Parallèlement, une connexion s'établit entre le coelome antérieur gauche et l'hydrocoele par la formation d'un canal mettant en communication les deux vésicules. Il s'agit du futur canal du sable. Enfin, l'épiderme au contact de l'hydrocoele s'invagine et ébauche une poche destinée à englober l'hydrocoele (**Fig.53**). Par analogie avec les mammifères, on donne à cette structure le nom d'amnios. C'est à partir de cet ensemble que s'effectuera la métamorphose de l'oursin.

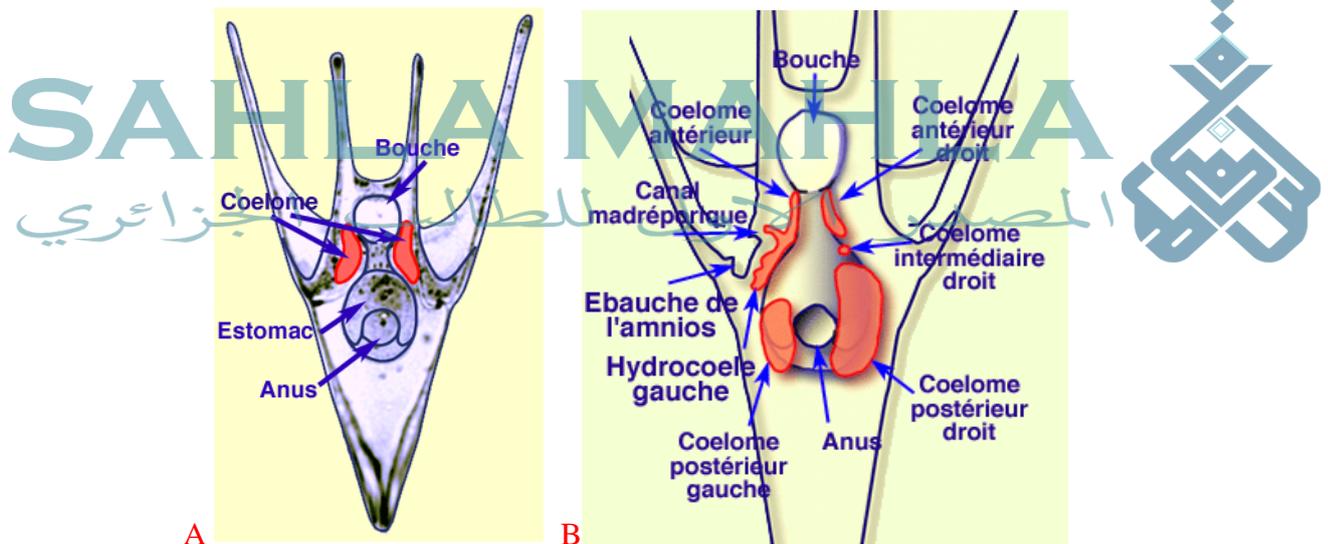


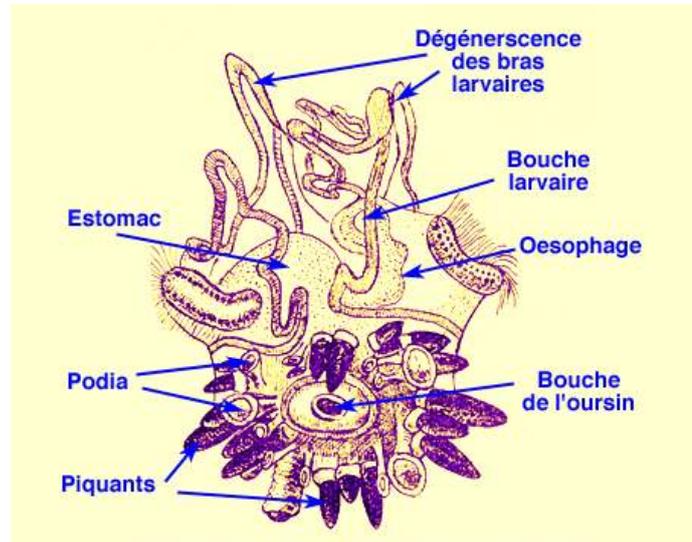
Figure 53. **A-** Schéma montrant les vésicules coelomiques paires situées de part et d'autre du tube digestif et issues du bourgeonnement de l'apex d'archentéron. **B-** Schéma de l'évolution des vésicules coelomiques de la larve pluteus. Une trimétrie s'instaure, puis la différenciation bilatérale devient dissymétrique.

La poche amniotique ainsi formée avec les dérivés coelomiques prend le nom de sac échinien. A l'intérieur, l'hydrocoele évolue en anneau et bourgeonne cinq diverticules. L'ensemble devient pentagonal et c'est, à partir de cette structure, que le jeune oursin s'édifie. En dehors du sac échinien, l'estomac, les coelomes antérieur et postérieur gauches ainsi que l'ectoderme dorsal du pluteus participent à cette métamorphose.

En conséquence, alors que la métamorphose se poursuit, le pluteus porte en lui un jeune

oursin miniature garni de quelques piquants et de cinq podia primaires. Puis la cavité amniotique s'ouvre, le reste du pluteus non utilisé pour la métamorphose est ingéré par le jeune oursin. Enfin, à mesure que l'ensemble s'alourdi par le squelette calcaire en formation ainsi que par les premiers piquants, l'oursin descend vers le fond marin (**Fig.54**).

Figure 54. Achèvement de la métamorphose du pluteus d'oursin. (D'après Mc. Bride, 1914, Textbook of Embryology.)



SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



Références

Les images proviennent de documents du service d'enseignement de Biologie du Développement de l'Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, 9 quai Saint-Bernard, Paris 5^e (Photos Jean Desrosiers) et de documents de Michel Delarue. La photo de la figure 4 a été prêtée par le Professeur Gérard Peaucellier de l'Observatoire Oceanologique de Banyuls-sur-mer. La photo de la figure 26 de Dr. Christian Gache (Observatoire Oceanologique 06234 Villefranche-sur-Mer cedex). La figure 61 a été modifiée à partir d'une photo appartenant au Professeur Claude Carré (Observatoire Oceanologique 06234 Villefranche-sur-Mer cedex). Gérard Peaucellier, Professeur, Jean Pierre Féral DR CNRS (Laboratoire Arago BP 44, 66651 Banyuls-sur-mer Cedex) ; Nadia Ameziane Maître de conférences, (Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins, 55 rue Buffon, Paris 75005) ; Christian Gache, DR CNRS ; Claude Carré, Professeur (Observatoire Oceanologique 06234 Villefranche-sur-Mer cedex) ; Brigitte Ciapa, DR CNRS (UMR 7622-Laboratoire de Biologie du Développement, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, 9 quai Saint-Bernard, 75005 Paris) ; Bruno David, DR CNRS (Centre des Sciences de la Terre 6, bd. Gabriel F - 21000 DIJON).
<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/oursinMDC/index.html>
<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/web/bdechino.htm>

SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري

