Les glucides et les lipides du clitellum et de l'albumen du cocon chez Eisenia fetida Sav (annélide oligochète)

L Rouabah-Sadaoui, R Marcel

▶ **To cite this version:**

L Rouabah-Sadaoui, R Marcel. Les glucides et les lipides du clitellum et de l'albumen du cocon chez Eisenia fetida Sav (annélide oligochète). Reproduction Nutrition Development, 1995, 35 (5), pp.537-548. hal-00899772

HAL Id: hal-00899772
https://hal.science/hal-00899772

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Reprod Nutr Dev (1995) 35, 537-548
© Elsevier/INRA

Article original

Les glucides et les lipides du clitellum et de l'albumen du cocon chez *Eisenia fetida* Sav (annélide oligochète)

L Rouabah-Sadaoui *, R Marcel **

Laboratoire d'écophysiologie d'invertébrés du sol, université des sciences et technologies de Lille, 59655 Villeneuve-d'Ascq cedex, France

(Reçu le 25 janvier 1995 ; accepté le 7 juillet 1995)

Résumé — L'analyse des constituants glucidiques et lipidiques de l'épithélium clitellaire et de l'albumen des cocons est abordée à l'aide de techniques biochimiques chez *Eisenia fetida*. La teneur en glucides augmente considérablement (environ x 5) au cours de la différenciation clitellaire. Les oses et les osides représentent 50% du poids sec des cocons fraîchement pondus. On note un enrichissement en certains hexoses lors de la puberté. Le glucose prédomine chez les vers immatures, le mannose dans les clitellums mûrs. L'approche de l'éclosion s'accompagne d'une baisse générale de la teneur de tous les glucides. La teneur en lipides totaux du clitellum augmente au cours de la maturation : celle des lipides neutres, les plus abondants, varie peu ; en revanche, celle des phospholipides, beaucoup plus rares, est en notable augmentation. Le taux des acides gras du clitellum présente un maximum à la puberté ; le cocon accumule une grande quantité d'acides gras. Les acides palmitique, stéarique, oléique et vaccénique sont prépondérants.

glucide / lipide / *Eisenia* / ver de terre

Summary — Glucids and lipids of clitellum and cocoon's albumen in *Eisenia fetida* Sav (Annelida Oligochaeta). *Biochemical methods were used to analyze the glucidic and lipidic components of the clitellar epithelium and the cocoon's albumen in* Eisenia fetida. *In the clitellum, the sugar concentration increased dramatically (about 5-fold) during differentiation. The assays showed increases in several monosaccharides during puberty. In addition, glucose was prominent in immature clitella, whereas mannose was the main sugar in the mature ones. About 50% of the dry weight of recently deposited cocoons was carbohydrates. The sugar concentration decreased in the albumen as hatching approached. The amount of total lipids in the clitellum increased during maturation. The levels of neutral lipids, however varied very little. Phospholipids began at low levels at the beginning of differentiation, and*

* Nouvelle adresse : Institut des sciences biologiques, université de Constantine, Constantine, Algérie
** Correspondance et tirés à part

increased dramatically thereafter. The amount of fatty acids in the clitellar epithelium reached a maximum during the submature stage. Large amounts of fatty acids were stored in the cocoon. Palmitic, stearic, oleic and vaccenic acids were preponderant in both the clitellum and cocoon.

glucid / lipid* / Eisenia / *earthworm

INTRODUCTION

Le cocon des lombriciens, sécrété par le clitellum, renferme des œufs oligolécithes (Dawydoff, 1959) dont le cytoplasme ne contient qu'une petite quantité de produits lipidiques utilisés pendant la segmentation de l'embryon (Lechenault, 1968). Les éléments nutritifs de l'albumen du cocon sont consommés à partir du stade gastrula (Devriès, 1973). Trois catégories cellulaires sont impliquées dans la formation du cocon : les «cellules à mucus», les «cellules à gros granules», et les «cellules à fins granules» qui sont responsables de la sécrétion de l'albumen (Grove et Cowley, 1928).

La nature des différents éléments cellulaires du clitellum a été étudiée par des méthodes histochimiques (Defretin et Demailly, 1953). L'analyse chimique a été abordée par des méthodes biochimiques appliquées à l'animal entier (Durchon et Lafon, 1951 ; De Jorge *et al,* 1965 ; De Jorge et Sawaya, 1967) ou au clitellum uniquement (Rouabah-Sadaoui, 1984).

Dans une note précédente (Rouabah-Sadaoui et Marcel, 1995), nous avons mis en évidence, dans les clitellums et dans l'albumen des cocons, une glycolipoprotéine, assimilable à une vitellogénine, ainsi que 2 glycoprotéines. À côté des protéines, les glucides et les lipides jouent donc un rôle important dans la constitution des réserves destinées au développement de l'embryon. Nous nous sommes proposés d'étudier la composition glucidique et lipidique des clitellums et de l'albumen des cocons, pour faire suite à l'analyse des protéines.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les *Eisenia*, élevés au laboratoire, ont été récoltés à 3 stades de maturation sexuelle :

– immatures, ne présentant aucune différenciation clitellaire apparente ;

– submatures, dont la région où se développera le clitellum montre une coloration plus claire caractéristique ;

– mûrs, présentant un clitellum turgescent.

Les clitellums, réséqués sous anesthésie au chloréthone à 0,2%, ont été broyés dans l'eau distillée avec un homogénéiseur Dounce. Après centrifugation à 2 900 *g*, pendant 10 min, le surnageant a été lyophilisé.

Les clitellums et les cocons lyophilisés ont été pesés au préalable, pour en déterminer les poids secs, sur une balance fermée, en atmosphère anhydre, en présence de potasse.

Les cocons pondus par des vers sexuellement actifs ont été récoltés tous les jours, puis mis en incubation à 24°C. Ces cocons ont été ouverts à différents moments : 1, 5, 10, 15 et 20 j après la ponte et leur contenu (albumen et embryons) séparé de l'enveloppe, puis lyophilisé.

Les oses neutres totaux sont dosés sur les lyophilisats (surnageant de l'homogénat des clitellums et contenu des cocons) par la méthode à l'orcinol sulfurique de Tillmans et Philippi modifiée par Rimigton, d'après Montreuil et Spik (1963). Les oses et hexosamines sont identifiés et dosés par chromatographie en phase gazeuse des trifluoroacétylés selon la technique de Zanetta *et al* (1972). La fraction à étudier, additionnée de mésoinositol (témoin interne), est lyophilisée puis méthanolysée (méthanol + HCl à 0,5 N : 1 mL par mg de produit) à 80°C pendant 24 h. Les protéines sont éliminées par centrifugation tandis que les lipides sont dissous dans l'heptane. La trifluoroacétylation (dichlorométhane 100 μL/anhydride trifluoroacétique 100 μL) est réalisée à 150°C au bain de sable. La chromatographie est exécutée sur colonne de verre (0,3 x 300 cm)

OV 210 ; gaz vecteur : azote à 15 mL/min ; température programmée de 100°C à 200°C à raison de 2°C/min ; température de l'injecteur et du détecteur 220°C.

Les lipides totaux sont extraits des différents échantillons par le mélange chloroforme : méthanol (2 : 1 V/V), suivant la méthode de Folch *et al* (1957). Les substances non lipidiques sont éliminées par addition d'une solution aqueuse à 9% de Na Cl, à raison de 1 volume pour 5 volumes d'extrait lipidique. Après agitation, le déphasage s'opère dans une ampoule à décanter, pendant une nuit, à +4°C. Les lipides totaux, purifiés, restent en solution dans la phase chloroformique supérieure. Dans cette dernière, les phospholipides sont séparés des lipides neutres par précipitation acétonique et centrifugation. Le surnageant acétonique est séché sous courant d'azote, puis lyophilisé. Les lipides neutres sont alors saponifiés par la soude 4N, à 100°C, pendant 4 h. Les acides gras sont dissous dans du chloroforme et lyophilisés avant d'être estérifiés (80°C, 4 h) par du méthanol chlorhydrique. Après séchage sous courant d'azote, le résidu est repris par de l'heptane et les méthylesters d'acides gras sont analysés par chromatographie en phase gazeuse (Girdel série 300) sur colonne capillaire de silicone OV 101 (85 m x 0,35 mm ID) ; pression du gaz vecteur (hélium) : 0,4 bar ; température programmée de 100°C à 200°C à raison de 2°C par min ; température de l'injecteur et du détecteur : 240°C. L'identification des acides gras est confirmée par couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse (GLC - MS) à l'aide d'un appareil Riber-Mag R 10-10 ; potentiel d'ionisation 70 eV ; gamme de masses : 70-250 en 400 ms.

Le traitement statistique des résultats est effectué à l'aide du test t de Student.

RÉSULTATS

Les glucides

Dosages des oses totaux par colorimétrie à l'orcinol

Les résultats des dosages, exprimés en pourcentage du poids sec, sont consignés dans le tableau I. La teneur en glucides, faible dans le clitellum immature (4,5%) augmente considérablement au cours de la différenciation clitellaire (21% dans le clitellum turgescent). Une décroissance des taux de glucides totaux dans les cocons (albumen + embryons) est observée au cours de l'embryogenèse (tableau II) : de 25-30%, pendant les 10 premiers jours, à 15%, dans les cocons proches de l'éclosion. Toutes ces différences sont statistiquement significatives ($P \leq 0,01$).

Identification et dosage des oses neutres par chromatographie en phase gazeuse

Les résultats précédents, acquis sur les glucides totaux, nous ont incités à rechercher leur composition dans le clitellum et dans les cocons. Nous avons pu ainsi identifier (fig 1) et doser les oses neutres suivants : galactose (Gal), glucose (Glc), mannose (Man), fucose (Fuc), xylose (Xyl). Les hexosamines, glucosamine (GlcNac) et galactosamine (GalNac), ont été identifiés et dosés. Les acides glucuronique et sialique n'ont pas été décelés.

Les résultats des dosages sont exprimés, dans le tableau III, sous 2 formes : en pourcentage par rapport au poids sec et en pourcentage par rapport aux glucides totaux. Ce tableau montre que les teneurs de tous les

Tableau I. Teneurs en oses neutres totaux, exprimées en % par rapport au poids sec (méthode à l'orcinol).

	Clitellums	
Immatures	*Submatures*	*Mûrs*
4,5 ± 1,8	11,8 ± 1,7	21,0 ± 1,8

Poids sec moyen d'un clitellum mûr : 1,02 ± 0,05 mg, submature : 0,89 ± 0,03 mg, immature : 0,78 ± 0,03 mg.

Tableau II. Teneurs des cocons en oses neutres totaux, exprimées en % par rapport au poids sec (méthode à l'orcinol), au cours du développement embryonnaire.

Albumen des cocons de				
1 j	*5 j*	*10 j*	*15 j*	*20 j*
30,0 ± 1,6	24,7 ± 1,6	31,8 ± 1,3	23,5 ± 1,4	15,4 ± 1,4

Poids sec moyen d'un cocon frais pondu : 0,91 ± 0,06 mg.

glucides augmentent lors de la maturation du clitellum, en particulier le galactose, le mannose et les hexosamines. En revanche, le fucose et le xylose demeurent à des concentrations relativement faibles. L'expression du pourcentage de ces glucides par rapport aux glucides totaux permet de mettre en évidence la prédominance du glucose chez les vers immatures et celle du mannose dans les clitellums mûrs. Les résultats du tableau III exprimant les teneurs des glucides totaux d'un lot de cocons de moins de 10 j (dernière colonne) confirment donc les résultats des dosages à l'orcinol (tableau I). Les cocons contiennent au moins 2 fois plus de glucides que le clitellum mûr. Clitellum et albumen possèdent les mêmes oses. Le taux du mannose demeure

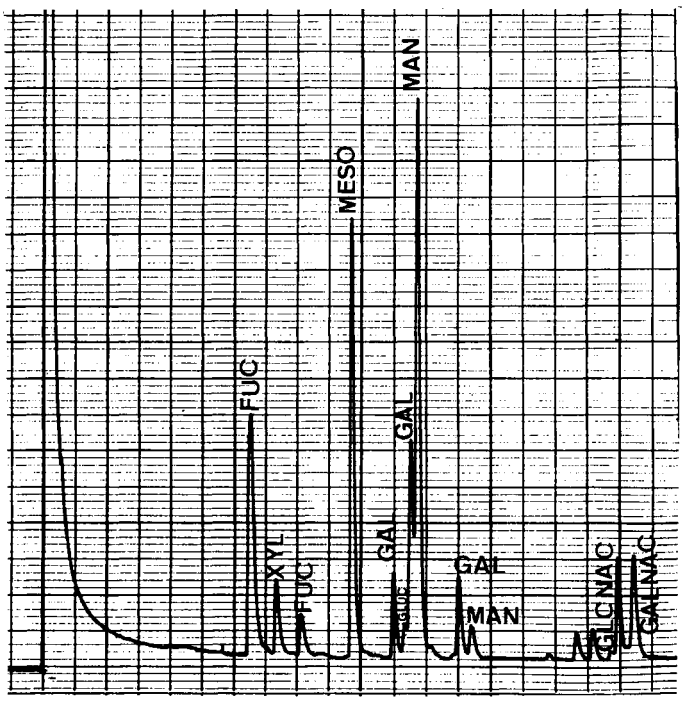

Fig 1. Analyse des glucides par chromatographie en phase gazeuse. Chromatographie des polysaccharides du clitellum mûr. Il n'y a pas d'acide glucuronique ni d'acide sialique. (Fuc : fucose ; Gal : galactose ; Gluc : glucose ; Man : mannose ; Xyl : xylose; Gal/Nac : N-acéthylgalactosamine ; Glc-Nac : N-acétylglucosamine). Colonne de verre (0,3 x 300 cm) OV 210 ; gaz vecteur : azote à 15 ml/mn ; température programmée de 100°C à 200°C à raison de 2°C/min ; température de l'injecteur et du détecteur 220°C.

Tableau III. Teneurs en monosaccharides dans le clitellum au cours de la croissance et dans l'albumen d'un lot de 10 cocons de 1 à 10 j, valeurs exprimées en % par rapport au poids sec (1er chiffre) et en % par rapport aux sucres totaux (2e chiffre en italique).

	Clitellums						*Cocons* [a]	
	Immatures		*Submatures*		*Mûrs*			
Fuc	0,2	*5,3*	0,7	*6,6*	1,4	*7,2*	4,0	*9,3*
Gal	0,9	*23,7*	2,7	*25,7*	3,8	*19,5*	8,8	*20,4*
Man	0,5	*13,2*	1,8	*17,1*	6,8	*34,9*	12,1	*28,1*
Glc	1,2	*31,6*	2,7	*25,7*	1,4	*7,2*	2,5	*5,8*
Xyl	0,2	*5,2*	0,6	*5,7*	1,5	*7,6*	4,8	*11,1*
GalNac	0,4	*10,5*	1,0	*9,6*	2,9	*14,9*	5,7	*13,2*
GlcNac	0,4	*10,5*	1,0	*9,6*	1,7	*8,7*	5,2	*12,1*
Total	3,8	*100*	10,5	*100*	19,5	*100*	43,1	*100*

[a] Lot de cocons récoltés entre le 1er et le 5e j après la ponte.

très abondant (28,1%) ainsi que celui du galactose (20,4%) tandis que celui du glucose devient minoritaire (5,8%). Les différences observées sont constamment significatives pour $P \leq 0,01$.

L'évolution des oses neutres durant l'incubation des cocons (tableau IV) montre que le glucose, presque inexistant dans les cocons frais pondus, devient relativement abondant à l'approche de l'éclosion (12,6%). Le mannose prédomine pendant toute l'embryogenèse (30% environ). Le galactose est, lui aussi, bien représenté à tous les stades du développement (21 à 25%). Dans l'ensemble, l'approche de l'éclosion s'accompagne d'une baisse générale de la teneur en glucides, à l'exception du 10e jour où apparaît un enrichissement momentané. Juste avant l'éclosion, les glucides ne représentent plus que 14% environ du poids sec, ce qui confirme les résultats obtenus par la méthode de dosage à l'orcinol.

Les lipides

Pour des raisons matérielles, nous n'avons pas pu étudier l'évolution des teneurs en lipides au cours du développement. Aussi, nous ne donnerons ici que des résultats préliminaires partiels. Les teneurs des différentes catégories de lipides et des acides gras seront exprimées en pourcentage par rapport au poids sec. Les pourcentages relatifs seront ensuite calculés.

Composition en lipides des clitellums

Les lipides totaux, les lipides neutres et les phospholipides ont été dosés dans les clitellums aux 3 stades de maturation définis précédemment. Les résultats, reportés dans le tableau V, montrent que les quantités de lipides sont, dans l'ensemble, relativement faibles. Néanmoins, on peut noter une légère augmentation de ces lipides, au cours

Tableau IV. Teneurs en oses dans les cocons à différents stades d'incubation exprimées en % par rapport au poids sec (1er chiffre) et en % par rapport aux sucres totaux (2e chiffre en italique).

	Albumen des cocons de									
	1 j		*5 j*		*10 j*		*15 j*		*20 j*	
Fuc	5,5	*18,6*	3,3	*15,6*	5,2	*17,3*	2,9	*13,8*	1,75	*12,6*
Gal	6,6	*22,4*	5,2	*24,6*	7,0	*23,2*	4,4	*20,9*	3,2	*23,0*
Man	8,9	*30,2*	7,0	*33,2*	9,3	*30,9*	6,1	*28,9*	4,2	*30,2*
Glc			0,4	*1,9*			2,9	*13,8*	1,75	*12,6*
Xyl	1,3	*4,4*	0,8	*3,8*	1,2	*4,0*	0,7	*3,3*	0,5	*3,6*
GalNac	4,5	*15,3*	2,6	*12,4*	4,4	*14,6*	2,3	*10,9*	1,4	*10,1*
GlcNac	2,7	*9,1*	1,8	*8,5*	3,0	*10,0*	1,8	*8,5*	1,1	*7,9*
Total	29,5	*100*	21,1	*100*	30,1	*100*	21,1		*13,9*	*100*

de la maturation, les taux passant de 8 à 10% du poids sec (différences significatives pour $p \leq 0,01$ entre ces valeurs extrêmes). Cet accroissement n'intéresse, semble-t-il, que les phospholipides, tandis que les quantités de lipides neutres restent à peu près stationnaires, entre les 2 tiers et 4 cinquièmes des lipides totaux. Malgré un triplement de leur teneur, les phospholipides demeurent donc en très faible quantité. Quant aux glycolipides et résidus divers, ils présentent une diminution importante au moment de la maturation par rapport au stade immature. Les valeurs demeurent toutefois faibles, de même que celles des phospholipides.

Tableau V. Teneurs en lipides du clitellum d'*Eisenia fetida* à différents stades de maturation.

	Clitellums		
	Immatures	*Submatures*	*Mûrs*
% du poids sec			
Lipides totaux	8,0 ± 1,5	9,0 ± 1,8	10,0 ± 1,8
Lipides neutres	6,0 ± 0,7	7,3 ± 1,4	6,6 ± 1,6
Phospholipides	0,8 ± 1,7	1,1 ± 1,5	2,7 ± 1,3
Glycolipides + résidus [a]	1,2	0,6	0,7
% des lipides totaux			
Lipides neutres	75,0	81,1	66,0
Phospholipides	10,0	12,2	27,0
Glycolipides + résidus [a]	15,0	6,6	7,0

[a] Valeurs calculées par différence.

Tableau VI. Teneurs en acides gras dans les clitellums à différents stades de maturation et dans l'albumen des cocons.

Acides gras totaux	*Clitellums*			*Cocons*[a]
	Immatures	*Submatures*	*Mûrs*	
% du poids sec	3,5 ± 1,1	5,4 ± 1,2	3,6 ± 0,9	10,6 ± 1,7
% de lipides neutres	58,3 ± 18,3	73,9 ± 16,4	54,5 ± 13,6	–[b]

[a] Lot de cocons récoltés entre le 1er et le 5e j après la ponte ; [b] les lipides neutres n'ont pas été dosés dans les cocons.

Analyse des acides gras dans les clitellums et dans les cocons

Après saponification des lipides neutres, les acides gras ont été dosés dans les clitellums immatures, submatures et mûrs ainsi que dans l'albumen d'un lot de cocons âgés de 5 à 10 j. Sur le tableau VI sont reportées les teneurs totales en acides gras exprimées en pourcentage de la matière sèche et en pourcentage des lipides neutres. La légère augmentation des quantités totales d'acides gras au cours de la phase submature par rapport aux stades immatures ou mûrs n'est pas statistiquement significative, à cause de la valeur élevée des écarts types. En revanche, la différence est significative entre les taux d'acides gras des cocons et ceux des clitellums (10,6 *vs* 3,5 à 5,4%). Ceci pourrait traduire une mise en réserve relativement importante de substances lipidiques dans l'albumen des cocons.

La composition en acides gras des lipides neutres des clitellums et de l'albumen de cocons est reportée dans le tableau VII, d'une part, en précisant les stades d'évolution des clitellums, et d'autre part, en séparant les acides gras saturés des insaturés. Les résultats sont exprimés en pourcentage de matière sèche et en pourcentage des acides gras totaux (chiffres en italique). Les acides gras à chaîne très courte (moins de 14 C), volatils, n'ont pu être décelés par la méthode utilisée. Un exemple de chromatogramme relatif aux clitellums mûrs est donné sur la figure 2.

À tous les stades de maturation des clitellums et dans l'albumen des cocons, on note l'existence simultanée d'acides gras saturés et d'acides gras insaturés. Le rapport i/s (insaturés par rapport aux saturés) présente des valeurs dont la variation est intéressante : 0,64 chez les immatures *vs* environ 1 pour les autres stades et chez les cocons, ce qui semble indiquer une modification importante de la constitution des lipides au moment de la maturation du clitellum, à la puberté.

Sur 16 acides gras détectés, une douzaine sont en quantité notable, les 4 plus importants étant l'acide palmitique (16:0) et l'acide stéarique (18:0) parmi les saturés, l'acide oléique (18:1) et l'acide vaccénique (18:1) parmi les insaturés. On retrouve en général les mêmes acides gras à tous les stades du clitellum et dans l'albumen des cocons, mais dans des proportions variant d'une manière parfois importante. Le rapport 18:1 oléique / 18:1 vaccénique présente une variation importante au moment de la maturation : sa valeur (2,2) est divisée par 2. Ceci confirme la modification de

la composition des lipides au moment où se développe le clitellum. En ce qui concerne l'albumen des cocons, on peut remarquer, en plus d'une quantité d'acides gras très nettement supérieure (10,6% du poids sec), une répartition des acides gras assez différente : l'acide palmitoléique (16:1) y est plus abondant, tandis que les acides palmitique (16:0) et stéarique (18:0) y sont nettement moins bien représentés. Enfin, on peut noter, dans tous les échantillons, la présence de l'acide margarique (17:0) en quantité non négligeable (de 5 à 10%). Ainsi, *Eisenia* est l'un des rares animaux à posséder des acides gras à nombre impair de carbones.

Tableau VII. Composition en acides gras des lipides neutres des clitellums et de l'albumen des cocons.

Acides gras	*Clitellums*						*Cocons* [a]	
	Immatures		*Submatures*		*Mûrs*			
Saturés								
14:0	0,11	3,3	0,14	2,6	0,10	2,9	0,43	4,3
16:0	0,76	22,5	1,03	19,1	0,81	23,9	1,16	11,7
17:0	0,35	10,4	0,27	5,0	0,29	8,5	0,94	9,5
18:0	0,69	20,5	1,01	18,7	0,62	18,3	1,16	11,7
20:0	0,04	1,2	0,07	1,3	0,04	1,2	0,23	2,3
23:0	0,03	0,9	0,05	0,9	0,03	0,9	0,08	0,8
24:0	0,07	2,1	0,11	2,0	0,12	3,6	0,73	7,4
Total (%)	60,9		49,6		59,3		47,7	
Insaturés								
16:1 (*n*-7)	0,23	6,8	0,25	4,6	0,14	4,1	1,16	11,7
18:1 (*n*-9)	0,40	11,9	0,71	13,2	0,28	8,3	1,16	11,7
18:1 (*n*-7)	0,18	5,3	0,66	12,2	0,30	8,8	1,16	11,7
18:2 (*n*-6)	0,22	6,5	0,43	8,0	0,23	6,8	0,81	8,2
18:3 (*n*-6)			0,08	1,5				
20:1 (*n*-9)	0,29	8,6	0,59	10,9	0,32	9,4	0,50	5,1
20:2 (*n*-6)							0,11	1,1
20:3 (*n*-6)					0,05	1,5	0,28	2,8
22:2 (*n*-7)					0,06	1,8		
Total	39,1		50,4		40,7		52,3	
18:1 oléique / 18:1 vaccénique	2,2		1,1		0,9		1,0	
i / s	0,64		1,02		0,82		1,10	

[a] Lot de cocons récoltés entre le 1er et le 5e j après la ponte.

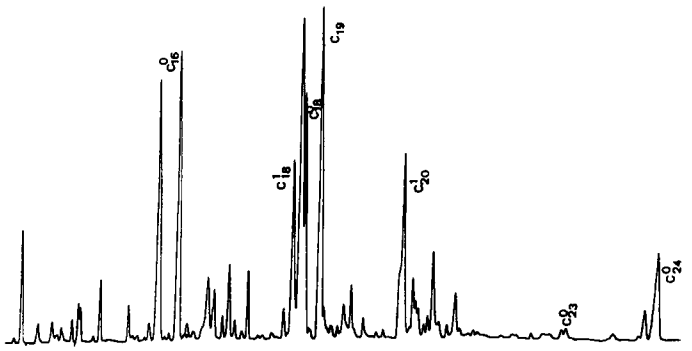

Fig 2. Analyse des lipides par chromatographie en phase gazeuse. Chromatogramme des acides gras du clitellum mûr. Colonne capillaire de silicone OV 101 (85 m x 0,35 mm ID) ; pression du gaz vecteur (hélium) : 0,4 bar ; température programmée de 100 à 200°C à raison de 2°C par min ; température de l'injecteur et du détecteur : 240°C.

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'analyse qualitative des glucides montre que l'on retrouve toujours les mêmes monosaccharides quels que soient les stades de la clitellogenèse ou du développement des embryons. Ces mêmes glucides, ainsi que la galactosamine et la glucosamine, ont d'ailleurs été détectés dans les ovocytes de l'annélide polychète *Perinereis cultrifera* (Porchet, 1974). Le rhamnose, présent dans les ovocytes de cette espèce, est, en revanche, absent de l'albumen du cocon d'*Eisenia*. L'acide sialique n'a été détecté ni chez *E fetida* ni dans les ovocytes de *P cultrifera*. Sur le plan quantitatif, l'ovocyte de *Nereis* est beaucoup moins riche en glucides (≤ 23%) que le cocon d'*Eisenia* qui en compte environ 2 fois plus. L'évolution de la teneur glucidique dans le cocon à l'approche de l'éclosion est en relation avec le développement embryonnaire. L'augmentation relative observée au 10e jour correspond au moment du maximum d'absorption de l'albumen dans l'archentéron, au cours duquel des actions enzymatiques permettent sa liquéfaction. Mais les oses étant les réserves énergétiques de l'embryon, il est normal d'en observer une diminution de la teneur pendant toute l'ontogenèse. Tous les glucides sont concernés par cette baisse, à l'exception du glucose dont le taux augmente légèrement.

Depuis les travaux de Grove et Cowley (1928), on admet que l'albumen est sécrété par les «cellules à fines granulations» du clitellum. Nos analyses ont montré la forte teneur en glucides de l'albumen (40 à 50% du poids sec). On doit donc pouvoir les déceler au niveau du site de synthèse. Or, malgré une étude histochimique poussée, Defretin et Demailly (1953) n'ont pas pu mettre en évidence de polysaccharides dans ce type de cellules. Toutefois Herlant-Meewis (1958-1959) observe que les «cellules de la couche profonde» se colorent fortement à l'APS chez *Eisenia*. Morris (1983) décèle dans les cellules à fins granules d'*E fetida* des composés glycoprotéiques. Richards (1977) obtient chez le dulcicole *Lumbricillus rivalis* une réaction faiblement positive à l'APS, au niveau des «cellules globulaires», lieu d'élaboration du contenu du cocon chez cette espèce. Malécha et Vinckier (1983) détectent une réaction fortement positive à l'APS dans la sécrétion constituant les réserves du cocon (cellules de type 4) de la sangsue *Piscicola*. Nos dosages biochimiques ont été effectués sur la totalité du clitellum, sans pouvoir séparer les différents types cellulaires. Ils montrent un accroissement global des glucides dans cet organe au cours de la puberté, mais ils ne permettent pas de préciser les sites de synthèse. Il est vraisemblable, d'ailleurs, que toutes les cellules de cet épithélium effectuent des synthèses de glu-

cides libres ou liés dans des glycoconjugués.

Bien qu'impliqué dans la synthèse des substances de réserve, le clitellum d'*Eisenia* contient assez peu de lipides (8 à 10% du poids sec). Les valeurs obtenues sont toutefois comparables à celles trouvées par Hansen et Czochanska (1975) (de 8,5 à 11% suivant les saisons) chez *Lumbricus rubellus* et *Allolobophora caliginosa* des prairies de Nouvelle-Zélande. En revanche, ces valeurs sont nettement supérieures à celles citées par Whitten et Goodnight (1966) pour *Lumbricus terrestris* et *Eisenia rosea* (respectivement 6,05 et 4,5). Un chiffre encore plus bas est obtenu par McLaughlin (1971) chez *E fetida* mûr : 2,25% du poids sec. À l'inverse, Durchon et Lafon (1951) avaient obtenu 17,3% de lipides chez *L terrestris*. Il paraît donc y avoir d'assez notables écarts, dans une même espèce ou dans les espèces voisines, suivant les auteurs. Mais ces recherches de lipides ont porté sur la totalité du corps des animaux, incluant aussi bien les tissus et organes que le matériel ingéré et les microorganismes du tube digestif. En revanche, nos analyses se sont portées spécifiquement sur le clitellum, isolé du reste du corps, à l'exception d'une relativement mince couche musculaire. Par ailleurs, les techniques de dosage, quelque peu différentes, sont peut-être en cause, mais aussi, sans doute, l'état métabolique ou l'état génital des vers, non précisé le plus souvent par les différents auteurs. Chez les polychètes errantes, Durchon et Lafon (1951) observent des quantités de lipides variant, suivant les espèces, de 9 à 15,5% et, chez les sédentaires, de 6,7 à 14,6%. De son côté, Karnovsky (1969) rapporte des valeurs du même ordre pour quelques espèces. Plus récemment, Fontaine (1982) dose chez *P cultrifera* les lipides totaux du liquide cœlomique, des cœlomocytes et des ovocytes en fonction de l'âge des vers. Il trouve que les lipides constituent 12,5 à 26,5% du poids sec. Les polychètes semblent donc légèrement plus riches en lipides que les lombriciens. Les oligochètes limicoles *Tubifex tubifex* et *Limnodrilus hoffmeisteri* (Whitten et Goodnight, 1966) auraient des teneurs en lipides de l'ordre de 17 à 25%, donc nettement supérieures à celle des terricoles. Les lipides neutres représentent, chez *E fetida*, de 66 à 81% des lipides totaux, tandis que les phospholipides ne correspondent qu'à 10 à 27%. Ces résultats s'accordent avec ceux de McLaughlin (1971) qui obtient 11% de phospholipides sur la même espèce, ou ceux de Cerbulis et Taylor (1969) qui indiquent 25% de phospholipides chez le lombric. En revanche, ils ne concordent pas avec ceux de Hansen et Czochanska (1975) qui mesurent 50 à 63% de phospholipides chez les lombriciens *L rubellus* et *A caliginosa*, taux qui semble considérable. Dans nos résultats, malgré la faiblesse des teneurs observées, il faut souligner l'augmentation importante des phospholipides lors de la maturation du clitellum. Une part de ces phospholipides entre, peut-être, dans la constitution de lipoprotéines de réserve, comme chez les insectes (Chino *et al*, 1969) ou chez les crustacés (Lee et Puppione, 1978).

Les acides gras présentent une large répartition, comme chez toutes les annélides étudiées. Sur le plan qualitatif, les acides gras présents dans les clitellums et dans les cocons appartiennent à différentes voies métaboliques. Ce sont les mêmes acides qui ont été mis en évidence dans l'ovocyte de *P cultrifera* (Fontaine, 1982). Bien que les lipides des animaux ne contiennent pratiquement que des acides gras à nombre pair d'atomes de carbone, ceux d'*Eisenia* possèdent de l'acide margarique (17:0) en quantité non négligeable (entre 5 et 10%) et des traces d'acide tricosanoïque (23:0). Ces acides gras se retrouvent aussi dans les analyses de Hansen et Czochanska (1975). De leur côté, Stefanovic et Djurdjic (1977), remarquant une abondance

Tableau VIII. Teneurs, en % du poids sec, en glucides, lipides et protéines, des clitellums immatures, submatures et mûrs.

	Clitellums		
	Immatures	*Submatures*	*Mûrs*
Glucides totaux	4,5	11,8	21,0
Lipides totaux	8	9	10
Protéines totales [a]	79	71	59
Résidus [b]	8,5	8,2	10

[a] Chiffres provenant de Rouabah-Sadaoui et Marcel (1995) : méthodes de Geiger et Bessman ; [b] calculés par différence.

d'acides gras à nombre impair de carbones, estiment que les vers de terre dévient des autres animaux par rapport au spectre habituel des acides gras. L'acide margarique, ainsi que les autres acides à nombre impair de carbones, sont absents chez *P cultrifera* (Fontaine, 1982). Les acides gras les plus abondants sont, dans l'ordre, l'acide palmitique et l'acide stéarique, pour les saturés, l'acide oléique et l'acide vaccénique, pour les insaturés. On retrouve ces acides, avec des teneurs légèrement différentes, dans les études de Hansen et Czochanska (1975). Les variations du rapport des acides gras insaturés aux acides gras saturés sont intéressantes (tableau VII). Ce rapport augmente d'une manière caractéristique lors de la maturation, passant de 0,64 à 1,10, augmentation corrélative d'un allongement des chaînes carbonées. Le calcul de ce même rapport i/s effectué à partir des chiffres fournis par Hansen et Czochanska montre, en revanche, des variations saisonnières peu interprétables : de 0,67 à 1,59 au printemps à 2 ans d'intervalle, maximum en hiver (2,0), valeur intermédiaire à l'automne. Toutefois, les valeurs obtenues sont du même ordre de grandeur que les nôtres.

Les glucides sont donc le composant majoritaire de l'albumen des cocons (tableau VIII), ce qui explique la richesse énergétique des réserves de l'embryon. Ces glucides sont, au moins en partie, associés aux protéines B et C et à la lipoprotéine A (Rouabah-Sadaoui et Marcel, 1995). Il sera nécessaire maintenant d'étudier en détail les variations des taux des glucides et lipides pendant le développement embryonnaire pour les comparer à celles des protéines, avant d'envisager le contrôle neurohormonal de la production des glycoprotéines et en particulier de la synthèse de la «vitellogénine» mise en évidence précédemment (Rouabah-Sadaoui et Marcel, 1995).

RÉFÉRENCES

Cerbulis J, Taylor MW (1969) Neutral lipids and fatty acid composition of earthworms *(Lumbricus terrestris). Lipids* 4, 363-368

Chino H, Murakami S, Harashima K (1969) Diglyceride-carrying lipoproteins in insect hemolymph. Isolation, purification and properties. *Biochem Biophys Acta* 176, 1-26

Dawydoff C (1959) Ontogenèse des annélides. *In : Traité de zoologie,* V (PP Grasse, ed), Masson, 594-686

De Jorge FB, Sawaya MC (1967) Comparative biochemical studies on the Oligochaetes *Pheretima hawayana, Glossoscolex grandis* and *Rhinodrilus* sp. *Comp Biochem Physiol* 22, 359-369

De Jorge FB, Haeser PE, Ditadi ASF, Petersen JA, Ulhoa Cintra AB, Sawaya P (1965) Histochemical

studies on the giant earthworm *Glossoscolex giganteus* (Leuckart). *Comp Biochem Physiol* 16, 491-496

Defretin R, Demailly E (1953) Sur quelques caractères histochimiques des divers types de cellules glandulaires du clitellum du lombric. *CR Soc Biol* 147, 1251-1253

Devriès J (1973) La formation et la destinée des feuillets embryonnaires chez le lombricien *Eisenia foetida* (annélide oligochète). *Arch Anat Micr Morph Exp* 62, 15-38

Durchon M, Lafon M (1951) Quelques données biochimiques sur les annélides. *Ann Sc Nat Zool*, 11e S, 13, 427-451

Folch J, Less M, Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497-509

Fontaine F (1982) Les lipides cœlomiques chez *Perinereis cultrifera* Grübe. Thèse doctorat 3e cycle, Lille-I, 130 p

Grove AJ, Cowley LF (1928) The relation of the glandular elements of the clitellum of the brandling worm (*Eisenia foetida* Sav) to the secretion of the cocoon. *Quart J Microsc Sci* 71, 31-45

Hansen P, Czochanska Z (1975) The fatty acid composition of the lipids of earthworm. *J Sci Fd Agric* 26, 961-971

Herlant-Meewis H (1958-1959) Évolution des caractères sexuels au cours de la croissance et de la reproduction chez *Eisenia foetida*. *Ann Soc Roy Zool Belg* 89, 281-336

Karnovsky ML (1969) Annelida, Echiurida and Sipunculida – lipid components and metabolism. *In : Chemical Zoology* (M Florkin, BT Scheer, eds), Vol IV, Acad Press, New York, NY, USA 205-210

Lechenault H (1968) Étude cytochimique et ultrastructurale de l'ovocyte d'*Eisenia foetida* Sav. *Z Zelforsch* 90, 96-112

Lee RF, Puppione DL (1978) Serum lipoproteins in the Spiny lobster, *Panulirus interruptus*. *Comp Biochem Physiol* 59B, 239-243

Malécha J, Vinckier D (1983) Formation du cocon chez l'hirudinée rhynchobdelle *Piscicola geometra* L. *Arch Biol* 94, 183-205

McLaughlin J (1971) Biochemical studies on *Eisenia foetida* (Savigny, 1826), the brandling worm. I. Tissue lipids and sterols. *Comp Biochem Physiol* 38, 147-163

Montreuil J, Spik G (1963) Microdosage des glucides. Fasc 1. Méthodes colorimétriques de dosages des glucides totaux. Lab chimie biol, fac sci éd), Lille, 116 p

Morris GM (1983) The cocoon producing cells of *Eisenia foetida* (Annelida, Oligochaeta); a histochemical and ultrastructural study. *J Morph* 177, 41-50

Porchet M (1974) Activité endocrine cérébrale chez les *Nereidae*. Thèse doct ès-sci, Lille

Richards KS (1977) The immunochemistry and ultrastructure of the clitellum of the enchytraeid *Lumbricillus rivalis* (Oligochaeta: Annelida). *J Zool* 183, 161-176

Rouabah-Sadaoui L (1984) Contribution à l'étude biologique et biochimique du clitellum et du cocon d'*Eisenia fetida* Sav (annélide oligichète). Thèse 3e cycle, Lille

Rouabah-Sadaoui L, Marcel R (1995) Analyse des réserves nutritives protéiques dans le clitellum et dans l'albumen du cocon chez *Eisenia fetida* Sav (Annélide, Oligochète). Mise en évidence d'une glycolipoprotéine comparable à une vitellogénine. *Reprod Nutr Dévelop* 35, 491-501

Stefanovic GJ, Djurdjic V (1977) An investigation on lipids isolated from *Lumbricus terrestris*. *Bull Acad Serve Sci Arts*, Cl Sci Nat & Math, Sci Nat n° 15; 85-89

Whitten BK, Goodnight CJ (1966) The comparative chemical composition of 2 aquatic oligochaetes. *Comp Biochem Physiol* 17, 1205-1207

Zanetta JP, Breckendrige WC, Vincendon G (1972) Analysis of monosaccharides by gas-liquid chromatography of the *O*-methylglycosides as trifluoroacetate derivatives. Application to glycoproteins and glycolipids. *J Chromatogr* 69, 291-304