

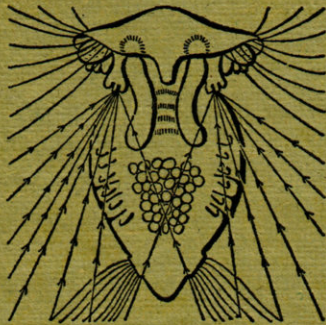
VIE ET MILIEU

Bulletin du Laboratoire Arago

Université de Paris - Biologie Marine - Banyuls-sur-Mer

Série A : Biologie marine

Tome XVIII - 1967 - Fasc. 1 - A



MASSON & C^{ie}

120, Bd St-Germain, Paris VI^e

VIE ET MILIEU

BULLETIN DU LABORATOIRE ARAGO

UNIVERSITE DE PARIS - BIOLOGIE MARINE

Vie et Milieu paraît par fascicules séparés tous les deux mois. Chaque volume annuel, comprenant six fascicules, contient environ 1 200 pages. Les travaux publiés sont répartis en trois séries :

Série A : Biologie marine; Série B : Océanographie; Série C : Biologie terrestre.

Pour chaque toison, deux fascicules sont en principe réservés à chacune des trois séries. La succession des trois séries au cours de l'année peut être sujette à variations d'un tome au suivant. La Rédaction se réserve de modifier la répartition en trois sections suivant l'abondance relative des manuscrits acceptés pour chaque série.

Les manuscrits sont reçus par le Professeur P. DRACH, Directeur de la Publication, ou M. L. LAUBIER, Secrétaire de Rédaction (Laboratoire Arago, Banyuls-sur-Mer, 66, France). Ils ne seront acceptés définitivement qu'après avoir été soumis au Comité de Rédaction spécialisé.

Membres des Comités de Rédaction

Série A : Biologie marine

B. BATTAGLIA (Padoue, Italie), C. BOCQUET (Paris, France), J. FELDMANN (Paris, France), J. FOREST (Paris, France), P. LUBET (Caen, France), J. MAETZ (C.E.A., Villefranche-sur-Mer, France), M. PAVANS DE CECCATTY (Lyon, France), G. PETIT (Paris, France), G. TEISSIER (Paris, France), O. TUZET (Montpellier, France).

Série B : Océanographie

M. BACESCO (Bucarest, R.P. Roumanie), M. BLANC (Paris, France), P. BOUGIS (Paris, France), J. BROUARDEL (Monaco), P. DRACH (Paris, France), C. DUBOUL-RAZAVET (Perpignan, France), A. IVANOFF (Paris, France), R. MARGALEF (Barcelone, Espagne), J.M. PÉRÈS (Marseille, France), J. POCHON (Paris, France).

Série C : Biologie terrestre

E. ANGELIER (Toulouse, France), C. DELAMARE DEBOUTTEVILLE (Paris, France), W. KÜHNELT (Vienne, Autriche), M. KUNST (Prague, Tchécoslovaquie), M. LAMOTTE (Paris, France), B. POSSOMPES (Paris, France), P. REY (Toulouse, France), H. SAINT-GIRONS (Paris, France), C. SAUVAGE (Montpellier, France), M. VACHON (Paris, France).

L'abonnement part du n° 1 de chaque année (6 fascicules par an).

Les abonnements sont reçus par la Librairie MASSON & Cie, 120, boulevard Saint-Germain, Paris VI^e.

France et zone franc (Pays acceptant le tarif d'affranchissement intérieur français pour les périodiques) 80 FF

Règlement par chèque bancaire ou chèque postal (C.C.P. 599, Paris) ou mandat.

Belgique et Luxembourg 911 FB

Autres pays 85 FF

Prix payables dans les autres monnaies au cours des règlements commerciaux du jour du paiement, par l'une des voies suivantes : chèque sur Paris d'une banque étrangère; virement par banque sur compte étranger; mandat international.

Prix du fascicule séparé 18 FF

Changement d'adresse 0,50 FF

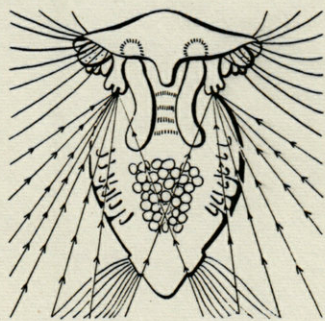
VIE ET MILIEU

Bulletin du Laboratoire Arago

Université de Paris - Biologie Marine - Banyuls-sur-Mer

Série A : Biologie marine

Tome XVIII - 1967 - Fasc. 1 - A



MASSON & C^{ie}

120, Bd St-Germain, Paris VI^e

SOMMAIRE

Cécile BILLY. — Alginolyse et association bactérienne en milieu marin	1
E. LAGARDE. — Utilisation des antibiotiques dans la réalisation des cultures de Foraminifères sous faible volume. I. — Etude de l'action des antibiotiques sur les microflores hétérotrophes marines	27
Zach M. ARNOLD. — Utilisation des antibiotiques dans la réalisation des cultures de Foraminifères sous faible volume. II. — Application à la technique des cultures de Foraminifères	36
G.O. MACKIE and G.V. MACKIE. — Mesogloecal Ultrastructure and Reversible Opacity in a Transparent Siphonophore	47
Jacques THEODOR. — Contribution à l'étude des Gorgones (VI) : La dénudation des branches de Gorgones par des Mollusques prédateurs	73
Sigurd v. BOLETZKY et Wolfgang DOHLE. — Observations sur un Capitellidé (<i>Capitella hermaphrodita</i> sp. n.) et d'autres Polychètes habitant la ponte de <i>Loligo vulgaris</i> ...	79
Lucien LAUBIER. — Sur quelques <i>Aricidea</i> (Polychètes, Paraonidae) de Banyuls-sur-Mer	99
Jacques BRUSLÉ. — Recherches complémentaires sur la sexualité d' <i>Asterina gibbosa</i> Pennant de Banyuls	133
Catherine THIRIOT-QUIÉVREUX. — Observations sur le développement larvaire et postlarvaire de <i>Simnia spelta</i> Linné (Gastéropode <i>Cypraeidae</i>)	143
Pio FIORONI. — Quelques aspects de l'embryogenèse des Probobranches (Mollusca, Gastropoda)	153
Angus E. STUART. — The reticulo-endothelial apparatus of <i>Eledone cirrosa</i>	175

Jan H. Stock. — Copépodes associés aux Invertébrés des côtes du Roussillon. VI. Sur deux espèces nouvelles de la famille des <i>Spongiocnizontidae</i>	189
Jan H. Stock. — Copépodes associés aux Invertébrés des côtes du Roussillon. VII. Sur deux espèces-jumelles de Cyclopoïdes siphonostomes : <i>Scottocheres elongatus</i> (T. & A. Scott) et <i>S. laubieri</i> spec. nov.	203
P.J.H. van BREE et G. PETIT. — Sur quatre crânes de <i>Tursiops truncatus</i> (Montagu, 1821) (Cetacea, Delphinidae) de Méditerranée (région de Banyuls-sur-Mer, France) ..	215

Documents faunistiques et écologiques

Lucien LAUBIER et Jacques THÉODOR. — Sur la présence à Banyuls-sur-Mer du Zoanthaire <i>Gerardia savaglia</i> (Bertoloni)	223
---	-----

ALGINOLYSE ET ASSOCIATION BACTÉRIENNE EN MILIEU MARIN

par Cécile BILLY

Institut Pasteur, Paris

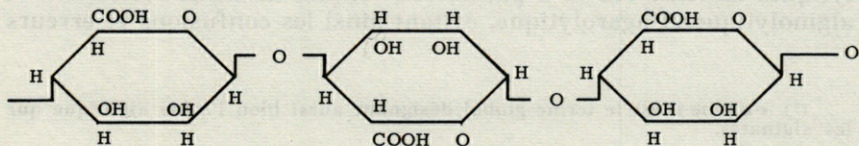
Institut de Biologie maritime et régionale de Wimereux

SOMMAIRE

Ce travail est consacré à l'étude morphologique et biochimique d'un agent bactérien de l'alginololyse anaérobie en milieu marin, *Clostridium alginolyticum*. Ce dernier vit en association avec un germe sulfato-réducteur *Desulfovibrio desulfuricans* dont le rôle exact n'est pas encore entièrement éclairci. Les problèmes écologiques généraux posés par la fonction alginolytique en milieu marin sont envisagés.

I. — INTRODUCTION

Les algues marines brunes ou Phéophycées croissent exclusivement sur les fonds rocheux des régions à fortes marées; elles y sont représentées par différents genres tels que *Laminaria*, *Fucus*, *Ascophyllum*. Les alginates constituent environ 20 à 30 % de la matière organique des algues brunes; ce sont des polysaccharides dont le rôle de soutien intercellulaire équivaut à celui joué chez d'autres végétaux par la pectine ou la cellulose. La formule chimique de l'acide alginique s'apparente d'ailleurs très étroitement à celles de l'acide pectique et de la cellulose.



Comme ces dernières substances, l'algine (*) est un colloïde hydrophile et se présente en solution sous forme de gels plus ou moins visqueux. Cette propriété lui vaut de multiples applications dans des domaines variés. Les pouvoirs gélifiant, épaississant, liant et stabilisant de l'algine la font en effet rechercher en pharmacie, en alimentation, en peinture, en céramique, pour le traitement des eaux, les produits d'entretien, les ciments, les goudrons...

II. — HISTORIQUE

L'acide alginique a été découvert en 1881 par le chimiste anglais STANFORD [42] et étudié par de nombreux auteurs depuis cette date. NELSON et CRETCHER [30] en 1930, HIRST [16] en 1939 ont procédé à son hydrolyse chimique. FISCHER et DÜRFEL [10] en 1955 lui ont donné sa définition actuelle, à savoir que l'acide alginique est un polymère d'acides D-mannuronique et L-guluronique; le taux de ces acides varie selon les espèces d'algues utilisées.

Des purifications d'algines ont été tentées à plusieurs reprises, dès 1940 par MIWA [28], puis plus récemment par KOOIMAN [22], PREISS et ASHWELL [34]. De nombreux auteurs tels EPPLEY et LASKER [9], HUANG et GIESE [17], MEEUSE et FLUEGEL [25], OSHIMA [32], HASHIMOTO et ONOMA [15] ont recherché l'action enzymatique dans les tractus digestifs d'Invertébrés marins phytophages, en raison de l'intérêt que représente l'algine comme apport nutritif chez ces animaux; l'étude la plus complète sur ce sujet a été celle, récente, de FRANSSSEN et JEUNIAUX [13].

L'algino lyse, en tant que fonction microbienne a été étudiée dès 1934 par WAKSMAN, CAREY et ALLEN [44] dans le sol et les sédiments marins, elle a fait depuis ce temps l'objet de nombreuses recherches, toutes pratiquées dans le domaine de l'aérobiose. Les méthodes tendant à prouver l'action algino lytique utilisent comme principal critère de dégradation la liquéfaction d'un gel dans lequel l'alginate de sodium est la seule source de carbone. Des milieux de culture ont été préparés, après WAKSMAN, par THJÖTTA et KASS [43], DAVIS et EWING [8], PREISS et ASHWELL [34], FRANSSSEN et JEUNIAUX [12]. Un grand progrès a été réalisé dans la recherche des Aérobie s lorsque YAPHE [48] en 1962 a appliqué la méthode de WIERINGA [47] sur double couche à l'isolement des germes algino lytiques marins. YAPHE a pu, de cette façon, dissocier les fonctions algino lytique et agarolytique, évitant ainsi les confusions et erreurs

(*) « algine » est le terme global désignant aussi bien l'acide alginique que les alginates.

commises auparavant par d'autres auteurs. Dans le milieu double de YAPHE, les cations divalents de l'eau de mer, qui d'ordinaire précipitent trop facilement l'algine, sont amenés à diffuser lentement depuis la base gélosée préparée à l'eau de mer vers la couche supérieure; dans cette dernière un gel d'alginate de sodium dans l'eau distillée est additionné de 30 p. 1 000 de chlorure de sodium.

Les deux milieux sont pourvus chacun d'une faible quantité — 0,03 p. 100 de tampon phosphate K_2HPO_4 . YAPHE a insisté sur les difficultés de préparation des milieux à l'eau de mer et sur le fait que la viscosité du gel varie selon le poids moléculaire et la concentration de l'algine et selon le contenu en ions divalents de l'eau de mer. Nous partageons cet avis, estimant qu'il est nécessaire de procéder à un certain nombre d'essais préalables, notamment lorsqu'il s'agit de fournir au milieu la quantité de tampon phosphate convenable.

III. — L'ALGINOLYSE BACTÉRIENNE ANAÉROBIE MATÉRIEL ET MÉTHODES

En anaérobiose, dans l'eau de mer, le problème de la précipitation de l'algine par les cations divalents est bien entendu le même qu'en aérobiose, et il est malgré tout nécessaire de travailler sur des gels suffisamment homogènes et limpides. L'idéal serait sans nul doute de disposer d'un alginate moyennement méthylé capable de supporter les fortes concentrations en cations divalents de l'eau de mer. Avec l'alginate de sodium que nous avons utilisé (*) il a été possible d'atténuer les précipités grâce à l'addition de tampon phosphaté. La quantité de phosphate dipotassique nécessaire à l'obtention d'un pH neutre et d'un minimum de précipitation dans le milieu a été de 20 p. 1 000. Pour important qu'il puisse paraître, ce taux de phosphate n'est toutefois pas excessif. PREISS et ASHWELL [34] ont utilisé, en eau distillée, pour cultiver un *Pseudomonas* d'une boue de la baie de Potomac, un mélange de 15 p. 1 000 de K_2HPO_4 et 5 p. 1 000 de NaH_2PO_4 dans un milieu à 1,1 p. 1 000 d'alginate de sodium.

Voici d'ailleurs la composition du milieu qui a fourni les meilleurs résultats dans l'étude de la fonction alginolytique marine

(*) alginate de sodium Cecalginat, aimablement fourni par les Etablissements Ceca, Alginates Maton, Paris.

anaérobie :

— eau de mer	950 cm ³
— bouillon d'algues (*)	50 cm ³
— K ₂ HPO ₄	20 g
— peptone	1 g
— levure Difco	1 g
— alginate	5 à 10 g

Nota. — 1°) Le phosphate dipotassique ajouté à chaud à l'eau de mer provoque la précipitation des ions di et trivalents en un trouble blanchâtre abondant qu'il faut éliminer par simple ou même double filtration. Cette élimination ne semble pas nuisible, si l'on tient compte du fait que les cations di et trivalents, à l'exception du magnésium, provoquent une prise en gel massive qui freine considérablement la liquéfaction.

2°) La quantité d'alginate du milieu varie selon le produit utilisé et selon la viscosité désirée.

L'alginate mis dans un mixer est mouillé avec une faible quantité d'alcool absolu. Les autres éléments de la préparation filtrée sont versés tièdes sur l'alginate. Après mélange, le milieu est maintenu au bain-marie environ une heure à 50 °C en vue d'une bonne homogénéisation et d'une répartition plus facile en tubes. L'alginate de sodium est à pH neutre, et grâce au tampon phosphate le milieu l'est aussi. Si tel n'était pas le cas, il faudrait ajuster le pH vers 7-7,5 en ajoutant de la lessive de soude N/10 ou quelques gouttes d'une solution de Na₂CO₃ à 5 p. 100. Le milieu est réparti dans des tubes de 14 mm à raison de 6 ml par tube. La stérilisation se fait en portant l'autoclave à 120 °C et en laissant la température redescendre progressivement; le gel se solidifie à la température ordinaire. Ce procédé est employé aussi dans la préparation des milieux à la pectine. Une stérilisation d'une demi-heure à 110°, telle qu'elle est pratiquée sur les milieux courants de culture, provoquerait une trop forte dépolymérisation de l'algine ou de la pectine.

Avant l'emploi, chaque tube est désaéré 20 minutes au bain-marie à 100 °C. Après ensemencement les tubes sont étirés, vidés et scellés, selon les méthodes couramment pratiquées pour les recherches en anaérobiose [35].

Pour l'isolement des colonies de germes alginolytiques anaérobies, dans des géloses profondes, il est préférable de recourir à l'acide alginique, généralement moins polymérisé que l'alginate et pour cette raison produisant, lorsqu'il est mélangé à l'agar, des milieux moins compacts. Comme pour les gels il est nécessaire de procéder à des essais quant aux proportions de gélose, d'algine et de phosphate du milieu. Dans le cas étudié ici, l'eau de mer avait

(*) décoction de 50 g d'algues marines sèches dans un litre d'eau de mer.

même origine que les sédiments (Wimereux, Pas de Calais). Les géloses ont été préparées avec l'acide alginique dit « Cecalgin » des établissements Maton, ou avec d'autres qualités d'acide alginique (Prolabo, Biotrol correspondant de Hopkin et Williams en Grande-Bretagne).

— eau de mer	950 cm ³
— bouillon d'algues	50 cm ³
— K ₂ HPO ₄	2 g
— peptone	1 g
— extrait de levure Difco	1 g
— acide alginique	7 g
— Bacto-agar	5 g

A chaud, le phosphate dipotassique trouble ici aussi l'eau de mer provoquant une précipitation de cations. La préparation doit donc être filtrée avant d'être ajoutée à l'acide alginique et à la gélose mouillés d'éthanol. Le milieu est mélangé au mixer pendant trois minutes. Le pH est ajusté à 7-7,5 par une solution de Na₂CO₃ à 5 p. 100. Notons que les tubes neutralisés par le carbonate se sont révélés à l'usage comme étant d'un meilleur rendement que ceux neutralisés par la lessive de soude N/10. Le milieu est réparti dans des tubes de 8 ou 9 mm sur une hauteur de 8 cm par tube, et stérilisé momentanément à 120 °C. Il reste toujours dans le fond du tube un léger précipité qui ne gêne en rien la lecture ni l'isolement des colonies.

IV. — ISOLEMENT DES CONSTITUANTS DE L'ASSOCIATION BACTÉRIENNE

Nous avons recherché la fonction alginolytique anaérobie dans une boue noire d'odeur sulfhydrique recueillie dans la laisse des basses-mers de la baie de Saint-Jean sur la plage de Wimereux (Pas-de-Calais).

Les gels d'algine ont étéensemencés après désaération, selon la méthode des dilutions pratiquée en microbiologie du sol [33]. Après vingt-quatre heures d'incubation à 30 °C, les premiers tubesensemencés de la série ont perdu leur aspect visqueux.

Cependant les premiers essais pratiqués n'ont pu aboutir : la vase noire liquéfiait les gels en les acidifiant, mais dès la deuxième culture la fonction alginolytique ne se reproduisait plus. Or, des vibrions avaient été décelés sur lames lors du premier ensemencement et ne se retrouvaient plus ensuite ou étaient remplacés par

des sphères dégénérées auxquelles s'accrochaient parfois des « fantômes » de cellules vibronnaires. La disparition concomitante des vibrions et de la fonction alginolytique nous a alors fait penser à une action possible du vibron dans l'alginolyse. Nous avons pu en effet conserver la fonction en ajoutant quelques gouttes d'une solution de sel de Mohr (sulfate double de fer et d'ammonium) dans les tubes de géloses profondes. Il s'est alors constitué des colonies à centre noir et auréole incolore d'aspect duveteux. Ces colonies ont été actives à nouveau sur gel d'algine, l'addition de sel de Mohr ayant pour effet de maintenir dans la culture la valeur du pH en conservant au vibron sa fonction de réducteur de sulfates. L'analyse bactériologique des colonies a montré qu'elles étaient formées de deux espèces associées : 1° un vibron anaérobie sulfato-réducteur répondant à l'espèce *Desulfovibrio desulfuricans* var. *aestuari*. 2° un bâtonnet mobile Gram positif, appartenant au genre *Clostridium* par la forme de sa spore.

Le vibron sulfato-réducteur a pu être facilement isolé sur le milieu au lactate de SISLER et ZO BELL [39]. Nous avons pu constater que, cultivé en anaérobiose sur gel d'alginate, le vibron isolé n'est absolument pas alginolytique. Il semble nécessaire de fournir quelques précisions au sujet des milieux de culture du vibron sulfato-réducteur d'association :

a) Le milieu de SISLER et ZO BELL a été préparé comme suit :

— eau de mer	750 ml
— eau distillée	250 ml
— lactate de Na	3,5 g
— peptone	1 g
— extrait de levure Difco	1 g
— acide ascorbique	0,1 g
— MgSO ₄	0,2 g
— KH ₂ PO ₄	0,2 g

Le milieu réparti en tubes de 14 mm est liquide, celui qui est en tubes de 8 ou 9 mm est gélosé à raison de 6 p. 1000; tous deux sont stérilisés une demi-heure à 110 °C. Le sel de Mohr n'est pas mélangé au milieu, mais ajouté au moment de l'ensemencement à raison de 3 à 4 gouttes d'une solution à 10 % dans chaque tube.

b) Nous avons aussi utilisé un milieu très simplifié que nous avons nommé milieu PL (peptone, levure) assurant au germe une excellente conservation.

— eau de mer	1 000 ml
— peptone	7 g
— extrait de levure Difco	7 g

Le pH est ajusté à 7 au moyen de lessive de soude N/10 et le milieu, gélosé ou non, est autoclavé une demi-heure à 110 °C. Le sel de Mohr est ajouté au moment de l'emploi. Dans ce milieu, le vibron a pu être repiqué après un an de conservation à 4 °C en tubes scellés, alors que dans le milieu au lactate, il est généralement inutilisable après quelques mois. Ce milieu PL a pu aussi être préparé avec de l'eau distillée additionnée de 30 p. 1 000 de NaCl; la fonction sulfato-réductrice s'y accomplit aussi, un peu moins bien cependant qu'en eau de mer.

Le *Clostridium* symbionte a pu être isolé et conservé sur les milieux à l'algine. L'isolement a été effectué en partant des observations suivantes : le pH final de la culture d'association est plus ou moins acide selon que prédomine l'un ou l'autre des germes de l'association.

1°) si les *Clostridium* se trouvent en majorité, ce qui est le cas lorsqu'on n'apporte pas de sel de Mohr aux cultures, le pH final est acide, le vibron dégénère et le *Clostridium* ne peut plus opérer seul l'algino lyse.

2°) si au contraire, les vibrions sont prédominants — et cela se produit à la suite d'apports répétés de sel Mohr dans les cultures de l'association — le milieu est alcalin, ce qui provoque la dégénérescence du *Clostridium*.

Dans les deux cas, la fonction alginolytique se perd rapidement; *in vitro* l'équilibre d'association est difficile à atteindre et à conserver, le vibron alcalinisant les milieux de culture alors que le *Clostridium* les acidifie.

Pour isoler le *Clostridium* sur algine, il est indispensable d'ajouter au milieu un peu de filtrat d'une culture jeune (24 heures environ) de *D. desulfuricans*. Dans les géloses profondes à l'acide alginique préparées avec de l'eau de mer, cette addition permet l'obtention de deux sortes de colonies bien distinctes; les unes sont punctiformes et renferment le vibron, les autres sont duveteuses et formées uniquement de germes clostridiens. Lorsqu'on ajoute en plus du filtrat une ou deux gouttes de sel de Mohr on constate que seules les colonies punctiformes des vibrions sont noires; le *Clostridium* n'est pas sulfato-réducteur, ses colonies ouatées sont incolores. Ces dernières peuvent être repiquées dans des gels d'algine de préférence additionnés de filtrat de culture du vibron. Cependant la liquéfaction par le *Clostridium* isolé ne s'opère facilement que dans des milieux assez peu visqueux et avec l'aide de filtrat. Nous reviendrons ultérieurement sur ces faits.

L'analyse bactériologique du *Clostridium* a permis les précisions suivantes.

Morphologie : Il se présente en bâtonnets droits d'environ 6 à 8 μ de long sur 0,8 à 1 μ de large. Les spores clostridiennes sont ovales,

subterminales et assez peu déformantes, prenant parfois dans le bâtonnet une position oblique. Les préspores sont nettement plus déformantes que les spores. Gram positif, il est mobile dans les cultures jeunes, sa ciliature est péritriche (Fig. 1).



FIG. 1. — *Clostridium alginolyticum*, contraste de phase.

Physiologie : Il est anaérobie strict; sa thermorésistance est assez faible malgré l'existence de spores, il ne résiste pas dix minutes à 80 °C. Chauffé cinq minutes à 75°, il ne peut reprendre que dans les milieux à l'algine gélosés, fait qui s'explique sans doute par la fragilité du germe en culture. La longévité est limitée à quelques jours seulement dans les gels, mais s'étend à quelques mois dans les géloses profondes. Cependant, des cultures âgées de un à deux mois dans ces derniers milieux ne reprennent qu'avec le concours de *D. desulfuricans* et non avec le filtrat de ce dernier.

La température optimale de culture se situe autour de 30°, la phase de latence étant beaucoup plus longue aux températures de 37° et 20°. Cette espèce est halophile obligée. Les cultures sont inodores.

Caractères culturaux : Halophile strict, le *Clostridium* n'a pu être cultivé que dans des milieux préparés à l'eau de mer, les milieux à l'eau distillée additionnés de 30 p. 1 000 de NaCl lui conviennent mal. Les milieux à l'algine semblent être pratiquement les seuls milieux propices à la croissance du *Clostridium*, les géloses à l'acide alginique sont favorables à sa conservation. Dans le milieu au lactate de SISLER et Zo BELL les cultures sont pauvres, produisent de l'acidité mais pas de gaz. Le *Clostridium* ne peut croître en eau de mer peptonée ni dans les milieux usuels, il n'a aucune action sur le lait. Ni protéolytique, ni cellulolytique, ni glucidolytique, ni pectinolytique, ni même agarolytique, le *Clostridium* ne réduit ni les nitrates, ni les nitrites, ni les sulfites. Il n'utilise pas les citrates, ni le carrageen, tous ces essais ayant bien entendu été effectués dans des milieux préparés à l'eau de mer.

L'acide acétique est le seul acide volatil décelé, l'acide lactique est le seul acide fixe des cultures. Il y a production d'alcool et d'acétoïne.

Lorsque le *Clostridium* est cultivé en association avec le vibrion, de grandes quantités d'alcool, d'acétone, d'aldéhydes et d'amines sont produites; ces deux dernières catégories de substances sont libérées — en quantités bien moindres d'ailleurs — par le vibrion isolé. L'acétoïne n'est produite que par les cultures d'association. Ces comparaisons permettent de constater l'intense activité de l'association par rapport aux cultures des germes pris isolément.

Le *Clostridium* est dépourvu de pouvoir pathogène.

Nous avons proposé [4] pour ce germe le nom de *Clostridium alginolyticum*; il a pu être classé comme espèce nouvelle à cause des propriétés particulières qui le différencient de tous les autres *Clostridium* connus, essentiellement à cause de son action sélective sur algine.

V. — MESURE DE L'ALGINOLYSE

1°) La liquéfaction des gels d'algine est la preuve la plus directe de l'action alginolytique microbienne. La perte de viscosité des cultures se mesure en poises ou mieux, en centipoises; la poise est l'unité de viscosité du système CGS

$$\eta = \frac{\pi}{128} \times \frac{p_0 D^4}{q L} \text{ poises}$$

p_0 étant la pression atmosphérique en millibars; D et L, respectivement le diamètre et la longueur du capillaire en centimètres; q , par convention, est le volume, mesuré en centimètres cubes, écoulé dans l'unité de temps (en secondes). Les mesures ont été faites au moyen d'un simple viscosimètre du type Ostwald (Afnor Prolabo) d'un diamètre de 0,15 cm, d'une longueur égale à 13 cm, d'une capacité de 3,7 ml.

Pour une température de 20 °C et une pression atmosphérique moyenne de 1 015 millibars, la viscosité de l'eau qui s'écoule en 4 sec. dans le viscosimètre est de

$$\eta = \frac{3,14}{128} \times \frac{1\ 015 (0,15)^4}{3,7 \times 13} 4 = 0,00104 \text{ poises}$$

ou plus simplement 0,104 centipoises.

Les cultures dont on veut mesurer la liquéfaction doivent au préalable être centrifugées en vue de l'élimination des corps microbiens. On peut de cette façon suivre la disparition progressive de l'algine dans les milieux cultivés par rapport à un gel témoin nonensemencé.

Après 3 à 4 jours d'incubation à 30 °C du *Clostridium* additionné de filtrat de culture du vibron, la vitesse d'écoulement dans le viscosimètre devient égale à celle de l'eau. La cinétique de l'alginolysé peut ainsi être établie sur quelques jours, l'acidification des cultures allant de pair avec la liquéfaction (tableau I).

TABLEAU I
Cinétique de l'alginolysé par *Cl. alginolyticum*

Nombre de jours	Vitesse d'écoulement en secondes (1)	Nombre de centipoises (2)	pH	% perte d'algine par précipitation à l'alcool
1	7 "	0,182	5,5	26
2	6 "	0,156	4,5	54
3	4 "	0,104	4	76
4	4 "	0,104	4	82
5	4 "	0,104	4	85

(1) Vitesse d'écoulement du témoin : 29".

(2) Vitesse d'écoulement du témoin en centipoises : 0,754.

2°) Le taux de dégradation de l'algine dans une culture centrifugée peut facilement être mesuré, en précipitant par l'alcool l'algine résiduelle, ceci par rapport à un témoin nonensemencé. On ajoute par exemple à 2 cm³ d'alcool, 2 cm³ d'une culture débarrassée des corps microbiens; il faut ensuite centrifuger le précipité, le sécher et le peser. Une simple règle de trois permet de calculer le pourcentage d'algine digérée dans les cultures par rapport à l'algine contenue dans les 2 cm³ de gel témoin traité par l'alcool. Le tableau I représente cet aspect de la cinétique de l'alginolysé. La perte de l'algine dans les milieux peut ainsi atteindre 85 à 88 p. 100 en quelques jours. Une courbe représentant cette perte progressive de l'algine résiduelle en fonction du temps a été établie (fig. 2).

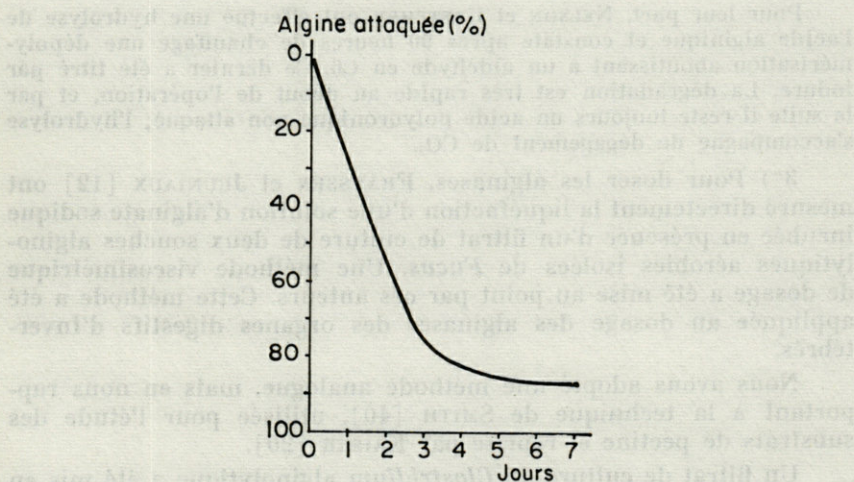


FIG. 2. — Cinétique de l'alginolyse. La courbe indique le pourcentage d'algine attaquée en fonction de l'âge des cultures.

Nous avons mesuré, parallèlement à l'action en cultures, la perte d'algine sur des milieux nonensemencés autoclavés à plusieurs reprises, chaque fois une demi-heure à 110° (fig. 3). La courbe a sensiblement même allure que dans la dépolymérisation par action bactérienne, avec pente initiale rapide et inclinaison plus faible ensuite.

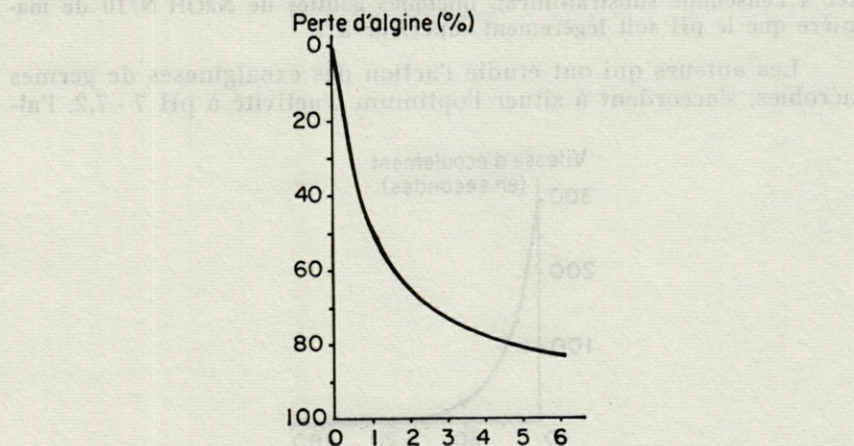


FIG. 3. — Courbes représentant la perte d'algine après autoclavage des milieux nonensemencés. Le nombre d'autoclaves (une demi-heure à 110° chacun) est porté en abscisses.

Pour leur part, NELSON et CRETCHER ont effectué une hydrolyse de l'acide alginique et constaté après 90 heures de chauffage une dépolymérisation aboutissant à un aldéhyde en C6. Ce dernier a été titré par iodure. La dégradation est très rapide au début de l'opération, et par la suite il reste toujours un acide polyuronique non attaqué; l'hydrolyse s'accompagne de dégagement de CO₂.

3°) Pour doser les alginases, FRANSSSEN et JEUNIAUX [12] ont mesuré directement la liquéfaction d'une solution d'alginate sodique incubée en présence d'un filtrat de culture de deux souches algino-lytiques aérobies isolées de *Fucus*. Une méthode viscosimétrique de dosage a été mise au point par ces auteurs. Cette méthode a été appliquée au dosage des alginases des organes digestifs d'Invertébrés.

Nous avons adopté une méthode analogue, mais en nous rapportant à la technique de SMITH [40], utilisée pour l'étude des substrats de pectine et reprise par KAISER [20].

Un filtrat de culture du *Clostridium* algino-lytique a été mis en contact sur un substrat spécifique ainsi composé :

Eau distillée	100 cm ³
CaCl ₂	0,014 g
NaCl	1,160 g
Phénol	0,250 g
Cecalginate	0,700 g

Il est inutile de stériliser le substrat car le phénol inhibe toute croissance microbienne. Le pH du substrat est neutre, mais à cause de l'acidité produite par les cultures du *Clostridium*, il est nécessaire d'ajouter à l'ensemble substrat-filtrat, quelques gouttes de NaOH N/10 de manière que le pH soit légèrement supérieur à 7.

Les auteurs qui ont étudié l'action des exoalginases de germes aérobies, s'accordent à situer l'optimum d'activité à pH 7 - 7,2, l'al-

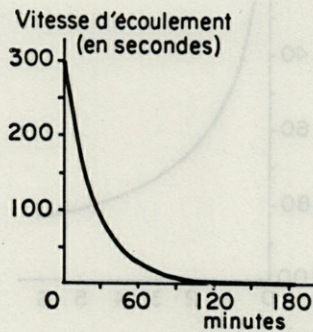


FIG. 4. — Perte de viscosité des substrats en fonction du temps d'incubation substrat/enzyme

ginolyse s'exerçant de façon encore très satisfaisante à pH 8. Tel est l'avis de OSHIMA [31], WAKSMAN et ALLEN [45], THJOTTA et KASS [43], PREISS et ASHWELL [34], FRANSSEN et JEUNIAUX [12]. A la différence de ces derniers auteurs, nous avons préféré utiliser pour le dosage enzymatique, des cultures âgées non de 7 jours, mais de 3 à 4 jours seulement; l'optimum se situe précisément à ce stade de la culture, car la perte d'algine du substrat et le degré de liquéfaction y sont à leur maximum (tableau II).

TABLEAU II

Influence de l'âge de la culture sur l'activité substrat-enzyme
(vitesse d'écoulement du substrat au temps 0 = 290" = 7,54 centipoises)

Age de la culture	% de perte d'algine du substrat après 24 heures d'incubation substrat-enzyme	Temps d'écoulement en secondes après 24 heures d'incubation substrat-enzyme	Nombre de centipoises
1 jours	38	9 "	0,234
2 jours	56	5 "	0,130
3 jours	84	4 "	0,104
5 jours	67	5 "	0,130
6 jours	62	5 "	0,130
7 jours	49	6 "	0,156

Le liquide de culture est centrifugé et filtré. 1 cm³ de la solution enzymatique, c'est-à-dire du filtrat, est mélangé à 7 cm³ de substrat et additionné de 4 à 5 gouttes de NaOH N/10, en vue d'obtenir un pH voisin de la neutralité, comme il a été dit ci-dessus. Les différentes mesures ont confirmé les données de FRANSSEN et JEUNIAUX, à savoir que la perte de viscosité est surtout très sensible dans les premiers temps d'incubation. Après un quart d'heure à 30 °C, la perte de viscosité est en moyenne de 43 p. 100; après deux à trois heures la liquéfaction est à peine inférieure à ce qu'elle sera au bout de 24 heures d'une même incubation (fig. 4).

4°) On sait depuis NELSON et CRETCHER [30] que l'acide alginique est un polymère d'acide D mannuronique. FISCHER et DÜRFEL [10] ont montré en 1955 que dans la constitution de l'algine, l'acide L-guluronique s'ajoutait à l'acide mannuronique.

Différentes méthodes ont été proposées pour la recherche des uronides libérés dans la dégradation de l'acide alginique. La méthode de SOMOGYI [41] permet le dosage du pouvoir réducteur des produits d'hydrolyse, la méthode de MAUGHAN, KENNETH et BROWNE [24] donne la possibilité de doser les acides uroniques issus de la dépolymérisation.

Nous avons préféré pour cette recherche la méthode chromatographique, utilisant comme solvant un mélange à parties égales d'acide acétique, d'acétate d'éthyle et d'eau. Nous avons adapté à l'alginolysé la méthode de SMITH [40] mise au point pour l'étude du métabolisme pectinolytique.

Lorsque les 8 cm³ du mélange enzyme-substrat sont liquéfiés, on ajoute une égale quantité d'alcool absolu, ce qui a pour résultat de faire précipiter l'algine résiduelle et de laisser les uronides en solution. Après centrifugation, le surnageant est recueilli puis additionné de 15 cm³ d'alcool absolu et de 1 à 2 gouttes d'une solution de CaCl₂ à 1 p. 100. Il se forme alors un précipité peu abondant contenant les uronides à l'état de sels de Calcium. Ce précipité est recueilli après centrifugation, séché à l'étuve et remis en suspension dans 1 cm³ d'eau distillée. La libération des uronides se fait par addition à cette suspension d'une pincée de permutite.

Sur papier Whatmann n° 1 on dépose en plusieurs fois une tache de 100 mm³ de la solution, et en une seule fois une tache de 5 mm³ d'une solution témoin à 0,5 p. 100 d'acide uronique. Etant donné la difficulté de se procurer des acides témoins mannuronique et guluronique, certains auteurs tels que KOOIMAN [22] ont proposé comme référence le produit terminal de l'hydrolyse de l'acide alginique. KOOIMAN estime que les acides mannuronique, galacturonique et glucuronique ont sensiblement

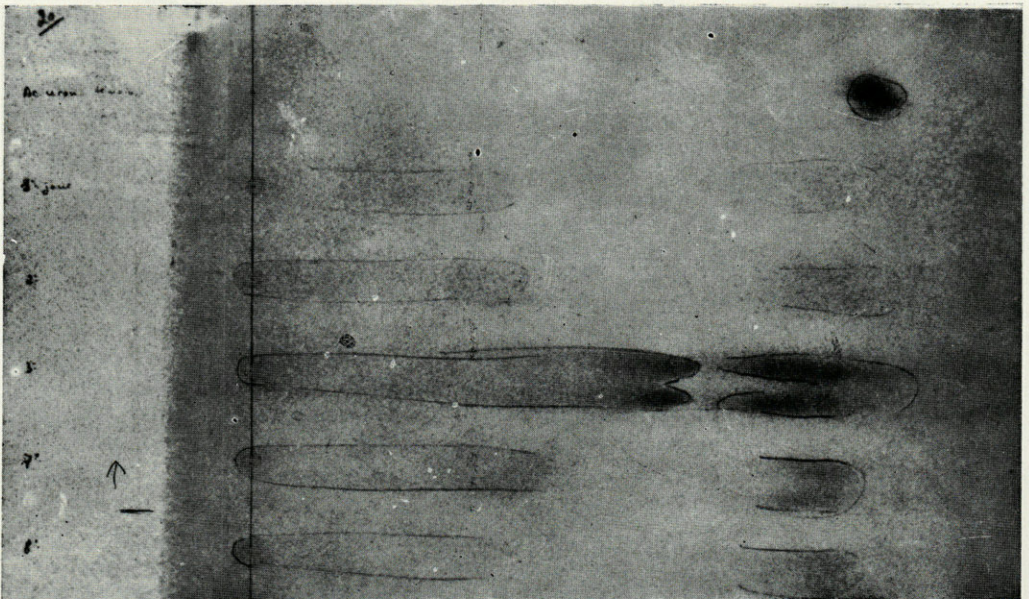


FIG. 5 — Chromatogramme des uronides libérés au cours de l'hydrolyse enzymatique du substrat (acide uronique témoin; 1^{er}, 2^e, 3^e, 7^e et 8^e jours d'incubation à 30 °C.

la même vitesse de migration. LEDERER [23] indique d'ailleurs, d'après les données de JERMYN et ISHERWOOD [19] pour ces trois acides chromatographiés dans le solvant acétate d'éthyle - acide acétique - eau, les RF de 0,18, 0,13 et 0,15, c'est-à-dire des vitesses de migration très voisines les unes des autres. La chromatographie se fait en phase descendante et dure environ seize heures. Le chromatogramme est alors retiré de la cuve et séché à la température ordinaire. La révélation se fait au moyen d'un mélange de :

Benzidine	1,82 g
Acide trichloracétique	1,65 g
Alcool absolu	100 cm ³

Le réactif est réparti uniformément sur la feuille par pulvérisation. La feuille est portée à l'étuve à 100 °C, pendant 5 à 10 minutes; des taches et traînées brunes apparaissent sur le papier (fig. 5), correspondant aux uronides de dépolymérisation. Si l'on utilise un milieu non ensemencé, ou un milieu ensemencé mais où aucune liquéfaction ne s'est produite, aucune tache évidemment n'apparaît. Des essais ont de plus été pratiqués sur milieux stériles non ensemencés mais hydrolysés par des autoclavages successifs à 110° d'une demi-heure chacun; les taches de dégradation sont alors d'autant plus allongées et importantes que le nombre des séjours en autoclave est plus grand. D'autres chromatogrammes ont été réalisés à partir des cultures elles-mêmes et non à partir des substrats; dans ce cas des taches blanchâtres apparaissent au même niveau que les uronides, elles correspondent aux sels de l'eau de mer qui ont migré avec les uronides.

VI. — MODE D'ACTION DE L'ASSOCIATION

Clostridium alginolyticum - *Desulfovibrio desulfuricans*

L'analyse bactériologique et l'étude biochimique du *Clostridium alginolyticum* ont été effectuées sur le germe additionné du filtrat de la culture de *D. desulfuricans* et non du vibriion lui-même, en raison de l'instabilité d'équilibre des germes *in vitro*. Comme nous l'avons déjà signalé [3], l'alginolyse, dans ces conditions ne se fait que moyennant l'addition de filtrat et sur gels assez peu visqueux. Dans le cas étudié, nous avons préféré utiliser des gels Cecalginat à 5 p. 1 000 au lieu de 10 p. 1 000, la viscosité des milieux étant de cette sorte ramenée de 12 centipoises à 0,8 centipoise. La liquéfaction des gels visqueux à 8 ou 10 p. 1 000 d'alginate ne s'opère convenablement que lorsque le vibriion est présent dans la culture. Mais, même dans les gels peu visqueux le remplacement du vibriion par son filtrat n'est qu'un pis-aller, destiné à maintenir la continuité de l'alginolyse sans avoir à craindre une prédominance de l'un ou l'autre des germes; lorsqu'après séparation, ceux-ci sont

remis en contact, ils sont de dimensions plus importantes que lorsqu'ils sont cultivés isolément; leur vitalité paraît aussi nettement plus grande.

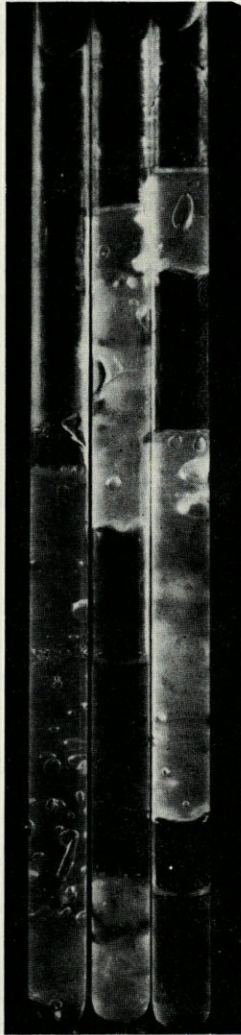


FIG. 6. — Action du filtrat de culture de *D. desulfuricans* var. *aestuاري* sur les cultures de *Cl. alginolyticum*.

- (a) absence de filtrat
- (b) 8 gouttes de filtrat
- (c) 4 gouttes de filtrat.

Il serait intéressant de connaître exactement quelle est la part active du filtrat sur le *Clostridium*. Cette influence est certainement complexe, probablement due à l'interaction de plusieurs facteurs. Nous avons cherché à éclaircir un peu cette question en procédant à plusieurs essais.

1°) le filtrat de culture du vibron peut être chauffé 30 minutes à 100° sans que son activité sur la liquéfaction du gel paraisse diminuée.

2°) Après plusieurs cultures sans filtrat, le *Clostridium* isolé ne peut plus assurer la fonction alginolytique. La dégénérescence se remarque surtout dans les géloses profondes où les colonies perdent leur aspect ouaté pour revêtir un extérieur lisse, le dégagement gazeux et la liquéfaction sont inexistantes, l'anaérobiose est moins stricte; en général les germes clostridiens s'allongent et peu à peu se vident de leur cytoplasme.

La figure 6 souligne les différences qui se présentent selon que les cultures sont, ou non, additionnées de filtrat.

(a) sans filtrat, le dégagement gazeux est très faible et la liquéfaction nulle;

(b) avec 8 gouttes de filtrat pour 4 cm³ de milieu, la liquéfaction de la gélose se produit en profondeur sur 5,5 cm, le dégagement gazeux est très important, avec fragmentation de la gélose;

(c) avec 4 gouttes de filtrat, la hauteur de liquéfaction est limitée à 3 cm, mais le dégagement gazeux reste important.

La liquéfaction de la gélose semble ainsi liée à la quantité de filtrat apportée dans la culture.

3) en présence de vibron, le dégagement gazeux est assez faible, le CO₂ formé étant probablement repris dans le métabolisme du germe d'association.

4) le fer, sans doute en raison de sa qualité de cation divalent, semble freiner l'action alginolytique. Pour le vérifier, nous avons cultivé *D. desulfuricans* dans un milieu PL privé de sel de Mohr, mais additionné de 10 à 20 gouttes d'une solution de sulfate d'ammonium à 10 p. 100. Dix passages ont été faits sur le milieu ainsi modifié et les cultures ont ensuite été filtrées. Le filtrat obtenu s'est révélé plus actif que le filtrat avec fer, les cultures de *Clostridium* ont en effet été plus abondantes et plus rapidement liquéfiées.

Cependant, le vibron privé de fer subit une curieuse modification morphologique, il perd sa forme incurvée caractéristique et se présente sous l'aspect d'un bâtonnet rectiligne; en même temps ses mouvements ne sont plus rapides et sinueux, son allure devient plus lente et moins saccadée. Le vibron retrouve d'ailleurs intégralement sa forme et sa mobilité vibronnaires lorsque du sulfate de fer est à nouveau ajouté au milieu.

Après plusieurs repiquages sans fer, il peut toutefois se produire une certaine adaptation, les éléments redeviennent en partie vibronnaires. Cette expérience ne peut être réalisée que sur milieu PL, car dans les mêmes conditions, sur le milieu au lactate, les germes, bien qu'adoptant la même forme rectiligne, deviennent minces et se raréfient rapidement.

5) le filtrat de culture du vibron a été remplacé par d'autres produits.

a) Le milieu PL non ensemencé, ajouté à la concentration de 1/6 dans la culture s'est révélé inactif sur la fonction clostridienne; il équivaut à l'absence de filtrat.

b) Par contre une solution stérile de Na_2S à 10 p. 100 s'est montrée très active, à condition d'être ajoutée à faible dose, moins de 0,2 mg par ml, soit environ 1 à 2 gouttes pour un tube de gélose profonde, 3 à 4 gouttes dans les gels; des doses supérieures inhibent les cultures. L'action de sulfure de sodium semble provoquer de profondes modifications dans le métabolisme du *Clostridium*. Le pH de culture devient alcalin, alors qu'il était très acide avec le filtrat de vibron. Il semble assez étonnant que le germe alginolytique s'accommode si bien de ce pH alors qu'il supportait mal l'alcalinité du vibron lorsque ce dernier prédominait dans les cultures d'association. Bien sûr, il n'y a pas ici la présence gênante du sulfure de fer; celui-ci lorsqu'il était en excès dans les cultures d'association, envahissait le cytoplasme du *Clostridium* et le teintait entièrement en brun. Mais il reste quand même un excès de H_2S très perceptible dans les cultures et dont le *Clostridium* ne semble nullement souffrir. Certaines modifications morphologiques accompagnent la présence de Na_2S , les germes sont plus larges, leurs mouvements sont lents et flexueux.

c) Une solution de réductose à 25 p. 1000 a été aussi ajoutée au *Clostridium* en place de filtrat, à la concentration d'environ 1/6 de la culture. Ici l'action alginolytique demeure, et est acidifiante. Elle paraît seulement un peu plus lente.

A la suite de ces quelques essais, il semble que, dans l'association; le rôle primordial du vibron pourrait être son pouvoir réducteur, son aptitude à maintenir l'anaérobiose indispensable au *Clostridium*. Le potentiel d'oxydoréduction est probablement fortement abaissé par la présence des produits de métabolisme du vibron; car lorsque le *Clostridium* se retrouve seul en culture, il devient microaérophile et dégénère.

VIII. — PROBLÈMES ÉCOLOGIQUES DE L'ALGINOLYSE DISCUSSION ET CONCLUSION

1°) Bien que l'algine soit un constituant des algues marines, l'alginolysse n'est pas une fonction exclusivement marine. Avant de procéder à l'étude de l'alginolysse bactérienne marine anaérobie

nous avons en effet pu vérifier 1) l'activité de germes, probablement apparentés au genre *Pseudomonas*, sur des gels d'algine préparés à l'eau distillée et additionnés de sels monovalents, abandonnés à l'air libre. D'après les essais effectués, l'action de germes aériens semble toutefois se présenter moins fréquemment sur algine que sur pectine. 2) l'existence de la fonction alginolytique anaérobie dans un sédiment lacustre. Dans une vase provenant de Pavie (Italie), nous avons pu mettre en évidence [2] une liquéfaction de gels d'algine par une association de deux germes, un bâtonnet sporulé du genre *Clostridium* et un vibrion sulfato-réducteur. Ce dernier a été isolé sur le milieu au lactate de SISLER et ZO BELL [39] préparé à l'eau distillée au lieu d'eau de mer. Sur gel à 8 pour 1 000 d'algine nous avons essayé vainement d'isoler le *Clostridium* d'association. Cet isolement aurait probablement été possible en ajoutant au milieu d'algine un filtrat de culture du vibrion. Mais nous n'avons pas poursuivi les recherches sur la fonction alginolytique en ce domaine, devant aborder l'alginolyse marine anaérobie, but de notre étude.

2°) Les bactéries sulfato-réductrices, découvertes en 1895 par BEIJERINCK [1] ont depuis ce temps été fort étudiées; elles jouent un rôle important dans les sédiments, où elles créent des conditions réductrices; elles tolèrent H_2S qui, pour les autres bactéries et même pour les organismes évolués est un produit toxique. La liste des substrats qu'elles peuvent métaboliser a été établie (pyruvate, lactate, malate, fumarate, éthanol, glycérol, certains alcools) et ceux-ci ont été considérés comme « apparemment peu abondants dans les biotopes » où prolifèrent ces bactéries (SENEZ [38], 1962). L'existence d'une symbiose entre un germe alginolytique et *D. desulfuricans* semble donner à ce dernier un surcroît d'intérêt. Déjà en 1928, RUBENTSCHICK [36] avait signalé, dans les boues saumâtres d'Odessa en Mer Noire, la présence d'une association entre un *Clostridium* cellulolytique et ce sulfato-réducteur.

Plus récemment, BOWERS et BISHOP [7] en recherchant des sulfato-réducteurs dans les sédiments d'eaux douces et méromictiques, ont trouvé à plusieurs reprises ces germes intimement associés à des *Clostridium* anaérobies. Ces associations, si elles étaient étudiées se révéleraient peut-être alginolytiques; en tous cas, elles semblent assez largement répandues dans la nature.

L'importance des algues dans les sédiments marins avait déjà en 1939 amené BOURCART [6] à étudier les débris végétaux inclus dans les vases d'estuaires. Des purées d'algues, dénommées « algon » par cet auteur, avaient été spécialement récoltées dans l'estuaire de la Penzé (Finistère); elles renfermaient une riche flore bactérienne avec germes spirillaires, abondance de sulfure de fer et

dégagement d'une forte odeur sulfhydrique en eau confinée. C'était là sans doute l'indice d'une association entre des sulfato réducteurs et les germes lytiques des algues.

3°) En 1934, WAKSMAN, CAREY et ALLEN [44], étudiant la microflore du phytoplancton et des fonds marins, ont constaté que des espèces microbiennes différentes étaient impliquées dans les fonctions pectinolytique et alginolytique. Nous avons pu vérifier le bien-fondé de ces données en cultivant des souches de collection pectinolytiques, telles que *Plectridium pectinovorum*, *Clostridium omnivorum*, *Clostridium polymyxa*, dans des gels d'algine préparés à l'eau distillée; ceux-ci n'ont absolument pas subi de liquéfaction.

En raison de l'action souvent sélective des germes sur l'algine, certains auteurs — déjà THJÖRTA et KASS [43] en 1945 — ont proposé des noms de genres nouveaux pour y inclure des formes alginolytiques *Alginobacter*, *Alginomonas*, *Alginovibrio*, un autre nom pour les espèces agarolytiques *Agarobacterium*, en parallélisme avec les noms des cellulolytiques *Cellvibrio*, *Cellfalcicula*, *Cellulomonas*. Dans le même ordre d'idées, en 1964, DAVIS et EWING [8] se sont refusés à inclure dans les *Enterobacteriaceae* les germes qui dans cette famille sont alginolytiques, et les ont rattachés au genre *Alginobacter*; de même selon ces auteurs le nom de *Pectobacterium* — genre défini en 1945 par WALDEE [46] — devrait être réservé aux pectinolytiques du genre *Erwinia*. HUMM [18] a soutenu le point de vue contraire, car sur les espèces agarolytiques qu'il a isolées certaines digèrent en outre l'algine, la cellulose ou la chitine. HUMM en conclut qu'il faudrait grouper les bactéries attaquant différents polysaccharides sous le nom de « seaweed-digesters », c'est-à-dire en fait des germes algolytiques. YAPHE [49], doute aussi de l'utilité de caractériser des germes d'après leur aptitude à attaquer les uns ou les autres des polysaccharides algaux. La liste des noms de genres appropriés risquerait fort de s'allonger proportionnellement aux progrès réalisés dans la connaissance des hydrates de carbone constituant des Algues marines, Carragheen, mucilage, funorine, fucoïdine, laminarine... (in MORI, 1953 [29]). Peut-être vaut-il mieux s'en tenir à la création des noms d'espèces tels que *alginolyticum* ou *agarolyticum*, *carragheenovora*, comme on a adopté *amylolyticum*, *pectinovorum* ou *ureolyticum*. YAPHE pour sa part accepterait tout au plus des noms de genres tels que *Phycomonas*, *Phycobacterium* ou *Phycobacter* pour les germes qui utilisent les différents polysaccharides des algues.

4°) La connaissance biochimique de l'algine est moins avancée que celle de la pectine. On a mis en évidence plusieurs endo et exoenzymes pectinolytiques, mais jusqu'ici on a très peu pratiqué de purification d'enzymes alginolytiques. D'après PREISS et ASHWELL [34] il y aurait plus d'une endoalginase engagée dans le métabolisme du *Pseudomonas* que ces auteurs ont étudié. A partir de souches alginolytiques isolées de *Fucus*, FRANSSEN et JEUNIAUX [12] ont

procédé à l'étude d'exo-alginase. Mais les précisions manquent encore actuellement sur la nature des alginases microbiennes.

Plus avancée est la recherche de l'existence d'alginase dans les organes digestifs des animaux. Après OSHIMA [32], HASHIMOTO et ONOMA [15], GALLI et GIESE [14], EPPLEY et LASKER [9] entre autres auteurs, FRANSSSEN et JEUNIAUX [13] ont cherché à savoir dans quelle mesure la sécrétion d'alginase pouvait être liée au régime alimentaire des « Invertébrés marins, dulcicoles ou terrestres, phytophages ou non ». En éliminant toute action bactérienne, ces deux derniers auteurs ont conclu que l'enzyme alginolytique semble être « un constituant permanent de l'arsenal enzymatique des mollusques. D'autre part il semble exister une corrélation entre la présence d'acide alginique dans le régime alimentaire des mollusques et la quantité d'alginase sécrétée ». En d'autres termes, la fonction alginolytique existe chez tous les mollusques qu'ils soient marins ou non, phytophages ou carnivores, mais elle est bien plus importante chez les mangeurs d'algues brunes. Des alginases ont été décelées chez certains Echinodermes et chez une Annélide Polychète marine; mais les espèces d'Arthropodes, Brachiopodes, Spongiaires, Cnidaires étudiées n'en possèdent pas.

La fonction alginolytique a été très peu étudiée chez les Vertébrés. OSHIMA [32] a conclu à l'absence d'alginase dans l'intestin du Requin. Quelques études ont été faites par des auteurs japonais (MIGITA et HASHIMOTO [26], MIGITA et TANIKAWA [27] sur la digestion des hydrates de Carbone chez des Poissons d'eau douce; un *Ctenopharyngodon* de Formose ne possède pas d'alginase; par contre un Cyprinidé, le Poisson d'or *Carassius auratus* dont la nourriture est à base de xylane et d'algine, est pourvu d'une alginase intestinale très active. En 1961, KAISER [21] a recherché la pectinolyse chez les poissons marins herbivores; devant l'absence quasi totale de résultats positifs, cet auteur a pensé que cette fonction était probablement remplacée par « d'autres fonctions de dégradation des polyuronides, par exemple celle de l'acide alginique qui requiert des microorganismes différents de ceux de la pectinolyse ». Une recherche sommaire sur les tubes digestifs de deux espèces de Poissons marins nous a révélé que, si l'intestin de ces poissons semble dépourvu d'alginase constitutive (essais sur substrat d'algine dans lequel le phénol inhibe toute croissance microbienne), la flore bactérienne paraît assez bien développée et active chez la Moruelle, poisson partiellement phytophage, mais très rudimentaire au contraire chez le Carrelet qui est de moeurs carnivores. La présence d'alginase chez les Vertébrés est probablement, comme chez les Invertébrés, lié au mode de nutrition.

De même que les Ruminants digèrent la cellulose à l'aide de bactéries cellulolytiques, peut-être existe-t-il aussi une flore algi-

lytique chez les animaux du bétail nourris au varech. C'est surtout en Écosse que les Fucacées sont, pour les ovins et les bovins qui vivent le long des côtes, l'essentiel des pâturages. Notons aussi que le varech séché et pulvérisé s'est révélé très bénéfique dans l'alimentation d'animaux tels que les porcs, les chevaux, les visons et autres animaux à fourrure, les volailles même.

L'emploi sans cesse croissant d'alginate a nécessité l'implantation en Tasmanie d'une « ferme sous-marine ». Des *Macrocystis* pouvant atteindre vingt mètres de long y sont récoltés à partir de bateaux par des faucheuses rotatives.

De telles applications montrent l'importance de toutes les questions qui touchent les algues. Nous pensons n'avoir donné ici qu'une vue d'ensemble sur ce vaste problème, ayant seulement apporté quelques précisions sur un aspect nouvellement abordé, celui de la fonction bactérienne marine qui s'exerce par la voie anaérobie.

RÉSUMÉ

L'alginolysse aérobie a déjà fait l'objet de nombreux travaux. Sur sédiment, le premier aspect connu de la fonction alginolytique anaérobie est une symbiose entre un germe clostridien et un sulfato-réducteur *D. desulfuricans* var. *aestuari*. L'étude morphologique et biochimique de *Clostridium alginolyticum* et certains critères permettant de constater la dégradation de l'algine ont été détaillés. Le rôle et le mode d'action du vibrion sulfato-réducteur de l'association ou de son filtrat de culture ont été recherchés sans cependant pouvoir être encore complètement éclaircis.

Les problèmes écologiques soulevés par l'existence de la fonction alginolytique ont été abordés; leur importance est considérable dans les sédiments marins et chez les animaux phytophages.

SUMMARY

Aerobic alginolysis has been often studied. In a marine mud, the first aspect known about anaerobic alginolytic function is a symbiosis between a clostridian germ and a reducer of sulfates *Desulfovibrio desulfuricans* var. *aestuari*. The morphological and biochemical study of *Clostridium alginolyticum* and some criterion

proving the attack of algin have been detailed. The role and mechanism of action of the sulfato reducing vibrio or of its culture filtrate have been researched but are not yet well known.

The ecological problems raised by the existence of the alginolytic function have been taken up, they are very important in marine muds and in herbivorous animals.

ZUSAMMENFASSUNG

Die aerobe Alginzersetzung wurde gegenüber der anaeroben Zersetzung vielverarbeitet. Das erste Ergebniss unserer Untersuchungen über anaerobe Alginzersetzung im Seebodenschlamm ist die Isolierung von zwei anaeroben Bakterien die in Symbiose leben : ein Klostridium und ein *Desulfovibrio desulfuricans* var. *aestuarii*. *Clostridium alginolyticum* n.sp. wurde morphologisch und biochemisch beschrieben. Die Ergebnisse die die Alginzersetzung anschauen wurden umständlich diskutiert. Die Rolle des sulfat-reduzierendes *Vibrio*, in der Symbiose mit dem alginzersetzendes *Clostridium*, wurde untersucht, aber noch nicht voll erlichtet. Die Alginzersetzung, im ökologischen Licht betrachtet, scheint im Seebodenschlamm und im Darm Kanal von meer Tieren, die algin-säurehaltige Pflanzen fressen, sehr wichtig zu sein.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BEIJERINCK, M.W., 1895. Ueber *Spirillum desulfuricans* als Ursache von Sulfatereduction. *Zentbl. Bakt. Parasitkde.* Abt. II, 1 : 1-19; 49-59; 104-114, 4 fig.
- [2] BILLY, C., 1963. Recherches sur l'alginolyse bactérienne anaérobie. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sc.*, Paris, 257 : 3700-3701.
- [3] BILLY, C., 1965. Isolement en culture pure d'un *Clostridium* marin, agent de l'alginolyse symbiotique anaérobie. *Annls. Inst. Pasteur*, Paris, 108 : 260-261.
- [4] BILLY, C., 1965. Etude d'une bactérie alginolytique anaérobie : *Clostridium alginolyticum* n.sp. *Annls Inst. Pasteur*, Paris, 109 : 147-151, 1 fig.
- [5] BILLY, C., 1966. Etude sur l'alginolyse bactérienne en milieu marin. *Annls Inst. Pasteur*, Paris, 110 : 591-602, 3 fig., 1 pl.
- [6] BOURCART, J., 1939. Essai d'une définition de la vase des estuaires. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sc.*, Paris, 209 : 542-544.

- [7] BOWERS, L. and W. BISHOP, 1964. Formation of clear zones by bacterial colonies in iron sulfide darkening media. *Bact. Proceed.*, p. 24, G63.
- [8] DAVIS, B.R. and W.H. EWING, 1964. Lipolytic, pectinolytic and alginolytic activities of Enterobacteriaceae. *J. Bact.*, **88** : 16-19.
- [9] EPPLEY, R.W. and R. LASKER, 1959. Alginase in the Sea Urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Science*, **129** (3.343) : 214-215, 2 fig.
- [10] FISCHER, F.G. und H. DURFEL, 1955. Die papierchromatographische Trennung und Bestimmung der Uronsäuren. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chim.*, **301** : 224-234.
- [11] FRANSSEN, J. et C. JEUNIAUX, 1963. Distribution de l'alginate chez les Mollusques et d'autres Invertébrés. *Archs. Int. Physiol. Biochim.*, **71** : 301-302.
- [12] FRANSSEN, J. et C. JEUNIAUX, 1964. Dosage et propriétés d'alginate d'origine microbienne. *Bull. Acad. r. Belg. Cl. Sc.*, **5** : 788-798, 3 fig.
- [13] FRANSSEN, J. et C. JEUNIAUX, 1965. Digestion de l'acide alginique chez les Invertébrés. *Cah. Biol. Mar.*, **VI** : 1-21, 13 fig.
- [14] GALLI, D.R. and A.C. GIESE, 1959. Carbohydrate digestion in a herbivorous snail, *Tegula funebralis*. *J. exp. Zool.*, **140** (3) : 415-440.
- [15] HASHIMOTO, Y. and K. ONOMA, 1949. On the digestion of higher carbohydrates by Mollusca (*Dolabella scapula* and *Teredo* Sp.). *Bull. Jap. Soc. scient. Fish.*, **15** : 253-258.
- [16] HIRST, E.L., JONES, J.K.N. and W.O. JONES, 1939. The structure of alginic acid. *J. Chem. Soc.*, (2) : 1880-1885.
- [17] HUANG, H. and A.E. GIESE, 1958. Tests for digestion of algal polysaccharides by some marine herbivores. *Science*, **127** (3296) : 475.
- [18] HUMM, H.J., 1946. Marine agar digesting bacteria of the South Atlantic Coast. *Bull. Duke Univ. Mar. Stn.*, **3** : 45-75 (in Yaphe, 1962 [49]).
- [19] JERMYN, M.A. and F.A. ISHERWOOD, 1949. Improved separation of sugars on the paper partition chromatogram. *Biochem. J.*, **44** : 402-407.
- [20] KAISER, P., 1961. Etude de l'activité pectinolytique du sol et d'autres substrats naturels. Thèse sciences, Paris : 415 p., 70 fig.
- [21] KAISER, P., 1961. La fonction pectinolytique chez les poissons marins herbivores. *Bull. Inst. Océanogr.*, Monaco, n° **1210** : 8 p.
- [22] KOOLMAN, P., 1954. Enzymic hydrolysis of alginic acid. *Biochim. Biophys. Acta.*, **13** : 338-340, 1 fig.
- [23] LEDERER, E. and M. LEDERER, 1957. Chromatography. Elsevier Publish. Co, 711 p., 139 fig.
- [24] MAUGHAN, G.B., KENNETH, A.E. and T.S.L. BROWNE, 1938. A method for the quantitative estimation of glucuronic acid and conjugated glucuronides. *J. biol. Chem.*, **126** : 567-572, 2 fig.
- [25] MEEUSE, B.J.D. and W. FLUEGEL, 1958. Carbohydrates in the sugar gland juice of *Cryptochiton* (*Polyplacophora*, *Mollusca*). *Nature, Lond.*, **181** (4610) : 699-700, 4 fig.
- [26] MIGITA, M. and Y. HASHIMOTO, 1949. On the digestion of higher carbohydrates by *Zsuaui* (*Ctenopharyngodon idellus*). *Bull. Jap. Soc. scient. Fish.*, **15** : 259-261.

- [27] MIGITA, M. and E. TANIKAWA, 1949. Studies of vegetable feedstuffs, III. Digestion of xylan and algin by Gold Fish. *Bull. Jap. Soc. scient. Fish.*, 15 : 13-18.
- [28] MIWA, T., 1940. Biochemische Studien über die Zellmembran von Braun- und Rotalgen. *Jap. J. Bot.*, 11 : 41-127. 5 fig., 26 tabl.
- [29] MORI, T., 1953. Seaweed Polysaccharides. *Adv. Carbohyd. Chem.*, 8 : 315-350.
- [30] NELSON, W.L. and L.H. CRETCHER, 1930. The isolation and identification of d-mannuronic acid lactone from the *Macrocystis pyrifera*. *J. Am. Chem. Soc.*, LII : 2130-2132.
- [31] OSHIMA, K., 1931. Discovery and properties of alginase. *Chem. Abstr.*, XXV (21) : 5681.
- [32] OSHIMA, K., 1931. Über die Entdeckung eines Alginsäure spaltenden Enzymes und seine Eigenschaften. *Bull. agric. Chem. Soc. Japan*, 7 : 17-18.
- [33] POCHON, J., 1962. Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Editions de la Tourelle, Saint-Mandé (Seine) : 105 p.
- [34] PREISS, J. and G. ASHWELL, 1962. Alginic acid metabolism in bacteria. *J. Biol. Chem.*, 237 : 309-316, 13 fig. et 317-321, 4 fig.
- [35] PRÉVOT, A.R., 1960. Techniques pour le diagnostic des bactéries anaérobies. Editions de la Tourelle, Saint-Mandé (Seine) : 118 p., 41 fig.
- [36] RUBENTSCHICK, L., 1928. Ueber Sulfatreduktion durch Bakterien bei Zellulosegärungsprodukten als Energiequelle. *Zentbl. Bakt. Parasitkde*, II, 73 : 483-495.
- [37] RUBENTSCHICK, L., 1933. Zur anaeroben Zellulosezerersetzung in Salzseen. *Zentbl. Bakt. Parasitkde*, Abt. II, 88 : 182-186.
- [38] SENEZ, J., 1962. Rôle écologique des bactéries sulfato-réductrices. *Publi. staz. Zool. Napoli*, 32 (suppl.) : 427-441.
- [39] SISLER, F.D. and C.E. ZOBELL, 1951. Hydrogen utilisation by some marine sulfate-reducing bacteria. *J. Bact.*, 62 : 117-127.
- [40] SMITH, W.K., 1958. Chromatographic examination of the products of digestion of pectic materials by culture solutions of plant pathogenic and other bacteria. *J. gen. Microbiol.*, 18 : 42-47.
- [41] SOMOGYI, M., 1952. Notes on sugar determination. *J. biol. Chem.*, 195 : 19-23.
- [42] STANFORD, E., 1883. *Chem. News.*, 47 : 254-267 in Miwa [28].
- [43] THJOTTA, Th. and E. KASS, 1945. A study of alginic acid destroying bacteria. *Avh. norske Vidensk. Akad. Oslo (Mat-Naturwiss. Kl.)*, 5 : 1-20, 2 fig.
- [44] WAKSMAN, S.A., CAREY, C.L. and M.C. ALLEN, 1934. Bacteria decomposing alginic acid. *J. Bact.*, 28 : 213-220.
- [45] WAKSMAN, S.A. and M.C. ALLEN, 1934. Decomposition of polyuronides by fungi and bacteria. II. Decomposition of alginic acid by bacteria and formation of the enzyme alginase. *J. Am. Chem. Soc.*, 56 : 2701-2706.
- [46] WALDEE, E.L., 1945. Comparative studies of some peritrichous phytopathogenic bacteria. *Iowa St. Coll. J. Sci.*, 19 : 435-484, 1 pl., 4 tabl.

- [47] WIERINGA, K.T., 1947. A method for the rapid isolation of aerobic pectin decomposing microorganisms. *4 Int. Congr. microbiol.*, Copenhagen, sect. VII : 482-483.
- [48] YAPHE, W., 1962. Detection of marine alginolytic bacteria. *Nature*, 196 (4859) : 1120-1121.
- [49] YAPHE, W., 1962. Proposals on the classification of microorganisms which utilize the Polysaccharides of marine algae and a definition for agar. *Symp. Mar. Microbiol.*, edited by Oppenheimer, Ch. 55 : 588-593.

Reçu le 20 septembre 1966.

UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES DANS LA RÉALISATION DES CULTURES DE FORAMINIFÈRES SOUS FAIBLE VOLUME

SOMMAIRE

Ce travail est consacré à l'utilisation des antibiotiques dans la réalisation de cultures de Foraminifères. Dans une première partie, la discrimination des inhibiteurs convenables aux organismes en culture a été faite par deux méthodes, l'une manuelle, l'autre automatique utilisant un biophotomètre enregistreur (E.L.). La seconde phase de l'étude a consisté à rechercher empiriquement les concentrations des antibiotiques convenables à la culture des Foraminifères en circuit fermé, sous faible volume d'eau (Z. M. A.). Ces résultats sont très proches des valeurs obtenues dans la première partie.

I. — ÉTUDE DE L'ACTION DES ANTIBIOTIQUES SUR LES MICROFLORES HÉTÉROTROPHES MARINES

par E. LAGARDE

Laboratoire Arago, 66-Banyuls-sur-Mer

INTRODUCTION

Les recherches systématiques de l'action des antibiotiques sur les microflores bactériennes marines sont relativement rares; pourtant ces études ne sont pas dépourvues d'intérêt.

Fréquemment, en effet, des investigations d'ordre physiologique ou métabolique amènent les chercheurs à réaliser au laboratoire des cultures d'algues, d'organismes planctoniques, etc., en milieu exempt de bactéries.

Il pourrait sembler, à priori, aisé d'adjoindre à ces milieux divers antibiotiques, afin d'inhiber les proliférations bactériennes, mais certains composés présentent une réelle toxicité vis-à-vis des organismes en culture.

La détermination rigoureuse de l'activité des antibiotiques et le calcul de leurs doses optimales doivent ainsi être réalisés avant tout essai de culture. Ces expériences sont, à l'heure actuelle, grandement facilitées par l'emploi d'appareils de culture automatique, mais une méthodologie précise doit toutefois être respectée lors de la réalisation de ces essais préliminaires que nous allons décrire maintenant.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les milieux de culture utilisés pour l'étude de la croissance d'organismes marins, tels que foraminifères, algues, etc., sont en général assez pauvres. Ils sont le plus souvent exclusivement minéraux, certains comportent toutefois de faibles teneurs en matériel organique. Il faudra tenir compte de cette notion lors des essais d'inhibition des microflores bactériennes de contamination, dont la méthodologie différera par conséquent quelque peu de celle utilisée lors des estimations classiques, spécialement pour ce qui est de son aspect quantitatif.

Nous prendrons ici comme exemple les expériences réalisées avec Z. ARNOLD, lors de l'exécution de cultures de Foraminifères.

1) DÉTERMINATIONS QUALITATIVES

A partir d'un milieu de culture de Foraminifères pollué, nous avons effectué tout d'abord une culture d'enrichissement des microflores hétérotrophes contaminatrices, en milieu liquide, de composition suivante :

Eau de mer vieillie	750 ml (1)
Eau distillée	250 ml
Phosphate ferrique	0,200 g
Bacto-peptone « Difco » ..	4 g
Yeast-extract « Difco » ...	1 g
pH = 7,4	

(1) Eau de mer prélevée au large, stabilisée par conservation de trois semaines au moins, à la température du laboratoire et à l'obscurité, et stockée dans un récipient en verre.

Le milieu, quelquefois trouble, doit être précipité à 120 °C pendant 20 minutes, filtré sur papier, réparti en tubes de 20 × 200, à raison de 10 ml par tube, ou en Erlenmeyer, puis stérilisé à nouveau à 112 °C pendant 20 minutes.

Il peut être solidifié par adjonction de 14 g par litre d'agar, pour la réalisation des essais de sélection des antibiotiques.

Après incubation de 36 à 48 heures à 20°, la culture d'enrichissement est centrifugée et lavée deux fois à l'eau de mer à 75 %, stérile. Cette suspension de bactéries non proliférantes conservée à + 4 °C servira aussi bien aux déterminations qualitatives qu'aux essais quantitatifs.

Le test qualitatif s'effectue par la méthode des disques de l'Institut Pasteur : on coule le milieu gélosé en boîtes de Pétri, sur 4 mm de hauteur environ. L'épaisseur du milieu doit être constante pour que la diffusion de l'antibiotique se réalise dans les meilleures conditions et que la reproductibilité du test soit optimale.

On ensemence sur toute la surface de la gélose une ou deux gouttes de la suspension bactérienne et on dispose à 2 cm environ du bord de la boîte une série de disques de papier buvard, imprégnés de divers antibiotiques (disques fournis par l'Institut Pasteur).

La lecture se fait après 36 à 48 heures d'incubation à 20 °C, l'efficacité de l'antibiotique étant fonction du diamètre de la zone d'inhibition observée autour des disques.

RÉSULTATS

Dans le cas particulier de l'étude des contaminations des cultures de Foraminifères, nous avons ainsi testé 15 antibiotiques; les résultats de nos observations sont consignés dans le tableau 1.

Ainsi, sur les 15 antibiotiques testés, 4 seulement ont montré une activité intéressante. Ces résultats ne nous ont pas cependant étonné, étant donné la forte proportion de souches mobiles à Gram négatif composant la microflore de contamination testée.

2) DÉTERMINATIONS QUANTITATIVES

Les investigations précédentes ont permis de sélectionner les composés actifs sur les microflores bactériennes considérées, il restera à déterminer les quantités optimales d'antibiotiques à adjoindre aux milieux afin d'éviter les contaminations.

TABLEAU 1

Antibiotiques	Diamètre de la zone d'inhibition en mm.
Bacitracine	0
Framycétine	0
Colimycine	20
Spiramycine	0
Auréomycine	0
Erythromycine	0
Pénicilline	0
Chloramphénicol	26
Streptomycine	21
Terramycine	0
Tétracycline	0
Kanamycine	0
Novobiocine	0
Polymyxine	20
Néomycine	12

Nous traiterons ici, seulement, de l'application du pouvoir bactériostatique des antibiotiques, la détermination du pouvoir bactéricide requiert en effet des techniques particulières du ressort du spécialiste.

Deux méthodes peuvent être employées dans ce but, l'une dite manuelle ne nécessite qu'un minimum de matériel, l'autre, automatique, utilise un appareillage spécial (Figure 1).

a) *Méthode manuelle*

1. On prépare tout d'abord des solutions mères, en eau de mer à 75 % filtrée sur membranes d'acétate de cellulose (porosité 0,45 μ), des divers antibiotiques retenus. (En principe ces solutions sont à 100 mg par litre.)

2. On répartit dans des petits flacons stérilisés des quantités croissantes des antibiotiques testés, seuls ou en association. Les flacons du type pénicilline (26 ml) conviennent parfaitement.

3. A un milieu de composition suivante :

Eau de mer vieillie	1 000 ml
Bacto-Peptide « Difco »	0,050 g
Yeast-extract « Difco »	0,050 g

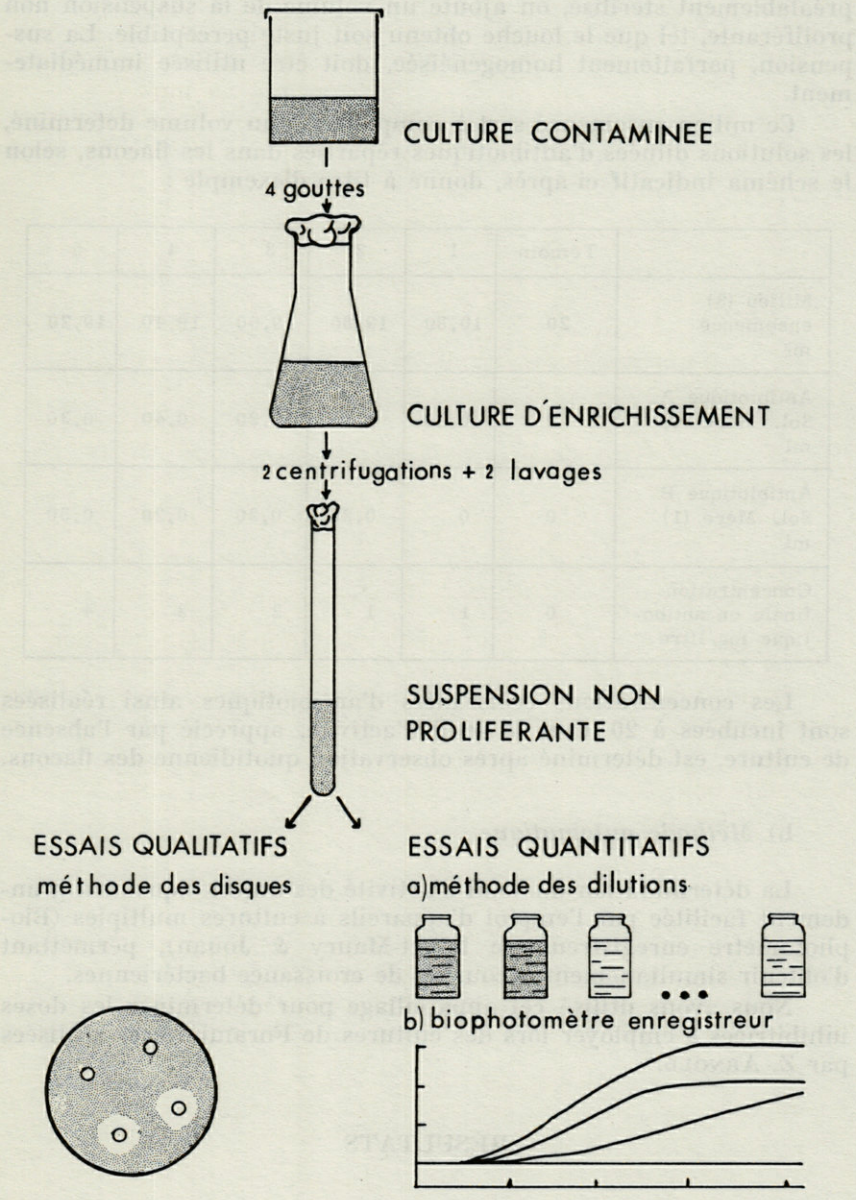


Fig. 1. — Schéma indiquant la méthodologie des essais à effectuer en vue de l'appréciation de l'action des antibiotiques.

préalablement stérilisé, on ajoute un volume de la suspension non proliférante, tel que le louche obtenu soit juste perceptible. La suspension, parfaitement homogénéisée, doit être utilisée immédiatement.

Ce milieuensemencé sert à compléter, à un volume déterminé, les solutions diluées d'antibiotiques réparties dans les flacons, selon le schéma indicatif ci-après, donné à titre d'exemple :

	Témoin	1	2	3	4	5
Milieu (3) ensemencé ml	20	10,80	19,80	19,60	19,40	19,20
Antibiotique A Sol. Mère (1) ml	0	0,20	0	0,20	0,40	0,30
Antibiotique B Sol. Mère (1) ml	0	0	0,20	0,20	0,20	0,50
Concentration finale en antibiotique mg/litre	0	1	1	2	3	4

Les concentrations croissantes d'antibiotiques ainsi réalisées sont incubées à 20 °C et le seuil d'activité, apprécié par l'absence de culture, est déterminé après observation quotidienne des flacons.

b) Méthode automatique

La détermination du seuil d'activité des antibiotiques est grandement facilitée par l'emploi d'appareils à cultures multiples (Biophotomètre enregistreur de Bonet-Maury & Jouan), permettant d'obtenir simultanément 6 courbes de croissance bactériennes.

Nous avons utilisé cet appareillage pour déterminer les doses inhibitrices à employer lors des cultures de Foraminifères réalisées par Z. ARNOLD.

RÉSULTATS

La figure 2 montre l'allure des courbes de croissance obtenues au biophotomètre-enregistreur, en fonction de diverses concentrations de Streptomycine et de Chloramphenicol.

DENSITE OPTIQUE

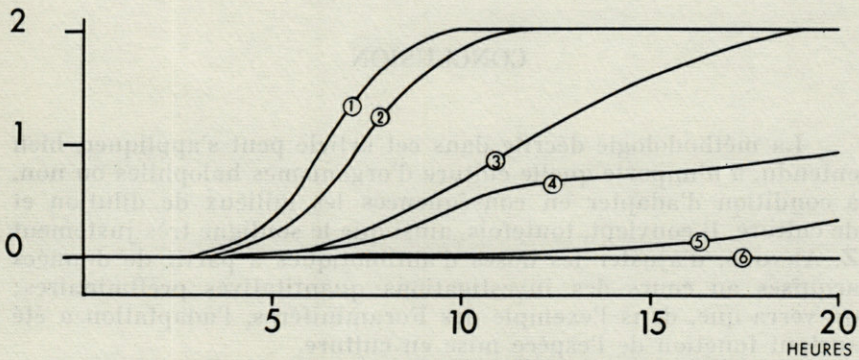


FIG. 2. — Courbes de croissance de la microflore hétérotrophe provenant d'une culture de Foraminifères, en fonction de diverses concentrations de Streptomycine et de Chloramphénicol :

- 1 — Témoin sans antibiotique.
- 2 — Streptomycine : 1 mg/litre.
- 3 — Chloramphénicol : 1 mg/litre.
- 4 — Chloramphénicol : 1 mg + Streptomycine : 1 mg/litre.
- 5 — Chloramphénicol : 2 mg + Streptomycine : 2 mg/litre.
- 6 — Chloramphénicol : 3 mg + Streptomycine : 2,5 mg/litre.

La microflore hétérotrophe, testée lors de ces essais, a donc été trouvée sensible à l'association : Streptomycine + Chloramphénicol aux concentrations de 2,5 mg par litre pour chaque antibiotique, nous reviendrons plus loin sur l'importance de la détermination précise de ces doses inhibitrices.

Nous avons par la même méthode étudié les deux autres composés qui avaient montré une bonne activité lors des essais qualitatifs, à savoir la Colimycine et la Polymyxine; les résultats de nos investigations sont consignés dans le tableau 2 ci-après :

TABLEAU 2
*Action des antibiotiques
sur la croissance des microflores hétérotrophes aérobies
contaminatrices des cultures de Foraminifères*

Chloramphenicol		1	1		1	1	2				2	2,5	3	2		3	5	
Streptomycine		1		1	1		2			2		2,5				5	2	5
Polymyxine	5	1	1	1		2								2	2			
Colimycine							2	5	2	2								
Résultats	±	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	+	-	-	-	-	-	

+ : Croissance

- : Inhibition

± : Douteux

CONCLUSION

La méthodologie décrite dans cet article peut s'appliquer, bien entendu, à n'importe quelle culture d'organismes halophiles ou non, à condition d'adapter en conséquences les milieux de dilution et de culture. Il convient, toutefois, ainsi que le souligne très justement Z. ARNOLD, d'ajuster les doses d'antibiotiques à partir de données acquises au cours des investigations quantitatives préliminaires; on verra que, dans l'exemple des Foraminifères, l'adaptation a été surtout fonction de l'espèce mise en culture.

Depuis l'achèvement des travaux entrepris à Banyuls avec Z. ARNOLD, nous avons eu à maintes reprises l'occasion de pratiquer des investigations analogues, avec des chercheurs travaillant sur différents groupes. La méthodologie décrite ici nous a toujours permis de résoudre rapidement le problème de la contamination des cultures. La seule difficulté réside dans le choix de la concentration optimale d'antibiotiques qui ne doivent, en aucun cas, perturber le développement des organismes en culture. Nous avons, à ce propos, remarqué l'apparition de certaines lésions tératologiques sur lesquelles nous reviendrons dans un prochain article.

RÉSUMÉ

L'inhibition des microflores de contamination, présentes dans les cultures de divers organismes, peut être facilement réalisée par l'emploi d'antibiotiques judicieusement choisis. La discrimination des inhibiteurs nécessite une étude préalable indispensable, car le choix des doses optimales est fonction de la susceptibilité des organismes en culture aux antibiotiques et à leur association. Une méthode simple d'appréciation des quantités adéquates à utiliser est décrite dans le présent article.

SUMMARY

The inhibition of contaminating microfloras in cultures of various organisms can easily be achieved by the judicious use of wisely chosen antibiotics. Discriminating between inhibitors requires

a preliminary study, however, since the choice of optimal dosages is a fonction of the susceptibility of the organisms to the antibiotics and to the combination in which they are used. A simple method of determining adequate quantities for the purpose is described in the present article.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Aufkommen einer verunreinigenden Mikroflora, welche sich in den Aufzuchten verschiedener Organismen findet, ist leicht zu verhindern durch geschickt gewählte und angewendete Antibiotica. Die Auslese von inhibierenden Substanzen bedarf vorangehender Untersuchungen, denn die Wahl der optimalen Dosis ist abhängig von der Empfindlichkeit der aufgezogenen Organismen gegenüber den Antibiotica und den mit ihnen verbundenen Substanzen. Eine einfache Bestimmungsmethode der zu gebrauchenden, angemessenen Quantitäten wird in dieser Arbeit beschrieben.

II. — APPLICATION A LA TECHNIQUE DES CULTURES DES FORAMINIFÈRES

par Zach M. ARNOLD

*Department of Paleontology, University of California,
Berkeley, California, U.S.A.*

INTRODUCTION

Certaines espèces de Foraminifères, spécialement les formes de petite taille vivant en eau peu profonde et ayant des durées de vie relativement courtes, peuvent être aisément maintenues au laboratoire pendant de longues périodes, si le milieu de culture est bien approprié. *Allogromia laticollaris*, par exemple, a pu être cultivé de façon satisfaisante, depuis 1946, dans des récipients de 12 cm de diamètre, au laboratoire de l'auteur; des espèces telles que *Streblus beccarii*, *Calcituba polymorpha* et *Spiroloculina hyalina* semblent également convenir. Comme bien d'autres protozoaires, en outre, ces Foraminifères sont capables de survivre pendant des mois ou même des années dans des récipients simples tels que des boîtes de Pétri, des tubes à essai, des cuves de batterie, ou des aquariums, si l'on emploie des techniques analogues à celles décrites par LE CALVEZ (1938), MYERS (1937), ARNOLD (1954), LEE et al. (1961). La grande majorité des Foraminifères, cependant, présente des particularités qui en font des organismes plus difficiles à cultiver que bien des protozoaires libres, spécialement lorsque, pour des sujets de recherches particuliers, ils doivent être maintenus en cultures de faible volume. Tout d'abord, la durée de vie et le cycle vital de bien des Foraminifères, particulièrement ceux qui montrent une alternance entre une génération sexuée et une génération asexuée, sont en général plus longs. Pour bien des espèces calcaires, différentes des petites formes comme *Spirillina vivipara*, *Patellina corrugata*, *Spiroloculina hyalina* et *Rotaliella heterocaryotica*, la durée de vie est de l'ordre de quelques mois à un an ou plus.

En conséquence, si on veut étudier ceux-ci, il faudra au début mettre en culture et maintenir un plus grand nombre d'individus qu'il n'en faudra mettre dans le cas de protozoaires croissant mieux

et se reproduisant rapidement. Ceci est particulièrement vrai si l'on cherche à obtenir des stades de division en vue d'une analyse cytologique. De plus, beaucoup de Foraminifères se déplacent moins activement que d'autres protozoaires libres, leur vie végétative (comme celle de nombreux invertébrés marins pluricellulaires sessiles) étant souvent caractérisée par de longues périodes d'inactivité ou de « dormance » après que la période de croissance relativement rapide de leur jeunesse active ait été accomplie.

Ces particularités posent des problèmes spéciaux aux chercheurs qui désirent maintenir des Foraminifères en culture de faible volume, car elles rendent l'organisme hautement vulnérable à l'attaque bactérienne directe, aux effets plus insidieux de l'accumulation de déchets métaboliques, ainsi qu'à d'autres changements défavorables du milieu de culture.

Le besoin de maintenir de grands nombres de cultures sous faible volume est apparu au cours des études que l'auteur avait entreprises sur la nature et les causes de variations dans des lignées clonales de l'espèce apogamique *Spiroloculina hyalina* et dans des lignées dérivées de *Nubecularia lucifuga*, *Quinqueloculina vulgaris*, *Triloculina webbiana*, *Calcituba polymorpha*, *Discorbis posidonicola*, et d'une Allogromide qui n'a pas encore été déterminée. Pour ces études, des observations journalières portant sur les changements de taille et de forme de grands nombres d'individus sélectionnés devaient être faites durant des périodes allant de quelques semaines à plusieurs mois. En outre, ces observations devaient être faites avec le plus fort grossissement d'une loupe binoculaire (objectif : 12 ×) sans toucher, sans mouvoir et sans déranger de quelque manière que ce soit les Foraminifères.

Une difficulté majeure rencontrée par celui qui s'engagera dans un tel programme de culture est celle du changement fréquent et rapide du milieu de culture qui doit être cependant fait doucement afin de laisser les Foraminifères intacts et en les dérangeant le moins possible. Après une expérimentation importante avec une grande variété de récipients à culture, on eut recours à des boîtes peu profondes, obtenues en scellant un disque de nylon de bas de femme, fin, à un anneau de polyéthylène de 4,5 cm de diamètre et de 3 mm d'épaisseur. Cette soudure fut réalisée à chaud et sous pression dans un moule construit pour cet usage. Le volume utile de ces disques de culture est ainsi de 1 à 2 ml. Dans les expériences initiales, ils flottaient simplement à la surface de l'eau de mer distribuée par le circuit du laboratoire, circulant à travers un plateau en plastique de faible profondeur. L'impossibilité de prévenir une contamination bactérienne importante dans les plateaux et les disques de culture, conduisit toutefois à l'adoption d'un sys-

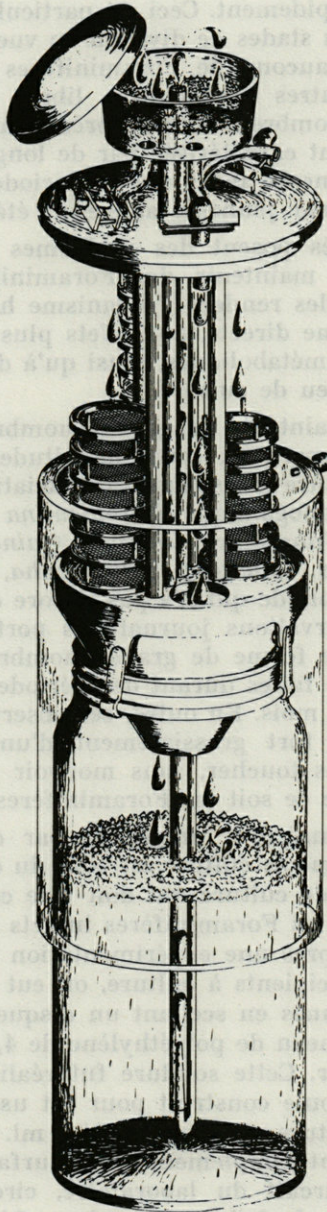


FIG. 1. — Appareil en circuit fermé pour la culture des Foraminifères. L'eau de mer, stockée dans le grand réservoir inférieur (2,5 litres), est amenée par une circulation d'air dans le petit récipient supérieur, à partir duquel elle traverse par gravité les 4 séries de disques à culture empilés, en revenant ainsi au réservoir inférieur.

L'évaporation est réduite par adjonction d'une gaine coulissante en plastique, permettant un accès aisé aux disques de culture.

tème en circuit fermé et à la construction de l'appareil représenté dans la figure 1.

Il s'agit d'un dispositif assurant un courant continu, mais faible, d'eau de mer bien aérée à travers des piles de disques de culture facilement manipulables et aisément examinables; cet appareil et sa technique d'emploi sont décrits en détail ailleurs (ARNOLD, 1966).

L'emploi de cet appareil muni de disques de culture en plastique résolvait le problème mécanique majeur du maintien des Foraminifères, mais les conditions créées dans le système, semblables à celles existant dans les appareils de laboratoire à circulation de plus grande taille, favorisaient une abondante prolifération bactérienne, qui, après quelques jours, enveloppait invariablement les Foraminifères dans un film gélatineux mortel. Les bactéries, bien pourvues en oxygène et en nourriture, avaient toute possibilité de se multiplier et de dominer les cultures, car, au début, les grands invertébrés et les protozoaires les plus actifs, qui devaient normalement s'en nourrir et maintenir ainsi leur nombre à des valeurs minimales, avaient eux-mêmes été soigneusement enlevés des cultures.

Peu après que l'appareil de culture ait été mis en service, le Dr LAGARDE, lors d'expériences menées indépendamment au laboratoire, avait trouvé que la simple combinaison du Chloramphénicol et de la Streptomycine était efficace pour contrôler la croissance des bactéries normalement rencontrées dans l'eau de mer de la région de Banyuls, de sorte que les expériences décrites plus loin ont été réalisées de façon à déterminer les possibilités de l'emploi en routine de ces antibiotiques en vue de contrôler la prolifération bactérienne dans les cultures de Foraminifères.

LEE & al. (1961) ont rapporté l'utilisation des antibiotiques lors de cultures *axéniques* et *synxéniques* de Foraminifères, mais ils employaient des concentrations relativement élevées (0,2 mg de Chloramphénicol, 1 mg de Dihydrostreptomycine, 0,02 mg de Polymyxine B, et 0,05 mg de Nystatine par millilitre d'eau de mer) et ne soumettaient les Foraminifères à ce mélange que pendant des périodes courtes (48 h) dans des bains de préparation leur permettant d'obtenir des cultures abactériennes. Toutefois, les récipients utilisés pour de telles cultures ne sont pas valables pour des études au cours desquelles de grands nombres de spécimens, provenant de lignées clonales soigneusement contrôlées, doivent être individuellement examinés et mesurés journalièrement sous le microscope. Le but immédiat de la présente étude était d'obtenir, sous un faible volume, de grands nombres d'individus facilement examinables, sans être astreint à des principes rigoureux de technique

stérile, de développer une technique par laquelle les cultures puissent être réalisées, non pas dans un milieu exempt de bactéries, mais dans un milieu où la population bactérienne était simplement, mais suffisamment contrôlée pour permettre aux Foraminifères de croître et de se multiplier de façon satisfaisante.

MÉTHODES

Pendant toute la période expérimentale, on employa de l'eau de mer prélevée au large, à quelques kilomètres du rivage, filtrée sur papier filtre, chauffée à 85 °C, refroidie et traitée par les antibiotiques. Les appareils de culture étaient installés à la température de la pièce (19-23 °C), et près d'une fenêtre où ils recevaient une bonne illumination naturelle. Une diatomée pennée, isolée d'échantillons prélevés en mai 1963 des eaux côtières au voisinage du laboratoire marin des Bermudes, était utilisée comme nourriture après avoir été tuée par chauffage à 85 °C environ. L'eau de mer n'a pas été enrichie de quelque manière que ce soit. Après quelques expériences de plus longue durée, le milieu de culture fut changé chaque semaine, à moins que les bactéries ne se soient développées trop vivement, ou que, inversement, le dosage des antibiotiques ait gêné l'activité des Foraminifères; dans ces cas, le milieu était changé immédiatement. A l'exception de *Calcituba polymorpha*, une souche américaine de grande valeur comme indicateur du fait de sa croissance relativement rapide et de la finesse des parois de sa carapace (le cycle à l'intérieur de la carapace est facilement observable à la loupe binoculaire), les Foraminifères utilisés lors de ces expériences furent collectés, soit à partir des *Corallines* poussant le long de la jetée principale du laboratoire, soit à partir des feuilles de *Posidonies* provenant des eaux avoisinantes.

OBSERVATIONS EXPÉRIMENTALES

Lors des expérimentations initiales, Chloramphénicol et Streptomycine furent ajoutés à raison de 10 mg de chaque par litre d'eau de mer. Plus de la moitié de la centaine de disques de culture utilisés dans cette première série l'expérience était, au départ, fortement contaminée par des bactéries, mais, après quelques jours seulement, beaucoup de Foraminifères recommencèrent à étendre des pseudopodes, à se nourrir activement, à développer à nouveau leur couleur orange-brun ou verdâtre, indicateur d'un bon état de santé, à ajouter de nouvelles chambres et à se reproduire. Le taux

de reproduction de spécimens fraîchement inoculés de *Discorbis posidonicola* était aussi élevé que dans les récipients conventionnels, et *Calcituba polymorpha* se développait et se reproduisait même plus activement.

Après trois semaines, cependant, un retard important fut noté dans la croissance et dans les taux de reproduction, bien que les bactéries actives fussent extrêmement rares dans les cultures. Les Foraminifères semblaient être en bon état, certains s'alimentaient bien, et quelques-uns se reproduisaient, mais, alors que par exemple des chambres avaient été ajoutées à raison de une ou deux par jour durant la première semaine, ce développement tombait durant la troisième semaine à une tous les cinq à six jours. Dans le cas de *Calcituba polymorpha*, alors que initialement les chambres s'augmentaient si rapidement, qu'une série de trois ou quatre, ayant seulement des parois organiques, était produite avant que la première de la nouvelle série formée ait été modérément fortement calcifiée, à la fin du mois la calcification avait fait place à la sécrétion du substratum organique de la paroi de la chambre et peu d'individus dans la population en culture ajoutaient de nouvelles loges. De plus, on pouvait observer une réduction marquée de l'activité de protozoaires flagellés et ciliés variés, de quelques petits nématodes, et d'un hydrozoaire de la famille des Corynides, organismes qui, par l'augmentation de leur activité, étaient des indicateurs valables des conditions générales du milieu de culture.

Dans le but de déterminer si la décroissance de l'activité de la culture est due à un dosage trop élevé des antibiotiques ou à un autre facteur, un appareil de culture contenant 48 disques de culture fut empli avec de l'eau contenant seulement 7,5 mg de chaque antibiotique par litre. En moins de 34 heures, une amélioration notable se manifesta dans la population de Foraminifères, et, après une semaine, la population bactérienne présentait un taux négligeable. Cependant, après une autre semaine, un autre léger mais appréciable changement se manifesta dans la taille des Foraminifères isolés dans les cultures. De plus, les espèces indicatrices variées (des ciliés, un hydrozoaire, des vers), bien que plus actifs que ceux de la solution à 10 mg, étaient considérablement moins actifs que ceux rapportés initialement au laboratoire.

En conséquence, le dosage dans l'un des appareils expérimentaux (48 disques de culture), fut réduit à 5 mg de chaque antibiotique par litre, alors que dans un second il était réduit à 1 mg.

A la fin de la première semaine, le premier groupe montrait une légère amélioration, le second montrait vraiment une amélioration impressionnante : *Calcituba polymorpha* commençait à élaborer de nouvelles chambres; les Discorbiidés se nourrissaient acti-

vement; *Cibicides lobatulus* développait des kystes nutritionnels sur des pseudopodes nouvellement élaborés et quelques spécimens de *Quinqueloculina vulgaris* avaient développé de modestes réseaux pseudopodiaux. Le succès apparent avec la dose de 1 mg fut cependant de courte durée, car les bactéries devinrent bientôt si abondantes qu'elles devinrent une menace réelle pour la survie des Foraminifères.

Le dosage fut rapidement ramené à 4 mg de chaque antibiotique par litre et maintenu à ce taux pendant deux semaines. A cette dose, peu de bactéries vivantes furent trouvées dans les cultures et la plupart des Foraminifères montrèrent de bons cycles et une formation pseudopodiale modérée lorsqu'on les examinait à la loupe binoculaire. Dans ces conditions *Calcituba polymorpha* fut l'espèce qui continuait le mieux à élaborer de nouvelles chambres et à se multiplier, mais à la fin, cependant, de la période de deux semaines, il était moins actif qu'il semblait désirable, alors que les autres espèces, bien que vivant et se nourrissant, se développaient cependant trop lentement.

Les expériences finales évoluèrent vers la réduction du dosage à 2,5 mg de chaque antibiotique par litre, dans un appareil, à 3 mg de Chloramphénicol et 2 de Streptomycine dans un second, et à 4 mg de Chloramphénicol et 2 de Streptomycine dans un troisième. Comme la fin du séjour de l'auteur en France approchait rapidement, il ne fut pas possible de poursuivre ces séries de culture expérimentales pendant plus de trois semaines, mais à la fin de cette période, tous les Foraminifères qui avaient survécu aux rigueurs des expériences précédentes, semblaient aussi actifs que ceux d'un âge identique entretenus dans des récipients de culture conventionnels, tandis que *Calcituba polymorpha* croissait et se multipliait bien plus énergiquement qu'il ne l'avait jamais fait lorsqu'il était maintenu par ailleurs dans des conditions comparables. Des centaines de Discorbiidés avaient formé des structures pseudopodiales extensives, comparables en volume à celles formées par des spécimens fraîchement collectés; un certain nombre flottaient à la surface, leurs pseudopodes complètement étendus; quelques-uns étaient en reproduction asexuée, bien que la fin de la saison de reproduction asexuée était probablement proche et que la saison de la reproduction sexuée de l'espèce n'avait pas encore commencé. Vers la fin de cette période d'expérimentation, quelques douzaines de spécimens de *Triloculina webbiana*, qui avaient initialement poussé d'une manière moitié moins rapide dans l'appareil de culture, rattrapèrent rapidement les spécimens de contrôle maintenus dans des récipients de culture conventionnels. *Cibicides lobatulus*, apparemment plus sensibles aux antibiotiques, et qui étaient demeurés relativement en sommeil au cours de bien des expériences

précédentes, commençaient maintenant à former des réseaux pseudopodiaux extensifs qu'ils couvraient d'algues, pour former des enchevêtrements pseudopodiaux; plus important, cependant, était le fait qu'ils formaient des « bras » libres, dressés, ramifiés, du type décrit par BRADY (1884) et NYHOLM (1961), si souvent remarqués dans les collections fraîches de la zone de Banyuls, mais jamais avant cette dernière partie de nos expériences, rencontrées, que ce soit dans les cultures en récipient conventionnel ou dans l'appareil de culture. La population bactérienne montrait un taux négligeable, bien que des individus vivants puissent être trouvés relativement facilement lors des examens microscopiques. Des espèces de *Oxyrrhis* & *Entosiphon* (les Flagellés dominants), un cilié holotriche, deux espèces d'amibes, un petit nématode et un copépode continuaient à prospérer, à se multiplier et à se déplacer aussi vigoureusement que les spécimens récemment collectés, en dépit du fait que quelques-unes des cultures provenaient de matériel collecté huit mois plus tôt.

CONCLUSION

Grâce à l'emploi judicieux d'antibiotiques soigneusement sélectionnés, il est possible d'obtenir une excellente croissance d'espèces diverses de Foraminifères, cultivées sous faible volume dans un appareil à circuit fermé, et nourries de Diatomées tuées par la chaleur. Parmi les espèces qui ont bien répondu à ce que l'on attendait des dosages préliminaires de Chloramphénicol (2,5 à 4 mg par litre) et de Streptomycine (2 à 2,5 mg par litre) on peut mentionner : *Iridia lucida*, *Calcituba polymorpha*, *Nubecularia lucifuga*, *Triloculina webbiana*, *Quinqueloculina vulgaris*, *Discorbis posidonicola*, *Cibicides lobatulus* et *Planorbulina mediterraneensis*.

Il me plaît d'exprimer ma gratitude à Monsieur le Professeur PETIT qui m'a permis de poursuivre ces expériences au Laboratoire Arago de Banyuls-sur-Mer; au Dr LAGARDE pour l'efficacité des expériences qu'il a poursuivies, pour les conseils qu'il m'a donnés, et, également pour la traduction de ce manuscrit en français; aux membres du personnel du laboratoire qui ont si aimablement participé au ramassage de la collection de spécimens et qui m'ont donné toute facilité pour la construction de l'appareil de culture.

RÉSUMÉ

La détermination empirique des concentrations judicieuses de Streptomycine et de Chloramphénicol composant un mélange d'antibiotiques destiné à contrôler la pullulation bactérienne sans nuire à la croissance normale des foraminifères cultivés dans un appareil en circuit fermé de petite capacité, a fourni des valeurs très proches de celles établies lors des études quantitatives préliminaires réalisées par E. LAGARDE au biophotomètre enregistreur de Bonet-Maury et Jouan (2,5 à 4 mg de Chloramphénicol et 2 à 2,5 mg de Streptomycine par litre).

SUMMARY

The empirical determination of the appropriate concentrations of Streptomycine and Chloramphenicol in an antibiotic mixture designed to restrict bacterial growth without inhibiting normal growth of foraminifera in a closed-circulation system of small-volume cultures gave values (2,5 to 4 mg of Chloramphenicol and 2 to 2,5 mg of Streptomycine) closely approximating optimal ones predicted by E. LAGARDE in his preliminary quantitative studies employing the Bonet-Maury and Jouan recording biophotometer.

ZUSAMMENFASSUNG

Die erfahrungsgemässe Bestimmung von angemessenen Konzentrationen von Streptomycin und Chloramphenicol in einer antibiotischen Mischung die eine Bakterienvermehrung einschränkt ohne das normale Wachstum von in geschlossenem System kleiner Kapazität aufgezogenen Foraminiferen zu verhindern, ergibt Werte die denjenigen von E. Lagarde in vorläufigen, quantitativen Untersuchungen mit dem selbstregistrierenden Biophotometer von Bonet-Maury und Jouan gefundenen sehr nahe liegen (2,5 bis 4 mg Chloramphenicol und 2 bis 2,5 mg Streptomycin pro Liter).

BIBLIOGRAPHIE

- ARNOLD, Z.M., 1954. Culture methods in the study of living Foraminifera. *Journ. Paleo.*, 28 (4) : 404-416.
- ARNOLD, Z.M., 1966. A laboratory system for maintaining small-volume cultures of foraminifera and other organisms. *Micropaleontology*, 12 (1) : 109-118.
- BRADY, H.B., 1884. Report on the Foraminifera dredged by H.M.S. CHALLENGER during the years 1873-1876. Vol. 16 (= Zoology, vol. 9). London, Printed for H.M. Stationery Office. 814 pp.
- LE CALVEZ, J., 1938. Recherches sur les Foraminifères. I. Développement et reproduction. *Arch. Zool. exp. gén.*, 80 : 163-333.
- LEE, J.J., PIERCE, E., TENTCHOFF, M. and McLAUGHLIN, J.J.A., 1961. Growth and physiology of foraminifera in the laboratory. Part. I. Collection and maintenance. *Micropaleontology*, 7 (4) : 461-466.
- MYERS, E.H., 1937 (Edited by NEEDHAM). Culture methods for marine foraminifera of the littoral zone. In : *Culture methods for marine invertebrate animals*. Ithaca, N.Y. Comstock. 590 pp.
- NYHOLM, K.-G., 1961. Morphogenesis and biology of the Foraminifer *Cibicides lobatulus*. *Zool. Bid. Uppsala*, 33 : 157-196.

Reçu le 18 août 1966.

MESOGLOEAL ULTRASTRUCTURE AND REVERSIBLE OPACITY IN A TRANSPARENT SIPHONOPHORE

by G.O. MACKIE and G.V. MACKIE

*Department of Zoology, University of Alberta,
Edmonton, Canada*

ABSTRACT

The reversible opaque response of *Hippopodius*, a transparent siphonophore, is caused by the appearance of light-scattering granules in the mesogloea. The transmission of the opaque response depends on the presence of intact covering epithelium. The mesogloea components (granules, collagen and elastin) have been studied by optical and electron microscopy, and the biological significance of blanching is discussed.

INTRODUCTION

Hippopodius hippopus Forskal is a calycothoran siphonophore common throughout the Mediterranean, and readily obtainable at the surface during winter and spring in the Bay of Naples and at Villefranche-sur-Mer (LELOUP, 1935). It has five to ten medusoid nectophores (swimming bells) tightly articulated together and enclosing a central space into which the stem and its appendages may be withdrawn (Fig 1). In a fresh colony which has been undisturbed for a sufficient period the nectophores are transparent, but if the colony is then touched a wave of opacity spreads across the nectophores and they become milky white. If left undisturbed, the organism becomes transparent again.

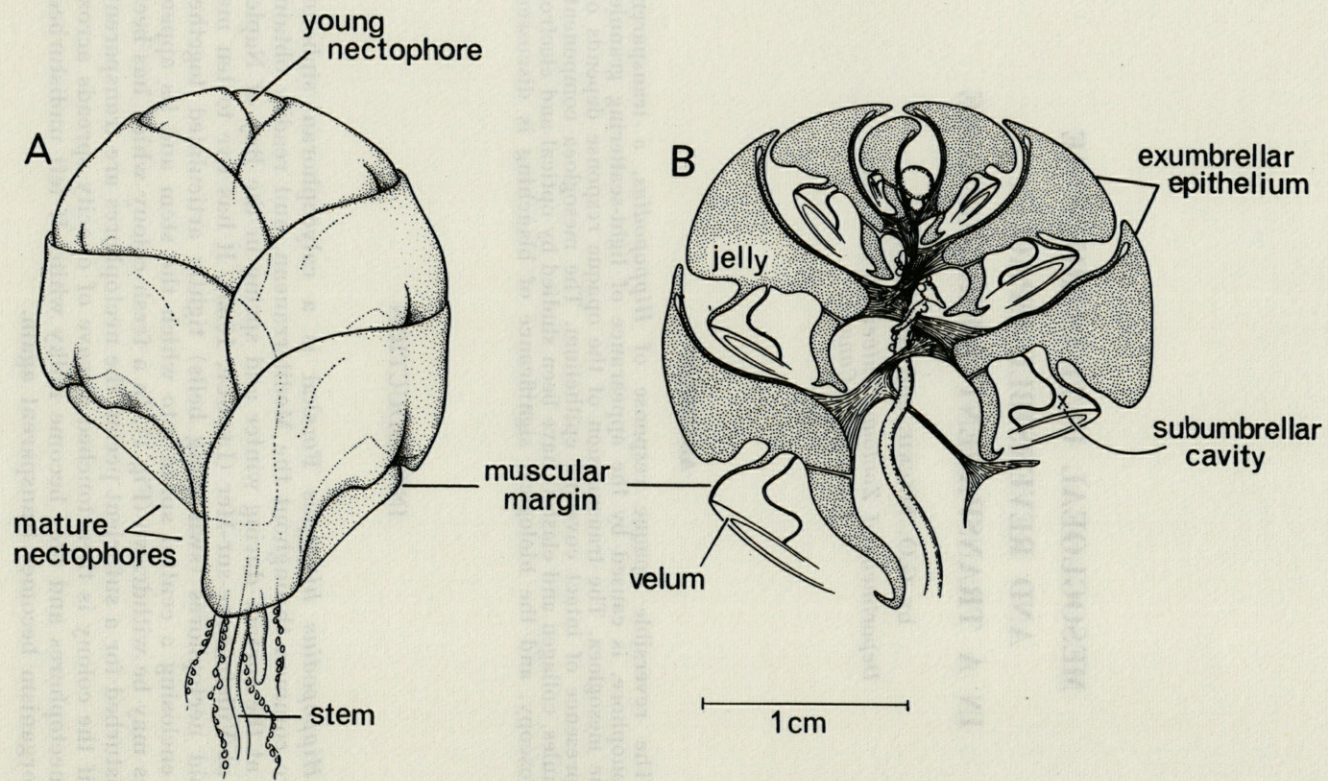


FIG. 1. A. Intact *Hippopodius* - B. Dissection, after Chun (from Mackie, 1965).

This reversible response was first clearly described by KOROTNEFF (1884) who attributed the opacity to Brownian movement of granules in the epidermis covering the nectophores. CHUN (1897), DUBOIS (1898) and IWANTZOFF (1928) also held that the opacity was produced in the epidermis, but several earlier workers commenting on the opacity of preserved *Hippopodius* believed that it was a property of the mesogloea (Fig. 1. "jelly") and KÖLLIKER (1853) specifically attributed the opacity to the presence of granules in the outer layer of the jelly. The process of going opaque, known to German writers as 'Milchweisswerden', will here be called 'blanching'.

KOROTNEFF noted a second phenomenon associated with stimulation of *Hippopodius*. At night, the organism luminesces when agitated mechanically. KOROTNEFF believed that the blanching observed by day corresponded to the luminescence seen at night. DUBOIS (1898) associated both blanching and luminescence with granule formation in the epidermis, which he likened to the 'formation of crystals in a supersaturated solution'. NICOL (1958) provides spectral emission curves and gives estimates of radiant flux intensity for several luminescent siphonophores including *Hippopodius*. He was not able to localize the source of the luminescent emission, and he does not refer to blanching.

The majority of siphonophores do not blanch, and no other marine organisms known to us have a comparable response. Some animals possessing chromatophores (e.g. squids) include white in their repertoire of colours, but the mechanisms involved are completely different. The siphonophore *Ceratocymba* shows reversible blanching in its bracts, the opacity being caused by the appearance of granules in the mesogloea according to CHUN (1888). Species of *Heteropyramis* and *Chuniphyes* show opaque patches (TOTTON, 1954) but it is not known if opacity is reversible in these cases. *Bassia bassensis* shows permanent opacity at the edges of the nectophores and bracts (HUXLEY, 1859).

Existing accounts of blanching leave uncertain exactly what the opacity consists of, where it is produced, how it is propagated and how it is related to luminescence. CHUN (1897) and MACKIE (1964) conjectured that it was associated with waves of non-nervous excitation travelling in the epidermis. It was then assumed that the opacity was produced in the epidermis as proposed by KOROTNEFF and others. However, it is now clear that the opacity is due to the appearance of granules in the mesogloea, as described by CHUN (1888) for *Ceratocymba*, and although it is true that the epidermis is involved in propagation of the response, it is equally apparent that the mesogloea in which the granules form 'must in

a certain sense be capable of transmitting a stimulus' (CHUN, 1888) even if the stimulus is only a chemical one spreading downward into the mesogloea from excited epidermal cells.

A description of the histology of the epidermis covering the nectophores was given earlier, along with an account of its capacity for propagated depolarizations (MACKIE, 1965). We shall here provide a general description of blanching, with details on the histology and ultrastructure of blanching mesogloea in *Hippopodius* and with some additional information on mesogloea structure in gelatinous planctonic hydrozoans of other species.

MATERIAL AND METHODS

Hippopodius were dipped from the sea in plastic or glass vessels and quickly transferred to large tanks of slowly circulating water in the dark at 14 °C, where they stayed in good condition for several days.

Observations on living tissue were made using Zeiss darkfield and phase contrast equipment. A Zeiss 'Ukatron' flash attachment was used in making Figs. 9 A and B. Paraffin sections of fixed material were examined. Material was also fixed in 2 % OsO₄ and embedded in Araldite or Epon according to standard procedures. 1 μ sections were stained with toluidine blue for light microscopy. Ultrathin sections were examined with a Philips EM 100 after staining with uranium, lead or tungsten salts.

RESULTS

GENERAL DESCRIPTION OF BLANCHING AND ALLIED RESPONSES

The two photographs, Figs. 2A and B, show a specimen of *Hippopodius* before and after stimulation. In A the colony is floating the right way up, near the surface, with transparent nectophores. The stem and its appendages are partially relaxed and hang below the nectophores, where they are seen as an opaque mass. In B, after a blow from a glass rod, the animal has contracted its stem, pulling it up into the central space enclosed by the nectophores. This has altered the centre of gravity and the specimen is now

upside down (QUOY and GAIMARD, 1827; JACOBS, 1937). The stimulation has caused opacity in the majority of the nectophores. Not shown in the photograph is the curling inward of the margins of the nectophores which also takes place following exumbrellar stimulation (MACKIE, 1965). In addition, if the specimen were observed in the dark, a brief flash of luminescence would be seen to take place on stimulation.

It was shown previously (MACKIE, 1965) that the muscular response in the margin can be obtained by stimulating any part of the exumbrellar epithelium of a nectophore. Tactile or electrical stimulation may be used. In the latter case, the shock can be given by electrodes that are not quite touching the epithelium. Following such a stimulus, an electrical event is propagated over the epithelium, travelling at a velocity of 30-40 cm/sec. This potential change can be recorded directly by an electrode in the vicinity of the epithelium. The epithelium is in part syncytial, in part cellular, and it varies in thickness and in granularity over different areas of the nectophore, but the cytoplasm is without myofibrils and there are no nerve cells in any part of the exumbrella. Non-nervous conduction in exumbrellar epithelia has been found in several siphonophores and it also occurs in hydromedusae (MACKIE, PASSANO and PAVANS DE CECCATTY, 1967).

Conduction within a single nectophore appears to be all-or-none following a single shock. This can be demonstrated by direct recording from the epithelium or by recording of the muscle potentials evoked at the margin. Each exumbrellar shock evokes a muscle potential or a sequence of potentials, even when the margin is curled up in a state of tonus as a result of previous stimulation. The opacity produced by applying a single shock to the exumbrella of a transparent specimen does not, however, increase in density with subsequent stimulation, although resumption of transparency can be delayed indefinitely by repeating the stimulus. In a whole colony, a single tactile stimulus may cause a muscle response and blanching in one or a few nectophores, several stimuli being needed to cause the animal to blanch all over. However, examples were seen where a single tactile stimulus appeared to get through to all nectophores and it is possible that through-conduction can occur between adjacent nectophores as well as within one nectophore. It is not known whether a tactile stimulus elicits a single electrical potential or a series in such cases, and we cannot therefore say if through-conduction or facilitation is involved. Repetitive firing to a single shock has been found in the epithelia of *Sarsia* (MACKIE, PASSANO and PAVANS DE CECCATTY, 1967).

Experiments were carried out which showed that an intact covering epithelium is needed both for the propagation of blanching

and for the subsequent restoration of transparency. Such an experiment is illustrated in Fig. 4. An island of intact epithelium is isolated by a circular abrasion. The nectophore blanches all over as a result of the tactile stimulation caused by the operation (A), but after several minutes the regions covered with epithelium become transparent. The ring of denuded mesogloea remains white (B). If a stimulus is now given at point S, the peripheral region re-blanches, but the central island remains transparent (C). Nectophores show permanent blanching wherever the epithelium is damaged or removed. The epithelium can regenerate and cover such areas, and transparency may then be restored.

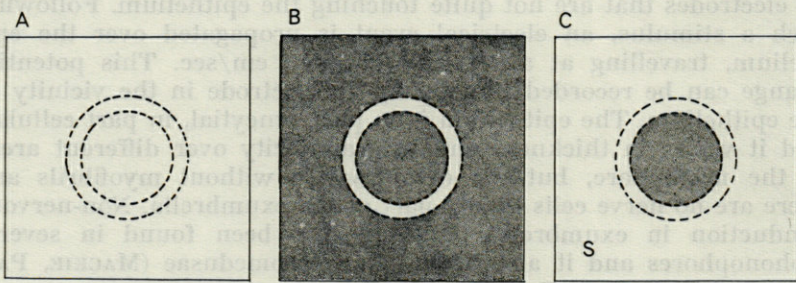


FIG. 4. (See text). Experiment demonstrating the role of the covering epithelium in the propagation of blanching and in subsequent resumption of transparency.

Blanching is not immediate following the passage of an electrical event, but takes 1-2 seconds to build up to full density. Deblanching usually takes 15-30 minutes, and may take much longer. Some regions remain opaque longer than others. Specimens that are not completely fresh may take abnormally long to deblanch and their subsequent blanchability may be less than that of fresh specimens, but exact figures were not obtained on these points. A form of non-propagated blanching is frequently seen, which will be called 'spot-blanching'. A light touch with a probe will produce a small white spot, without causing overall blanching. An animal floating in a tank frequently spot-blanches in areas where it has touched the walls of the tank. These areas usually become transparent again when the animal is freed from contact with the tank. It is possible that in some cases spot-blanching is the result of damage to the epithelium and exposure of the mesogloea directly to seawater, which we have already seen to cause irreversible blanching. However, the possibility should be borne in mind that the epithelium may respond to sub-threshold stimuli by local, non-propagating potential changes which evoke blanching in the immediate locality.

Like propagated blanching, luminescence is only exhibited in regions where the epithelium is intact. A single flash lasts about 1 sec., but with continued agitation, such as stirring the specimen in its bowl, almost continuous emission can be obtained. Specimens can luminesce immediately following transfer from light to darkness, which is not the case in luminescent ctenophores (MOORE, 1926). The colour of the light is best described as 'ice-blue'. It is quite unlike the greenish luminescence shown in the marginal light-organs of hydromedusae, but closely resembles the generalized subumbrellar luminescence of the jellyfish *Euphysa flammea*, which is also produced over a wide area of epithelium (MACKIE and MACKIE, 1963).

Luminescence, blanching, the responses of the musculature and of the radial muscle fibers of the nectophore margins are clearly dependent on epithelial conduction in the exumbrella. All three can be elicited by stimulation of specimens kept for 1 hour in 1 : 1 isotonic $MgCl_2$ - sea water. We have given figures elsewhere (MACKIE and MACKIE, 1963) on the sensitivities of various responses in hydromedusae to Mg^{++} anaesthesia and have shown that some effector systems are blocked almost immediately, while others are blocked only slowly if at all. Studies on sea anemones (ROSS and PANTIN, 1940), scyphomedusae (BULLOCK, 1943) siphonophores (MACKIE, 1964) and hydroids (JOSEPHSON, 1965) suggest that high susceptibility to excess Mg^{++} is an indication that nerves are involved. Thus low sensitivity of the *Hippopodius* responses accords with the general picture of non-nervous conduction. Swimming, however, in which the circular muscle system of the nectophores is involved is blocked rapidly by anaesthesia and is presumably controlled by the marginal nerve rings at the base of the velum, which are well-developed in the nectophores of all the siphonophores we have examined, including *Hippopodius*.

We were able to examine a eudoxid bract of *Bassia*, and to compare it with *Hippopodius*. The specimen examined was obtained from a plankton haul and showed some damage. The epithelium was intact over most regions however. Opacity was shown along the ridges (Fig. 6), as described by HUXLEY (1859). Removal of epithelium from transparent areas did not produce spot-blanching or overall blanching. The opaque areas remained opaque after several hours in which it was kept in still water. Thus, opacity appears to be permanent in the ridges and other regions lack blanchability. MOSER (1925) suggested that the blanched regions might be luminescent in *Bassia*, but this was not the case in the specimen we examined.

MORPHOLOGICAL BASIS OF BLANCHING AND MESOGLOEAL ULTRASTRUCTURE

There are various reasons for stating that blanching occurs in the mesogloea where it is associated with granulation as KÖLLIKER (1853) suggested and that it is not produced in the epithelial cells as KOROTNEFF (1884), CHUN (1897), DUBOIS (1898) and IWANTZOFF (1928) maintained :

1. Removal of the epithelium does not eliminate opacity, but renders it permanent.

2. Observation of living preparations by darkfield and phase contrast microscopy shows that granules appear in the mesogloea during blanching and disappear when transparency is restored (Fig. 3A and B). The epidermis, though it contains secretion bodies, shows no comparable changes, and is never opaque.

3. The mesogloea granules appear in a surface layer whose depth varies in different parts, these differences being correlated with local differences in blanching intensity. A thick, strongly blanching layer is found on the superior and lateral abaxial sides; a thinner, more feebly blanching layer occurs over the axial side and subumbrella. In one region which does not blanch, granules are not observed. This is the region adjacent to a plexus of canals formed by dichotomy of the ventral, radial, endoderm canal in the subumbrella, known as the '*rete mirabile*' (TORTON, 1965).

4. Siphonophores which do not blanch do not show granules in the mesogloea. *Ceratocymba*, which blanches reversibly, has granules (CHUN, 1888). *Bassia* which has permanently opaque edges to its gelatinous members has been examined and granules have been found in the mesogloea of the opaque regions (*vide supra*).

Blanching then is caused by reversible granulation of an outer layer of the mesogloea in *Hippopodius*. Transparency depends upon the optical homogeneity of the transmitting substance, and the introduction of dense granules will thus have a light-scattering effect and will lead to opacity whatever the colour reflected by the granules. However, the granules themselves look both opaque and white when studied individually under incident light. The term 'milk-white' favoured by writers using the German language is peculiarly appropriate since it suggests the faint bluish overtones actually seen.

Blanched areas viewed under the microscope sometimes show an uneven distribution of granules. At the edge of a spot-blanch there is often a thin line of dense granulation. Where a spot-blanch

has been inundated by a wave of general blanching this dense line may still be seen and the area just beyond it may be less dense than the general background (Fig. 3A and B). Specimens observed during the deblanching process fade by gradual disappearance of granules, the more heavily granulated regions fading last. No local movement or general migration of granules has been observed. The granules merely cease to be visible. It is not clear if they do so by becoming smaller or by losing opacity. Under the 100X phase objective no evidence was seen for small, permanent 'nuclei' which might serve as deposition sites in the 'development' of the granules. At the fringe area where transparent mesogloea covered with epithelium lies beside a denuded (and hence opaque) patch, the granules are seen to extend a short distance underneath the epithelium. The ions or molecules which cause onset of granulation must therefore be assumed to be capable of limited diffusion horizontally beneath the epithelium as well as vertically downward into the blanching layer.

The granular layer varies from about $5\ \mu$ to about $55\ \mu$ in thickness in various parts of the nectophores. In the inner, transparent substance of the nectophores granules are rarely seen. The granules observed under the light microscope in sections and in whole mounts range in size from barely visible particles to a typical, larger particle size of about $5\ \mu$. A few granules of up to $1.5\ \mu$ have been seen in a young nectophore. The granular layer is clearly demarcated from the other regions of the mesogloea, and these differences are well seen in paraffin sections of material fixed in 10 % formalin followed by postchromation. This treatment also preserves the epithelium in its correct position, preventing it from separating from the mesogloea surface. Mallory staining shows an intensely blue basement membrane immediately beneath the epithelium, below this a less intense but still strongly blue layer about $3.0 - 5.0\ \mu$ thick and lacking granules, and below this the granular layer with a pale blue matrix and red granules. Below the granular layer lies a pale blue, agranular central substance, the typical 'jelly' of hydromedusae and siphonophores. These zones are also shown well in $1\ \mu$ sections of araldite-embedded material stained in toluidine blue (Fig. 5).

The umbrellar mesogloea of these nectophores is a wholly extracellular material, and unlike that of some hydromedusae (e.g. *Probosecidactyla*), it contains no free or bridging cells, nor does it contain cytoplasmic extensions from the cells of the bordering epithelia such as are found in the mesolamella of hydroids. It does, however contain conspicuous fibres which run in an orderly way across the mesogloea, branching at their tips where they approach the mesogloea surface (Figs. 7, 8). GEGENBAUR (1959) shows por-

tions of these fibres in a drawing of *Hippopodius* jelly and similar fibres occur in many other siphonopores and hydromedusae. KÖLLIKER (1865) provides an excellent drawing of them in *Aequorea* in his review and classification of mesogloea types. Very similar fibres occur in Scyphomedusae, sometimes reaching diameters up to $5\ \mu$ (HERTWIG and HERTWIG, 1878). A succession of workers from KÖLLIKER onward have agreed in describing these as elastic fibres. When the mesogloea is damaged the fibres assume a convoluted or cork-screw form, where previously they ran in sweeping curves or straight lines. It has always been supposed that they have an architectural function, serving to provide the mesogloea with its spiny and resilient consistency. In more recent times CHAPMAN (1953) has suggested that the fibres are collagenous, a view he maintains (CHAPMAN, 1959), in spite of new evidence presented to the contrary (BOUILLON and VANDERMEERSSCHE, 1956). Our findings may be summarized as follows :

Collagen is certainly present in the mesogloea of *Hippopodius* as shown by X-ray diffraction studies (RUDALL, 1956). Under the electron microscope, a fine background fibrillar mesh is seen (Fig. 13) which is assumed to be collagen although periodic banding has not been seen in these fine, isolated fibrils. The fibrils are $50\text{--}80\ \text{\AA}$ in diameter, and lack regular orientation in most parts. Near the mesogloea surface however, they are denser, and may tend to run parallel to the surface. They show no tendency to form bundles of dimensions which would permit their observation under the light microscope, and they are quite independent of the elastic fibres. It is of interest to note in this connection some observations we have made on *Euphysa flamma* (O. Anthomedusae). In this medusa, the background collagen mesh closely resembles that of *Hippopodius* but in this case the fibrils aggregate in certain regions to form sizeable fibres up to $1\ \mu$ in diameter which can be seen with the light microscope. Under the electron microscope, the fibres can be seen to be cross striated (Fig. 12) although the striations have not been detected in the dispersed fibrils with which they are connected. The fact that *Euphysa* possesses optically visible collagen fibres might appear to support Chapman's contention that the large fibres of other jellyfish are collagenous. However, the reverse is true. The collagen fibres in *Euphysa* differ from the fibres of other forms in showing no tendency to assume convoluted forms, in being periodically striated, in staining strongly with basic dyes and in showing strong electron density after osmium fixation without supplementary impregnation with other metallic stains. So far, *Euphysa* is the only form known in which the fibres are clearly collagenous. In other hydromedusae, the collagen fibrils are dispersed and no striations are seen (CHAPMAN, PANTIN and ROBSON, 1962;

KAWAGUTI and HAMAKOSHI, 1963), as in *Hippopodius* and the other siphonophores we have studied. Collagen fibres in coelenterates vary widely in their banding periodicity: 200 Å in *Metridium sp.* and *Physalia* (PIEZ and GROSS, 1959), 220 - 250 Å in *Metridium senile* (GRIMSTONE, HORNE, PANTIN and ROBSON, 1958), 420 - 460 Å in * *M. canum* (BATHAM, 1960), 640 Å in the medusae studied by BOUILLON and VANDERMEERSSCHE (1957), and 640 Å in *Pelagia* (CHAPMAN, 1959). The periodicity observed in our preparations of *Euphysa* is 260 Å. Much of this variation is probably due to differences in the preparation techniques employed or in the age of fibres.

The elastic fibres of siphonophores are shown in Figs. 7, 8 and 11, all in the contracted condition. They branch at their tips, the branches penetrating the granular layer in *Hippopodius*. They run across the mesogloea from one side to the other, and are concentrated in regions adjacent to the subumbrellar muscle layers. In 1956, samples of mesogloea from these regions where the fibres are densely aggregated were sent to Dr. K. M. RUDALL for X-ray diffraction study along with samples from non-fibrous regions. In the latter, collagen was abundant, but in the former only traces were found and other material, which could not be defined, was 'obviously present' (RUDALL, 1956). This non-collagenous component was presumably the elastic fibres.

The fibres are chemically inert, judged by their failure to stain with histological dyes, and by the difficulty with which they are seen under the electron microscope, even after lead and uranium staining. In whole mount preparations treated by a reduced silver method (Fig. 7) the silver precipitates on the fibres, but this is not necessarily an indication of chemical affinity. Chemical inertness is a characteristic of mature elastin in vertebrates, and this, coupled with the obvious mechanical elasticity of these fibres and their lack of periodic banding reinforces the evidence put forward by BOUILLON and VANDERMEERSSCHE that they are a form of elastin.

Mention should be made of the agranular zone adjacent to the *rete mirabile* (see above, p. 54). The mesogloea here stains a deeper blue in Mallory slides than elsewhere, suggesting proximity to a region of mesogloea synthesis. The nuclei of the *rete* are exceptionally large and are often lobulated or fragmented (CHUN, 1890; MÜNTER, 1912). They are strongly Feulgen positive, with conspicuous chromonemata. Cells of this type are not uncommonly found in tissues showing high synthetic or metabolic activity. The *rete* is large and covers most of the subumbrella roof in young necto-

(*) This sea-anemone has been renamed *Mimetricidium cryptum* (HAND (C.), 1961. Two new acontiate New Zealand sea anemones. *Trans. roy. Soc. New Zealand*, 1, 75-89).

phores but in those which have reached their definitive size the *rete* is vestigial, which implies that functional activity is greatest in the growing stage. Growth of nectophores is primarily a matter of expansion of the mesogloea. The covering cellular layers merely stretch out and become thinner. There will certainly be secretion of mesogloal materials during growth, and it is likely that the *rete* carries it out. BOUILLON and VANDERMEERSSCHE (1956) also implicate the endoderm in mesogloal synthesis in medusae.

The granules responsible for blanching, seen under the electron microscope, appear as electron-dense objects without any detectable sub-structure. They range in size from about 100 to 500 m μ , and are usually more or less spherical in form. They lie scattered in the collagen mesh, the fibrils appearing to adhere to them. Comparison of superficial mesogloea in *Hippopodius* and *Chelophyes* (which does not blanch) by electron microscopy reveals two major differences: the absence of granules in *Chelophyes* and the absence of a distinct basement membrane layer. In *Chelophyes*, the region immediately beneath the epidermal layer is occupied by a layer of regularly arrayed collagen fibres, and there is nothing comparable to the thick, electron-dense basement membrane (MACKIE, 1965). Whether this layer in *Hippopodius* is significant in terms of the blanching reaction has yet to be determined.

The mesogloea of *Hippopodius* thus contains three microscopically distinct components: 1. Granules responsible for blanching, 2. fine, dispersed fibrils, presumed to be collagen and 3. thick, branching fibre bundles, presumed to be a form of elastin. BOUILLON and VANDERMEERSSCHE (1956) demonstrated the presence of polysaccharides in the mesogloea of medusae, and on general grounds it may be assumed to be present as a fourth component, perhaps constituting a major component of the basement membrane in the case of *Hippopodius*.

EFFECTS OF REAGENTS

The supply of *Hippopodius* failed suddenly in late May 1964 before a clear picture of the chemistry of blanching could be obtained, but it is doubtful if in any event, with the rather simple methods adopted, much progress would have been made towards explaining the reactions involved. Blanching is apparently something quite unique, and needs serious biochemical study.

If a pinch of versene (E.D.T.A.) is added to sea water containing a strip of the granular layer, freed of its covering epithelium, the

strip deblanches within a few minutes. If the strip is then washed in clean sea water, blanching is restarted. It was found that acidification of the water has the same effect, and it therefore seemed possible that versene was causing deblanching because of its acidity. However, .02 % versene buffered to pH 7.9 with 0.1 M boric acid/sodium borate buffer also causes deblanching, so the mechanism is distinct from that given by acidification, and is perhaps due to chelation of Ca^{++} . Controls maintained in borax-buffered sea water did not deblanch.

Tests with natural sea water adjusted to various pH levels by addition of small quantities of HCl or NaOH indicated that maintenance of full blanching requires a pH over 7.0. Between pH 5.0 and 6.5 deblanching is rapid and complete. Below about pH 3.5 deblanching does not occur. Degrees of deblanching and the times taken to deblanch vary with pH, but accurate estimation of these variables was not obtained.

Deblanching produced by acids is reversible. Material can be washed in sea water and the granules reappear, and this can be repeated several times with some fall-off in the intensity of the response. Restoration of blanching following deblanching is not obviously dependent on a particular balance of ions, because isotonic NaCl adjusted to pH 7.9 with NaOH is effective in bringing it about. The nature of the acid or base used does not seem to be critical. Oxalic, citric and acetic acids all caused deblanching and sodium borate, sodium hydroxide and sodium bicarbonate all restored blanching.

The tonicity of the sea water does not seem to be very critical. Sea water concentrated by evaporation to 63 %₀₀ was buffered to pH 7.9 using one part of 0.1 M boric acid-borax buffer to ten parts of water. Mesogloal strips transferred to this solution remained blanched, and when deblanched with versene and returned to the solution, recovered their blanched condition. Sea water diluted to 12 %₀₀ was buffered at pH 7.9 and strips placed in it retained their blanched condition. However, deblanched pieces seem slow to recover their opacity when washed in this solution.

Some observations were made on tissue strips using small crystals placed directly on the mesogloal surface. Crystals of versene, citric acid and oxalic acid placed on the mesogloea produce similar effects (Fig. 9A and B). As the crystal begins to dissolve, a halo of deblanching appears around it, and gradually spreads out, but the area immediately under and around the crystal remains blanched until the crystal has dissolved completely. The two pictures were taken 2-1/2 minutes apart by electronic flash arranged to give a darkfield effect. It will be seen how the de-

blanching wave spreads out and invades surrounding areas. The retention of blanching in the area of highest solute concentration was noted in all cases. It is tempting to align this observation with the finding noted above that sea water below pH 3.5 fails to produce deblanching. An effect not shown in the photographs was seen in tests with citric acid crystals : the advancing halo of deblanching which spreads out around the crystal may show a dense white outer fringe at first, as if there was a transitional intensification of blanching which precedes deblanching. Mixtures of acid and basic crystals sprinkled on the surface of the mesogloea compete locally, producing interesting patterns.

All the foregoing tests were carried out on mesogloea from which the covering epithelium had been removed. If the epithelium is left intact it protects the granular layer to some extent and will delay the effects of versene and acids.

Some whole nectophores were fixed in alcohol or formalin and were then treated with acids and versene in concentrations which could cause deblanching of fresh material. No deblanching occurred, and the granules in this fixed material appeared insoluble. This suggests that they are not calcareous particles.

DISCUSSION

Coelenterate mesogloea can be regarded as a material equivalent to the acellular component of the connective tissue of higher animals and like the latter it varies widely from one species to the next and often in different regions of the same animal. KÖLLIKER (1865) clearly recognized this in his review and classification of mesogloea types. Cells may be present in the mesogloea, but, in the large number of cases where they are not, it must be assumed that the covering epithelia in whole or in part are specialized as the source of mesogloea materials. The consistency of the mesogloea varies from a flabby gel to a tough membrane to a rigid, calcified endoskeleton. By analogy with vertebrate connective tissues, these variations would appear to be due to differences in proportions of the fibrous proteins, proteinpolysaccharides, acid mucopolysaccharides, water and mineral salts present. The material is usually elastic and resilient but this is a variable factor. Scyphozoan jelly is more elastic than the mesogloea of sea anemones (ALEXANDER, 1965). *Hydra* mesogloea is tough, fibrous, elastic and resists penetration (SHOSTAK, PATEL and BURNETT, 1965). Elasticity may

be associated with the presence of specialized elastic fibres or it may be due to the way in which relatively inelastic collagen fibres are woven together into a yielding fabric. A whole spectrum of physical consistencies and textures is in evidence. If jellyfish mesogloea is incised, fluid collects quickly in the cut, showing that mesogloal fluid in this case is free to move within the substance of the mesogloea. This fluid is low in SO_4^{--} ion (Robertson, 1949), a deficiency which probably contributes to buoyancy (DENTON and SHAW, 1961). LENHOFF (1964) has shown that extracts of *Aequorea* mesogloea contain a substance which inhibits swimming in *Stomotoeca*. Now, we have a specialized mesogloal blanching system in *Hippopodius* and *Ceratocymba* as yet another example of the remarkable versatility of this material.

We have shown in this paper that the phenomenon of blanching is due to the formation of light-scattering granules in the mesogloea. The covering epithelium is clearly involved in the propagation of the response and in the subsequent restoration of transparency. These is, however, little to go on in attempting to explain the actual mechanisms involved in the formation and disappearance of the granules. It is unlikely that activation involves a diffusible, chemical substance secreted by the epithelium, since blanching can be turned on and off repeatedly by pH adjustments in mesogloea deprived of its epithelial covering. Possibly pH changes in the blanching layer are induced by the passage of the electrical change in the epithelium. According to the so-called 'Wien effect' alteration in the strength of an electrical field penetrating a medium containing acids in solution can cause an alteration in the pH of the medium. On the other hand, the experiments with versene suggest that calcium ions may be admitted into the mesogloea during the epithelial event, triggering granule formation in the blanching layer. Deblanching might thus represent pumping out of calcium ions by the epithelium. It would evidently be a slow process, much longer than the refractory period of the epithelium where impulse transmission was concerned.

Assuming that the granules are proteinaceous, the protein can be assumed to exist either in a dispersed form or, when aggregated, as visible granules. Such a change could be evoked by slight ionic changes in the mesogloal milieu, causing an alteration of the charge on the dispersed molecules and making them attract instead of repel one another. In attempting to elaborate some such hypothesis we are handicapped by a lack of precise knowledge on the composition of the mesogloal ground substance and the rapidity with which diffusion of materials can occur within it. It is perhaps unfortunate that workers on mesogloea have devoted more attention to the mechanical properties of the material, in

particular to its fibrous proteins, and less to questions of permeability and ion content.

A second discussion point concerns the role of blanching in the life of *Hippopodius*. Spectacular adaptations of planktonic animals such as transparency, luminescence, colour change, etc. are generally assumed to have evolved because they confer definite advantages on their possessors. It is not axiomatic that this must be so, but from what is known of the rigor with which natural selection operates in highly competitive situations of this sort it is unlikely that these phenomena have arisen and persisted meaninglessly. In the case of blanching we are dealing with one component of what is clearly a generalized protective response. The muscle responses are both protective. The curling in of the margin of the nectophores protects the most vulnerable region of these members. The drawing in of the stem protects it and the attached feeding and reproductive members from damage. Thus it may be assumed that the blanching and luminescent flash which accompany the muscle responses are also defensive in some way.

Hippopodius feeds on microscopic plankton and has no obvious means of defence against larger animals. Its one asset is its large size. It is well known that many birds, fishes and mammals show threatening or defensive displays involving erection of feathers, fins or hair which give the animal a larger and more formidable aspect. *Hippopodius* is normally almost invisible, but in the blanched or luminescent condition it looms up suddenly as a very large object, and would be avoided by schools of small fishes, euphausiids, etc. which otherwise might collide with it and damage it severely. The nectophores are very vulnerable to damage, having a covering epithelium only a few microns thick and lacking defensive spines or nematocysts. (*Vogtia*, a close relative, does not blanch, but has conspicuous spiny projections). Prevention of damage to the epithelium is probably important in more than one way. The epithelium is part of the stimulus-transmitting system (MACKIE, 1965). Also, it may be involved in adjusting the contained mesogloea from the point of view of buoyancy. JACOBS (1937) has shown that *Hippopodius* can make itself more or less dense, and since there is no adjustable gas-filled float such as some physonectid siphonophores possess, it must be assumed that the buoyant material, which is here the mesogloea, is susceptible to density adjustment. The findings of DENTON and SHAW (1961) suggest that active transport of lighter and heavier ions across the covering epithelium may here be responsible for density changes. Damage to the epithelium would presumably lead to an increase in density and descent into deeper and inhospitable water layers. Damaged

and moribund *Hippopodius* sink, while fresh ones can float without muscular exertion.

The question arises, if blanching is advantageous in making the animal visible, why is the blanched condition not retained permanently? It can only be supposed that the organism passes much of its time in situations where it is not threatened by collision and that invisibility here offers important advantages, perhaps in the business of food capture.

The bulk of this study was carried out at the Station Zoologique, Université de Paris, at Villefranche-sur-Mer during the spring of 1964 and we are indebted to Prof. Paul BOUGIS, Sous-Directeur, and to his Assistants and personnel for providing for our research needs and general well-being. M^{lle} Mari-Luz HERNANDEZ and Mrs. Leah MITCHELL helped with the electron microscopy. Prof. MAX PAVANS DE CECCATTY was instrumental in obtaining a photostat of the relevant passages from the rare work by Raphaël DUBOIS (1898). Mr. A. K. TOTTON and Dr. L. M. PASSANO collaborated in certain phases of the study, and their comments and suggestions were of great value. M^{me} Sabine BOUSANI drew Fig. 1, which is here reproduced from the *American Zoologist* by permission of Dr. Sears CROWELL. The trip to Villefranche was made possible by the award to G. O. MACKIE of a Post-Doctoral Overseas Research Fellowship by the National Research Council of Canada. The Council also made the award of an Operating Grant which provided for various research expenses, particularly use of the "Maurice Bedot" for collecting material in the environs of Villefranche and St. Jean - Cap Ferrat.

SUMMARY

Hippopodius, a transparent siphonophore, becomes opaque following tactile or electrical stimulation. This opacity is caused by the appearance of light-scattering granules in mesogloea of the nectophores. The response is a reversible one. Although the granules are produced extracellularly, transmission of the opaque response ('blanching') depends on the presence of intact covering epithelium, which is a non-nervous conducting tissue also capable of luminescence. Disappearance of the granules and resumption of transparency ('deblanching') also depends on the covering epithelium. The mesogloea contains two sorts of fibrous components, regarded as collagen and elastin, as well as the granules responsible for blanching. All three have been studied by optical

and electron microscopy. Experiments on the granules in living mesogloea show that their appearance and disappearance is influenced by pH changes, and by E.D.T.A. They are regarded as proteinaceous bodies. The biological significance of blanching is discussed.

RÉSUMÉ

Hippopodius est un Siphonophore transparent qui devient opaque à la suite d'une stimulation tactile ou électrique. L'opacité est due à l'apparition, dans la mésoglée des nectophores, de granules qui diffusent la lumière. Cette réponse de « blanchiment » est réversible. Quoique les granules soient extracellulaires, la transmission de la réponse d'opacité dépend de l'intégrité de l'épithélium de recouvrement qui est un tissu conducteur aneural, aussi capable de luminescence. La disparition des granules et le rétablissement de la transparence (le déblanchiment) dépendent aussi de cet épithélium. La mésoglée contient deux sortes de composants fibreux, considérés comme du collagène et de l'élastine qui, comme les granules de diffusion, ont été étudiés en microscopies photonique et électronique. L'expérimentation *in vivo* sur les granules de la mésoglée montre que leur apparition et leur disparition sont influencées par les changements de pH, et par l'E.D.T.A. Ils sont considérés comme des éléments protéiques. La signification biologique du blanchiment est enfin envisagée.

ZUSAMMENFASSUNG

Hippopodius, eine transparente Siphonophore, wird undurchsichtig wenn man sie durch Berührung oder elektrisch reizt. Die Opazität wird hervorgerufen durch das Auftreten von lichtstreuenden Körnchen in der Mesogloea der Schwimmglocken. Die Reaktion ist reversibel. Obwohl die Körnchen ausserhalb der Zellen entstehen, hängt die Übertragung der Opazität-Reaktion (« Milchweisswerden », « blanching ») von der Anwesenheit eines unversehrten Deckepithels ab, welches ein nicht-nervöses Leitgewebe darstellt, das auch Lumineszenz zeigt. Auch das Verschwinden der Körnchen und Wiederscheinen der Transparenz (« deblanching ») hängt vom Deckepithel ab. Die Mesogloea enthält zwei Arten von Faserkomponenten, die als Kollagen und Elastin angesehen wurden, und die

Körnchen die für das Milchweisswerden verantwortlich sind. Alle drei wurden mit Mikroskop und Elektronenmikroskop erforscht. Versuche an den Körnchen in der lebenden Mesogloea zeigen, dass ihr Auftreten und Verschwinden von Veränderungen im pH und von E.D.T.A. beeinflusst werden. Es wird angenommen, dass die Körnchen eiweissartig sind. Die biologische Bedeutung des Milchweisswerdens wird besprochen.

REFERENCES

- ALEXANDER, R. McN., 1963. Visco-elastic properties of the mesogloea of jellyfish. *J. exp. Biol.*, **XLI**, 363-369.
- BATHAM, E.J., 1960. The fine structure of epithelium and mesogloea in a sea anemone. *Quart. J. micr. Sci.*, **CI**, 481-485.
- BOUILLON, J. and G. VANDERMEERSSCHE, 1956. Structure et nature de la mésoglée des Hydro- et Scyphomeduses. *Ann. Soc. roy. zool. Belg.*, **LXXXVII**, 9-25.
- BULLOCK, T.H., 1943. Neuromuscular facilitation in Scyphomedusae. *J. cell. comp. Physiol.*, **XXII**, 251-272.
- CHAPMAN, D.M., C.F.A. PANTIN and E.A. ROBSON, 1962. Muscle in coelenterates. *Rev. Canad. Biol.*, **XXI**, 267-278.
- CHAPMAN, G., 1953. Studies of the mesogloea of coelenterates 1. Histology and chemical properties. *Quart. J. micr. Sci.*, **XCIV**, 155-176.
- CHAPMAN, G., 1959. The mesogloea of *Pelagia noctiluca*. *Quart. J. micr. Sci.*, **C**, 599-610.
- CHUN, C., 1888. Bericht über eine nach den Canarischen Inseln im Winter 1887-1888 ausgeführte Reise. *S.B. preuss. Akad. Wiss.*, **XLIV**, 1141-1173.
- CHUN, C., 1890. Die Bedeutung der direkten Kernteilung. *Schrift. Physik-ökon. Ges. Königsberg*, Jahrg. 31, Sitz.-Ber. April 30, 16-18.
- CHUN, C., 1897. Histologie der Hydromedusen in Klassen und Ordnungen des Thier-Reichs, Bd. II, Abt. 2 (ed. H.G. Bronn).
- DENTON, E.J. and T.I. SHAW, 1961. The buoyancy of gelatinous marine animals. *J. Physiol.*, **CLXI**, 14-15.
- DUBOIS, R., 1898. Leçons de Physiologie générale et comparée. Paris (Carré and Naud).
- GEGENBAUR, K., 1859. Neue Beiträge zur näheren Kenntnis der Siphonophoren. *Nova Acta Leop. Carol.*, **XXVII**, 333-424.
- GRIMSTONE, A.V., R.W. HORNE, C.F.A. PANTIN and E.A. ROBSON, 1958. The fine structure of the mesenteries of the sea-anemone *Metridium senile*. *Quart. J. micr. Sci.*, **XCIX**, 523-540.
- HERTWIG, H. and R. HERTWIG, 1879. Der Organismus der Medusen. Jena (Fischer).
- HUXLEY, T.H., 1859. The Oceanic Hydrozoa. London (Ray Soc.).
- IWANTZOFF, N.A., 1928. Beiträge zur Kenntnis der Histologie der Siphonophoren. *Bull. Soc. Nat. Moscou*, **XXXVII**, 1-36.

- JACOBS, W., 1937. Beobachtungen über das Schweben der Siphonophoren. *Zeit. vergl. Physiol.*, **XXIV**, 583-601.
- JOSEPHSON, R.K., 1965. Three parallel conducting systems in the stalk of a hydroid. *J. exp. Biol.*, **XLII**, 139-152.
- KAWAGUTI S. and T. HAMAKOSHI, 1963. Electron microscopic studies on the striated and smooth muscles of an anthomedusa, *Spirocodon saltatrix*. *Biol. J. Okayama Univ.*, **IX**, 127-139.
- KÖLLIKER, A., 1853. Die Schwimmpolypen oder Siphonophoren von Messina. Leipzig (Engelmann).
- KÖLLIKER, A., 1865. Icones Histologicae oder Atlas der vergleichenden Gewebelehre. Leipzig (Engelmann).
- KOROTNEFF, A., 1884. Zur Histologie der Siphonophoren. *Mitt. Zool. Sta. Neapel*, **V**, 229-288.
- LELOUP, E., 1935. Les siphonophores de la Rade de Villefranche-sur-Mer (Alpes-Maritimes, France). *Bull. Mus. Hist. Nat. Belg.*, **XI**, 1-12.
- LENHOFF, H.M., 1964. Reversible inhibition of swimming in *Stomatoca atra* by mesogloal extracts of some other medusae. *Biol. Bull.*, **CXXXVI**, 115-120.
- MACKIE G.O., 1964. Analysis of locomotion in a siphonophore colony. *Proc. roy. Soc. B.*, **CLIX**, 366-391.
- MACKIE G.O., 1965. Conduction in the nerve-free epithelia of siphonophores. *Amer. Zool.*, **V**, 439-453.
- MACKIE G.O. and G.V. MACKIE, 1963. Systematic and Biological notes on living Hydromedusae from Puget Sound. *Contr. Zool. Nat. Mus. Canada*, **Bull. CXCIX**, 63-84.
- MACKIE G.O., L.M. PASSANO et PAVANS DE CECCATTY, 1967. Physiologie du comportement de l'Hydroméduse « *Sarsia tubulosa* » Sars. Les systèmes à conduction aneurale. *C.R. Acad. Sc. Paris*, **CCLXIV**, 466-469.
- MOORE, A.R., 1926. Inibizione della luminescenza nei ctenofori. *Arch. Sci. Biol. Napoli*, **VIII**, 112-123.
- MOSER, F., 1925. Die Siphonophoren der Deutschen Südpolar Expedition, 1901-03. *Dtsch. Südpol. Exp.*, **XVIII**, Zool. 9, 1-541.
- MÜNTER, H., 1912. Inaugural-Dissertation. Zoologisches Institut, Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster.
- NICOL, J.A.C., 1958. Observations on luminescence in pelagic animals. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **XXXVII**, 705-752.
- PIEZ, K.A. and J. GROSS, 1959. The amino acid composition and morphology of some invertebrate and vertebrate collagens. *Biochim. Biophys. Acta*, **XXXV**, 24-39.
- QUOY, J.R.C. and J.P. GAIMARD, 1827. Observations zoologiques faites à bord de l'Astrolabe en mai 1826 dans le détroit de Gibraltar. *Ann. Sc. nat.*, **X**, 1-56.
- ROBERTSON, J.D., 1949. Ionic regulation in some marine invertebrates. *J. exp. Biol.*, **XXVI**, 182-200.
- ROSS, D.M. and C.F.A. PANTIN, 1940. Factors influencing facilitation in Actinozoa. The action of certain ions. *J. exp. Biol.*, **XVII**, 61-73.
- RUDALL, K.M., 1956. Unpublished studies on material provided by the

authors, cited in part by L.E.R. Picken, 1960. The organization of cells and other organisms. Oxford (Clarendon Press).

SHOSTAK, S., N.G. PATEL and A.L. BURNETT. The role of mesogloea in mass cell movement in *Hydra*. *Devel. Biol.*, **XII**, 434-450.

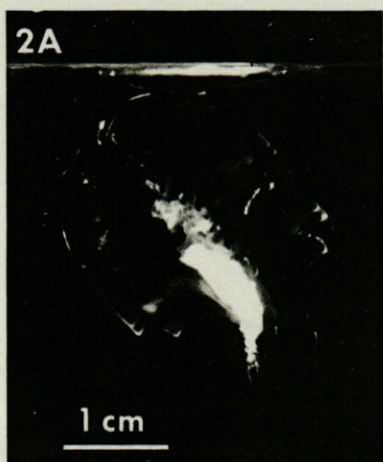
TOTTON, A.K., 1965. A synopsis of the Siphonophora. London (British Museum).

Reçu le 14 octobre 1966.

authors cited in part by L.H.R. Picken, 1966. The organization of cells and other organisms. Oxford (Clarendon Press).
ZNAJAN, S., N.G. PATRICK and A.L. BURGESS. The role of mesogloea in mass cell movement in Hydra. Devol. Biol. 43: 434-450.
TORTOR, A.K., 1965. A synopsis of the Siphonophora. London (British Museum).

Recd. 15 October 1966.

- FIG. 2. A. Unblanched *Hippopodius*. - B. The same specimen blanched.
FIG. 3. A. Blanched mesogloea, showing overlapping waves of opacity. -
B. The same, after 5 minutes, showing some loss of opacity.



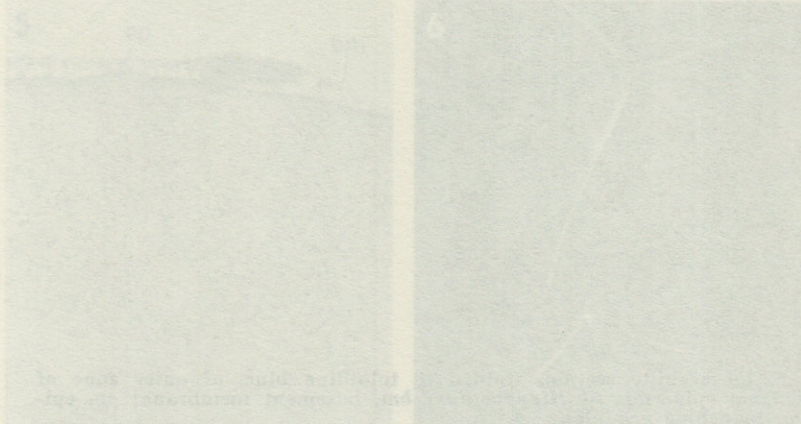
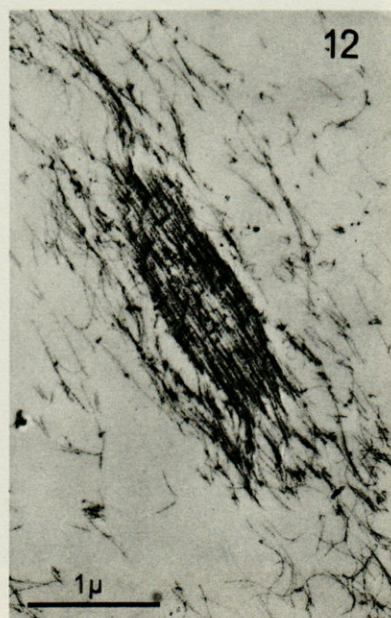
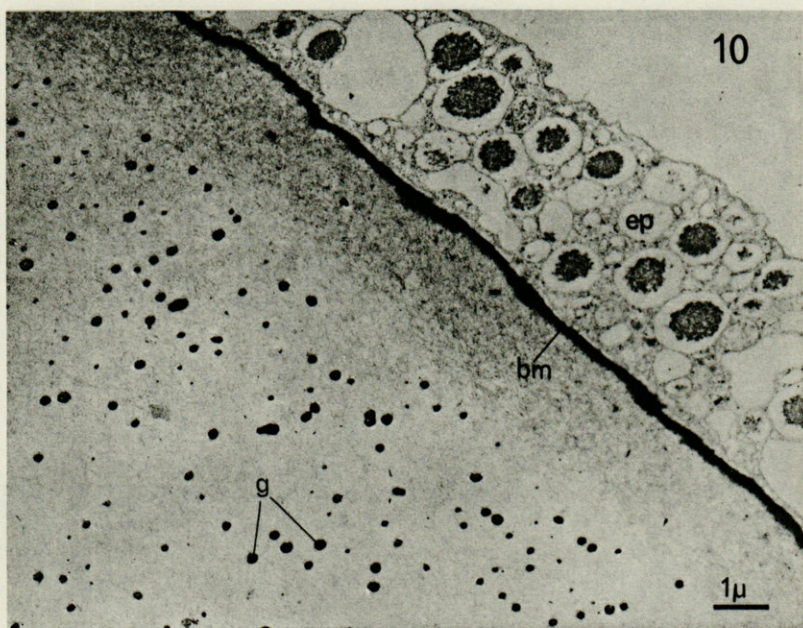


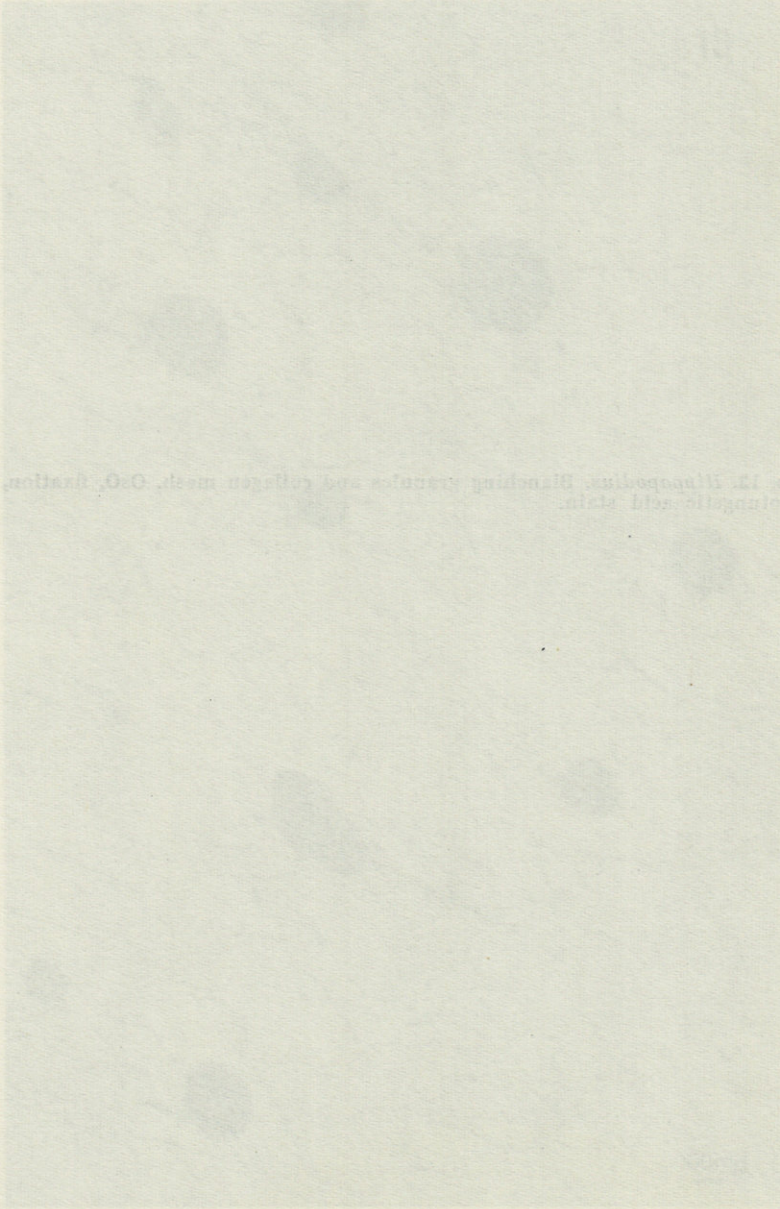
FIG. 10. *Hippopodius*. Low power electron micrograph of area similar to that shown in Fig. 5 (for lettering see Fig. 5) Os_4O fixation. Lead citrate stain.

FIG. 11. *Nanomia cara* (O. Physonectae). Elastic fibre. OsO_4 fixation. Uranyl-acetate and lead citrate stain.

FIG. 12. *Euphysa flammea* (O. Anthomedusae). Collagen bundle. OsO_4 fixation.







Pro 12. Blausäure, Blausäure, Ammoniak und Wasser in der G.O. Reaktion.
phosphorische Säure

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES GORGONES (VI) : LA DÉNUDATION DES BRANCHES DE GORGONES PAR DES MOLLUSQUES PRÉDATEURS

par Jacques THEODOR

Laboratoire Arago, 66-Banyuls-sur-Mer

Un pourcentage non négligeable de colonies d'*Eunicella stricta* possède une ou plusieurs branches dépouillées de leur coenenchyme. A titre indicatif, sur un fond de 25 mètres dans les environs de Banyuls-sur-Mer, sur un total de 45 Gorgones, 8 de ces colonies avaient 1 branche dénudée, 3 colonies : 4 branches, 2 colonies : 5 branches, 1 colonie : 6 branches, 1 colonie : 7 branches, 1 colonie : 12 branches, 1 colonie : 100 % de ses branches (soit 20 branches).

Sur les axes ainsi devenus apparents se fixent des larves d'organismes animaux (LAUBIER, 1966, p. 131) et végétaux parmi lesquels les Octocoralliaires : *Parerythropodium coralloides* et *Rolandia coralloides*, le Serpulidé *Salmacina dysteri*, les Bryozoaires : *Hippodiplosia fascialis*, *Sertella sp.*, *Porella cervicornis*, *Schismopora avicularis*, *Valkeria tuberosa*, *Pherusella tubulosa*, *Amathia pruvoti*, *Cellaria fistulosa*, *Schizobrachiella sanguinea* (ces trois derniers signalés par MÉDIONI, verbatim); *Clavelina lepadiformis*, *Distomus variolosus*, *Didemnum maculosum* chez les Ascidies, enfin VAN DER BEN (note en préparation) a fait un premier relevé de nombreuses (54) espèces d'Algues épibiotes.

Nous avons vu ailleurs (THEODOR, 1964) que certains organismes végétaux et animaux (Foraminifères, Copépodes Harpacticides, Algues, ...) se laissaient emprisonner par le coenenchyme régénéré sur ces épibiotes de l'axe et continuaient à vivre dans la poche ainsi formée.

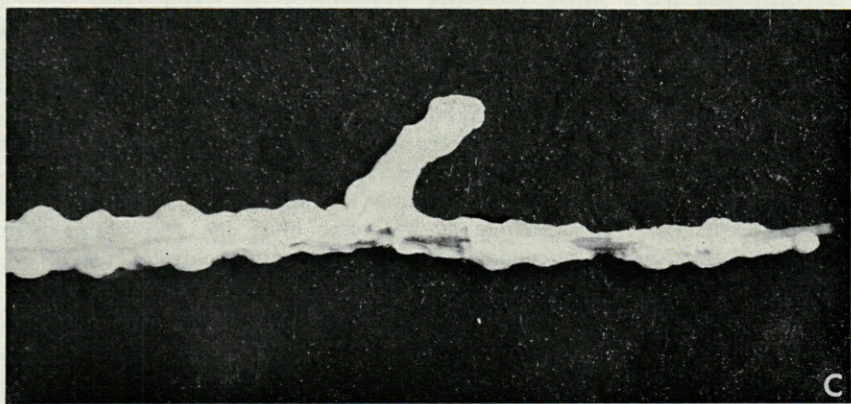
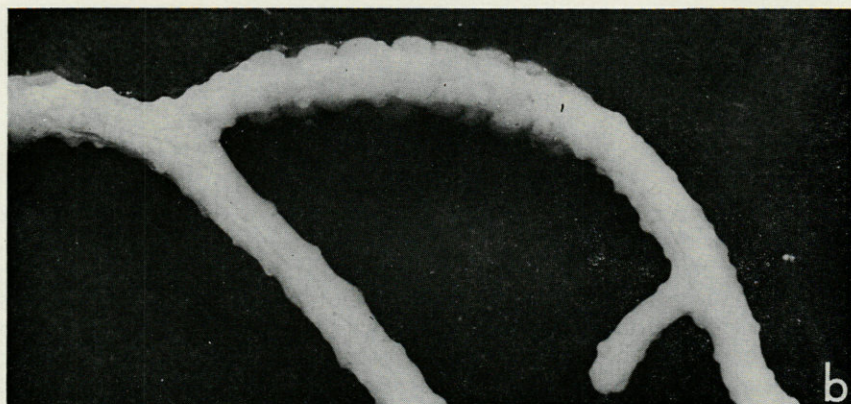
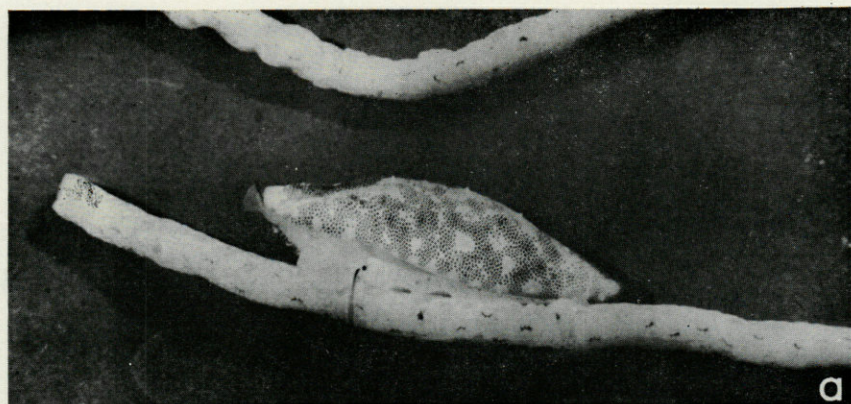


FIG. 1. a, *Simnia spelta* sur une branche de Gorgone; b, manchon d'œufs; c, effets de la prédation.

Il est apparu que le principal responsable de la dénudation des branches est le Gastéropode prédateur mimétique, *Simnia spelta* L., à ponte également mimétique.

BAYER (1956) signale que, aux Antilles, tous les représentants de la famille des Ovulidés sont commensaux de Gorgonacés ou d'Alcyonacés. Le même auteur ajoute plus tard (1961) à propos de 3 espèces appartenant au genre *Cyphoma* : « Their spotted mantles, which completely cover the shell, provide effective camouflage in spite of bright coloration. The feeding habits of *Cyphoma* are unknown so its relationship to the host is not clear. Its eggs are deposited in gelatinous capsules on the surface of the gorgonian branches. »

La première description d'un Ovulidé a été donnée par LINNÉ (1758). Il s'agit précisément de *Bulla spelta* que LAMARCK, en 1822, rattache au genre *Ovula* créé par BRUGIÈRES en 1789. LEACH en 1826 crée le sous-genre *Simnia* dont HERMANNSEN indique *Ovula spelta* comme type.

SOWERBY crée une variété ex forma : *obtusa*; MONTEROSATO (1878) décrit une variété ex colore : *roseo-carnea*.

En ce qui concerne l'habitat, BUCQUOY, DAUTZENBERG et DOLLFUS (1882) signalent que le Dr PENCHYNAT « qui connaît admirablement la faune malacologique de notre littoral, ... nous a communiqué ce fait intéressant qu'il a toujours rencontré les Ovules sur des Gorgones ou sur les pierres auxquelles se trouvaient attachés ces polypiers ».

Lors de récoltes de Gorgones de l'espèce *Eunicella stricta* par petits fonds à Banyuls, j'ai fréquemment observé la présence sur les branches de cette Gorgone du Gastéropode *Simnia spelta* qui, lorsque les polypes colorés en brun par les Zooxanthelles symbiotiques sont épanouis, est remarquablement mimétique.

Le manteau recouvrant la coquille de ce Mollusque est orné de taches formées de points brun-rouge rappelant par leur coloration et leur disposition l'aspect de polypes en extension (Fig. 1, a). De même le manteau rétracté qui découvre une coquille entièrement blanchâtre rend l'animal presque invisible lorsque les polypes sont eux aussi rétractés.

Je n'ai dans les conditions de vie captive observé aucun synchronisme entre les rétractions des polypes de la colonie et du manteau du Gastéropode.

J'ai élevé en aquarium quelques spécimens de ce Mollusque et j'ai constaté que les pontes de *S. spelta* sont mimétiques. Elles sont disposées autour des branches en nombreux manchons dont la longueur individuelle n'exécède pas 15 mm (Fig. 1, b); les petits sacs contenant les œufs (plusieurs dizaines) présentent la forme de capsules aplaties et, de plus, étant partiellement translucides ils sont difficiles à distinguer. Peu élevées, ces capsules ont le même aspect que les calices refermés des polypes.

Les premières pontes ont été observées fin mai, les spécimens avaient été récoltés début avril. L'année suivante les accouplements entre spécimens récoltés trois semaines auparavant ont débuté les premiers jours de mars. J'ai observé les premières pontes fin mars et en ai relevé jusqu'à fin septembre (arrêt des observations).

Le manchon d'œufs, isolant du milieu ambiant une portion de branche, provoque d'ordinaire la nécrose du coenenchyme sous-jacent, dénudant ainsi l'axe sur la longueur de la ponte. En cinq mois une colonie de taille moyenne a été entièrement dénudée par un recouvrement serré de manchons d'œufs de *S. spelta*.

Ces Ovulidés se rencontrent exclusivement sur des branches de Gorgones dont elles se nourrissent. On peut, en effet observer que des calices sont déchiquetés, et les loges de polypes vidées de leur contenu (Fig. 1, c).

J'ai fait l'expérience d'isoler un *S. spelta* en lui donnant pour seule nourriture un rameau d'*E. stricta*. Après trois mois ce *Simnia* semblait être en parfaite condition et avait doublé de taille. Le corps du Mollusque dissous dans de l'eau de Javel a montré qu'il contenait des spicules en forme de massue caractéristiques de l'épithélium externe d'*E. stricta* de même que les spicules en forme d'aiguille disséminées dans le mésenchyme.

A. VAYSSIÈRE (1923) signale que l'alimentation de *S. spelta* est inconnue mais ce même auteur a observé dans les excréments d'un *Ovula ovum* provenant de Nouméa la présence de spicules d'Alcyonidés. Il en conclut que les zooïdes doivent constituer la base de la nourriture de ce Mollusque.

Il est apparu expérimentalement que l'activité dévastatrice du prédateur, s'il se nourrit d'une seule branche n'est pas compensée par le pouvoir, pourtant élevé, de régénération de *E. stricta*. Cette prédation alimentaire contribue à dénuder les branches de la Gorgone. M. V. LEBOUR (1932-33) rapporte que les adultes de *Simnia patula* peuvent vivre pendant des mois en se nourrissant des tissus d'*Alcyonium*.

J'ai trouvé ces prédateurs sur deux formes d'*Eunicella stricta* : la forme classique avec Zooxanthelles et une forme sciaphile dépourvue de ces Algues symbiotiques.

Sur une *Lophogorgia sarmentosa*, Gorgone de couleur rouge-brique et à polypes blancs, j'ai relevé la présence de *Simnia spelta* var. *roseo-carnea* dont la coquille a sensiblement la même coloration que la Gorgone et dont le manteau également rouge-brique et parfaitement mimétique est moucheté de points blancs.

Ces observations permettent de préciser certaines relations existant entre des représentants de la famille des Ovulidés et des Gorgones.

La fixation de larves d'Hydrides, Anthozoaires, Bryozoaires et autres organismes fréquemment trouvés sur les Gorgones se fait sur l'axe dénudé par prédation ou par nécrose du coenenchyme. Les observations faites sur l'espèce *S. spelta* fournissent une explication de ce dénudement.

Il est probable que les autres Ovulidés, signalés comme commensaux de Gorgones antillaises, eux aussi souvent colorés comme leur hôte, déposant également leur ponte en capsules gélatineuses sur les branches des Gorgones, ont les mêmes relations avec les Gorgones qui les portent.

Notons enfin que *S. spelta* et *S. spelta* var. *roseo-carnea* sont des Gastéropodes nouveaux pour la côte des Albères.

RÉSUMÉ

Simnia spelta, Gastéropode mimétique de Gorgones pond des manchons d'œufs également mimétiques sur les branches de ces colonies. *S. spelta* se nourrit du coenenchyme de ces Anthozoaires. Ces observations précisent les relations existant entre les Ovulidés et les Gorgonacés, et expliquent le dénudement de nombreuses branches de Gorgones.

SUMMARY

Simnia spelta, mimetic gastropod living on gorgonians lays mimetic eggs around the branches of these colonies. *S. spelta* feeds on the flesh of these Anthozoa. These observations show the relations existing between ovulid mollusks and gorgonacea; they also explain why numerous gorgonian branches are denuded.

ZUSAMMENFASSUNG

Simnia spelta, ein mimetischer Gastropod der Gorgonien, legt seine ebenfalls mimetischen Eier um die Zweige der Kolonie. Er ernährt sich vom Coenenchym dieser Anthozoe. Unsere Beobachtungen zeigen die Beziehungen, die zwischen den Ovuliden und den Gorgonaceen existieren; sie erklären, ebefalls, warum viele Gorgonienzweige kahl sind.

BIBLIOGRAPHIE

- BAYER, F.M., 1956. Octocorallia. In : MOORE, R. (Ed.). Treatise on Invertebrate Paleontology, Part F, Coelenterata. Geol. Soc. America and University of Kansas Press.
- BAYER, F.M., 1961. The shallow-water Octocorallia of the West Indian region. The Hague. Martinus Nijhoff.
- BUCQUOY, E., P. DAUTZENBERG et G. DOLLFUS, 1882. Les Mollusques marins du Roussillon. J.B. Baillière, Paris.
- LAUBIER, L., 1966. Le coralligène des Albères. Monographie biocénotique. *Annales Inst. océanogr.*, 43 (2) : 137-316.
- LEBOUR, M.V., 1932-33. The larval stages of *Simnia patula*. *J. Mar. Biol. Assoc.*, 18.
- THEODOR, J., 1964. Contribution à l'étude des Gorgones II. - Ecologie : La faune et la flore contenues dans des excroissances de l'axe d'*Eunicella stricta* (sensu Rossi). Volume Jubilaire dédié à Georges PETIT. Suppl. 17, *Vie Milieu*.
- VAYSSIÈRE, A., 1923. Recherches zoologiques et anatomiques sur les Mollusques de la famille des Cypraeidés. 1^{re} part. *Ann. Mus. Hist. Nat. Marseille - Zool.*, XVIII.

Reçu le 2 août 1966.

SUMMARY

Simnia spelta, a minute gastropod living on gorgonian larvae, is found in the branches of these colonies. Its minute eggs around the branches of these colonies. These observations show the relations existing between gorgonian mollusks and gorgonians; they also explain why numerous gorgonian branches are denuded.

ZUSAMMENFASSUNG

Simnia spelta, ein winziger Gastropod der Gorgonien, lebt seine ebenfalls winzigen Eier um die Zweige der Kolonien. Unsere Beobachtungen zeigen die Beziehungen, die zwischen den Ovidien und den Gorgonien bestehen; sie erklären ebenfalls, warum viele Gorgonienzweige kahl sind.

décrire. Il a été possible de les observer pendant temps, de sorte que nous pouvons donner, en plus de la description systématique, quelques indications sur leur biologie.

La présence de Capitellidés dans la ponte de *Loligo* a été déjà observée plusieurs fois.

Holm et Jägerskiöld (1937) ont trouvé en été également à Banyuls dans des pontes de calmars des Capitellidés qui appartenaient à une espèce nouvelle.

OBSERVATIONS SUR UN CAPITELLIDÉ (*CAPITELLA HERMAPHRODITA* sp. n.) ET D'AUTRES POLYCHÈTES HABITANT LA PONTE DE *LOLIGO VULGARIS*

par

Sigurd v. BOLETZKY
Laboratoire de Zoologie
de l'Université de Bâle

Wolfgang DOHLE
Institut de Zoologie
de l'Université de Kiel

Laboratoire Arago, 66 - Banyuls-sur-Mer (1)

des familles suivantes : Spilidae, Amphipoda, Sabelidae.

Les Spilidae, Amphipoda (Caprellidae) n'avaient été trouvés qu'à Banyuls-sur-Mer.

La présence des Capitellidés dans la ponte de *Loligo* a été signalée pour la première fois par Holm et Jägerskiöld (1937) à Banyuls-sur-Mer.

SOMMAIRE

Cinq espèces de Polychètes trouvées dans des pontes de *Loligo* à Banyuls-sur-Mer sont signalées. L'une d'elles, *Capitella hermaphrodita* sp. n., est décrite en détail. La pénétration, la nutrition et la reproduction dans les pontes ont été observées ainsi qu'une partie du développement des larves pélagiques.

Les cas les plus intéressants sont ceux de l'infestation d'un calmars par un Sabelidé et un Amphipode, dont le corps est rempli de ces animaux.

INTRODUCTION

Pendant les mois de mars à mai 1966, nous avons trouvé dans plusieurs pontes de *Loligo vulgaris* provenant de la région de Banyuls-sur-Mer 26 Polychètes de la famille des *Capitellidae* qui appartiennent (à une exception près) à une espèce non encore

(1) Nous remercions vivement M. le Professeur P. DRACH de l'hospitalité dont nous avons bénéficié dans son Laboratoire. Nos remerciements sincères s'adressent également à M. L. LAUBIER qui a bien voulu s'occuper de la correction du manuscrit français.

décrite. Il a été possible de les observer quelque temps, de sorte que nous pouvons donner, en plus de la description systématique, quelques indications sur leur biologie.

La présence de Capitellidés dans la ponte de *Loligo* a été déjà observée plusieurs fois.

HARANT et JECKLIN (1933) avaient récolté en été, également à Banyuls, dans des pontes de calmar des Capitellidés qui appartiennent très vraisemblablement à la même espèce que ceux trouvés par nous, mais qui ont été déterminés — à une réserve près — comme *Capitostomus minimus* Langerhans.

O. HARTMAN (1947) mentionne une espèce nouvelle : *Capitella ovincola* qui a été récoltée en juin 1931 sur des pontes de calmar dans la baie de Monterey (Californie), puis (HARTMAN, 1959) une sous-espèce nouvelle : *Capitella capitata floridana*, également trouvée dans des pontes de calmar.

Enfin J.A. MCGOWAN (1954) décrit des infestations abondantes des pontes de *Loligo opalescens* par *Capitella ovincola* à La Jolla (Californie).

A notre connaissance, aucune autre Polychète n'a été signalée dans les pontes de *Loligo*. Nous avons trouvé à Banyuls, dans les pontes infestées par les Capitellidés, un représentant de chacune des familles suivantes : *Syllidae*, *Lumbrineridae*, *Sabellidae*.

Le Syllidé, *Exogone verugera* (Claparède), n'avait pénétré qu'à la périphérie des gélamines. Il se déplace dans la gélamine nidamentaire roulée (1), à l'aide de sa trompe évaginable et de ses soies robustes.

Quant au Lumbrinéridé, il s'agit de *Lumbrineris impatiens* (Claparède). L'animal a été trouvé à la surface d'un cordon de ponte, mais il est entré par la suite sous la membrane superficielle. Transféré sur un nouveau cordon, il a pénétré par contre dans les couches profondes de la gélamine nidamentaire.

Le cas le plus curieux est sans doute celui de l'infestation d'un cordon de ponte par un Sabellidé d'une longueur de 2 cm à peu près (*Megalomma vesiculosum* (Montagu), juvénile), dont le corps était profondément enfoncé dans la gélamine nidamentaire. A la surface du cordon, il avait construit un tube de grains de sable et de détritrus, d'une longueur de 6 mm, tandis qu'à l'intérieur des gélamines, il avait sécrété un simple tube muqueux, dans lequel le corps et la couronne branchiale pouvaient se retirer entièrement.

Nous avons sorti l'animal et l'avons mis sur un autre cordon. Il n'a pas pénétré dans les enveloppes, mais a seulement formé un tube muqueux au fond du récipient. Il n'a par conséquent pas été

(1) Voir L. JECKLIN (1934), sur la structure des gélamines de ponte.

possible d'observer comment ce Sabellidé a été capable de pénétrer, l'abdomen en avant, dans l'enveloppe gélatineuse.

Ces trois espèces se trouvent normalement dans la vase et ne semblent être parvenues sur la ponte que par hasard. Le même cas se trouve chez une femelle de *Capitella capitata* Fabricius (1). L'espèce nouvelle que nous allons décrire semble cependant être inféodée à cet habitat. Cette supposition est fondée, non seulement parce que cette espèce n'a apparemment pas encore été trouvée libre dans la région considérée (LAUBIER et PARIS, 1962; LAUBIER, 1966), mais aussi parce qu'elle se reproduit dans les cordons de ponte.

CAPITELLA HERMAPHRODITA sp. n.

Matériel examiné : 25 individus récoltés dans des pontes de *Loligo*, chalutées dans la région de Banyuls-sur-Mer.

L'holotype et les paratypes sont déposés à l'Institut de Zoologie de l'Université de Kiel, 23 Kiel (Allemagne).

Les animaux ont l'aspect d'une très petite et mince *Capitella capitata*. Le prostomium est conique, obtus, séparé du segment buccal par une faible suture. Celle-ci disparaît au cours de l'anesthésie ou de la fixation. Elle se voit bien chez l'animal rampant, le prostomium s'élargissant en forme de spatule, tandis que le segment buccal se rétrécit en forme de cou. Les yeux se présentent comme deux points foncés au bord postérieur du prostomium. Ils sont enfoncés, situés directement sur le cerveau et ne sont par conséquent visibles (chez l'animal fixé) que dans un produit éclaircissant. Il n'y a aucune trace d'organes nucaux.

Les 4 premiers segments sétigères portent des soies capillaires aux deux rames (Fig. 1a). Le nombre de 4 segments à soies capillaires est fixe; nous l'avons trouvé chez tous les spécimens. Ces 4 segments sont en outre caractérisés par de faibles étranglements intersegmentaires et par l'absence d'un sillon ventral. Les soies capillaires ont la forme habituelle de *Capitella*. Elles sont faiblement géniculées et limbées.

5 segments avec uniquement des soies en crochet suivent au thorax. Nous n'y avons jamais trouvé de soies capillaires. On attache depuis quelque temps une grande valeur — peut être exagérée — à la forme des soies en crochet. Leur structure fine n'est en tout cas pas facile à reconnaître, même dans l'acide lactique

(1) Formule de soies : notopod. 7 s + 2 h, neuropod. 5 s + 1 s/h + 3 h.

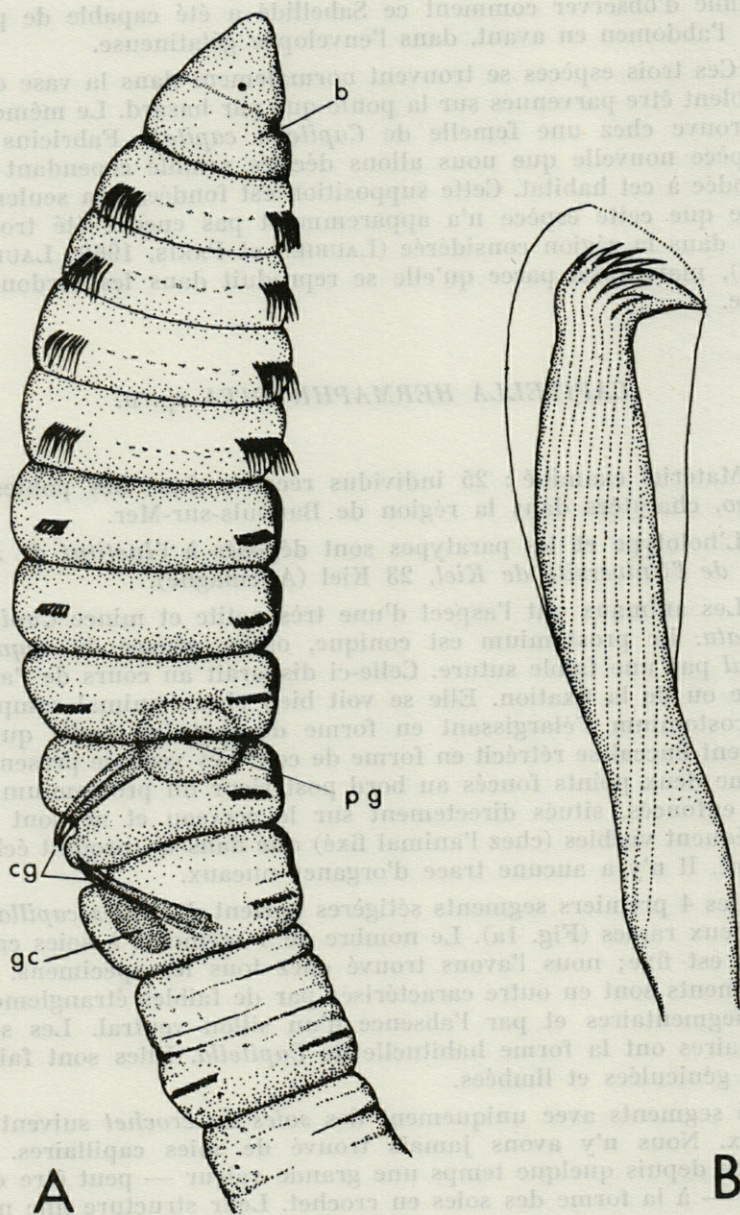


FIG. 1. — A. Holotype de *C. hermaphrodita*. *b.* bouche; *c.g.*, crochets génitaux; *g.c.*, «glande copulatrice»; *p.g.*, pore génital. - B. Soie en crochet.

et sous des grossissements supérieurs à 1 000. Elles ont un croc robuste, courbé vers l'extérieur. Leur hampe porte des nervures longitudinales qui se terminent à l'extrémité en pointes dégagées. On trouve au moins 10 de ces pointes arrangées en direction du croc (Fig. 1b).

Les deux derniers segments du thorax, huitième et neuvième segments sétigères, peuvent posséder les *crochets génitaux* caractéristiques du groupe apparenté à *Capitella* (*Capitellides*, *Capitomastus*, *Branchiocapitella*), en général deux de chaque côté, et par chacun des deux segments. Ceux du huitième segment sétigère sont disposés vers l'arrière, ceux du neuvième vers l'avant.

Entre ces derniers se trouve la « glande copulatrice ». Un pore génital, entouré d'éléments glandulaires chez les animaux ovigères, se trouve des deux côtés de l'étranglement entre le septième et le huitième segment sétigère. Nous reviendrons plus tard sur la question des crochets génitaux et de l'hermaphroditisme des animaux.

La limite entre le thorax et l'abdomen est fixée après le neuvième segment sétigère, ce qui est justifié par les faits suivants : les *segments thoraciques* peuvent se contracter plus fortement à l'aide d'une musculature vigoureuse, et cette région apparaît plus épaisse, notamment chez les animaux fixés. Les faisceaux de soies sont ici situés au milieu du segment non annelé. Les *segments abdominaux* sont allongés, légèrement annelés, les tores uncini-gères sont placés à l'extrémité postérieure du segment. Les ovaires sont disposés à partir du dixième segment sétigère et se trouvent dans 20 à 30 segments. Il n'y a pas d'organes latéraux ni de branchies. La taille des segments abdominaux diminue vers l'extrémité anale. Le corps se termine par une zone de 5 segments environ, dans lesquels les soies ne sont qu'ébauchées. Il existe en tout entre 45 et 65 segments abdominaux.

Le pygidium est en forme de bourrelet, dépourvu d'appendices. Dans un cas, le pygidium a formé, sans blessure apparente, une bifurcation.

D'autres caractères extérieurs, qui sont généralement indiqués dans les descriptions, se sont montrés impropres au traitement du matériel fixé, parce qu'ils sont variables suivant l'état des animaux. Nous les énumérons ci-dessous. *Taille* : un animal peut facilement s'allonger jusqu'à trois fois sa longueur au repos. Dans le fixateur, il a tendance au contraire à se contracter et se rouler. Dans une solution anesthésique de $MgCl_2$, la taille des animaux varie de 18 à 34 mm, elle est donc considérablement au-dessous de celle des exemplaires de *Capitella capitata* comptant le même nombre de segments. La *couleur* dépend principalement de la teinte rouge des plaquettes sanguines qui flottent dans la cavité coelomique incom-

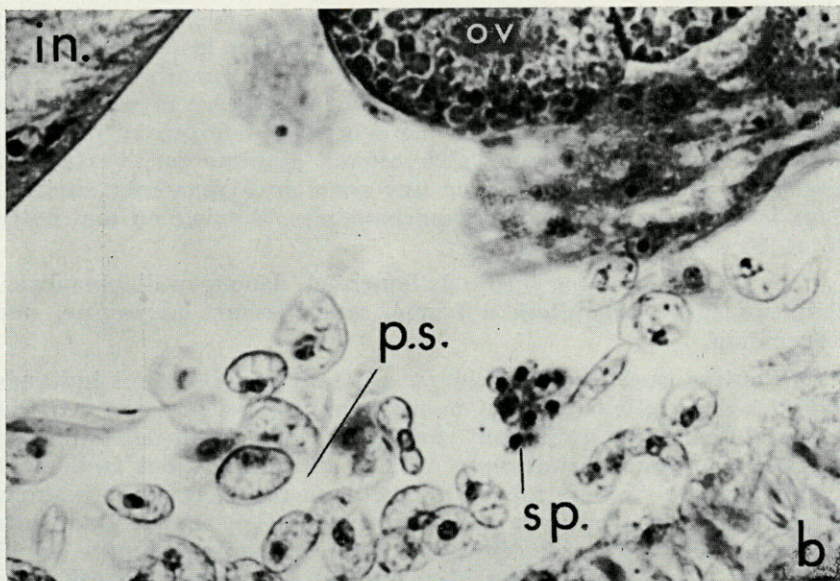
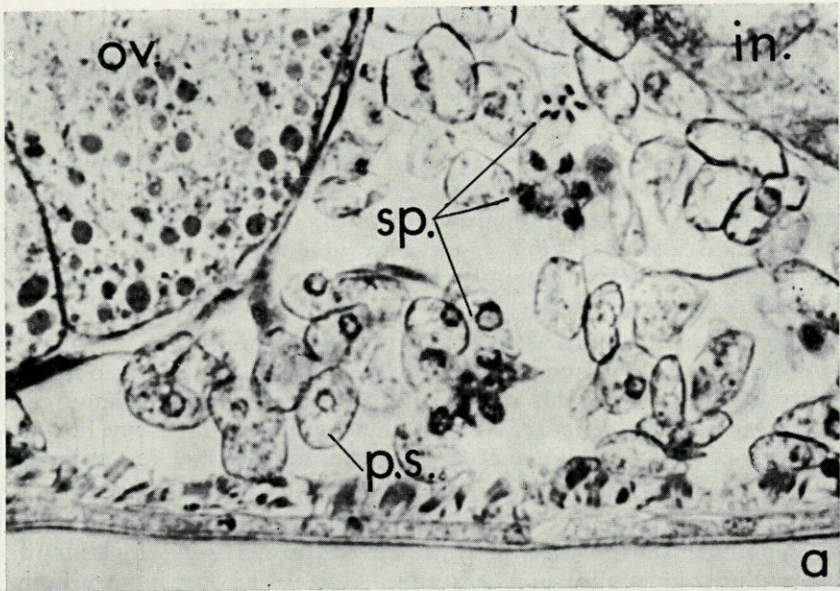


FIG. 2. — Coupe du 12^e segment abdominal de l'holotype. A. « Spermato-sphaeren » (sp) dans différents stades de développement. - B. « Spermato-sphaere » avec spermatocytes. *p.s.*, plaquettes sanguines; *o.v.*, ovaire; *in.*, intestin.

plètement divisée. Elles s'agglutinent souvent passagèrement, en formant ainsi des taches rouges. La musculature est d'un rouge plus clair qui ressort notamment dans la région thoracique. L'intestin moyen est vert-jaunâtre. Il part de la limite entre le thorax et l'abdomen. Les ovaires mûrs sont jaune vif. Dans la peau de la région abdominale se trouvent de petites taches de pigment brun et bleu-vert.

La distribution des *néphridies* n'est pas possible à reconnaître chez l'animal fixé et souvent difficile chez l'animal vivant écrasé entre deux lames. Elles apparaissent à partir du neuvième segment sétigère et sont disposées à raison d'une paire par segment, sans redoublement.

Il reste à envisager la distribution des crochets génitaux et la *nature du sexe*. Des animaux sans aucune trace d'ovaires portent des crochets génitaux au huitième et au neuvième segment sétigère. Parmi les animaux qui présentent des ébauches distinctes d'ovules, certains possèdent 7 à 10 crochets dans chaque notopode du huitième et du neuvième segment sétigère, alors que d'autres ont au lieu de ceux-ci, 2 crochets génitaux de chaque côté. En outre, nous avons trouvé des animaux ovigères possédant au huitième segment sétigère des crochets normaux, mais au neuvième des crochets génitaux. Chez un exemplaire, nous avons même vu en plus de 2 crochets génitaux courts, 2 crochets normaux. Cette conformation remarquable nous a conduit à examiner plusieurs animaux écrasés et en préparations histologiques pour étudier leur sexe. Nous avons ainsi constaté que les animaux ovigères, aussi bien que ceux sans œufs, forment des spermatozoïdes. Les animaux ovigères portent dans leur cavité du corps non seulement des spermatozoïdes qui bougent vivement, avec une tête en forme de fuseau (typique pour le genre *Capitella*), mais aussi les centres de formation, nommés « Spermatosphaeren » (EISIG), sur la paroi coelomique, où les spermatocytes, disposés en forme d'étoile, se trouvent à différents stades de la spermiogenèse (Fig. 2). Les animaux sont donc hermaphrodites, légèrement protérandriques. C'est le premier cas d'hermaphroditisme signalé chez les Capitellidés.

Il faut cependant remarquer que le problème de la sexualité a été traité chez fort peu d'espèces. *Capitella capitata* présente d'après EISIG (1887) des sexes séparés, seulement les mâles possèdent des crochets génitaux. Chez les genres *Capitomastus* EISIG et *Capitellides* Mesnil, les deux sexes doivent présenter des crochets génitaux. Dans ces deux cas, les femelles n'ont été reconnues que par la présence d'ovaires; les animaux sans ovaires ont été qualifiés de mâles sans examen précis. Il est par conséquent impossible de baser une différence générique sur un tel caractère.

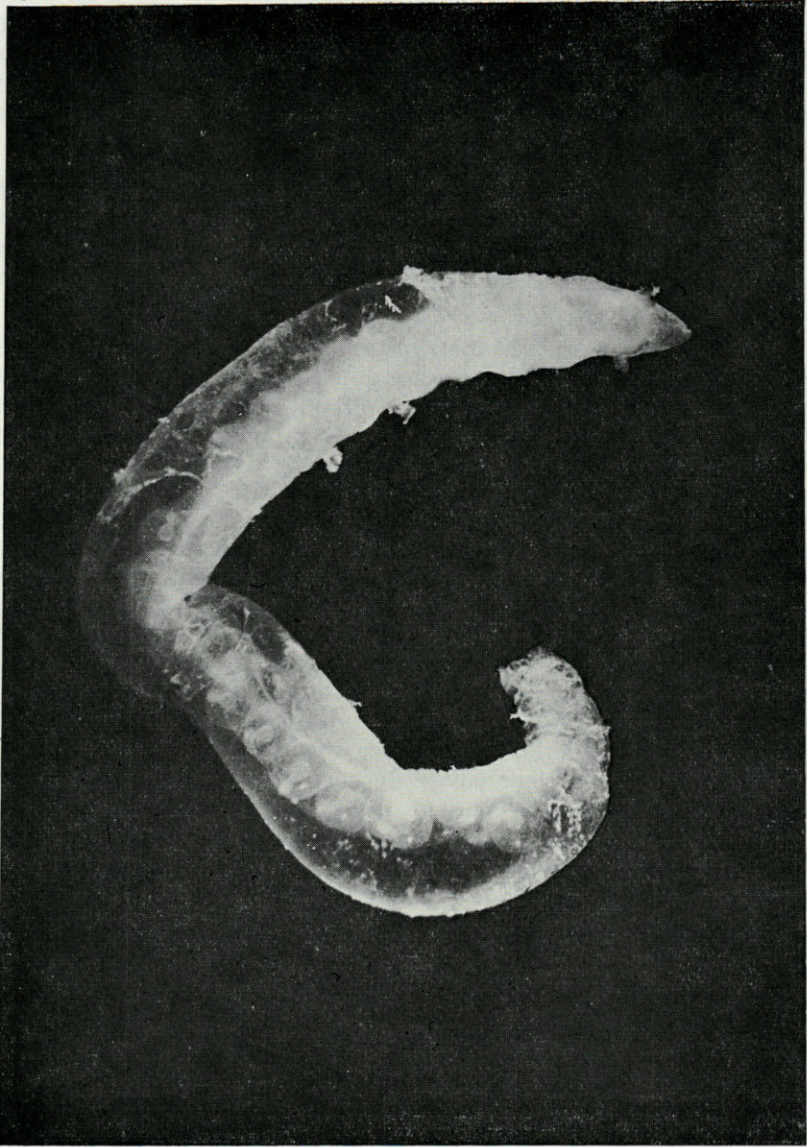


FIG. 3. — Cordon d'une ponte de *Loligo*, infesté par *C. hermaphrodita*.

Notre espèce nouvelle ressemble fortement, en ce qui concerne la formule de soies, à *Capitella capitata floridana* trouvée par O. HARTMAN (1959), également dans des pontes de *Loligo*; cette sous-espèce est cependant beaucoup plus petite (max. 6,2 mm), et nous ne savons pas si la nature du sexe a été examinée de façon précise.

LA PONTE INFESTÉE

Dans une ponte infestée, nous avons trouvé en général plusieurs Capitellidés : deux à trois animaux vivent dans le même cordon.

Les gélamines — surtout celles de stades jeunes — étaient gonflées, particulièrement au niveau des Capitellidés. Par ce phénomène, les spires de la gélatine nidamentaire externe, normalement serrées, s'étaient fortement relâchées autour de la spirale des œufs, ce qui facilite sans doute la locomotion des Capitellidés. Le cordon d'œufs lui-même, dont la structure spirale est due à la disposition de la gélatine nidamentaire, n'a pas été atteint par le gonflement de la partie externe (Fig. 3). Dans les conditions normales, *C. hermaphrodita* n'a jamais pénétré entre les œufs.

Dans les cordons de stades avancés, le gonflement de l'enveloppe est moins apparent que la quantité des boulettes fécales qui matérialisent le système de canaux muqueux très dense des Capitellidés.

Dans ces stades avancés, et notamment après l'éclosion des larves de *Loligo*, la surface des cordons présente de nombreux pores entourés d'un « halo » plus ou moins distinct qui est dû au fait que les Capitellidés broutent la surface du cordon dans une petite zone autour de leur point de sortie.

PÉNÉTRATION

La question de savoir comment ces Polychètes pénètrent dans les enveloppes gélatineuses, est tout particulièrement intéressante.

Des expériences ont démontré les faits suivants :

Mis sur un cordon intact, les animaux n'ont pas pénétré immédiatement dans la gélatine; quelques-uns ont au contraire quitté la ponte et se promenaient encore plusieurs heures après dans le

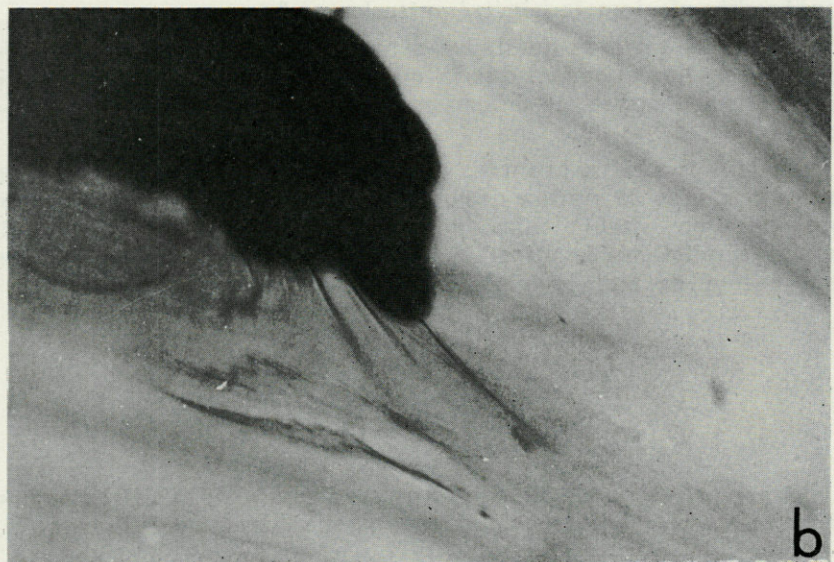
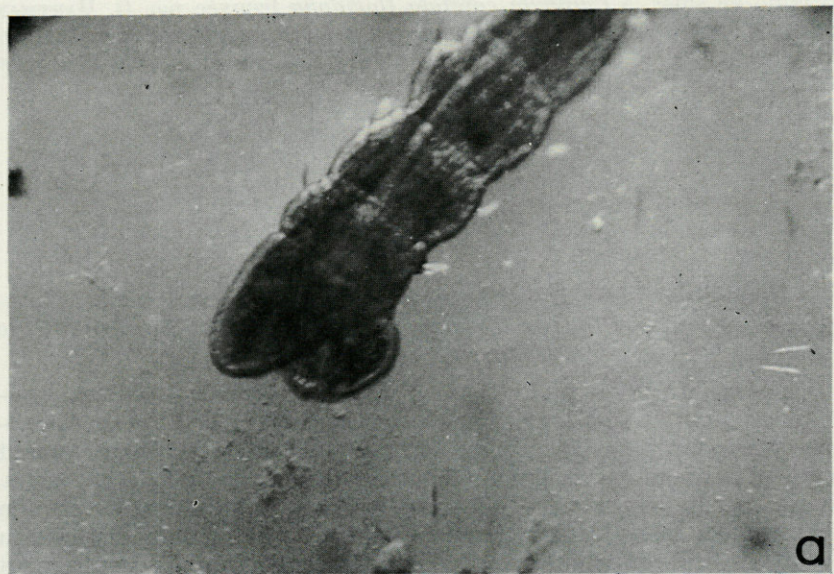


FIG. 4. — Perforation d'une membrane. A. Trompe évaginée et pressée contre la membrane gélatineuse. - B. Trompe rétractée, avec la gélatine aspirée.

réceptent. D'autres ont pénétré après quelque temps sous la membrane extérieure, souvent déchirée par endroits, et ne s'étaient pas encore avancés, même après plusieurs jours, dans les couches profondes.

La perforation des enveloppes n'est possible aux Capitellidés qu'à l'aide de leur trompe qui, évaginée, est pressée contre la membrane, puis retirée; la membrane se trouve collée aux papilles de la trompe, et est ainsi aspirée et déchirée (Fig. 4). Plus tard, à l'intérieur des enveloppes, les animaux franchissent de la même façon les couches membraneuses.

Le seul fait de la pénétration tardive et d'abord superficielle suggère que cette membrane résiste considérablement à l'action de la trompe. En effet, nous avons observé que des animaux essayent en vain de perforer la membrane extérieure en plusieurs points et entrent finalement — si l'occasion se présente — par une déchirure. Jamais nous n'avons vu un animal s'avancer aussitôt à travers plusieurs couches membraneuses pour parvenir immédiatement dans les couches intérieures de la gélatine nidamentaire.

En plusieurs cas, des animaux sont sortis de nouveau du cordon, après avoir pénétré superficiellement. Souvent, ils exécutent avec la partie antérieure, entre deux essais d'épénétration, des mouvements de recherche tournants qui pourraient bien — dans une ponte entière — conduire au passage sur un autre cordon.

Pour comparaison, nous avons mis un animal sur un fond vaseux. Il s'est enfoui sur le champ, a regagné au début à quelques reprises la surface et a formé de petits « cratères ». Après quelques heures, il avait déjà sécrété un tube muqueux solide d'une longueur de plusieurs centimètres qui a pu être sorti intact de la vase.

Les animaux pénètrent vite dans les enveloppes, quand on leur offre un cordon tranché. En général, ils entrent par la section directement dans les couches profondes de la gélatine qui présente après peu de temps un extrême gonflement autour de la spirale d'œufs.

Ceci démontre que ce gonflement n'est pas dû à une action mécanique des Capitellidés. On peut cependant déduire du fait que des cordons tranchés non infestés ne présentent aucun gonflement (aussi bien que ceux infestés par les autres Polychètes) que ce phénomène est uniquement provoqué par les Capitellidés.

NUTRITION

Durant la progression dans les gélatines, les Capitellidés avalent sans doute des matières gélatineuses collant aux papilles de

la trompe quand elle est rétractée. Nous ne pouvons pas préciser dans quelle mesure cette gélatine est digérée.

Les boulettes fécales ovoïdes sont entourées d'une membrane. Certaines contiennent une matière transparente jaunâtre; d'autres sont remplies entièrement ou en partie de particules détritiques.

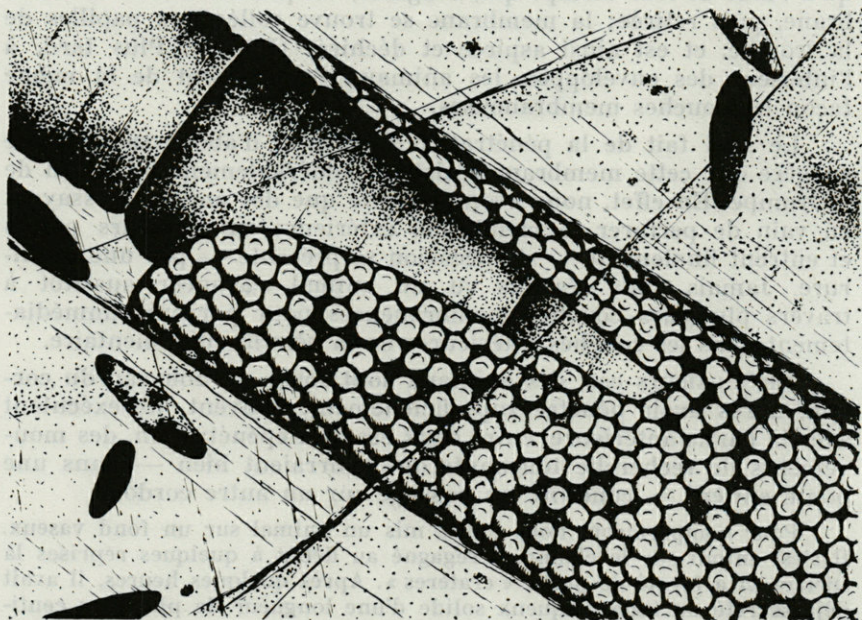


FIG. 5. — Extrémité d'une ponte jeune de *C. hermaphrodita*, avec l'adulte dans le tube d'œufs (semi-schématique).

Nous avons déjà mentionné que les Capitellidés, dans les stades avancés de l'infestation, regagnent fréquemment la surface du cordon et la broutent autour de l'ouverture de leur tube.

Dans cette période, les animaux sortent, en outre, souvent leur extrémité anale, aux mouvements péristaltiques très vifs, en dehors de la gélatine. Cette action sert vraisemblablement à la respiration.

Il est difficile de dire dans quelle mesure les canaux dans la gélatine peuvent être considérés comme « canaux de pâture ». Tout au plus pourrait-on qualifier ainsi les tubes fraîchement formés qui partent des « canaux de communication » anciens et tapissés d'une couche muqueuse.

Des œufs de *Loligo* vivants n'ont jamais été attaqués.

Des boulettes fécales contenant des chromatophores chez un animal habitant une ponte morte ont cependant démontré que des embryons

morts peuvent être mangés. Les embryons étant morts par suite d'un manque d'oxygénation, cette nourriture est certainement exceptionnelle dans les conditions naturelles.

REPRODUCTION

La première ponte de *C. hermaphrodita* (en avril) a coïncidé avec l'éclosion des larves de *Loligo* du cordon en question. Après la ponte, l'adulte a gardé encore un grand nombre d'œufs flottant dans le liquide coelomique.

Le même animal a pondu une deuxième fois, douze jours après, dans le même cordon, après l'avoir quitté passagèrement. Dans ce cas, il nous fut possible de fixer le moment de la fin de la ponte, donc le début du développement embryonnaire.

Les œufs, non segmentés, sont pondus dans un canal près de la surface et le tapissent; le tuyau ainsi formé présente à son bout extérieur (du côté de la sortie du canal) une anse typique (Fig. 5). La ponte est entourée d'une membrane extrêmement fine, tandis que les œufs eux-mêmes ne présentent pas d'enveloppes solides. A une température de l'eau de 18 à 19°, ils ont atteint après douze heures un stade à 16 cellules. Les stades suivants sont difficiles à observer dans la ponte, recouverte en plus de couches gélatineuses. Après deux jours et demi, les taches oculaires se présentent dans le premier tiers de l'embryon. Au quatrième jour du développement de la ponte, les deux ceintures ciliées sont formées et en mouvement, et les larves bougent dans la ponte en changeant de forme. Pendant tout le développement de la ponte, l'adulte demeure dans le tuyau et le balaie par ses mouvements péristaltiques.

Au cinquième jour, les trochophores quittent la ponte et parviennent bientôt dans l'eau libre. L'adulte s'est retiré peu avant l'éclosion.

Le même animal a pondu en tout trois fois en un mois. De plus, il y a eu encore plusieurs pontes d'autres animaux.

Nous n'avons jamais observé d'accouplement. D'après nos connaissances, la copulation n'a jamais été vue chez *Capitella*; elle a seulement été déduite du fait de la présence de crochets génitaux.

Conservés isolément, quelques animaux ont formé des œufs, mais ils n'ont plus pondu.

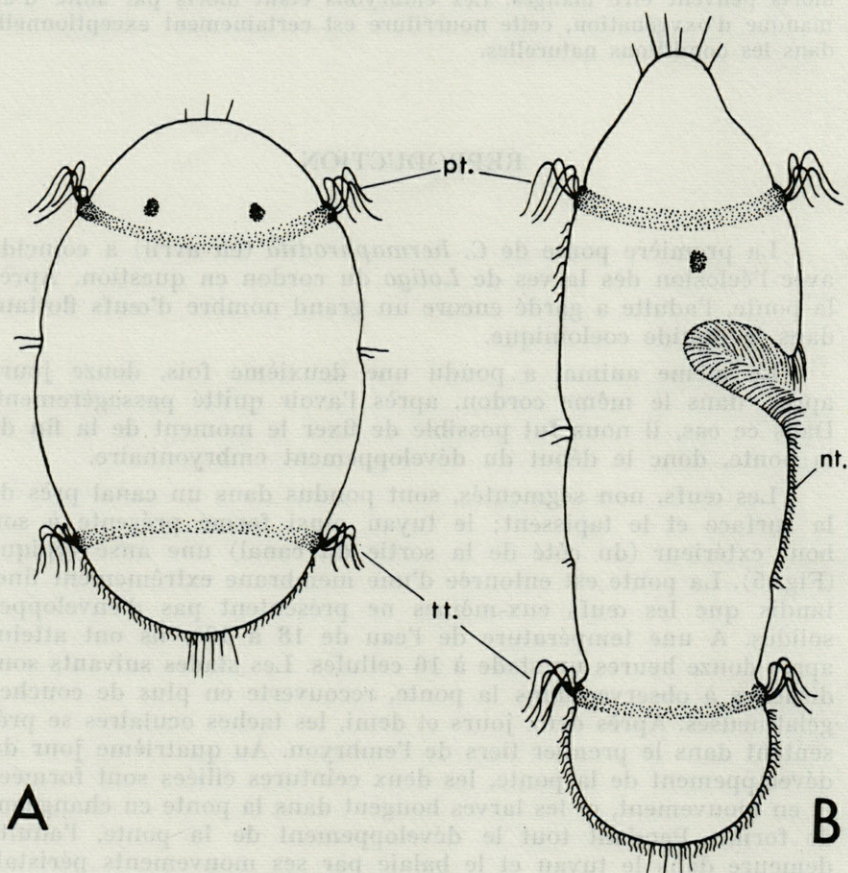


FIG. 6. — La larve de *C. hermaphrodita*. A. Le jour de l'éclosion. - B. 6 jours après l'éclosion; *pt.*, prototroche; *nt.*, neurotroche; *tt.*, télotroche.

LARVES

Après l'éclosion, les trochophores ont encore une forme ovoïde globuleuse. Elles portent deux ceintures de cils vibratiles très actifs : la prototroche et la télotroche. L'épispère est arrondi et présente à son extrémité quelques cils vibratiles. Au niveau de la prototroche, une paire de taches oculaires rouges est située profondément. Une partie de la face ventrale, postérieure à la bouche,

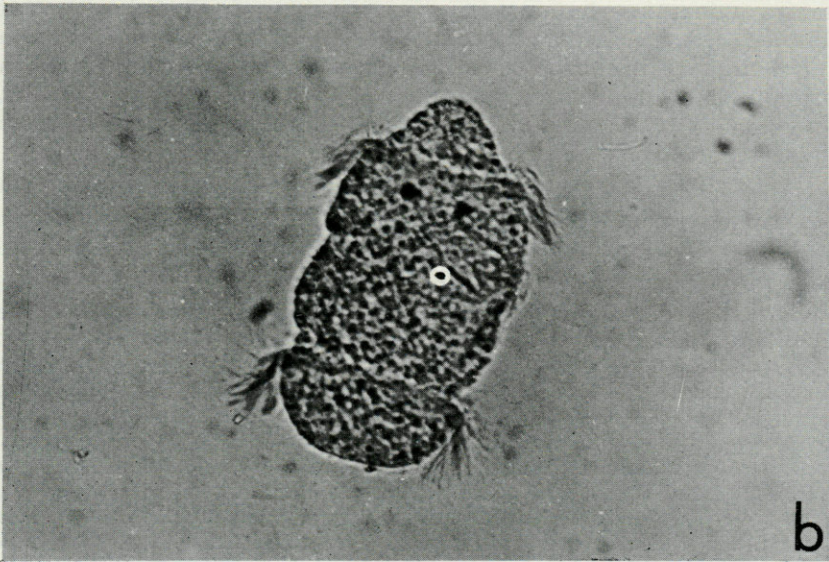
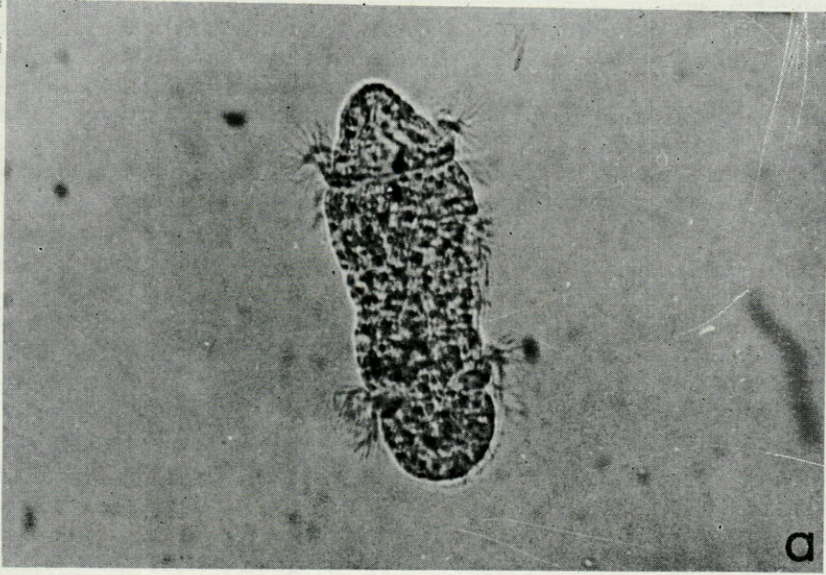


FIG. 7. — Trochophores, plusieurs jours après l'éclosion (ca. 100 x).

est occupée par un champ de cils qui dans la littérature est normalement nommé neurotroche. A la face dorsale, opposée à la bouche, se présente une incision qui est marquée par deux rangées de cils courts et raides. Elle semble indiquer la limite postérieure du segment buccal. La région postérieure à la télotroche est entièrement recouverte de cils vibratiles. Quelques cils plus longs sont disposés autour de l'extrémité postérieure de la larve (Fig. 6a). Le corps est bourré d'inclusions de réserve irrégulièrement distribuées qui ont une teinte verdâtre.

Le seul changement visible quelques jours après l'éclosion de la larve concerne sa forme. Le corps s'allonge et devient plutôt vermiculaire, au moins pendant la nage. Il peut cependant se contracter fortement. L'épiphère saille en forme de nez. Les yeux se déplacent un peu vers l'arrière. L'incision postérieure au segment buccal devient plus distincte. Un sillon se forme devant la télotroche, le pygidium prend ainsi une forme ovoïde (Fig. 6b et 7).

Il est remarquable que les larves conservent très longtemps cette organisation simple. Nous avons gardé des larves pendant plus d'un mois (à 12°) et nous n'avons pu constater qu'une légère augmentation de taille, en outre très différente suivant les individus. Nous avons ajouté à l'eau de mer de petites quantités d'algues vertes monocellulaires (*Platymonas* sp.). Il est cependant vraisemblable que les animaux — comme d'autres larves de Capitellidés — sont lécitotrophes. Une attention particulière a été attachée à la région située entre la prototroche et la télotroche. Mais aucune division certaine en de nouveaux segments n'a pu être constatée. En plus, il n'y a eu aucun signe d'une ébauche de soies, même sur des larves écrasées entre deux lames.

Même si l'on suppose que la suite du développement a été retardée par des conditions défavorables à l'élevage, il faut admettre une phase planctonique très longue, surprenante pour les larves de Capitellidés.

Les larves de Capitellidés qui ont été élevées jusqu'à présent ne vivent que tout au plus 8 (*Dasybranchus caducus* d'après BOOKHOUT, 1957) ou 10 jours (*Notomastus latericeus* Sars d'après WILSON, 1933) dans le plancton. *Capitella capitata* quitte en Méditerranée l'abri du tube des œufs 12 jours seulement après la ponte, possédant déjà 13 segments sétigères, et passe, après 7 jours, à la vie benthique (EISIG, 1899). Il est vrai que LESCHKE (1903) a attribué une larve non segmentée du plancton de la baie de Kiel à *Capitella capitata*, mais cette identification ne se fonde pas sur un résultat d'élevage. Il semble en tout cas que nos larves, dont le développement ultérieur n'a pu être suivi, occupent une position particulière.

REMARQUES FINALES SUR L'INFESTATION

Les gélatines de la ponte de *Loligo* ne présentent pas — d'après des observations antérieures et les nôtres — une protection absolue contre la pénétration d'organismes étrangers.

A part les Polychètes citées, nous avons trouvé des Nématodes, des Harpacticides, des Ciliés et des Diatomées. Ils pénètrent dans la gélatine apparemment à la suite des Polychètes; ils peuvent cependant, indépendamment d'eux, pénétrer aussi dans des cordons lésés.

Ces animaux ne présentent pas un danger pour la ponte, dont les larves éclosent à la période normale dans une eau suffisamment aérée. Le gonflement des gélatines n'a pas non plus d'influence défavorable sur le développement embryonnaire ou sur l'éclosion des larves.

Par conséquent, la dénomination de parasite n'est pas justifiée pour les Capitellidés habitant les gélatines de la ponte de *Loligo*.

Le matériel examiné provenant de chalutages qui ne permettent pas de donner d'indications précises sur la nature du fond, sur quel support particulier et à quelle distance du fond la ponte était fixée; rien de certain ne peut donc être fourni sur la réalisation naturelle de l'infestation.

En définitive, nous constatons que *C. hermaphrodita* s'établit dans les enveloppes gélatineuses qui opposent une certaine résistance à sa pénétration, qu'elle les transforme spécifiquement, qu'elle s'y nourrit et s'y reproduit, et nous en concluons une forte affinité de l'espèce pour cet habitat particulier.

RÉSUMÉ

Au printemps 1966, des pontes de *Loligo vulgaris*, habitées par des Polychètes, ont été récoltées dans la région de Banyuls-sur-Mer.

Outre des exemplaires uniques d'*Exogone verugera* (Claparède), *Lumbrineris impatiens* (Claparède), *Megalomma vesiculosum* (Montagu) et *Capitella capitata* Fabricius, 25 représentants de la famille des Capitellidae ont été trouvés; ils appartiennent à une espèce non encore décrite.

Cette espèce a 4 segments à soies capillaires; tous les autres possèdent des soies en crochet. Les crochets génitaux ne sont pas toujours présents au huitième et au neuvième segments sétigères.

L'examen détaillé a mis en évidence qu'il s'agit d'une espèce hermaphrodite du genre *Capitella*; elle est nommée *C. hermaphrodita* sp. n.

La pénétration des animaux, leur nutrition et leur reproduction dans les gélatines de la ponte ont été observées en laboratoire.

A une température de 18 à 19°, le développement de la ponte de *C. hermaphrodita* a duré 5 jours. Les trochophores écloses non segmentées n'ont présenté, au bout de plusieurs semaines de vie planctonique très active, aucun changement important.

Au cours de l'infestation par *C. hermaphrodita*, les gélatines se gonflent. Ce phénomène spécifique et le fait que les animaux se reproduisent dans les gélatines de ponte, conduisent à la conclusion que l'espèce décrite possède une affinité particulière pour la ponte de *Loligo*.

SUMMARY

In spring 1966, 5 species of Polychaetes were collected from egg-masses of squid (*Loligo vulgaris*) in the vicinity of Banyuls-sur-Mer (France).

Besides single specimens of *Exogone verugera* (Claparède), *Lumbrineris impatiens* (Claparède), *Megalomma vesiculosum* (Montagu) and *Capitella capitata* Fabricius, 25 individuals of a hitherto undescribed species of *Capitellidae* were found.

This species is described in detail. It has only 4 segments with setae, all other segments having hooded hooks. Genital hooks may be present or not on the 8th and 9th setigerous segments.

The species turned out to be hermaphroditic. It is given the name *Capitella hermaphrodita* sp. n.

In the laboratory, it had been observed how the animals penetrated the squid egg clusters, how they fed and reproduced there.

Development of the eggs lasted 5 days till hatching from the egg tube (at 18 - 19 °C). It was tried to rear the trochophores. They showed very little alteration even after having lived in the plancton for several weeks.

After infestation by *C. hermaphrodita* the egg capsules swell vigorously. Therefore and according to the fact that the animals reproduce in the matrix, we conclude that there must be strong relation of *C. hermaphrodita* to squid egg cases.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Frühjahr 1966 wurde in Banyuls-sur-Mer (Frankreich) von Polychaeten bewohnter *Loligo* - Laich eingebracht.

Ausser einzelnen Exemplaren von *Exogone verugeta* (Claparède), *Lumbrineris impatiens* (Claparède), *Megalomma vesiculosum* (Montagu) und *Capitella capitata* Fabricius wurden 25 Vertreter der Familie *Capitellidae* gefunden, die einer noch nicht beschriebenen Art angehören.

Diese Art besitzt 4 Segmente mit Kapillarborsten; alle übrigen Segmente tragen Hakenborsten. Genitalhaken im 8. und 9. Borstensegment sind nicht durchgehend vorhanden.

Die genaue Untersuchung ergab, dass es sich um eine zwitterige Art der Gattung *Capitella* handelt. Sie wird als *C. hermaphrodita* sp. n. bezeichnet.

Das Eindringen der Tiere, ihre Ernährung und Fortpflanzung in den Laichgallerten konnten im Laboratorium beobachtet werden.

Die Entwicklung des *Capitella* - Laiches dauerte bei 18 bis 19° C 5 Tage. Die ausgeschlüpften unsegmentierten Trochophoren zeigten nach mehreren Wochen aktiven Planktonlebens kaum eine Veränderung.

Beim Befall durch *C. hermaphrodita* quellen die Laichgallerten stark auf. Diese spezifische Erscheinung, besonders aber die Tatsache, dass sich die Tiere in den Laichgallerten fortpflanzen, lassen auf eine enge Bindung von *C. hermaphrodita* an *Loligo* - Laich schliessen.

BIBLIOGRAPHIE

- BOOKHOUT, C.G., 1957. The development of *Dasybranchus caducus* (Grube) from the egg to the preadult. *J. Morph.*, **100**: 141-171.
- EISIG, H., 1887. Capitelliden. *Fauna Flora Golf. Neapel*, **16**, 907 p.
- EISIG, H., 1899. Zur Entwicklungsgeschichte der Capitelliden. *Mitt. zool. Stn Neapel*, **13**: 1-292.
- HARANT, H. & L. JECKLIN, 1933. Polychaeten als Parasiten der Laichgallerten von *Loligo*. *Rev. suisse Zool.*, **40**: 635-636.
- HARTMAN, O., 1947. Polychaetous Annelids. Pt. 7: *Capitellidae*. *Allan Hancock Pacif. Exped.*, **10** (4): 391-481.
- HARTMAN, O., 1959. *Capitellidae* and *Nereidae* (Marine Annelids) from the Gulf side of Florida, with a review of freshwater *Nereidae*. *Bull. mar. Sci. Gulf Caribb.*, **9** (2): 153-161.

- LAUBIER, L., 1966. Le coralligène des Albères. Monographie biocénotique. *Annls Inst. océanogr.*, 43 (2) : 137-316.
- LAUBIER, L. & J. PARIS, 1962. Annélides Polychètes. *Faune mar. Pyrén.-orient.*, (4), 80 p.
- LESCHKE, M., 1903. Beiträge zur Kenntnis der pelagischen Polychaetenlarven der Kieler Förhrde. *Wiss. Meeresunters.*, Abt. Kiel (n.F.), 7 : 111-136.
- McGOWAN, J.A., 1954. Observations on the sexual behaviour and spawning of the squid, *Loligo opalescens*, at La Jolla, California. *Calif. Fish Game*, 40 (1) : 47-54.

Reçu le 16 septembre 1966.

SUR QUELQUES *ARICIDEA*
(POLYCHÈTES, PARAONIDAE)
DE BANYULS-SUR-MER ⁽¹⁾

par Lucien LAUBIER

Laboratoire Arago, 66 - Banyuls-sur-Mer, France

SOMMAIRE

L'auteur a étudié quelques *Paraonidae* (Polychètes sédentaires) des fonds meubles de la région de Banyuls. *A. cerrutii* (= *A. jeffreysii* sensu Cerruti) est décrite et son statut établi. Quatre autres espèces sont nouvelles pour la Science. Le travail se termine par une révision des *Aricidea* méditerranéennes, accompagnée d'une clef dichotomique.

L'étude du matériel recueilli au cours de diverses prospections systématiques des substrats vaseux ou sableux de la région de Banyuls m'a permis de réunir une petite collection de Polychètes *Paraonidae*. Deux de ces formes appartiennent au sous-genre *Aricidea* (*Cirrophorus*), récemment élevé au rang de genre par DAY (1963) : il s'agit de *Cirrophorus branchiatus* Ehlers, 1908, et de *C. lyriformis* (Annenkova, 1934). J'ai signalé leur découverte en Méditerranée dans un autre travail (LAUBIER, 1965). Cinq autres espèces de *Paraonidae* appartiennent au sous-genre nominatif *Aricidea* (*Aricidea*) Webster, 1879. Après avoir fait la revue de la littérature méditerranéenne sur ce sous-genre (considéré actuellement comme un genre valide), j'ai eu la surprise de constater que quatre de ces espèces n'y apparaissaient pas. J'ai simplement noté quelques similitudes entre l'une d'elles et la description originale,

(1) Ce travail a été exécuté dans le cadre d'une convention passée avec le COMEXO (D.G.R.S.T.) et reprise par le CNEEXO.

malheureusement assez incomplète, d'*Aricidea assimilis* Tebble, 1959, provenant des côtes d'Israël. La cinquième forme, trouvée uniquement dans les sables à Amphioxus, correspond en tous points à l'unique espèce d'*Aricidea* sensu stricto signalée par FAUVEL (1927) en Méditerranée, *Aricidea jeffreysii* (Mc'Intosh, 1879) sensu Cerruti, 1909.

Une excellente révision moderne de la famille des *Paraonidae* a été publiée par HARTMAN (1957), mais depuis cette date, une douzaine d'espèces ou de sous-espèces nouvelles du sous-genre *Aricidea* (*Aricidea*) ont été décrites, d'anciens noms mal définis ont été repris avec plus ou moins de discernement, et la confusion qui règne à l'heure actuelle dans le genre *Aricidea* sensu latissimo devient un handicap sérieux aux recherches écologiques ou biogéographiques.

Une première mesure visant à simplifier la systématique embrouillée des *Paraonidae* a été proposée récemment par DAY (1963, p. 420), qui suggère de donner aux différents sous-genres des deux genres uniques *Paraonis* Grube, 1872 et *Aricidea* Webster, 1879, la valeur de genres. En effet, écrit-il, « Hartman (1957) recognised two genera based on the presence or absence of a dorsal antenna and several subgenera based on the distribution of specialised setae. These characters are clear-cut and easy to observe... ». Je considère que cette modification parfaitement justifiée contribuera certainement à éclaircir une systématique compliquée; elle a d'ailleurs été admise par plusieurs auteurs dans des publications ultérieures. La diagnose moderne du genre *Aricidea* Webster, 1879 sensu stricto (espèce-type *A. fragilis* Webster, 1879) a été donnée par HARTMAN (1957, p. 314) et reprise de manière plus détaillée par PETTIBONE (1965, p. 127).

Avant d'entreprendre l'étude des *Aricidea* de Banyuls-sur-Mer, je crois utile de souligner les raisons pour lesquelles certaines descriptions récentes sont difficilement utilisables. Comme DAY (1963, p. 420) l'a déjà fait remarquer, la réduction du segment buccal est assez variable suivant les formes considérées. Je me suis rendu compte que l'étude comparée de la face ventrale du prostomium et des deux ou trois premiers segments était suffisante, tout au moins pour les cinq espèces envisagées, pour permettre une discrimination spécifique aisée. En particulier, outre la réduction plus ou moins poussée du segment buccal, l'intervention d'un ou de plusieurs segments sétigères immédiatement postérieurs dans la formation du bord postérieur de l'ouverture buccale fournit d'excellents caractères taxonomiques. A l'avenir, une bonne description d'*Aricidea* devrait donc comporter une étude détaillée de la face ventrale de la région antérieure. A ma connaissance, il n'existe actuellement aucune représentation de cette région, à l'exception de *A. jeffreysii* (Mc'Intosh) sensu Cerruti, 1909 (CERRUTI, 1909, Pl. 18, fig. 3). D'autre part, l'étude de la région postérieure d'une *Aricidea* devrait

également comprendre une figure représentant l'ensemble d'un parapode : en effet, la forme proprement dite des soies ventrales postérieures modifiées n'est pas suffisante; il y a souvent, soit variation de taille progressive des soies lorsqu'il existe un seul type de soies modifiées, soit disposition caractéristique avec alternance ou non, lorsqu'il existe plusieurs types de soies modifiées. Dans les deux cas, l'alternance des soies modifiées avec les soies capillaires normales est également instructive. Jusqu'ici, bien rares sont les auteurs qui ont pris soin de fournir une iconographie aussi complète. Lorsqu'on sait qu'il existe actuellement plus d'une vingtaine d'espèces valides d'*Aricidea*, on conçoit mieux l'importance de ce qui peut paraître un détail superflu.

Avant de décrire les quatre espèces nouvelles récoltées à Banyuls, je crois bon de reprendre d'après mes observations personnelles, la question de l'*Aricidea* étudiée à Naples par CERRUTI (1909) sous le nom d'*A. jeffreysii* (Mc'Intosh). Lorsqu'il écrivit son important mémoire sur les *Paraonidae*, CERRUTI rapporta à une veille description de Mc'INTOSH (1879) l'espèce qui abondait à Naples dans les fonds de sables habités par l'*Amphioxus*. Il reconnut dès cette époque l'impossibilité de vérifier, d'après la description de Mc'INTOSH, l'identité de *Scolecolepis jeffreysii* Mc'Intosh, 1879, avec l'*Aricidea* napolitaine : « Mancano quindi gli elementi necessari per potere stabilire, con assoluta certezza, se fra la specie trovata a Napoli, e quella raccolta nelle stretto di Davis (*Scolecolepis jeffreysii*), la somiglianza esistente nel capo e nei setigeri anteriori si estenda anche a quelli posteriori; tuttavia non credo, almeno per ora, di dover istituire una nuova specie per l'*Aricidea* neapolitana, che chiamero quindi *Aricidea jeffreysii* » (CERRUTI, 1909, p. 469). Cette identification douteuse pouvait paraître justifiée à l'époque, elle ne l'est plus aujourd'hui : l'espèce observée par Mc'INTOSH a été récemment redécrite par PETTIBONE (1965), et c'est paradoxalement l'espèce napolitaine, bien connue des auteurs méditerranéens, dont le statut paraît aujourd'hui extrêmement confus.

Dans une monographie sur les Polychètes des fonds coralligènes de la région de Banyuls-sur-Mer (LAUBIER, 1967), j'ai donc proposé de nommer l'espèce méditerranéenne *A. cerrutii* nom. nov. pour faire disparaître la confusion qui règne depuis que l'on a cru retrouver cette forme hors de Méditerranée (HARTMAN, 1957). A la même époque est paru une redescription de la véritable *A. jeffreysii* (Mc'Intosh) d'après des spécimens des côtes de Virginie (PETTIBONE, 1965); malheureusement, cet auteur considère que FAUVEL (1927, p. 75) se réfère à la même espèce, alors qu'il a en fait repris intégralement la diagnose et les figures de CERRUTI; PETTIBONE cite ainsi *A. jeffreysii* Mc'Intosh en Méditerranée occidentale ! La description morphologique de PETTIBONE (1963, p. 305 et 1965, p. 134) permet heureusement de distinguer sans difficulté les deux espèces.

1. *ARICIDEA CERRUTII* Laubier, 1967

(Fig. 1, A-E)

- Aricidea jeffreysii* (Mc'Intosh, 1879), CERRUTI, 1909, p. 469; SOUTHERN, 1914, p. 93; FAUVEL, 1927, p. 75; VINOGRADOV, 1949; SOUTHWARD, 1956, p. 269; HARTMAN, 1957, p. 322; *A. jeffreysii*, sensu Cerruti, 1909; DUMITRESCO, 1960, p. 78; ELIASON, 1962, p. 45; MONNIOT, 1962, p. 270; LAUBIER et PARIS, 1962, p. 41; DAY, 1963, p. 423; BELLAN, 1964, p. 114; TENERELLI, 1964, p. 239; *A. cerrutii* nom. nov. LAUBIER, 1967, sous presse.
- ? *A. jeffreysii* (Mc'Intosh, 1879), BERKELEY et BERKELEY, 1952, p. 38; RENAUD, 1956, p. 26.

Non *Scolecopsis* (?) *jeffreysii* Mc'INTOSH, 1879, p. 506; nec *A. jeffreysii* (Mc'Intosh, 1879), Mc'INTOSH, 1923, p. 473; HARTMAN, 1957, p. 322; PETTIBONE, 1963, p. 305; 1965, p. 134.

MATÉRIEL ÉTUDIÉ

Les spécimens que j'ai étudiés proviennent tous des sables à Amphioxus de la plage du Racou à Argelès-sur-Mer, par 4-6 m de profondeur, biotope dans lequel cette espèce est très abondante. C'est d'ailleurs dans ce même biotope que l'espèce a été citée la plupart du temps en Méditerranée, et découverte à Naples par CERRUTI.

DESCRIPTION

De petite taille, le plus souvent brisés postérieurement, les spécimens recueillis ne dépassent pas 5 mm de longueur. Sur le vivant, la coloration est blanc jaunâtre, avec parfois quelques zones verdâtres.

Il n'est pas nécessaire de reprendre en détail l'excellente description originale de CERRUTI, qui a d'ailleurs été fidèlement reprise par FAUVEL dans la Faune de France. Je n'ai personnellement observé aucune différence entre ces deux publications et mes spécimens de Banyuls, et je me bornerai ici à indiquer les caractères principaux permettant l'identification de *A. cerrutii*.

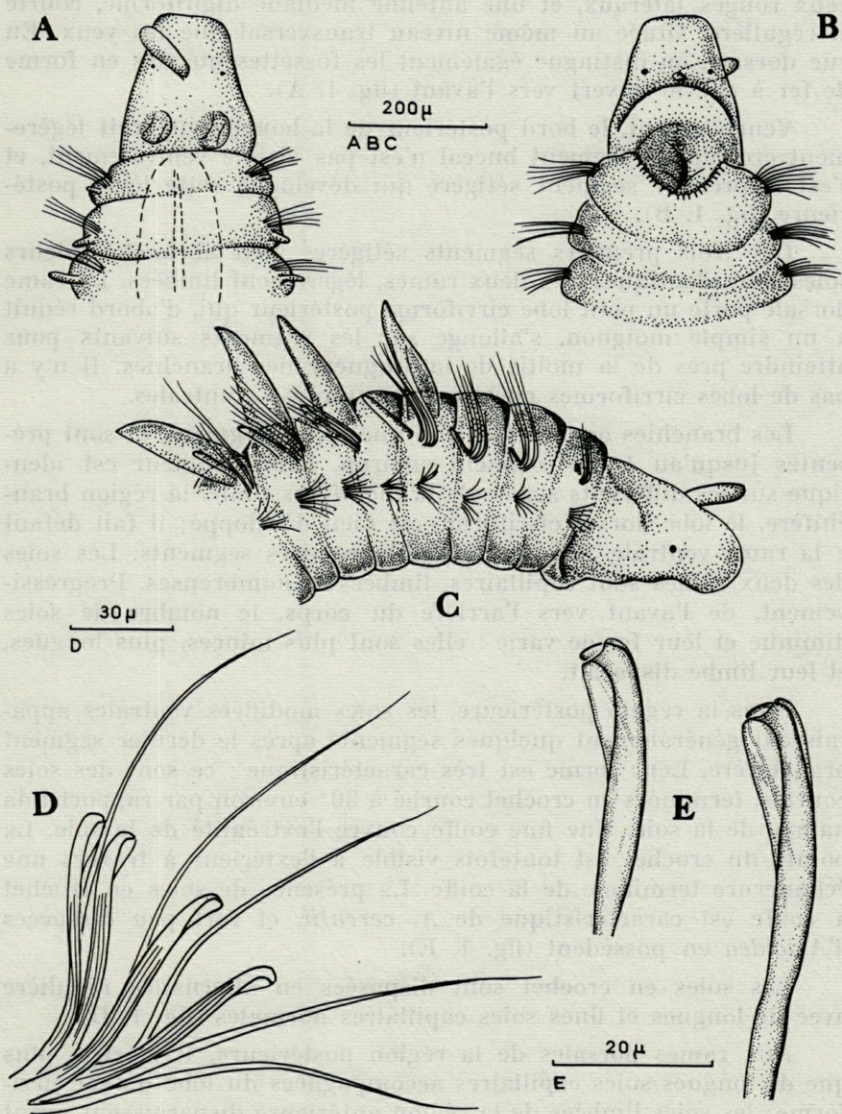


FIG. 1. — *Aricidea cerrutii* Laubier : A, partie antérieure en vue dorsale; B, partie antérieure en vue ventrale; C, partie antérieure de profil; D, neuro-pode postérieur montrant la disposition des soies; E, deux soies modifiées en crochets.

Le prostomium, tronqué antérieurement, porte deux petits yeux rouges latéraux, et une antenne médiane digitiforme, courte et régulière, située au même niveau transversal que les yeux. En vue dorsale, on distingue également les fossettes nucales en forme de fer à cheval ouvert vers l'avant (fig. 1, A).

Ventralement, le bord postérieur de la bouche apparaît légèrement crénelé; le segment buccal n'est pas visible ventralement, et c'est le premier segment sétigère qui développe cette lèvre postérieure (fig. 1, B).

Les trois premiers segments sétigères sont abranches; leurs soies sont identiques aux deux rames, légèrement limbées. La rame dorsale porte un petit lobe cirriforme postérieur qui, d'abord réduit à un simple moignon, s'allonge sur les segments suivants pour atteindre près de la moitié de la longueur des branchies. Il n'y a pas de lobes cirriformes postérieurs aux rames ventrales.

Les branchies apparaissent au quatrième segment, et sont présentes jusqu'au 15-20^e segment environ. Leur longueur est identique sur les différents segments branchifères. Dans la région branchifère, le lobe dorsal cirriforme est bien développé; il fait défaut à la rame ventrale, comme dans les premiers segments. Les soies des deux rames sont capillaires, limbées et nombreuses. Progressivement, de l'avant vers l'arrière du corps, le nombre de soies diminue et leur forme varie : elles sont plus minces, plus longues, et leur limbe disparaît.

Dans la région postérieure, les soies modifiées ventrales apparaissent généralement quelques segments après le dernier segment branchifère. Leur forme est très caractéristique : ce sont des soies courtes, terminées en crochet courbé à 90° environ par rapport à la hampe de la soie. Une fine coiffe couvre l'extrémité de la soie. La pointe du crochet est toutefois visible à l'extérieur à travers une échancrure terminale de la coiffe. La présence de soies en crochet à coiffe est caractéristique de *A. cerrutii*, et fort peu d'espèces d'*Aricidea* en possèdent (fig. 1, E).

Les soies en crochet sont disposées en alternance régulière avec de longues et fines soies capillaires normales (fig. 1, D).

Aux rames dorsales de la région postérieure, il n'existe plus que de longues soies capillaires accompagnées du lobe dorsal cirriforme; les soies limbées de la région antérieure disparaissent avant les derniers segments branchifères sur les grands exemplaires.

Le pygidium a été bien décrit par CERRUTI; il porte un cirre médian court, et deux longs cirres latéraux, comme la plupart des *Paraonidae*.

DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE

Méditerranée occidentale (golfe de Naples, baie de Marseille, région de Banyuls-sur-Mer, Sicile), Mer Noire, côte d'Irlande, Atlantique (Clew Bay), Afrique du Sud (False Bay), Mer Baltique (Skagerak). Dans la plupart des cas, *A. cerrutii* a été récoltée dans des fonds de sable grossier, habités ou non par *Branchiostoma lanceolatum*.

DISCUSSION SYSTÉMATIQUE

A. cerrutii est la seule espèce d'*Aricidea* qui possède des crochets recourbés encapuchonnés, dépourvus de tout prolongement, et rappelant par leur forme générale les crochets des Spionidiens. L'identification de cette espèce est donc immédiate à partir d'un parapode de la région postérieure.

Les différentes signalisations en Méditerranée concernent sans aucun doute possible une seule et même espèce, *A. cerrutii*. Outre les raisons d'ordre biogéographique, le fait que cette forme vive toujours dans des sables plus ou moins grossiers où cohabite souvent l'*Amphioxus*, fournit un second argument de valeur.

On ne peut en dire autant des signalisations hors de la Méditerranée ou des mers adjacentes. SOUTHERN (1914) identifie *A. cerrutii* d'après la description de CERRUTI, et constate simplement qu'il n'y a rien à ajouter à ce travail. Il a donc très vraisemblablement eu affaire à l'espèce méditerranéenne; SOUTHWARD (1956), qui se réfère sans commentaire à la description de FAUVEL (1927), a étudié une région géographique très proche des stations prospectées par SOUTHERN, et son identification est, elle aussi, à retenir.

Les deux mentions d'ELIASON (1962) dans le Skagerak et de DAY (1963) en Afrique du Sud, sont plus surprenantes. ELIASON précise toutefois qu'il se rapporte à la description de FAUVEL (1927), c'est-à-dire à l'*A. cerrutii* méditerranéenne, mais ne fournit malheureusement aucune figure des soies postérieures modifiées. DAY précise que l'espèce d'Afrique du Sud est identique aux descriptions de CERRUTI et de FAUVEL, à l'exception des yeux, qui font défaut, de l'antenne, plus longue, et des branchies, beaucoup plus courtes; il insiste toutefois sur les soies postérieures en crochet à coiffe du type *Spionidae* et rappelle que HARTMAN (1957) avait déjà supposé que cette forme pouvait différer spécifiquement de *A. jeffreysii*. Je considère donc que l'espèce d'Afrique du Sud est identique à *A. cerrutii*; peut-être sera-t-il nécessaire, lorsque de nouvelles stations intermédiaires seront découvertes, d'ériger une sous-espèce australe caractérisée par l'absence d'yeux, l'antenne plus longue et les branchies réduites. Actuellement, cette distinction ne paraît pas s'imposer.

Deux autres formes citées sous le nom de *A. jeffreysii* (Mc'Intosh) sont peut-être identiques à *A. cerrutii* : elles ont été découvertes, l'une dans les sables interstitiels de la région de Miami (RENAUD, 1956), la seconde dans la région de Vancouver (BERKELEY et BERKELEY, 1952). L'espèce de Floride semble très proche de *A. cerrutii* : seuls l'antenne un peu plus longue et les crochets moins nettement recourbés à l'extrémité, l'en distinguent. Quant à l'espèce canadienne, la forme générale du prostomium et des organes nucaux, et surtout les crochets qui ne sont pas tous recouverts d'une coiffe, l'éloignent encore davantage de *A. cerrutii*. Une étude détaillée des soies modifiées et de la région buccale en vue ventrale, permettra peut-être de mieux définir la position de ces deux *Aricidea*.

Toutes les autres signalisations, d'ailleurs les plus rares, se rapportent sans doute à l'espèce décrite par Mc'INTOSH; les soies modifiées à pointe fine aristée ou non n'ont aucun rapport avec les crochets spioni-formes de *A. cerrutii*. Cette forme est actuellement localisée du détroit de Davis à la baie de Chesapeake, contrairement aux indications beaucoup plus étendues fournies par PETTIBONE (1965), qui ne tient pas compte de la validité éventuelle de l'espèce méditerranéenne à crochets spioni-formes à coiffe.

En conclusion, *A. cerrutii*, connue dans les sables grossiers depuis la Mer du Nord à l'Afrique du Sud, surtout fréquente en Méditerranée et dans les mers adjacentes, est caractérisée essentiellement par ses crochets à coiffe des neuropodes postérieures, exemple unique dans le genre *Aricidea*.

2. *ARICIDEA ANNAE* sp. n. (1)

(Figs 2, A-F et 3, A-C)

MATÉRIEL ÉTUDIÉ

Une douzaine d'exemplaires généralement entiers, mais de taille très variable, ont été recueillis dans la vase côtière circalittorale qui s'étend par 35 - 40 m de profondeur en face de la baie du Troc, Banyuls-sur-Mer; trois autres spécimens ont été récoltés par A. GUILLE sur les fonds de vase circalittorale en face de Canet-Plage, par 55 m de profondeur, dans un faciès à *Ophiothrix quin-quemaculata*. Un holotype entier de 52 segments a été déposé dans la collection du Laboratoire Arago, les paratypes étant conservés dans la collection de l'auteur.

(1) Cette espèce est dédiée en amical hommage à M^{me} A. FOURNIER, Assistante au Collège Scientifique Universitaire de Perpignan.

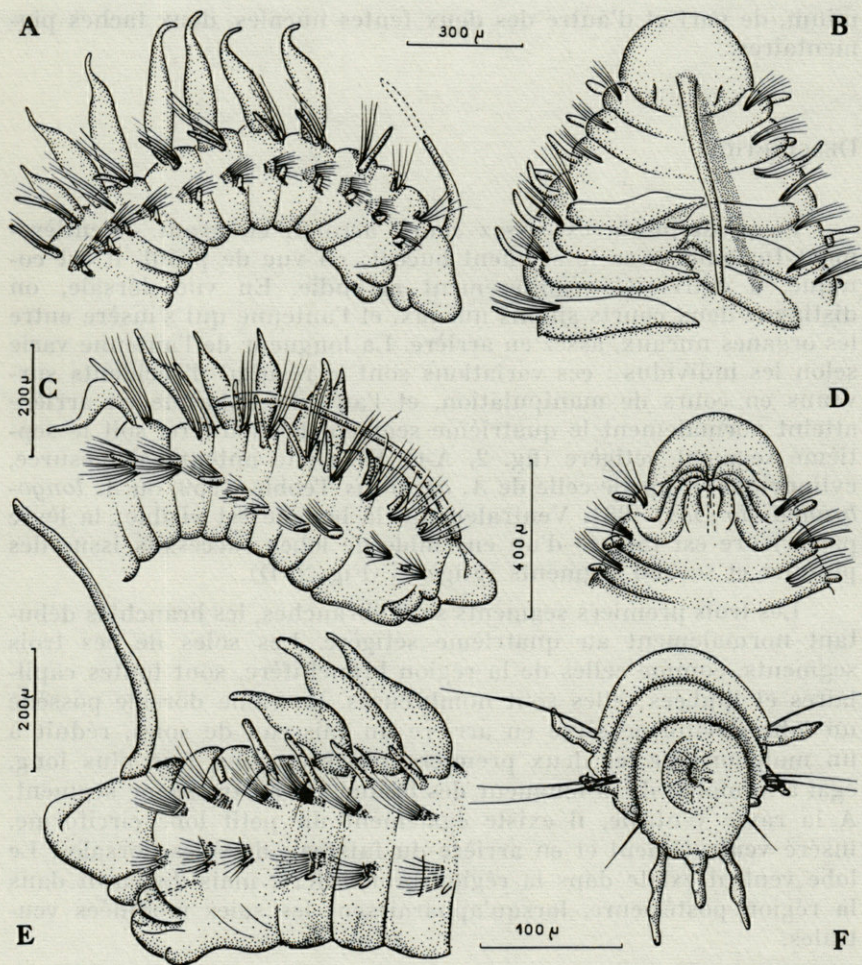


FIG. 2. — *Aricidea annae* sp. n. : A, C, E, parties antérieures de trois individus, vues de profil; B, partie antérieure en vue dorsale; D, partie antérieure en vue ventrale; F, pygidium et derniers segments vus de face.

TAILLE, COLORATION

La longueur du corps varie de 3 à 10 mm environ, pour une largeur moyenne de 0,3 mm. Le nombre de segments atteint 52 sur le plus grand spécimen; la coloration est blanchâtre. Quelques exemplaires (1 exemplaire sur 5 environ) porte en outre sur le prosto-

mium, de part et d'autre des deux fentes nucales, deux taches pigmentaires.

DESCRIPTION

Le prostomium est assez court, arrondi en avant et entièrement fusionné avec le segment buccal; en vue de profil, il est conique, à extrémité régulièrement arrondie. En vue dorsale, on distingue deux courts sillons nucaux, et l'antenne qui s'insère entre les organes nucaux, assez en arrière. La longueur de l'antenne varie selon les individus : ces variations sont le résultat d'accidents survenus en cours de manipulation, et l'antenne rabattue en arrière atteint normalement le quatrième segment branchifère, soit le septième segment sétigère (fig. 2, A-C, E). Cette antenne démesurée, cylindrique, rappelle celle de *A. assimilis* Tebble, 1959, ou *A. longobranchiata* Day, 1961. Ventralement, la bouche est visible; la lèvre postérieure est formée d'un ensemble de lobes successifs issus des premier et second segments sétigères (Fig. 2, D).

Les trois premiers segments sont abranchés, les branchies débutant normalement au quatrième sétigère. Les soies de ces trois segments, comme celles de la région branchifère, sont toutes capillaires et limbées; elles sont nombreuses. La rame dorsale possède un lobe cirriforme situé en arrière du faisceau de soies, réduit à un moignon sur les deux premiers sétigères, cinq fois plus long, égal à la moitié de la longueur des branchies, au troisième segment. A la rame ventrale, il existe également un petit lobe cirriforme, inséré ventralement et en arrière du faisceau de soies dorsales. Le lobe ventral existe dans la région branchifère, mais disparaît dans la région postérieure, lorsqu'apparaissent les soies modifiées ventrales.

Les branchies sont présentes dès le quatrième segment, et comptent de 6 à 10 paires sur les spécimens étudiés. Elles sont d'égale longueur, à l'exception des deux ou trois dernières paires, graduellement raccourcies.

La région postérieure est caractérisée par des soies modifiées ventrales de trois types différents, dont la distribution sur la rame est constante. Sur l'holotype de 52 segments, les soies modifiées apparaissent au vingtième segment sétigère. En allant du bas vers le haut de la rame ventrale, on rencontre tout d'abord deux soies en crochet recourbé opposées en position naturelle, et dont les bases se croisent à l'intérieur de la rame.

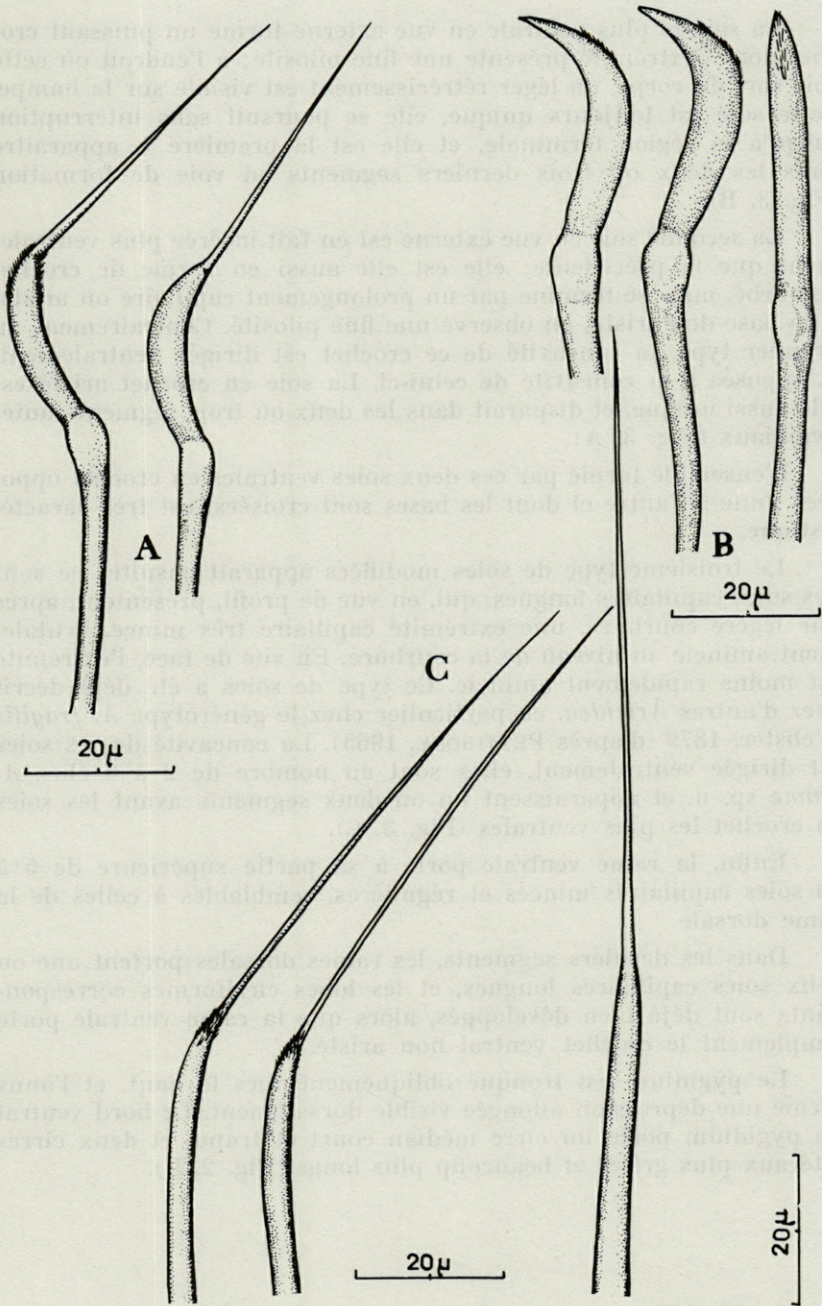


FIG. 3. — *Aricidea annae* sp. n. : A, soies ventrales modifiées du deuxième type; B, soies ventrales modifiées du premier type; C, soies ventrales modifiées du troisième type (comptés à partir de la région la plus ventrale).

La soie la plus ventrale en vue externe forme un puissant crochet dont l'extrémité présente une fine pilosité; à l'endroit où cette soie sort du corps, un léger rétrécissement est visible sur la hampe. Cette soie est toujours unique, elle se poursuit sans interruption jusqu'à la région terminale, et elle est la première à apparaître dans les deux ou trois derniers segments en voie de formation (Fig. 3, B).

La seconde soie en vue externe est en fait insérée plus ventralement que la précédente; elle est elle aussi en forme de crochet recourbé, mais se termine par un prolongement capillaire ou arista. A la base de l'arista, on observe une fine pilosité. Contrairement au premier type, la concavité de ce crochet est dirigée ventralement, et opposée à la concavité de celui-ci. La soie en crochet aristé est elle aussi unique, et disparaît dans les deux ou trois segments anté-pygidiaux (Fig. 3, A).

L'ensemble formé par ces deux soies ventrales en crochet opposées l'une à l'autre et dont les bases sont croisées, est très caractéristique.

Le troisième type de soies modifiées apparaît ensuite; ce sont des soies capillaires longues, qui, en vue de profil, présentent, après une légère courbure, une extrémité capillaire très mince, brutalement amincie au niveau de la courbure. En vue de face, l'extrémité est moins rapidement amincie. Ce type de soies a été déjà décrit chez d'autres *Aricidea*, en particulier chez le génotype *A. fragilis* Webster, 1879 (d'après PETTIBONE, 1965). La concavité de ces soies est dirigée ventralement, elles sont au nombre de 2 à 6 chez *A. annae* sp. n. et apparaissent un ou deux segments avant les soies en crochet les plus ventrales (Fig. 3, C).

Enfin, la rame ventrale porte à sa partie supérieure de 5 à 10 soies capillaires minces et régulières, semblables à celles de la rame dorsale.

Dans les derniers segments, les rames dorsales portent une ou deux soies capillaires longues, et les lobes cirriformes correspondants sont déjà bien développés, alors que la rame ventrale porte simplement le crochet ventral non aristé.

Le pygidium est tronqué obliquement vers le haut, et l'anus forme une dépression allongée visible dorsalement. Le bord ventral du pygidium porte un cirre médian court et trapu, et deux cirres latéraux plus grêles et beaucoup plus longs (Fig. 2, F).

DISCUSSION SYSTÉMATIQUE

La présence de lobes cirriformes ventraux dans la région antérieure apparaissant dès le premier segment sétigère permet de séparer *A. annae* sp. n. de la plupart des autres espèces du genre : en effet, ce caractère est commun à quatre autres espèces seulement. Ce sont *A. fragilis* Webster, 1879, *A. quadrilobata* Webster et Benedict, 1887, *A. uschakovi* Zachs, 1925 et *A. curviseta* Day, 1963 (1).

Deux espèces se distinguent facilement à l'intérieur de ce groupe par la brièveté de leur antenne, qui est toujours inférieure à la longueur du prostomium : *A. fragilis* et *A. curviseta*. Par ailleurs, *A. annae* sp. n. diffère des deux espèces précédentes par la présence de trois types de soies modifiées ventrales postérieures : *A. fragilis* et *A. curviseta* possèdent un seul type de soies modifiées, soies à longue pointe terminale brusquement atténuée.

Il reste alors trois espèces d'*Aricidea* à posséder en commun des lobes cirriformes ventraux dans la région antérieure et une antenne nettement plus longue que le prostomium : *A. quadrilobata*, *A. uschakovi* et *A. annae* sp. n. La distinction est facile : *A. uschakovi* possède des soies postérieures modifiées en crochet dépourvu de coiffe, terminé ou non par un fin prolongement aristal. Cette espèce possède par ailleurs, cas unique, dans le genre *Aricidea*, des lobes cirriformes dorsaux *dichotomes* dans la région branchiale.

A. quadrilobata et *A. annae* sp. n. sont certainement très proches. Toutefois, la description faite par PETTIBONE de *A. quadrilobata* (1963, p. 303) est insuffisante, et contient même un désaccord entre le texte et les figures correspondantes en ce qui concerne les lobes cirriformes ventraux. Les soies postérieures sont décrites comme « Neurosetae of postbranchial region with upper ones long slender, capillary, middle ones curved, with mucronate tips, with few lower ones shorter, heavier, hooked » (1963, p. 304). La représentation correspondante d'un parapode n'est pas plus précise : on distingue cependant un crochet ventral prolongé en pointe, deux crochets sans pointe, quelques soies brusquement atténuées et enfin les soies capillaires tout à fait dorsales. Ceci pourrait à la rigueur correspondre aux trois types de soies modifiées de *A. annae* sp. n. Toutefois, un caractère morphologique au moins permet de distinguer actuellement les deux espèces : il s'agit de la lèvre postérieure buccale ; chez *A. annae* sp. n., les deux premiers segments sétigères participent à sa formation, alors que chez *A. quadrilobata*, seul le premier segment intervient, et forme des lobes peu marqués et irréguliers. *A. quadrilobata* étant limitée aux côtes du Maine et du Massachusetts, et *A. annae* sp. n. à la Méditerranée occidentale, je préfère, provisoirement peut-être, donner un nom nouveau à la forme méditerranéenne dont la définition morphologique est plus précise que celle de l'espèce nord-américaine.

(1) Je me réfère pour cette discussion systématique aux travaux suivants : PETTIBONE, 1965, pour *A. fragilis*; PETTIBONE, 1963, pour *A. quadrilobata*; USHAKOV, 1955, pour *A. uschakovi*; DAY, 1963, pour *A. curviseta*.

Enfin, il est bon de signaler qu'il existe en Méditerranée une espèce d'*Aricidea* pourvue d'une antenne démesurée, *A. assimilis* Tebble, 1959. D'après la description originale, les exemplaires étudiés, tous incomplets, ne possèdent aux deux rames que des soies simples ordinaires. Tebble (1959) signale toutefois les différences existant entre cette espèce et *A. antennata* Annenkova, 1934 (= *A. uschakovi* Zachs). Deux ans plus tard, Day (1961, p. 482) examine l'holotype d'*A. assimilis* déposé dans les collections du British Museum, et estime que cette espèce est identique à *A. fauveli* Hartman, 1957. Cette question sera envisagée plus loin, il suffit de noter ici l'absence totale de lobes cirriformes ventraux dans la région antérieure de *A. assimilis*.

A. annae sp. n. appartient donc au petit groupe des *Aricidea* possédant des lobes cirriformes ventraux dans la région antérieure, à partir du premier segment sétigère. Son antenne démesurée, la présence de trois types de soies modifiées au neuropode des parapodes postérieurs, enfin la structure de la lèvre postérieure buccale, suffisent à l'isoler au sein de cet ensemble.

3. *ARICIDEA CATHERINAE* sp. n. (1)

(Fig. 4, A-E et 5, A-D)

MATÉRIEL ÉTUDIÉ

Plus d'une centaine de spécimens ont été récoltés dans plusieurs prélèvements effectués dans la vase circalittorale qui s'étend par 35 - 40 m de profondeur en face de la baie du Troc, Banyuls-sur-Mer. Une quinzaine d'exemplaires constituent la série typique, et parmi eux un spécimen entier d'une soixantaine de segments a été désigné comme holotype de l'espèce, et déposé dans la collection du Laboratoire Arago.

TAILLE, COLORATION

La longueur du corps varie entre 4 et 8 mm, pour une largeur de l'ordre de 0,15 mm; de section cylindrique, régulièrement atténué vers l'extrémité postérieure, le corps compte de 50 à 75 segments au moins (le spécimen de 75 segments est brisé postérieurement); le chiffre moyen est de l'ordre de 60 segments sétigères. La coloration, sur le vivant, est caractéristique : de nombreuses granulations vert foncé sont régulièrement réparties dans le prostomium,

(1) Cette espèce est cordialement dédiée à M^{me} C. THIRIOT, Attachée de Recherche au Centre national de la Recherche scientifique.

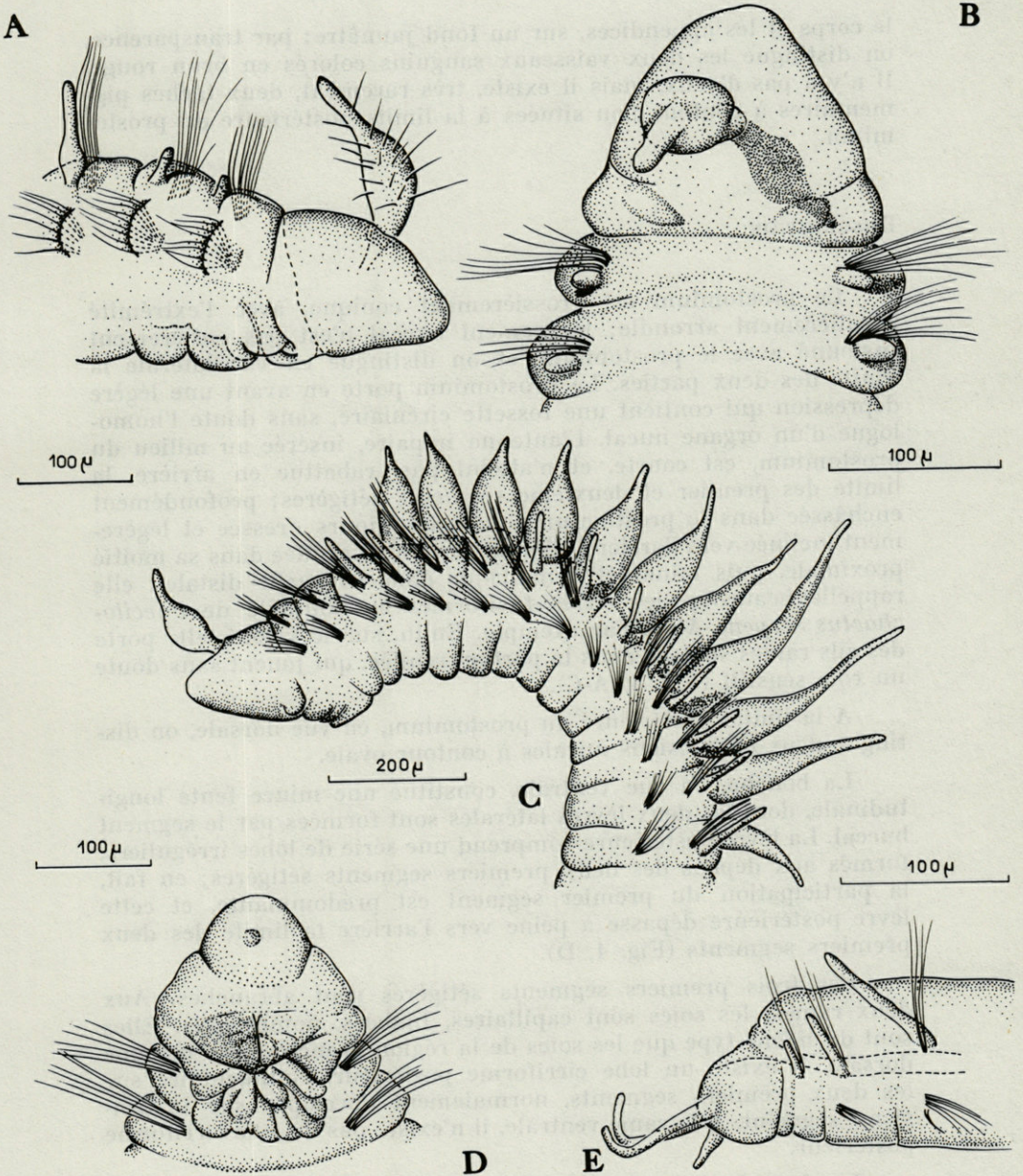


FIG. 4. — *Aricidea catherinae* sp. n. : A, C, régions antérieures et branchifère de deux individus, vues de profil; B, région antérieure en vue dorsale; D, région antérieure en vue ventrale; E, pygidium et derniers segments vus de profil.

le corps et les appendices, sur un fond jaunâtre; par transparence, on distingue les deux vaisseaux sanguins colorés en brun rouge. Il n'y a pas d'yeux, mais il existe, très rarement, deux taches pigmentaires à contour flou situées à la limite postérieure du prostomium.

DESCRIPTION

Le prostomium est grossièrement conique, avec l'extrémité régulièrement arrondie; le segment buccal n'est pas entièrement fusionné avec le prostomium, et on distingue en vue latérale la limite des deux parties. Le prostomium porte en avant une légère dépression qui contient une fossette circulaire, sans doute l'homologue d'un organe nucal. L'antenne impaire, insérée au milieu du prostomium, est courte, et n'atteint pas, rabattue en arrière, la limite des premier et deuxième segments sétigères; profondément enchâssée dans le prostomium, elle est toujours dressée et légèrement inclinée vers l'arrière. Elle est fortement renflée dans sa moitié proximale, puis mince et cylindrique dans sa partie distale: elle rappelle beaucoup les cirres fusiformes en bouteille de *Poecilochaetus serpens* Allen par exemple. Enfin, sur le vivant, elle porte des cils raides surtout dans la portion renflée, qui jouent sans doute un rôle sensitif (Fig. 4, A-C).

A la limite postérieure du prostomium, en vue dorsale, on distingue deux dépressions nucales à contour ovale.

La bouche, en vue ventrale, constitue une mince fente longitudinale, dont les deux lèvres latérales sont formées par le segment buccal. La lèvre postérieure comprend une série de lobes irréguliers, formés aux dépens des deux premiers segments sétigères; en fait, la participation du premier segment est prédominante, et cette lèvre postérieure dépasse à peine vers l'arrière la limite des deux premiers segments (Fig. 4, D).

Les trois premiers segments sétigères sont abanches. Aux deux rames, les soies sont capillaires, limbées, nombreuses. Elles sont du même type que les soies de la région branchiale. A la rame dorsale, il existe un lobe cirriforme postérieur, rudimentaire sur les deux premiers segments, normalement développé sur le troisième segment. A la rame ventrale, il n'existe pas de lobe cirriforme postérieur.

Les branchies apparaissent sur le quatrième segment sétigère. Leur nombre varie peu et sur un total d'une vingtaine d'individus pris au hasard, j'ai relevé des chiffres allant de 8 à 12 paires de

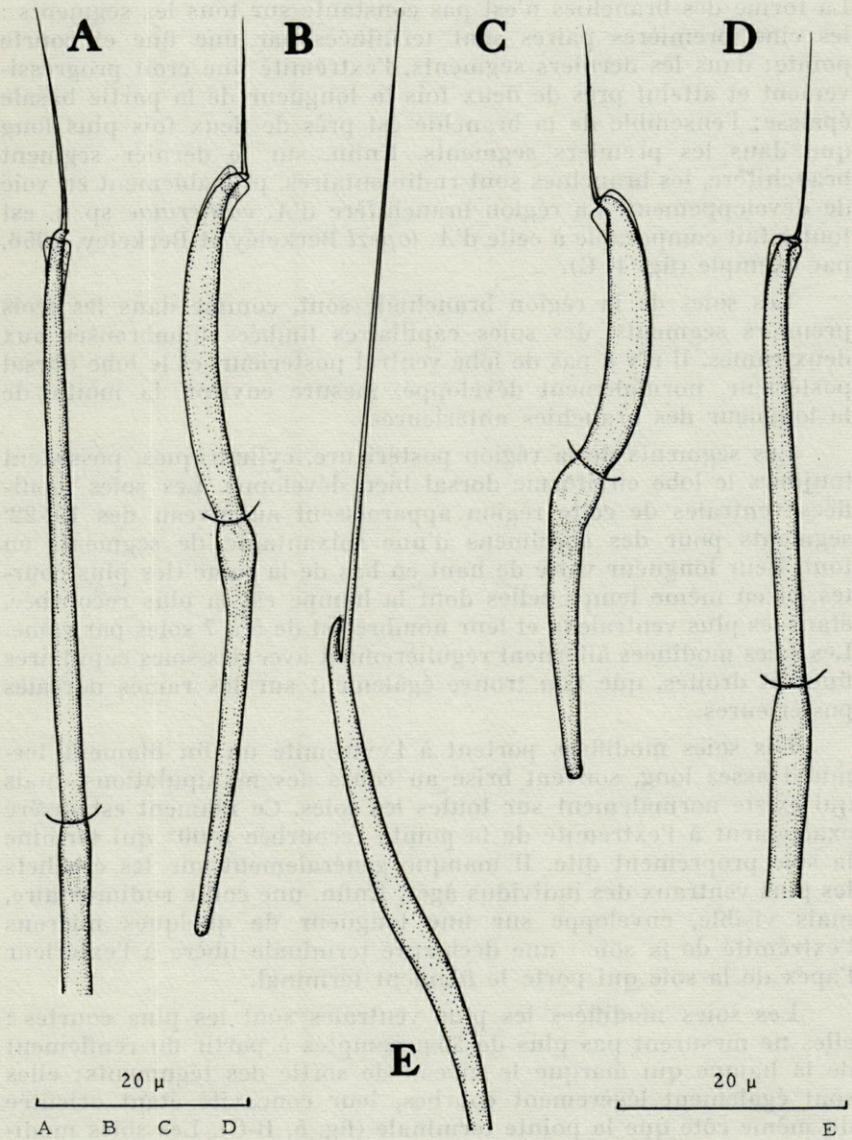


FIG. 5. — *Aricidea catherinae* sp. n. : A, D, soies postérieures modifiées les plus dorsales; B, C, soies postérieures modifiées les plus ventrales. *A. minuta* Southward : E, soie postérieure modifiée.

branchies, les valeurs les plus fréquentes étant de 9, 10 ou 11 paires. La forme des branchies n'est pas constante sur tous les segments : les cinq premières paires sont terminées par une fine et courte pointe; dans les derniers segments, l'extrémité fine croît progressivement et atteint près de deux fois la longueur de la partie basale épaisse; l'ensemble de la branchie est près de deux fois plus long que dans les premiers segments. Enfin, sur le dernier segment branchifère, les branchies sont rudimentaires, probablement en voie de développement. La région branchifère d'*A. catherinae* sp. n. est tout à fait comparable à celle d'*A.lopezi* Berkeley et Berkeley, 1956, par exemple (fig. 4, C).

Les soies de la région branchiale sont, comme dans les trois premiers segments, des soies capillaires limbées nombreuses aux deux rames. Il n'y a pas de lobe ventral postérieur, et le lobe dorsal postérieur, normalement développé, mesure environ la moitié de la longueur des branchies antérieures.

Les segments de la région postérieure, cylindriques, possèdent toujours le lobe cirriforme dorsal bien développé. Les soies modifiées ventrales de cette région apparaissent au niveau des 19^e-22^e segments pour des spécimens d'une soixantaine de segments en tout. Leur longueur varie de haut en bas de la rame (les plus courtes, et en même temps celles dont la hampe est la plus recourbée, étant les plus ventrales), et leur nombre est de 5 à 7 soies par rame. Les soies modifiées alternent régulièrement avec des soies capillaires fines et droites, que l'on trouve également sur les rames dorsales postérieures.

Les soies modifiées portent à l'extrémité un fin filament terminal assez long, souvent brisé au cours des manipulations, mais qui existe normalement sur toutes les soies. Ce filament est inséré exactement à l'extrémité de la pointe recourbée à 90° qui termine la soie proprement dite. Il manque généralement sur les crochets les plus ventraux des individus âgés. Enfin, une coiffe rudimentaire, mais visible, enveloppe sur une longueur de quelques microns l'extrémité de la soie : une déchirure terminale libre à l'extérieur l'apex de la soie qui porte le filament terminal.

Les soies modifiées les plus ventrales sont les plus courtes : elles ne mesurent pas plus de 25 μ comptés à partir du renflement de la hampe qui marque le niveau de sortie des téguments; elles sont également légèrement courbes, leur concavité étant orientée du même côté que la pointe terminale (fig. 5, B-C). Les soies modifiées les plus dorsales sont plus longues, puisqu'elles atteignent une soixantaine de microns, et sont presque droites (fig. 5, A et D).

Dans les derniers segments du corps, les soies capillaires ventrales disparaissent avant les soies modifiées, qui sont présentes

dès l'avant-dernier segment individualisé. Toutefois, comme chez d'autres espèces, le dernier segment formé porte seulement une ou deux soies capillaires dorsales, et l'ébauche du lobe cirriforme postérieur dorsal.

Le pygidium est tronqué obliquement vers le haut, et l'anüs débouche dorsalement sur la surface oblique. Ventralement, un court cirre impair médian, et deux cirres latéraux longs et grêles sont insérés sur le pygidium (fig. 4, E).

DISCUSSION SYSTÉMATIQUE

A. catherinae sp. n. fait partie des formes totalement dépourvues de lobes cirriformes ventraux, c'est-à-dire de la quasi totalité des espèces d'*Aricidea*. La forme de l'antenne, en ovoïde régulier terminé par un court prolongement cylindrique, constitue déjà une particularité intéressante; mais ce caractère morphologique dépend des conditions de fixation des spécimens, et il est préférable de choisir pour la définition de l'espèce des critères plus objectifs.

Ces critères existent dans la forme des soies modifiées postérieures ventrales. Ces soies possèdent toujours une fine coiffe terminale laissant dépasser la pointe de la soie proprement dite; sur cette pointe est insérée l'arista, qui se détache assez facilement au cours des manipulations. Aucune autre espèce d'*Aricidea* ne possède des soies de ce type. Tout au plus peut-on rapprocher *A. catherinae* sp. n. des formes suivantes :

— *A. lopezi* Berkeley et Berkeley, 1956 (et sa sous-espèce *A. lopezi rubra* Hartman, 1963), dont les soies dépourvues de coiffe et terminées par un renflement arrondi, possèdent également une arista terminale;

— *A. suecica* Eliason, 1920 (la sous-espèce australe *A. suecica simplex* Day, 1963 possède des soies modifiées en crochets toujours dépourvus d'arista), *A. jeffreysii* (McIntosh), *A. neosuecica* Hartman, 1965 et *A. abbranchiata* Hartman, 1965 dont les soies modifiées dépourvues de coiffe et terminées en pointe possèdent une arista terminale caduque.

Ces formes ne possèdent cependant jamais de coiffe terminale, et ce caractère suffit à isoler *A. catherinae* n. sp. La structure particulière de la lèvre postérieure, la forme de l'antenne, l'allongement important des branchies postérieures, éloignent également cette espèce des autres *Aricidea* dépourvues de lobes cirriformes ventraux.

A. catherinae sp. n., à l'époque de sa découverte, m'avait paru très proche, sinon identique, de *A. fauveli* Hartman, 1957, et c'est à cette espèce que BELLAN (1965, p. 17, addenda) fait allusion. L'historique de *A. fauveli* est assez confus : l'espèce a été créée par HARTMAN (1957) pour les individus décrits des côtes du Maroc par FAUVEL (1936) sous le nom d'*A. fragilis* Webster, 1879. BANSE (1959) signale et décrit de l'Adriatique une *Aricidea* qu'il nomme *A. fauveli*, citant comme synonyme de cette dernière espèce *A. minuta* Southward, 1956. Toutefois, comme l'ont déjà fait remarquer DAY (1961) et BELLAN (1965), la véritable *A. fauveli* possède des soies modifiées dont la pointe porte sur

son bord convexe un long prolongement limbé, alors que *A. fauveli* sensu Banse présente des soies modifiées chez lesquelles cette pointe est insérée du côté concave, et en dessous, du crochet principal bidenté. L'espèce observée par BANSE n'est donc pas *A. fauveli* et DAY (1961) la considère comme identique à une forme d'Afrique du Sud, *A. capensis* Day, 1961. Actuellement, sur le plan morphologique, cette synonymie ne paraît pas contestable. Par ailleurs, DAY considère comme synonyme probable de *A. capensis*, *A. minuta* Southward. Or, d'après la description originale, *A. minuta* possède des soies postérieures à prolongement inséré du côté concave de la hampe, mais la petite dent située à la partie convexe du crochet principal de *A. capensis* (et figurée par BANSE, 1959, fig. 7 b, chez l'*Aricidea* adriatique) est absente, et l'épaisseur du prolongement subterminal est beaucoup plus forte que celle d'une arista. Grâce à l'obligeance du Dr E. SOUTHWARD, j'ai pu confirmer ces observations (fig. 5, E). D'autre part, en ce qui concerne la brièveté de l'antenne de *A. minuta* (alors que celle de *A. capensis* est très longue), ELIASON (1962, fig. 5) confirme la description originale de SOUTHWARD d'après des spécimens de l'Oresund et un exemplaire ancien récolté par THULIN (1922) dans la même région. *A. minuta* est donc une espèce valide, différente de *A. capensis* comme de *A. fauveli*, actuellement localisée à la Mer d'Irlande et à la Mer du Nord. DAY (1961) considère également, comme je l'ai dit plus haut, que *A. assimilis* Tebble est synonyme de *A. fauveli*; en l'absence de toute description des soies modifiées postérieures, et en l'état actuel de la systématique des *Aricidea*, cette conclusion ne peut, à mon avis, être retenue.

4. *ARICIDEA MONICAE* sp. n. (1) (Fig. 6, A-E et 7, A-H)

MATÉRIEL ÉTUDIÉ

Une demi-douzaine d'exemplaires généralement entiers, de taille variable, ont été recueillis par dragages dans les vases bathyales du rech Lacaze-Duthiers, canyon sous-marin situé à une quinzaine de milles au Nord-Est de Banyuls-sur-Mer, par des profondeurs de 200 à 300 m. Un holotype entier de 65 segments sétigères, malheureusement brisé au cours des manipulations, a été déposé dans la collection du Laboratoire Arago, les paratypes étant conservés dans la collection personnelle de l'auteur.

(1) Cette espèce est dédiée en amical hommage à M^{me} M. LACOUR, en souvenir d'une précieuse collaboration.

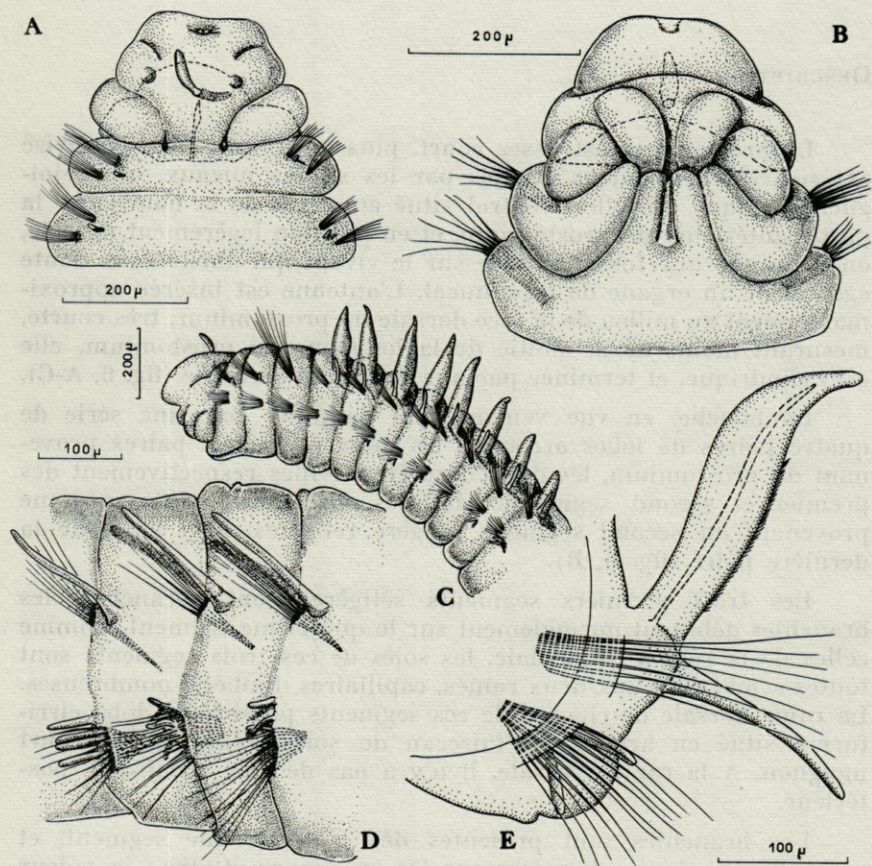


FIG. 6. — *Aricidea monicae* sp. n. : A, région antérieure en vue dorsale; B, région antérieure en vue ventrale; C, région antérieure en vue de profil; D, segments branchifères moyens porteurs de lobes digitiformes, vus latéralement; E, un segment branchifère moyen porteur de lobes digitiformes.

TAILLE, COLORATION

La longueur du corps varie de 5 à 15 mm environ, pour une largeur moyenne de 0,4 mm, parapodes non compris. Le plus grand spécimen entier compte 68 segments sétigères, le plus petit 46 seulement. La coloration générale est jaunâtre, il n'y a pas d'yeux sur le prostomium, mais de part et d'autre de l'antenne, on distingue deux taches circulaires plus foncées situées sous l'épaisseur des téguments.

DESCRIPTION

Le prostomium est assez court, plus large que long, et divisé extérieurement en deux parties par les sillons nucaux, qui rejoignent presque un sillon ventral situé en avant de la bouche. A la partie antérieure du prostomium, et en position légèrement dorsale, on distingue une fossette ciliée sur le vivant qui abrite sans doute également un organe de type nucal. L'antenne est insérée approximativement au milieu de la face dorsale du prostomium; très courte, mesurant moins de la moitié de la longueur du prostomium, elle est cylindrique, et terminée par une extrémité arrondie (fig. 6, A-C).

La bouche, en vue ventrale, est délimitée par une série de quatre paires de lobes arrondis, les deux premières paires provenant du prostomium, les deux dernières, issues respectivement des premier et second segments sétigères. Une fine pointe médiane provenant du second segment sétigère relie les deux lobes de la dernière paire (fig. 6, B).

Les trois premiers segments sétigères sont abranches, les branchies débutent normalement sur le quatrième segment. Comme celles de la région branchiale, les soies de ces trois segments sont toutes semblables aux deux rames, capillaires, limbées, nombreuses. La rame dorsale de chacun de ces segments possède un lobe cirriforme situé en arrière du faisceau de soies, réduit à un court moignon. A la rame ventrale, il n'y a pas de lobe cirriforme postérieur.

Les branchies sont présentes dès le quatrième segment, et comprennent de 4 à 9 paires sur les spécimens étudiés; la valeur moyenne est de 8 paires. La dernière paire de branchies est deux à trois fois plus petite que les autres, il s'agit vraisemblablement d'un organe en voie de développement. Les branchies sont toutes semblables à cette exception près, cylindriques, brusquement atténuées et terminées par une fine pointe. Les lobes cirriformes dorsaux de la région branchiale sont très longs, dès le premier segment branchifère; ils conservent la même longueur dans la région postérieure abranchie (fig. 6, E et fig. 7, B).

La caractéristique la plus originale de *A. monicae* sp. n. réside dans l'existence sur certains segments d'une série de petits lobes digitiformes, régulièrement cylindriques, à extrémité arrondie. Au nombre de un par segment dans la partie antérieure du corps, allant jusqu'à cinq par segment dans la partie postérieure, ces lobes sont insérés d'abord ventralement, puis au même niveau, mais légèrement en arrière du faisceau de soies correspondant. Partielle-

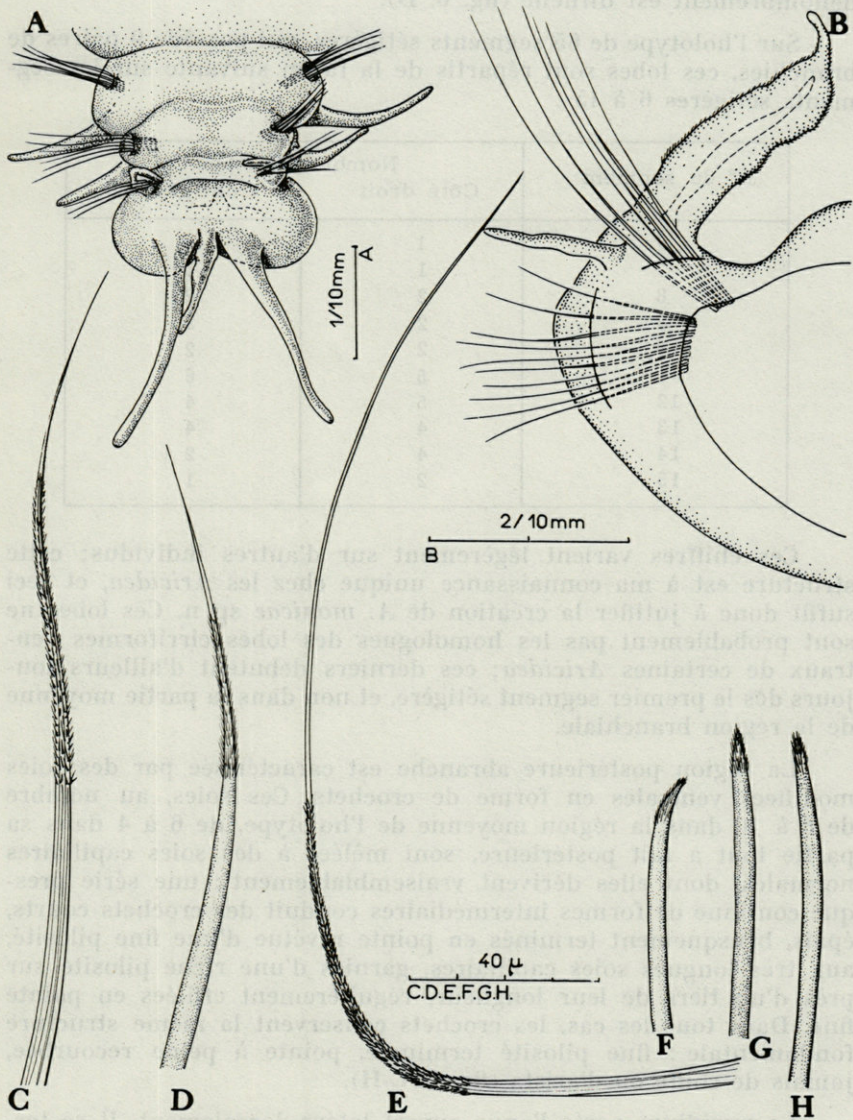


FIG. 7. — *Aricidea monicae* sp. n. : A, pygidium et derniers segments, en vue ventrale; B, segment branchifère postérieur; C, D, E, soies capillaires postérieures ventrales plus ou moins modifiées; F, G, H, soies ventrales postérieures modifiées.

ment cachés par les soies capillaires rabattues vers l'arrière, leur dénombrement est difficile (fig. 6, D).

Sur l'holotype de 65 segments sétigères, qui possède 9 paires de branchies, ces lobes sont répartis de la façon suivante sur les segments sétigères 6 à 15 :

N° du segment	Nombre de lobes	
	Côté droit	Côté gauche
6	1	1
7	1	1
8	2	2
9	2	2
10	2	2
11	5	6
12	5	4
13	4	4
14	4	2
15	2	1

Ces chiffres varient légèrement sur d'autres individus; cette structure est à ma connaissance unique chez les *Aricidea*, et ceci suffit donc à justifier la création de *A. monicae* sp. n. Ces lobes ne sont probablement pas les homologues des lobes cirriformes ventraux de certaines *Aricidea*; ces derniers débutent d'ailleurs toujours dès le premier segment sétigère, et non dans la partie moyenne de la région branchiale.

La région postérieure abranchée est caractérisée par des soies modifiées ventrales en forme de crochets. Ces soies, au nombre de 8 à 10 dans la région moyenne de l'holotype, de 6 à 4 dans sa partie tout à fait postérieure, sont mêlées à des soies capillaires normales, dont elles dérivent vraisemblablement : une série presque continue de formes intermédiaires conduit des crochets courts, épais, brusquement terminés en pointe revêtue d'une fine pilosité, aux très longues soies capillaires, garnies d'une riche pilosité sur près d'un tiers de leur longueur, régulièrement effilées en pointe fine. Dans tous les cas, les crochets conservent la même structure fondamentale : fine pilosité terminale, pointe à peine recourbée, jamais de coiffe ou d'arista (fig. 7, C-H).

Le pygidium porte l'anus ouvert latéro-dorsalement. Il se termine en deux lobes hémisphériques. L'ornementation pygidiale comprend un court cirre impair médian, et deux cirres latéraux deux à trois fois plus longs que le cirre impair. Cette ornementation est celle de la plupart des *Paraonidae* (fig. 7, A).

DISCUSSION SYSTÉMATIQUE

La présence de lobes digitiformes aux rames ventrales de certains segments moyens de *A. monicae* sp. n. est un caractère unique chez les *Aricidea*, et suffisant pour justifier la création d'un nouveau cadre spécifique.

Par la forme des soies modifiées postérieures, on peut rapprocher *A. monicae* sp. n. des espèces suivantes :

— *A. jeffreysii* (Mc'Intosh), *A. nolani* Webster et Benedict, 1887, *A. suecica* Eliason et surtout sa sous-espèce australe *A. suecica simplex* Day, 1963.

A. jeffreysii possède, outre les crochets nus sans prolongements terminaux, certains crochets terminés par une fine arista. En fait, il semble bien que le type normal soit le crochet aristé, le crochet dépourvu d'arista étant le résultat de la disparition de ce prolongement dont l'insertion est toujours assez fragile. Par ailleurs, le lobe cirriforme dorsal du troisième segment sétigère a la même longueur que ceux de la région branchiale, alors que chez *A. monicae* sp. n., il est rudimentaire, réduit à un simple moignon identique à ceux des deux premiers segments. Enfin, longueur et forme de l'antenne diffèrent également d'une espèce à l'autre.

A. nolani est une espèce très imparfaitement décrite, et sa validité a été mise en doute depuis longtemps. PETTIBONE (1963) admet que la description de WEBSTER et BENEDICT (1887) s'applique partiellement à *A. jeffreysii*, partiellement à *A. suecica*. HARTMAN (1959) la classe parmi les espèces « incompletely known ». Il n'est donc pas possible de préciser actuellement les rapports de cette forme avec *A. monicae* sp. n.; elles sont cependant, si tant est qu'il existe bien une espèce *A. nolani*, assez proches l'une de l'autre, comme le prouve les synonymies reconnues par PETTIBONE.

A. suecica suecica possède comme *A. jeffreysii*, deux types de soies modifiées postérieures : les unes présentent une véritable arista, alors que les autres n'en présentent pas. Comme je l'ai dit pour *A. jeffreysii*, il s'agit d'un organe caduc, facilement détaché au cours des manipulations ou même durant la vie de l'animal.

La forme la plus proche de *A. monicae* sp. n. est sans conteste *A. suecica simplex* Day, 1963. En effet, cette sous-espèce, actuellement confinée à l'Afrique du Sud, possède un seul type de soies modifiées postérieures ventrales : ce sont des crochets sigmoïdes, montrant une légère constriction à l'endroit où ils traversent les téguments, terminés par une extrémité unidentée recourbée, toujours dépourvue d'arista. Par ailleurs, l'antenne de *A. suecica simplex*, beaucoup plus courte que celle de *A. suecica suecica*, est similaire à celle de *A. monicae* sp. n. DAY ne fournit malheureusement pas la description de la face ventrale antérieure, mais précise qu'il n'y a pas de lobes cirriformes ventraux, les neuropodes étant limités simplement à des rides latérales basses (1963a). L'unique caractère morphologique séparant, dans l'état actuel

de nos connaissances, *A. suecica simplex* et *A. monicae* sp. n. réside donc dans les lobes digitiformes de la région moyenne, absents chez la première de ces formes, présents chez la seconde. La distinction entre ces deux formes est également justifiée par les raisons biogéographiques : *A. monicae* sp. n. est limitée à la Méditerranée occidentale, alors que *A. suecica simplex* n'a pas été retrouvée depuis sa découverte en Afrique du Sud.

5. *ARICIDEA CLAUDIAE* sp. n. (1)

(Figs 8, A-E et 9, A-E)

MATÉRIEL ÉTUDIÉ

Une douzaine d'exemplaires souvent brisés postérieurement, de taille variable, ont été recueillis dans la vase circalittorale qui s'étend par 35-40 m de profondeur en face de la baie du Troc, Banyuls-sur-Mer. Deux exemplaires ont été récoltés dans une vase bathyale à débris coquilliers, provenant du plateau du Balandrau, à une vingtaine de milles de Banyuls, par 200 m de profondeur environ; cette région constitue la pointe du plateau continental vers le large, entre les deux vallées sous-marines rech Lacaze-Duthiers et rech du Cap. Ils m'ont été confiés par J. SOYER. Un spécimen entier de plus de 100 segments sétigères, comptant quatorze paires de branchies, a été désigné comme holotype est déposé dans la collection du Laboratoire Arago. Les paratypes sont conservés dans la collection personnelle de l'auteur.

TAILLE, COLORATION

La longueur du corps varie entre 5 et 10 mm environ, pour une largeur de 0,25 mm; la section du corps est assez aplatie, les segments antérieurs les plus déprimés étant plus de deux fois plus larges que hauts. Sur les divers spécimens, le nombre de branchies varie légèrement, de 12 à 14 paires, avec une valeur moyenne de 13 paires de branchies. La coloration est assez caractéristique sur le vivant : les animaux sont verdâtres, cette teinte étant plus ou moins masquée par la coloration rouge des vaisseaux; de petites granulations noires sont dispersées sur le prostomium et dans la

(1) Cette espèce est dédiée en très amical hommage à M^{me} C. ORSINI.

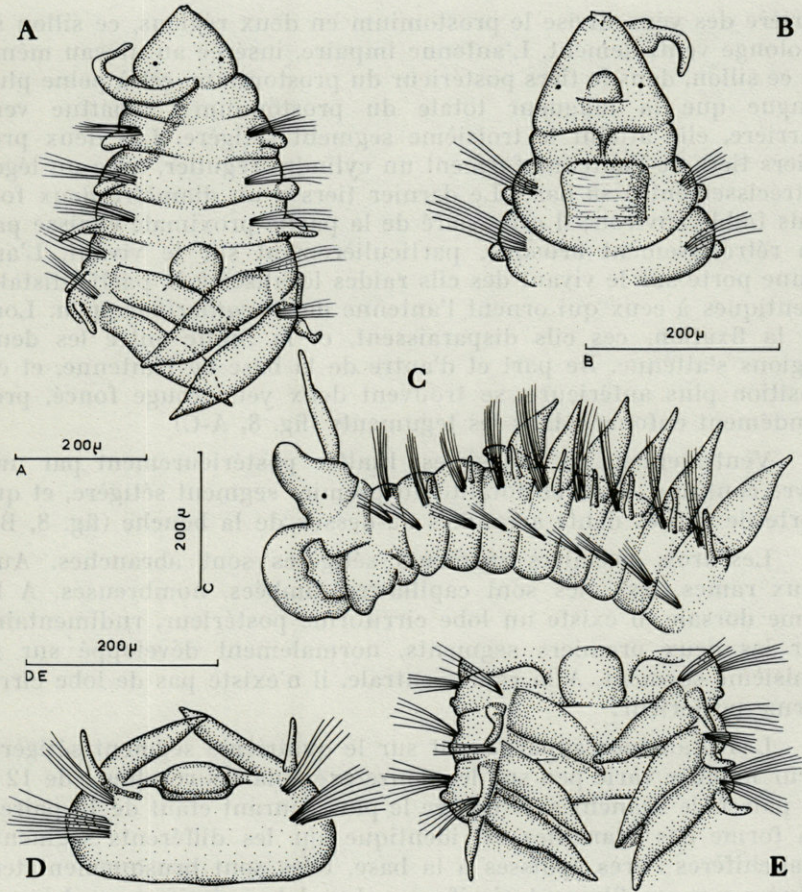


FIG. 8. — *Aricidea claudiae* sp. n. : A, région antérieure, en vue dorsale; B, région antérieure, en vue ventrale; C, région antérieure, vue de profil; D, 4^e segment sétigère en vue de face, montrant la papille impaire médio-dorsale; E, début de la région branchiale en vue dorsale, montrant la papille impaire.

région antérieure, mais font presque totalement défaut dans la région postérieure. Le prostomium porte deux petits yeux rouge foncé situés au niveau de l'insertion de l'antenne.

DESCRIPTION

Le prostomium est de forme triangulaire, régulièrement effilé vers l'avant et terminé par une légère dépression circulaire probablement l'homologue d'un organe nucal. Un sillon passant juste en

arrière des yeux divise le prostomium en deux régions, ce sillon se prolonge ventralement. L'antenne impaire, insérée au niveau même de ce sillon, dans le tiers postérieur du prostomium, est à peine plus longue que la longueur totale du prostomium : rabattue vers l'arrière, elle atteint le troisième segment sétigère. Les deux premiers tiers de l'antenne forment un cylindre régulier, avec un léger rétrécissement à sa base. Le dernier tiers a un diamètre deux fois plus faible environ; il est séparé de la partie proximale épaisse par un rétrécissement brusque, particulièrement sur le vivant. L'antenne porte sur le vivant des cils raides localisés à la partie distale, identiques à ceux qui ornent l'antenne de *A. catherinae* sp. n. Lors de la fixation, ces cils disparaissent, et la limite entre les deux régions s'atténue. De part et d'autre de la base de l'antenne; et en position plus antérieure, se trouvent deux yeux rouge foncé, profondément enfoncés dans les téguments (fig. 8, A-C).

Ventralement, la bouche est limitée postérieurement par une lèvre continue, issue en totalité du premier segment sétigère, et qui porte de petites dents arrondies au-dessus de la bouche (fig. 8, B).

Les trois premiers segments sétigères sont abranche. Aux deux rames, les soies sont capillaires, limbées, nombreuses. A la rame dorsale, il existe un lobe cirriforme postérieur, rudimentaire sur les deux premiers segments, normalement développé sur le troisième segment. A la rame ventrale, il n'existe pas de lobe cirriforme postérieur.

Les branchies apparaissent sur le quatrième segment sétigère. Leur nombre varie peu sur les douze exemplaires récoltés : de 12 à 14 paires de branchies, le chiffre le plus courant étant de 13 paires. La forme des branchies est identique sur les différents segments branchifères : très épaisses à la base, elles sont brusquement terminées par un filament cirriforme. Les lobes cirriformes dorsaux sont présents dans la région branchiale; ils mesurent environ la moitié de la longueur de la branchie, parfois même moins.

La caractéristique la plus remarquable de cette région branchiale réside dans l'existence, sur le premier segment branchifère, soit le quatrième sétigère, d'une papille impaire médio-dorsale arrondie, à peine plus longue que la largeur du segment. Cette papille est insérée au bord postérieur du quatrième segment, et se détache totalement des téguments dans sa moitié la plus antérieure; une légère dépression de la région dorsale correspondante du quatrième segment sétigère loge partiellement la papille dorsale. Ce caractère est à ma connaissance unique chez les *Paraonidae* et suffit à lui seul à justifier la création d'une nouvelle espèce (fig. 8, D-E).

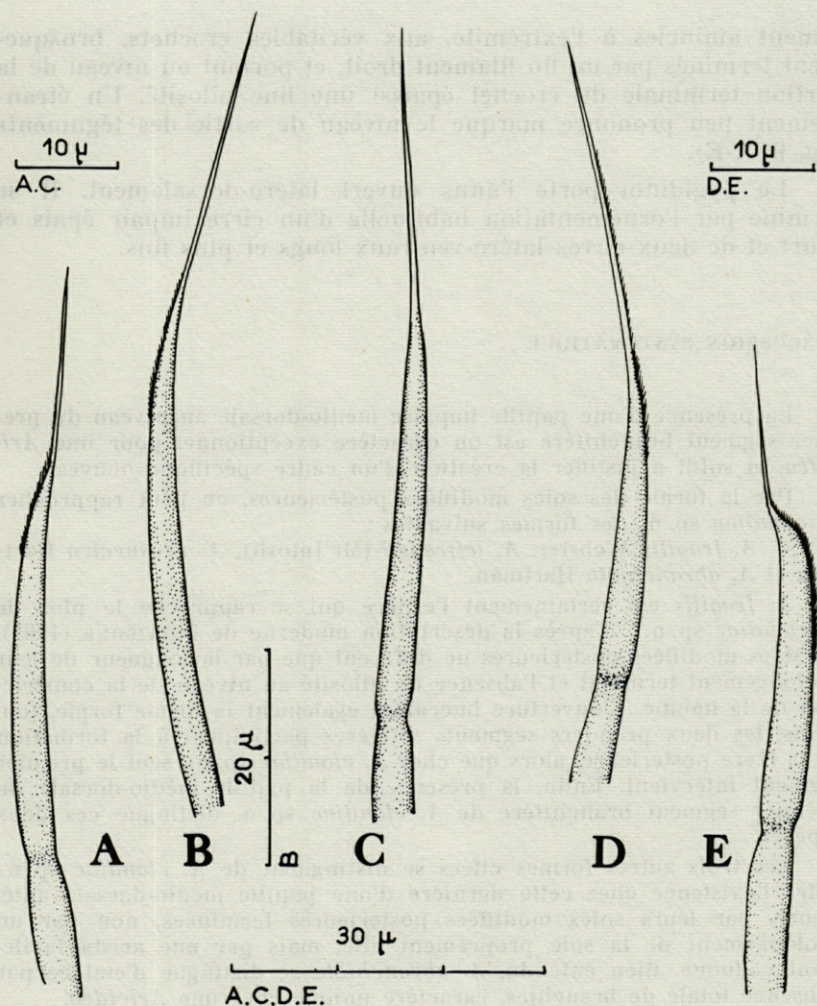


FIG. 9. — *Aricidea claudiae* sp. n. : A - E, différents types de soies modifiées postérieures ventrales plus ou moins brusquement atténuées.

La rame ventrale est légèrement saillante dans la région branchiale, sans que l'on puisse parler de lobe cirriforme postérieur ventral.

La région postérieure abranchée de *A. claudiae* sp. n. est caractérisée par la présence de soies modifiées ventrales. Ces soies, au nombre de 3 à 5 sur chaque rame, dérivent vraisemblablement des soies capillaires normales : une série presque continue de formes intermédiaires conduit des très longues soies capillaires réguliè-

rement amincies à l'extrémité, aux véritables crochets, brusquement terminés par un fin filament droit, et portant au niveau de la portion terminale du crochet épaissi une fine pilosité. Un étranglement peu prononcé marque le niveau de sortie des téguments (fig. 9, A-E).

Le pygidium porte l'anus ouvert latéro-dorsalement. Il se termine par l'ornementation habituelle d'un cirre impair épais et court et de deux cirres latéro-ventraux longs et plus fins.

DISCUSSION SYSTÉMATIQUE

La présence d'une papille impaire médio-dorsale au niveau du premier segment branchifère est un caractère exceptionnel pour une *Aricidea*, et suffit à justifier la création d'un cadre spécifique nouveau.

Par la forme des soies modifiées postérieures, on peut rapprocher *A. claudiae* sp. n. des formes suivantes :

— *A. fragilis* Webster, *A. jeffreysii* (Mc'Intosh), *A. neosuecica* Hartman et *A. abbranchiata* Hartman.

A. fragilis est certainement l'espèce qui se rapproche le plus de *A. claudiae* sp. n. : d'après la description moderne de PETTIBONE (1965), les soies modifiées postérieures ne diffèrent que par la longueur de leur prolongement terminal et l'absence de pilosité au niveau de la constriction de la hampe. L'ouverture buccale a également la même forme, toutefois, les deux premiers segments sétigères participent à la formation de la lèvre postérieure, alors que chez *A. claudiae* sp. n., seul le premier segment intervient. Enfin, la présence de la papille médio-dorsale du premier segment branchifère de *A. claudiae* sp. n. distingue ces deux espèces.

Les trois autres formes citées se distinguent de *A. claudiae* sp. n., outre l'existence chez cette dernière d'une papille médio-dorsale antérieure, par leurs soies modifiées postérieures terminées, non par un prolongement de la soie proprement dite, mais par une arista facilement caduque. Bien entendu, *A. abbranchiata* se distingue d'emblée par l'absence totale de branchies, caractère unique chez une *Aricidea*.

6. LES ARICIDEA DE MÉDITERRANÉE

Les quatre espèces qui viennent d'être décrites (*A. annae*, *A. catherinae*, *A. monicae* et *A. claudiae*) ne sont connues à l'heure actuelle que dans la région de Banyuls-sur-Mer, c'est-à-dire dans le secteur Nord de la Méditerranée occidentale. Une cinquième espèce d'*Aricidea* est présente à Banyuls : *A. cerrutii*, qui existe sur le

pourtour du bassin occidental et en Mer Noire, et déborde largement la Méditerranée, puisqu'elle a été trouvée depuis les côtes d'Afrique du Sud jusqu'au Skagerak.

Trois autres espèces d'*Aricidea* habitent également en Méditerranée :

— Tout d'abord *A. fauveli* Hartman, que BELLAN (1965) a récoltée dans des vases bathyales des parages de Monaco.

— Puis *A. fauveli* Hartman, sensu BANSE (1959) récoltée en Haute Adriatique, à Rovigno. Contrairement à l'opinion de BANSE, cette espèce n'est synonyme, ni de *A. fauveli* Hartman (= *A. fragilis*, FAUVEL, 1936), ni de *A. minuta* Southward. Elle est peut-être identique à *A. capensis* Day, 1961; elle devra peut-être également faire l'objet d'une dénomination nouvelle.

— Enfin *A. assimilis* Tebble, 1959, dont le statut est encore incertain. En l'absence des soies postérieures modifiées ventrales, il est difficile d'admettre l'hypothèse de DAY (1961) suivant laquelle cette espèce est synonyme de *A. fauveli* Hartman. D'après la longueur démesurée de l'antenne impaire, cette espèce est à rapprocher de *A. annae* sp. n.; mais ceci devra également être vérifié d'après des spécimens topotypiques d'*A. assimilis*.

Il existe donc à l'heure actuelle huit espèces d'*Aricidea* sensu stricto en Méditerranée, dont deux sont encore incomplètement connues. La clef dichotomique suivante permet l'identification des six autres espèces.

CLEF DICHOTOMIQUE DES *ARICIDEA* MÉDITERRANÉENNES

1. Lobes cirriformes postérieurs ventraux présents dès le premier segment sétigère. *A. annae* sp. n.
Lobes cirriformes postérieurs ventraux absents 2
2. Lobes digitiformes présents à la rame ventrale de quelques segments de la région moyenne *A. monicae* sp. n.
Lobes digitiformes absents 3
3. Soies postérieures ventrales modifiées en crochets spioniformes à coiffe, sans prolongement terminal *A. cerrutii* Laubier
Soies postérieures ventrales modifiées d'un autre type 4

4. Soies postérieures ventrales modifiées en crochets à coiffe avec une fine arista terminale *A. catherinae* sp. n.
Soies postérieures ventrales modifiées d'un autre type 5
5. Soies postérieures ventrales modifiées en crochets nus avec une pointe terminale. *A. claudiae* sp. n.
Soies postérieures ventrales modifiées en crochets nus avec une pointe insérée sur la partie convexe du crochet *A. fauveli* Hartman

RÉSUMÉ

Ce travail est consacré à l'étude de quelques espèces d'*Aricidea* (Polychètes, *Paraonidae*) nouvelles ou mal connues de la région de Banyuls-sur-Mer. L'espèce méditerranéenne la plus classique, *A. cerrutii* Laubier (= *A. jeffreysii*, sensu CERRUTI et FAUVEL) est décrite et sa répartition étudiée en détail. Quatre autres espèces nouvelles pour la Science sont fondées : *A. annae* sp. n., *A. catherinae* sp. n., *A. monicae* sp. n. et *A. claudiae* sp. n. Toutes proviennent de vases circalittorales ou bathyales de la proche région de Banyuls. Une révision des autres espèces d'*Aricidea* méditerranéennes termine ce travail, accompagnée d'une clef dichotomique permettant leur identification.

SUMMARY

This paper is devoted to the study of some new or incompletely known species of *Aricidea* (Polychaets, *Paraonidae*) from the region of Banyuls-sur-Mer. The most common mediterranean species *A. cerrutii* Laubier (= *A. jeffreysii*, sensu CERRUTI and FAUVEL) is described and its distribution studied in a detailed way. Four other species are new to Science : *A. annae* sp. n., *A. catherinae* sp. n., *A. monicae* sp. n. and *A. claudiae* sp. n. They all come from circalittoral or bathyal muddy bottoms from the vicinity of Banyuls. The revision of the other mediterranean species of *Aricidea* concludes this work, together with a dichotomous key allowing their identification.

ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit ist der Untersuchung einiger neuer oder ungenügend bekannter *Aricidea*-Arten (Polychaeten, *Paraonidae*) aus der Umgebung von Banyuls-sur-Mer gewidmet. Die klassische mediterrane Art *A. cerrutii* Laubier (= *A. jeffreysii*, sensu CERRUTI et FAUVEL) wird beschrieben und ihre Verbreitung im einzelnen untersucht. Neu für die Wissenschaft sind vier Arten: *A. annae* sp. n., *A. catherinae* sp. n., *A. monicae* sp. n. und *A. claudiae* sp. n. Alle stammen aus zirkalitoralem oder bathyalem Schlamm der näheren Umgebung von Banyuls. Eine Revision der anderen mediterranen *Aricidea*-Arten, ergänzt durch einen dichotomen Bestimmungsschlüssel, beschliesst diese Arbeit.

BIBLIOGRAPHIE

- BANSE, K., 1959. Polychaeten aus Rovinj (Adria). *Zool. Anz.*, **161** (9/10) : 295-313.
- BELLAN, G., 1964. Contribution à l'étude systématique, bionomique et écologique des Annélides Polychètes de la Méditerranée. Thèse Fac. Sc. Aix-Marseille, pp. 1-372.
- BELLAN, G., 1965. Contribution à l'étude des Polychètes profondes des parages de Monaco et des côtes de la Corse. *Bull. Inst. océanogr. Monaco*, **65** (1345) : 1-24.
- BERKELEY, E. et C. BERKELEY, 1952. Canadian Pacific Fauna. 9. Annelida 9b Polychaeta Sedentaria. Toronto, pp. 1-139.
- CERRUTI, A., 1909. Contributo all'Anatomia, biologia e sistematica delle Paraonidae (Levinsenidae) con particolare riguardo alle specie del golfo di Napoli. *Mitth. Zool. Stat. Neapel*, **19** : 459-512.
- DAY, J.H., 1963 : The Polychaete Fauna of South Africa Part 8 : New species and records from grab samples and dredgings. *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.)*, *Zool.*, **10** (7) : 383-445.
- DAY, J.H., 1963a. Polychaete Fauna of South Africa : Part 7 Species from depths between 1,000 and 3,330 metres west of Cape Town. *Annls South African Mus.*, **46** (14) : 353-371.
- DUMITRESCO, H., 1960. Contributions à la connaissance des Polychètes de la Mer Noire, spécialement des eaux prébosphoriques. *Trav. Mus. Hist. nat. « Gr. Antipa »*, **2** : 69-85.
- ELIASON, A., 1962. Undersökningar över Oresund. 41 Weithere Untersuchungen über die Polychaetenfauna des Oresunds. *Lunds Univ. Arsskrift*, N.F., (2), **58** (9) : 1-98.
- FAUVEL, P., 1927. Faune de France. 16 Polychètes Sédentaires. Lechevalier édit., pp. 1-494.

- FAUVEL, P., 1936. Contribution à la faune des Annélides Polychètes du Maroc. *Mém. Soc. Sc. nat. Maroc*, 43 : 1-143.
- HARTMAN, O., 1957. Orbiniidae, Apistobranchidae, Paraonidae and Longosomidae. *Allan Hancock Pacif. Exped.*, 15 (3) : 211-392.
- HARTMAN, O., 1959. Catalogue of the Polychaetous Annelids of the world. *Allan Hancock Found. Publ.*, occas. paper, n° 23 : 1-628.
- LAUBIER, L., 1965. Sur la présence du genre *Cirrophorus* (Polychètes, *Paraonidae*) en Méditerranée. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 90 (4) : 469-477.
- LAUBIER, L., 1967. Contribution à la faunistique du coralligène. VII. - A propos de quelques Annélides Polychètes rares ou nouvelles (*Chrysopetalidae*, *Syllidae* et *Spionidae*). *Annales Inst. océanogr.*, sous presse.
- LAUBIER, L. et J. PARIS, 1962. Faune marine des Pyrénées-Orientales. 4 Annélides Polychètes. Hermann édit., pp. 1-80.
- McINTOSH, W.C., 1879. On the Annelida obtained during the cruise of H.M.S. *Valorous* to Davis Strait in 1875. *Trans. Linn. Soc. London*, n.s., 1 : 499-511.
- McINTOSH, W.C., 1923. A monograph of the British marine Annelids. Vol. 4, pt. 2 Polychaeta : Sabellidae to Serpulidae. With additions to the British marine Polychaeta during the publication of the monograph. London, Ray Society, pp. 251-538.
- MONNIOT, F., 1962. Recherches sur les graviers à Amphioxus de la région de Banyuls-sur-Mer. *Vie Milieu*, 13 (2) : 231-322.
- PETIBONE, M.H., 1963. Marine Polychaete Worms of the New England Region 1. Aphroditidae through Trochochaetidae. *Bull. U.S. nat. Mus.*, 227 (1) : 1-356.
- PETIBONE, M.H., 1965. Two new species of *Aricidea* (Polychaeta, *Paraonidae*) from Virginia and Florida, and redescription of *Aricidea fragilis* Webster. *Proc. biol. Soc. Washington*, 78 : 127-140.
- RENAUD, J.C., 1956. A Report on Some Polychaetous Annelids from the Miami-Bimini Area. *Amer. Mus. Novit.*, 1812 : 1-40.
- SOUTHERN, R., 1914. Clare Island Survey pt. 47 Archiannelida and Polychaeta. *Proc. roy. Irish Acad.*, 31 : 1-160.
- SOUTHWARD, E.C., 1956. On some Polychaeta of the isle of Man. *Annls Mag. nat. Hist.*, (12) 9 : 257-279.
- TEBBLE, N., 1959. On a collection of Polychaetes from the mediterranean coast of Israel. *Bull. Res. Council. Israel, Zool.*, B8 (1) : 9-30.
- TENERELLI, V., 1964. Su una associazione di Policheti mesopsammici del Golfo di Catania. *Boll. sed. Accad. gioenia Sci. nat. Catania*, (4) 8 (4) : 221-245.
- THULIN, G., 1922. Bottenboniteringar i södra Ostersjön i samband med fisktrålningar. Svenska Hydro.-Biol. Kommns Skrift., 7, Göteborg.
- USHAKOV, P.V., 1955. Mnogoshchetinkovye chervi dal'nevostochnykh Morei SSSR (Polychaeta). *Opredeliteli po faune SSSR, Akad. nauk SSSR*, 56 : 1-445.
- VINOGRADOV, K.A., 1949. Contributiuni la fauna Polichetelor din Marea Neagra. *Tr. Karad. Biol. St. Akad. nauk RSS Ukr.*, 8.
- WEBSTER, H.E. et J.E. BENEDICT, 1887. The Annelida Chaetopoda from Eastport, Maine. *Rep. U.S. Commn Fish.*, 1887 : 707-758.

RECHERCHES COMPLÉMENTAIRES
SUR LA SEXUALITÉ D'*ASTERINA GIBBOSA*
PENNANT DE BANYULS

par Jacques BRUSLÉ

*Biologie animale, S.P.C.N., Faculté des Sciences d'Orsay
(Prof. Th. Lender) et d'Orléans (Prof. R. Delavault),
et Laboratoire Arago (Banyuls-sur-Mer)*

SOMMAIRE

L'auteur fait une analyse cytologique des gonades chez cette Etoile de mer hermaphrodite au cours des différents mois de l'année. Il dégage ainsi la physionomie des cycles génitaux en fonction de la taille.

L'étude de l'hermaphrodisme chez l'Etoile de mer *Asterina gibbosa* a fait l'objet d'un certain nombre de travaux. Ils ont abouti à la notion de « races sexuelles » différentes suivant les localités. Ainsi, à Naples (CUÉNOT, 1898; BACCI, 1951) et à Roscoff (NEEFS, 1958), existent à la fois des individus unisexués et des hermaphrodites; pour cette raison, la race est dite « non équilibrée » (BACCI, 1951). Au contraire, à Plymouth (BACCI, 1949) et, dans une certaine mesure, à Dinard (DELAVault, 1960a), on ne trouve que des hermaphrodites; suivant BACCI (1951), ces animaux appartiennent à une race « équilibrée ».

Les *Asterina* de la côte de Banyuls ont d'abord été étudiées par CUÉNOT (1898) qui conclut à un hermaphrodisme protérandrique strict. Mais ultérieurement DELAVault (1960b) a observé, en mars, une nouvelle poussée spermatogénétique chez les individus d'assez grande taille, en phase femelle dominante. Toutefois, les

observations de cet auteur n'ont porté que sur du matériel récolté aux seuls mois de mars et de juin.

Aussi, dans le cadre des recherches que je poursuis sur le déterminisme de l'orientation sexuelle des deux lignées, s'avèrait-il nécessaire de connaître les modalités du cycle génital annuel complet. On ne saurait en effet se dispenser de cette analyse si l'on veut interpréter correctement les résultats d'expériences de greffes de gonades qui sont actuellement en cours, de même que ceux acquis à la suite de cultures organotypiques dont la mise au point a fait l'objet d'une note récente (DELAVALT et BRUSLÉ, 1965).

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Les *Asterina*, pêchées à Banyuls, sont reçues chaque mois à Orsay. Une gonade est prélevée dans chacune d'elles, puis fixée, et l'animal est conservé en élevage. Les prélèvements sont effectués mensuellement, en utilisant à la fois les animaux en élevage et ceux provenant directement de Banyuls. Lors des séjours dans cette station, on procède de la même manière.

Le fixateur adopté est le Halmi et la coloration la plus fréquente est faite avec le mélange érythrosine - bleu de toluidine.

Au total 390 gonades ont été prélevées puis examinées sur coupes de novembre 1963 à novembre 1965.

OBSERVATIONS ET RÉSULTATS

Une remarque préliminaire s'impose : j'ai constaté que chez la plupart des plus petits individus, soit ceux dont la taille des bras est inférieure à 5 mm, les gonades ne contiennent, toute l'année, que des gonies accompagnées de rares ovocytes de petite taille. En ce qui concerne les autres, j'ai distingué, pour la commodité de l'exposé, deux catégories en fonction de la longueur des bras : l'une intéresse les *Asterina* où cette longueur s'étend jusqu'à 12 mm et l'autre celles où elle s'échelonne de 13 à 25 mm. Voici les observations que j'ai faites à leur propos :

Janvier : Les gonades des animaux de la 1^{re} catégorie contiennent des gonies, quelques petits ovocytes et des colonnettes spermatiques riches en mitoses goniales et où débutent des réductions chromatiques. Chez ceux de la 2^e catégorie, la plupart des gonades sont nettement femelles, ne contenant que de gros ovocytes; d'autres, du même type, comportent cependant des îlots de spermatogenèse présentant des figures

de réduction chromatique; on y observe aussi des spermatozoïdes mais pas de colonnettes spermatiques.

Février et mars : Les gonades présentent la même physionomie qu'en janvier mais la spermatogenèse est de plus en plus intense, les figures de réduction chromatique sont plus nombreuses et les spermatozoïdes plus abondants.

Avril : L'activité spermatogénétique atteint son maximum chez tous les individus. Chez ceux de la 1^{re} catégorie, la lumière de la gonade est occupée par de très nombreux spermatozoïdes issus de colonnettes spermatiques (59 cas sur 62 gonades observées). Chez les autres, les îlots de spermatogenèse, entre les gros ovocytes, sont observés dans 16 gonades sur 25 et, dans 3 de ces glandes, le tissu vésiculeux signalé par BACCI (1949) est décelable et témoigne de l'émission du sperme.

Mai : Les produits génitaux mâles et femelles ayant été expulsés dans leur quasi-totalité au cours du mois précédent, le tissu vésiculeux envahit la gonade chez les plus grands individus. Par contre, il n'apparaît pas chez les plus petits.

Juin, juillet, août, septembre : Aucun élément mâle n'est visible pendant cette période; un seul cas, en juin, fait exception; il porte sur un animal de grande taille, en phase de femelle dominante.

Tous les individus ne présentent que des poussées ovogénétiques plus ou moins discrètes; les gonades qui, précédemment, montraient de nombreux ovocytes, n'en contiennent plus que quelques-uns, non pondus, qui dégénèrent. Le tissu vésiculeux est toujours abondant.

Octobre : Les ovocytes issus des poussées ovogénétiques précédentes, entrent en croissance et manifestent désormais une activité vitello-génétique.

Novembre : Chez les individus de la 1^{re} catégorie, les gonies commencent à s'organiser en colonnettes spermatiques. Certains de ceux appartenant à la 2^e catégorie montrent des îlots de spermatogenèse au voisinage d'ovocytes de grande taille; il en est ainsi pour 3 individus sur 14 observés.

Décembre : Pour tous les individus, l'activité spermatogénétique se précise mais seuls les plus grands montrent les premiers spermatozoïdes.

Nous retiendrons d'abord qu'aucune activité génitale de caractère cyclique n'est décelable chez les plus petits individus ($R < 5$ mm) (1). Seuls quelques animaux, parmi eux, ont manifesté une activité spermatogénétique importante au printemps.

Ensuite, quand les *Asterina* grandissent, apparaît un cycle génital différent suivant la taille des individus.

1°) Les animaux de taille moyenne ($R = 6$ à 12 mm) sont caractérisés par une évolution génitale presque exclusivement dirigée dans le sens mâle. Apparente au début de novembre puis-

(1) R désigne ici, de même que dans la suite du texte, la longueur moyenne des bras.

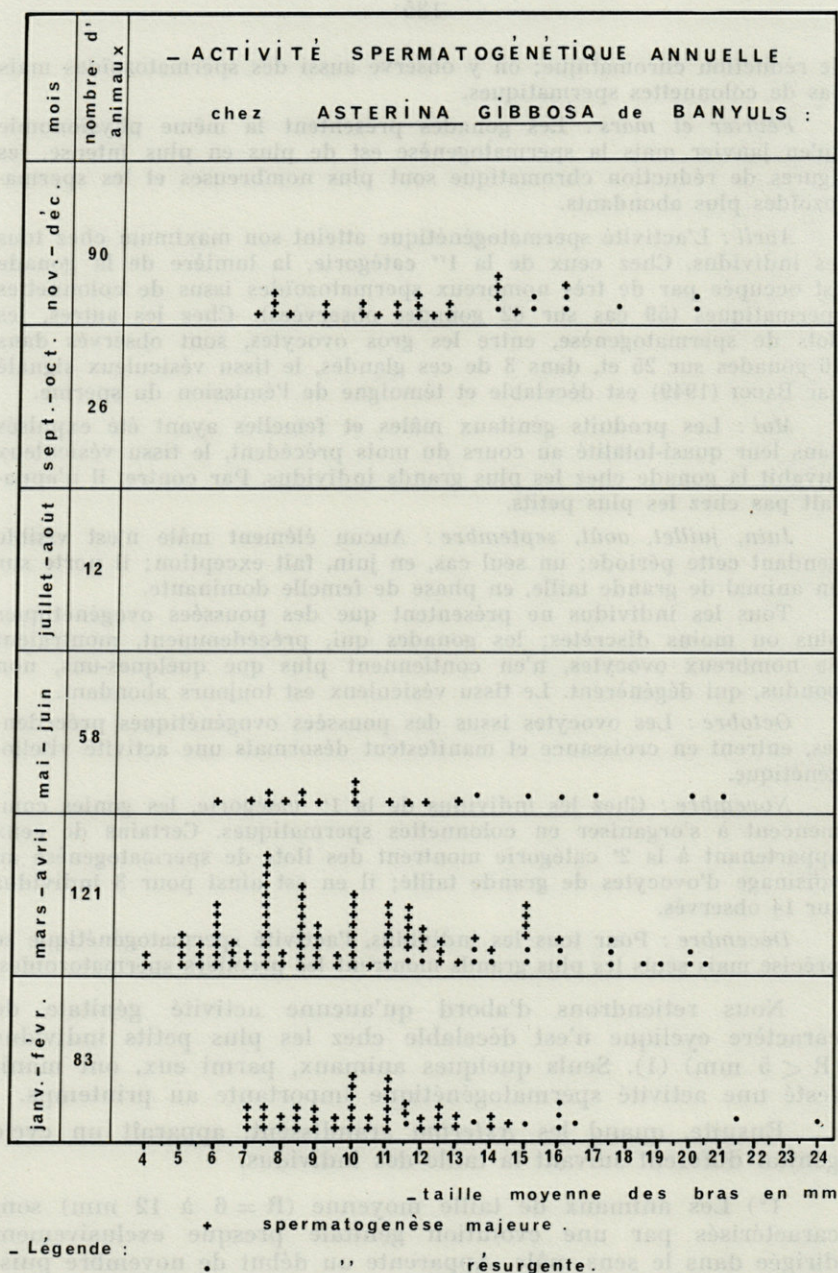


FIG. 1. — Activité spermatogénétique annuelle chez *Asterina gibbosa*.
Remarque :

— La spermatogenèse apparaît comme un phénomène saisonnier : elle débute en novembre-décembre, atteint son intensité maximale en avril et disparaît fin mai.

Majeure chez les animaux dont la taille moyenne des bras s'étend de R = 5 mm à R = 12 mm avec quelques cas jusqu'à R = 16 mm, elle est résurgente chez ceux où R s'échelonne de 12 mm à 25 mm.

qu'on discerne l'organisation des colonnettes spermatiques, cette évolution devient importante en mars, puis atteint son maximum en avril; c'est en effet à cette époque que les spermatozoïdes apparaissent très abondants dans la lumière de la gonade.

Pendant cette période, cependant, des ovocytes sont constamment présents, mais ils sont tous de petite taille et ne subissent apparemment aucune croissance notable. On retrouve donc ici un phénomène analogue à celui qui a été signalé chez les *Asterina* de Dinard par DELAVault (1963).

Les quelques individus, signalés plus haut, où la taille des bras n'atteint pas 5 mm peuvent être considérés comme soumis au même cycle; chez eux, la croissance globale du corps a dû s'effectuer plus lentement alors que l'évolution génitale suivait la règle générale.

2°) Les individus les plus grands ($R = 13$ à 25 mm) manifestent une activité ovogénétique permanente mais maximum au printemps. Après la ponte, en avril-mai, le tissu vésiculeux occupe temporairement la plus grande partie de la gonade tandis que l'ovogenèse se poursuit et que les gros ovocytes résiduels dégèrent progressivement. A cette activité femelle dominante se surajoute, dès novembre, une spermatogenèse localisée dans des îlots situés entre les gros ovocytes, phénomène que COGNETTI (1956) a désigné sous le terme de « spermatogenèse secondaire ». Si, au niveau de ces îlots ne s'organisent pas de colonnettes spermatiques, ils montrent cependant des figures de réduction chromatique et produisent des spermatozoïdes dès décembre et janvier avec un maximum en mars-avril. Après l'émission des produits génitaux, le tissu vésiculeux résorbe aussi les spermatozoïdes résiduels.

DISCUSSION

L'évolution génitale des *Asterina gibbosa* de Banyuls se fait à partir de gonades de type indifférencié ne contenant que des gonies où il est impossible de reconnaître un quelconque caractère préfigurant leur évolution génitale ultérieure. Si quelques ovocytes de petite taille coexistent fréquemment avec les gonies, ils ne se développent pas pour autant et leur présence n'implique pas qu'ils annoncent une phase femelle.

Lorsqu'apparaît le cycle génital, celui-ci est très régulier d'un animal à l'autre, quelle que soit sa taille; comme par ailleurs, on ne décèle aucun mâle chez les plus grands ni aucune femelle chez

les plus petits, on peut admettre que les *Asterina gibbosa* de Banyuls appartiennent, suivant la conception de BACCI (1951) à une race sexuelle d'hermaphrodites équilibrés. Les animaux de cette côte méditerranéenne se rapprochent donc de ceux des côtes de Plymouth (BACCI, 1949) et de Dinard (DELAVALT, 1960a).

L'état indifférencié mis à part, le développement chronologique de la gonade est d'emblée caractérisé par une évolution mâle très spectaculaire alors que les ovocytes conservent la même physiologie.

Ce phénomène témoigne donc bien d'un hermaphroditisme protérandrique tel que l'avait décrit CUÉNOT (1898). Ensuite, cette phase mâle s'achève en avril-mai, car toute trace de colonnettes spermatiques et de spermatozoïdes *disparaît de juin à novembre*. Mais ce phénomène traduit-il, ou non, la disparition définitive de toute vigoureuse activité spermatogénétique ? Cette question s'impose quand on retient la taille des individus qui manifestent précisément cette activité. Il en est ainsi des animaux chez lesquels R s'échelonne de 4 à 6 mm, de même que chez ceux où R varie de 10 à 12 mm; on en trouve même où R atteint 15 à 16 mm. Or, BOUGIS (1951) estime qu'à Banyuls les *Asterina* dont la taille des bras est de 4 à 5 mm sont âgées d'un an alors que celles dont les bras mesurent 10 à 12 mm sont âgées de deux ans. Compte tenu de ces données, et en rapportant les observations de l'état génital des gonades à la taille des animaux étudiés ici, on peut donc en déduire que l'activité spermatogénétique dominante se répète au moins deux fois sinon trois. En bref, cette activité est saisonnière et, périodiquement, aboutit à la seule expulsion du sperme; les animaux sont fonctionnellement mâles.

A cette activité génitale en succède une autre où l'ovogenèse se poursuit jusqu'à la maturation des ovocytes. L'activité ovogénétique n'est cependant pas exclusive.

En effet, un retour à la phase mâle se manifeste pendant la période hivernale et printanière. DELAVALT (1960b) en avait signalé l'existence à Banyuls en mars. Cette activité spermatogénétique n'atteint jamais l'ampleur des précédentes; elle matérialise cependant une véritable résurgence de la phase mâle. Au terme de « spermatogenèse secondaire » utilisé jusqu'à présent, il est donc préférable de substituer celui de « spermatogenèse résurgente ». Dans ces conditions, on nommera « spermatogenèse majeure » celle qui caractérise les animaux les plus jeunes.

Comme à propos de celle-ci, on a tout lieu de penser que la spermatogenèse résurgente possède un caractère saisonnier. En effet, la taille des bras des *Asterina* qui la présentent s'étale de 13 à 25 mm. Par conséquent, périodiquement, les plus grands indi-

vidus deviennent des hermaphrodites fonctionnels. On confirme ainsi (DELAVault, 1960b) que les animaux dont la taille des bras dépasse 16 mm ne deviennent pas exclusivement femelles comme le pensait CuÉNOT (1898).

Il convient enfin de retenir que la résurgence spermatogénétique chez les animaux de Banyuls, débute dès novembre. Or, pour COGNETTI (1958), qui a travaillé sur les *Asterina* du golfe de Naples, cette spermatogénèse ne commence qu'au mois de mars. Cette différence est peut-être liée au caractère racial des *Asterina*.

CONCLUSION

De cette étude, on retiendra le caractère *périodique* de la spermatogénèse, qu'elle soit majeure ou résurgente, alors que la présence permanente d'ovocytes dans les gonades traduit une physiologie génitale femelle *continue*, bien qu'elle soit très discrète au début. On aboutit ainsi aux mêmes conclusions qu'à propos des *Asterina gibbosa* de Dinard (DELAVault, 1960a). Tout se passe comme si les *Asterina* de Banyuls et de Dinard étaient des femelles chez lesquelles « se greffe » périodiquement une activité mâle. A cet égard, un tableau a été dressé pour faciliter la compréhension du phénomène (Fig. 1).

Mais outre l'intérêt de cet aspect descriptif du cycle génital, on peut aussi en tirer profit dans le cadre de recherches expérimentales. On sait en effet que la période du « virage sexuel » débute assez longtemps avant l'époque de la reproduction, dès novembre. Par conséquent, toute tentative destinée à modifier l'orientation sexuelle doit être effectuée de préférence pendant la période en question.

RÉSUMÉ

Chez les *Asterina gibbosa* de Banyuls, l'hermaphrodisme protérandrique se manifeste par deux poussées spermatogénétiques au moins, sur deux années consécutives. Les poussées sont saisonnières et se manifestent de novembre à mai. Ensuite, les animaux en activité ovogénétique peuvent présenter une résurgence spermatogénétique apparaissant aux mêmes dates que la spermatogénèse

majeure. Les *Asterina gibbosa* de Banyuls peuvent donc être considérées comme appartenant à une race sexuelle équilibrée, se rapprochant ainsi des races de Dinard et de Plymouth.

SUMMARY

In *Asterina gibbosa* from Banyuls, protandric hermaphroditism appears in two spermatogenetic outbursts at least two consecutive years. These outbursts are seasonal and appears from november to may. Afterwards these animals with ovogenetic reactions could produce a spermatogenetic resurgence which appears at the same time as the major spermatogenesis. The *Asterina gibbosa* from Banyuls can thus be considered as belonging to a balanced sexual race and as having a similarity to the Dinard and Plymouth races.

RIASSUNTO

Nelle *Asterina gibbosa* di Banyuls, l'ermafroditismo proterandrico si manifesta con almeno due fasi spermatogenetiche per due anni consecutivi. Queste fasi sono stagionali e si verificano da novembre a maggio. Successivamente gli individui in attività ovogenetica possono presentare un ritorno alla spermatogenesi, anche essa stagionale e che compare negli stessi periodi della spermatogenesi principale. Le *Asterina gibbosa* di Banyuls possono dunque essere considerate come appartenenti a una razza sessuale bilanciata che si avvicina così alle razze di Dinard e di Plymouth.

BIBLIOGRAPHIE

- BACCI, G., 1949. Ricerche su *Asterina gibbosa* (Penn.). II. L'ermafroditismo in una popolazione di Plymouth. *Arch. zool. ital.*, **XXXIV** : 49-73.
- BACCI G., 1951. On two sexual races of *Asterina gibbosa* Pennant. *Experientia*, **VII** : 31-32.
- BOUGIS, P., 1951. Note préliminaire sur la croissance d'*Asterina gibbosa* (Pennant). *Vie et Milieu*, **II** (2) : 262-266.
- COGNETTI, G., 1956. Autofecondazione in *Asterina*. *Boll. Zool.*, **23** : 275-278.

- COGNETTI, G., 1958. La spermatogenesi secondaria in *Asterina* e la colorazione degli individui proteroginici di *Asterina gibbosa*. *Rend. Acc. naz. Linc.* (Cl. Sc. fis. mat. e nat.), série n° 8, **XXIV** (3) : 325-327.
- CUÉNOT, L., 1898. Notes sur les Echinodermes. III. L'hermaphrodisme protandrique d'*Asterina gibbosa* Penn. et ses variations suivant les localités. *Zool. Anz.*, **XXI** : 273-279.
- DELAVALT, R., 1960a. Les cycles génitaux chez *Asterina gibbosa* de Dinard. *C.R. Acad. Sc. Paris*, **251** : 2240-2241.
- DELAVALT, R., 1960b. Recherches sur la sexualité d'*Asterina gibbosa* de Banyuls. *Vie et Milieu*, **XI** (3) : 381-385.
- DELAVALT, R., 1963. Recherches expérimentales sur la sexualité des hermaphrodites chez *Asterina gibbosa*. *Arch. Anat. micr. et Morph.*, **52** (3) : 469-496.
- DELAVALT, R. et J. BRUSLÉ, 1965. Survie, en culture *in vitro*, de gonades d'une Etoile de mer hermaphrodite : *Asterina gibbosa* Pennant. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **90** : 361-364.
- NEEFS, Y., 1958. Développement et évolution sexuelle chez *Asterina gibbosa*. *Proc. XVth Int. Congr. Zool. Lond.*, 1958 : 286-288.

Reçu le 19 juillet 1966.

OBSERVATIONS
SUR LE DÉVELOPPEMENT LARVAIRE
ET POSTLARVAIRE DE *SIMNIA SPELTA* LINNÉ
(GASTÉROPODE *CYPRAEIDAE*)

par Catherine THIRIOT-QUIÉVREUX
Laboratoire Arago, 66-Banyuls-sur-Mer

SOMMAIRE

A partir de l'éclosion directe et des pêches planctoniques, le développement complet de *Simnia spelta* a été décrit, et comparé avec l'espèce voisine *S. patula*.

Après avoir mis en élevage plusieurs individus de *Simnia spelta* (1), commensaux des Gorgones *Eunicella stricta* (cf. THEODOR, 1967) j'ai pu obtenir de nombreuses pontes et éclosions.

LEBOUR en 1932 avait décrit la ponte et les stades larvaires planctoniques de *Simnia patula*, commensale d'*Alcyonium*; or, dans le plancton estival de Banyuls-sur-Mer, j'avais trouvé des végigères dont la coquille présentait quelques ressemblances avec celles de *S. patula*, espèce inconnue en Méditerranée.

L'observation de la larve à l'éclosion de *S. spelta*, des différents stades larvaires planctoniques, de la métamorphose et de la croissance m'a permis de préciser ma détermination.

(1) Ces animaux sont dus à l'obligeance de M. THEODOR, qui a bien voulu m'en récolter lors de ses plongées.

DESCRIPTION (cf. Planches)

THEODOR (1967) décrit ainsi les pontes de *S. spelta* : « elles sont disposées autour des branches de Gorgones en nombreux manchons... les sacs contenant les œufs présentent la forme de capsules aplaties ».

Une ponte de 1 cm de long est formée d'une vingtaine de capsules contiguës; chaque oothèque mesure 1,5 mm de diamètre et contient une centaine d'œufs de couleur blanche. Le bouchon operculaire est visible à la face supérieure de chaque capsule. On récolte des pontes de mai à septembre.

En été, le développement proprement dit dure une huitaine de jours. La ponte acquiert une couleur brun-jaune due à l'apparition des coquilles des véligères. Celles-ci éclosent alors par le bouchon operculaire qui a été libéré.

La larve mesure 135 μ de diamètre maximum, la coquille est brun-jaune clair, transparente sauf à la périphérie où elle est plus foncée; sa surface paraît granuleuse (au microscope, elle présente un aspect martelé). L'ouverture de la coquille montre un léger bec avec un début de striations longitudinales. Chaque véligère possède un vélum incolore bilobé, deux yeux, deux petits tentacules, deux otocystes, un pied grisâtre et un opercule transparent.

Le huitième jour après l'éclosion, la larve mesure 160 μ environ, les striations longitudinales sont plus marquées. On peut observer sur le côté droit de l'animal une tache foncée correspondant au foie et une partie digestive brun-rouge.

Les stades larvaires suivants ont été trouvés dans le plancton de juillet à septembre (en 1965 et 1966).

Lorsque la larve a deux tours de spire, elle mesure 350 μ environ. Sa coquille est brun-jaune foncé, légèrement siphonnée, son ouverture ayant toujours le bec caractéristique; l'apex est identique à la coquille du huitième jour, mais les spires ont une ornementation régulière, faite de cordons longitudinaux recoupés par des côtes transversales donnant un aspect de filet à mailles losangiques (cette ornementation rappelle celle de la coquille des véligères de *Philbertia linearis*, mais dans le cas présent elle est plus foncée et plus en relief). Le vélum est maintenant quadrilobé avec un liseré brun. Les tentacules sont incolores et souvent de taille inégale. Le pied n'a encore qu'un lobe élargi, grisâtre, bordé de

brun comme le vélum, mais avec en plus deux bandes longitudinales en son centre. L'opercule est transparent.

Avec trois tours de spire, la véligère atteint 400 à 450 μ selon les individus; l'ornementation de la coquille est identique, le bec est moins proéminent. Les lobes du vélum sont longs et flexueux et la larve se déplace activement.

La métamorphose survient lorsque la véligère a 4 tours de spire et une longueur de 500 μ environ. La coquille à ce stade est nettement siphonnée, son ouverture est maintenant circulaire; le pied s'est beaucoup développé et l'on distingue le mésopodium et le métapodium incolores, le pigment brun plus clair est localisé aux bords latéraux du pied. Le manteau apparaît, bordant l'ouverture du labre et de la columelle. En une nuit, l'animal avait perdu son vélum et son opercule et rampait sur le fond du cristalliseur.

La coquille commence alors à croître activement. Le labre montre deux lobes arrondis de part et d'autre de l'emplacement de l'ancien bec, de même ornementation que le reste de la coquille, mais de couleur un peu plus claire.

A ce stade, j'ai mis un animal en élevage dans un cristalliseur en présence d'un fragment d'*Eunicella stricta*. Vingt-quatre heures après, le jeune *Simnia spelta* rampait sur la Gorgone, et on pouvait distinguer les mouvements de sa radula grignotant l'épithélium ectodermique de la Gorgone.

Deux jours plus tard, la coquille blanche caractéristique de l'adulte apparaissait, formant une bande blanche de 100 μ tout autour du labre. L'ornementation de cette partie est identique à la coquille larvaire, mais avec des stries plus fines et plus serrées.

Deux jours plus tard, l'animal mesurait 1 mm, la coquille blanche étant déjà plus importante que la coquille larvaire. Il est alors parfaitement mimétique avec la Gorgone, la coquille blanche ayant la couleur de la Gorgone et la coquille larvaire celle des polypes colorés en brun par les zooxanthelles symbiotiques. Sur les tentacules apparaît un pigment carmin-violacé (qu'on retrouve chez l'adulte, VAYSSIÈRE, 1923), ainsi que sur le manteau bordant le labre; sur la partie du manteau qui recouvre la columelle des taches brun-rouge apparaissent, identiques à l'ornementation du manteau de l'adulte.

Huit jours après avoir été mis en élevage, l'animal mesurait 1,075 mm de long et 0,800 mm de large, et présentait la coloration caractéristique de l'adulte.

Les quatre jours suivants, la coquille ne s'élargit pas; en fait la croissance continue car la coquille s'enroule sur elle-même. La longueur augmente régulièrement.

Dans la semaine suivante, la courbe de croissance s'accélère et trois semaines après la métamorphose, l'animal mesure 2,250 mm sur 1,200 mm.

Au bout de 28 jours, la coquille larvaire était complètement recouverte par la nouvelle coquille blanche et le jeune *Simnia* avait atteint 3 mm sur 1,350 mm.

DISCUSSION

Comparant les stades larvaires de *S. spelta* et ceux de *S. patula*, décrits par LEBOUR, nous relèverons les différences suivantes : la larve à l'éclosion de *S. spelta* est plus claire que celle de *S. patula* ("dark brownish horn colour" note LEBOUR); le vélum acquiert très tôt un liseré brun foncé qu'il garde jusqu'à la métamorphose, alors que celui de *S. patula* reste incolore.

La croissance après la métamorphose est sensiblement la même, chaque animal montre cependant très tôt les colorations caractéristiques de l'adulte correspondant. En suivant l'évolution d'un même animal, j'ai pu constater la rapidité du début de la croissance de la coquille juvénile. LEBOUR, au contraire, a reconstitué le développement à partir d'animaux différents.

La vie planctonique de *S. spelta* dure deux à trois mois : les premières larves apparaissent en juillet, les stades les plus âgés ne sont récoltés qu'en septembre. J'ai trouvé assez régulièrement des véligères, mais toujours en très faible nombre (rarement plus d'un exemplaire par prise).

Le genre *Simnia* a un développement très différent des genres voisins *Lamellaria*, *Velutina*, *Trivia* et *Erato*, qui ont tous une larve echinospira (LEBOUR, 1935). LEBOUR signale, après avoir fixé les embryons, "a film separated off from the shell, presumably the periostracum, forming a covering exactly the shape of the accessory shell of *Trivia*"; je n'ai rien remarqué d'analogue. Il me paraît plus vraisemblable de séparer la famille des *Cypraeidae* de celles des *Lamellariidae* et des *Eratoidea* (cf. classification de FRETTER et GRAHAM, 1962).

RÉSUMÉ

La véligère planctonique de *Simnia spelta* est caractérisée par sa coquille brun-jaune à ornementation réticulée et son vélum quadrilobé, bordé d'un liseré brun.

Après la métamorphose, la croissance de la coquille blanche juvénile est très rapide; au bout de 28 jours, le jeune *Simnia* mesure 3 mm et la coquille larvaire est complètement recouverte.

SUMMARY

The planktonic veliger of *Simnia spelta* is characterized by its brown-yellow reticulated shell and its four-lobed velum with brown pigment along the border.

After the metamorphosis, the growth of the white juvenile shell is very rapid; within 28 days, the young *Simnia* reaches a length of 3 mm, the larval shell is then completely covered by the white shell.

ZUSAMMENFASSUNG

Der planktonische Veliger von *Simnia spelta* wird durch seine braun gelbe, mit einem Netzmuster versehene Schale und einem vierlobigen, von einem braunen Rand begrenzten Velum, charakterisiert.

Die weisse Juvenilschale wächst nach der Metamorphose sehr schnell. Nach 28 Tagen misst das Tier 3 mm und die Larvalschale wird von der Juvenilshale bedeckt.

RÉFÉRENCES

- FRETTER, V. et A. GRAHAM, 1962. British Prosobranch Molluscs. *Ray Society London*.
- LEBOUR, M., 1932. The larval stages of *Simnia patula*. *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **XVIII** : 107-15.

- LEBOUR, M., 1935. The echinospira larvae of Plymouth. *Proc. zool. Soc. London*, 1935 : 163-74.
- THEODOR, J., 1967. Contribution à l'étude des Gorgones (VI) : La dénudation des branches de Gorgones par des Mollusques prédateurs. *Vie Milieu*, XVIII (1-A) : 73-78.
- VAYSSIÈRE, A., 1923. Recherches zoologiques et anatomiques sur les Mollusques de la famille des Cypraeidés. *Ann. Mus. Hist. nat. Marseille, Zool.*, XVIII : 1-20.

Reçu le 3 octobre 1966.

SUMMARY

The planktonic veliger of *Simnia spelta* is characterized by its brown-yellow reticulated shell and its four-lobed velum with brown pigment along the border.

After the metamorphosis, the growth of the white juvenile shell is very rapid; within 28 days, the young *Simnia* reaches a length of 3 mm; the larval shell is then completely covered by the white shell.

ZUSAMMENFASSUNG

Der planktonische Veltiger von *Simnia spelta* wird durch seine braun gelbe, mit einem Netzmuster versehene Schale und einem vierlobigen, von einem braunen Rand begrenzten Velum charakterisiert.

Nach der Juvenilschale wächst nach der Metamorphose sehr schnell. Nach 28 Tagen misst das Tier 3 mm und die Larvialschale wird von der juvenilschale bedeckt.

RÉFÉRENCES

- FRUTKIN, V. et A. GRABAR, 1962. British Prosobranch Molluscs. Ray Society London.
- LEBOUR, M., 1932. The larval stages of *Simnia spelta*. *A. mar. Biol. Assoc. U.K.*, XVIII : 107-12.

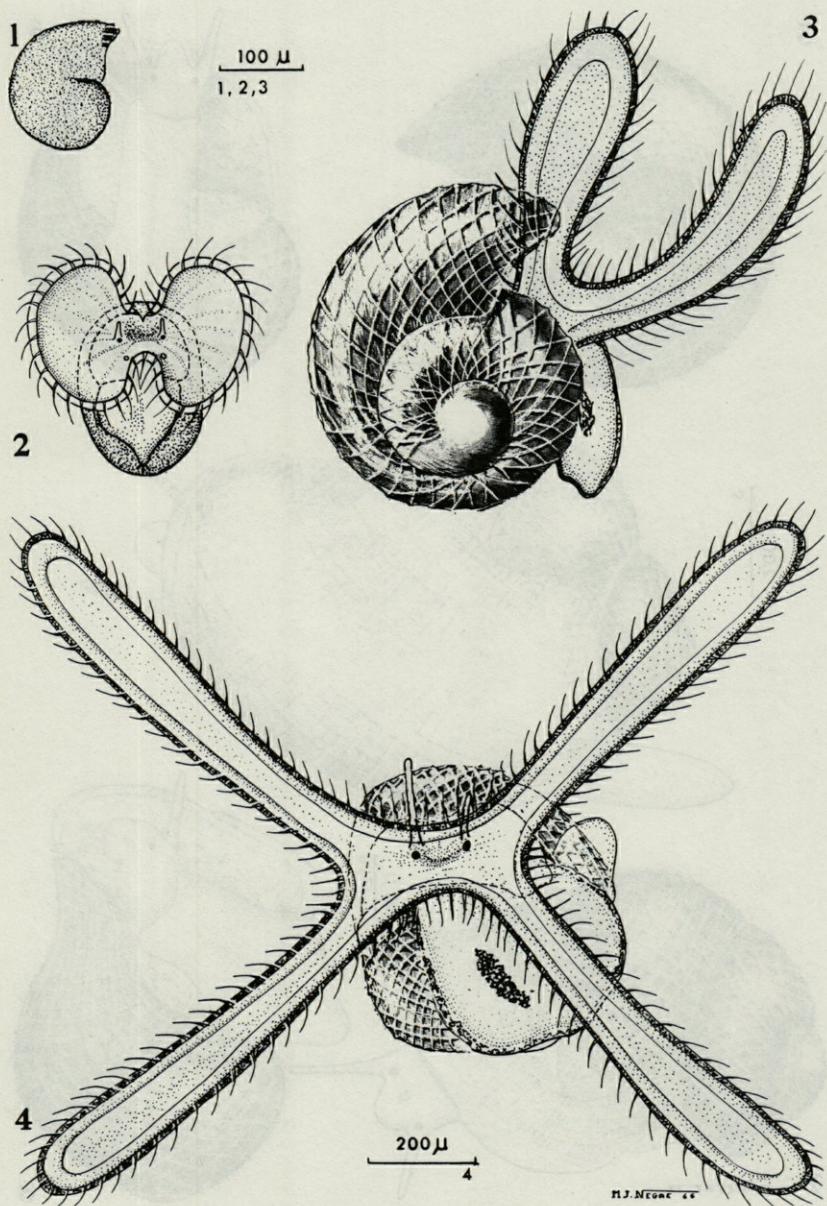


PLANCHE I. — 1, larve à l'éclosion de *Simnia spelta* (coquille); 2, larve huit jours après l'éclosion (en nage); 3, véligère planctonique (coquille à deux tours de spire); 4, véligère planctonique un peu plus âgée (vélum en extension).

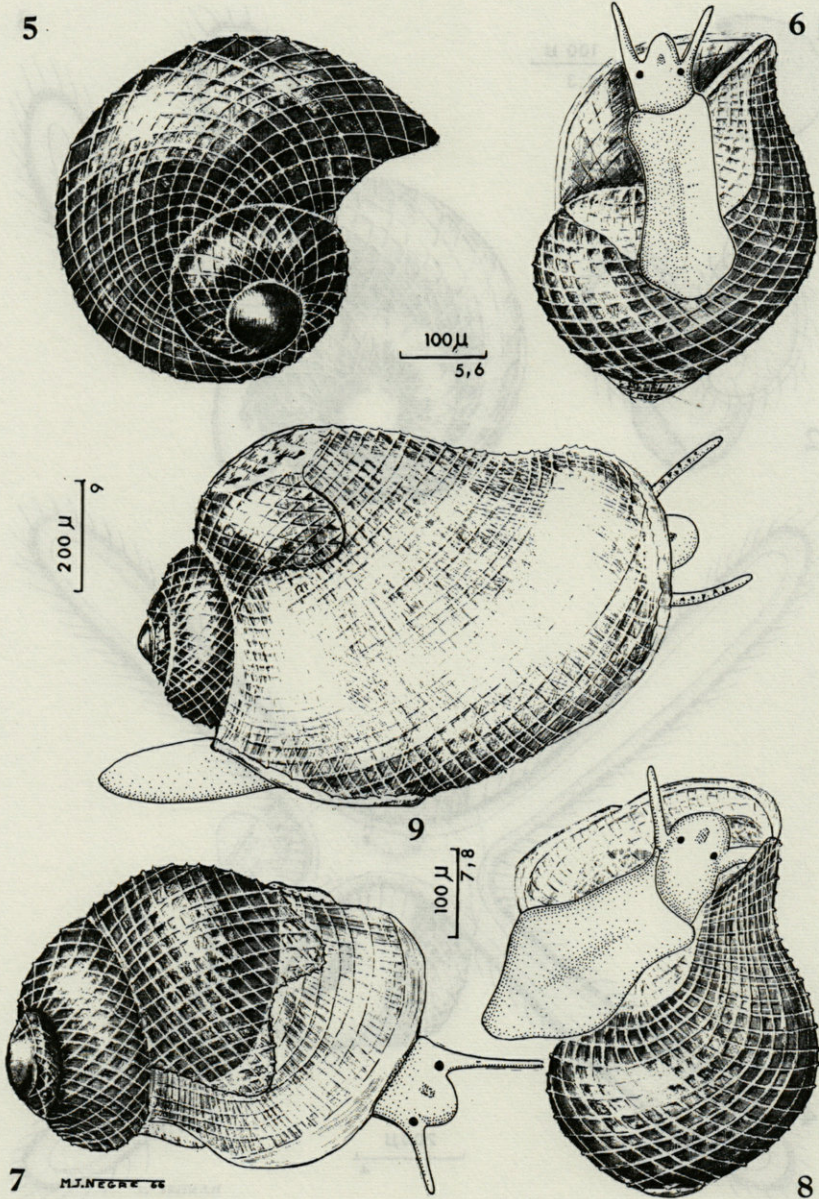


PLANCHE II. — 5, véligère planctonique (coquille à trois tours de spire); 6, animal après la métamorphose (quatre tours de spire), vue ventrale; 7, même spécimen trois jours après la métamorphose; 8, *idem*, vue ventrale; 9, même spécimen cinq jours après la métamorphose.

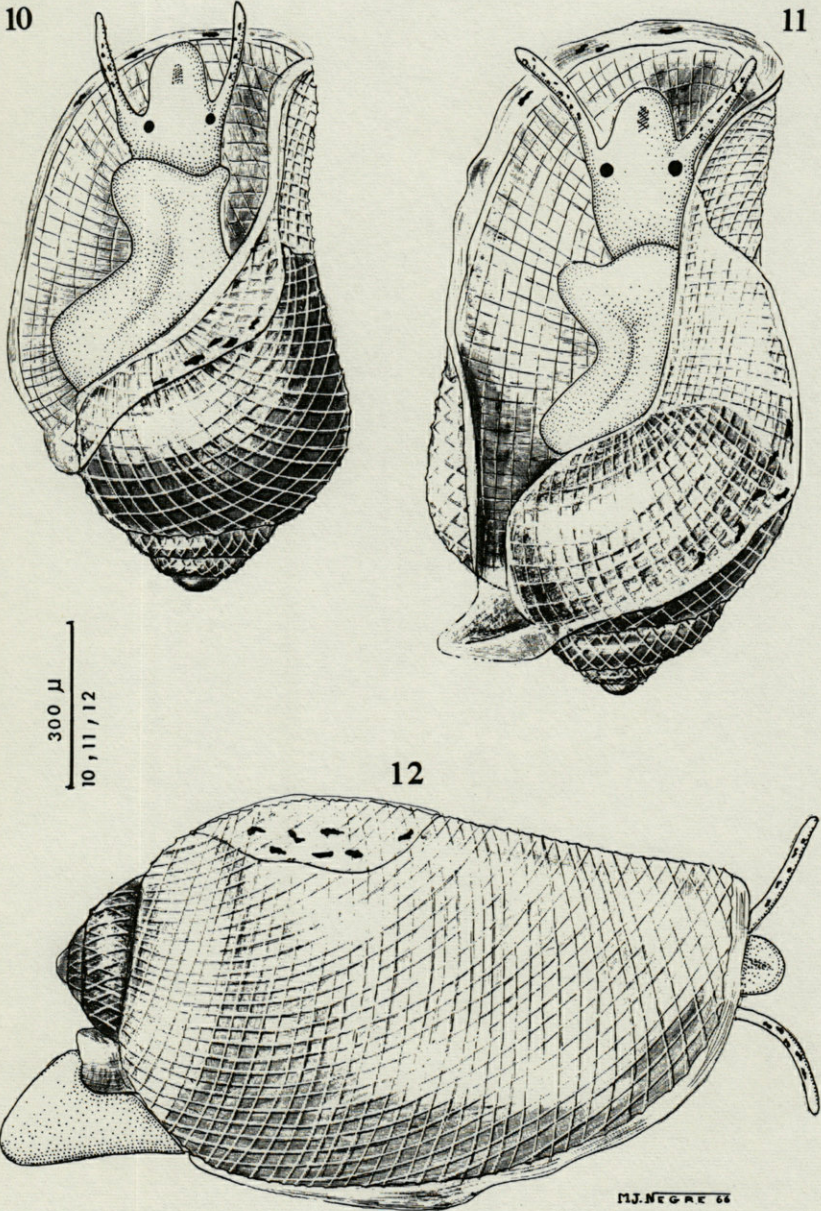


PLANCHE III. — 10, même spécimen huit jours après la métamorphose, vue ventrale; 11, même spécimen douze jours après la métamorphose, vue ventrale; 12, *idem*, vue dorsale.

QUELQUES ASPECTS DE L'EMBRYOGENÈSE DES PROSOBRANCHES (MOLLUSCA, GASTROPODA)

par Pio FIORONI

Zoologische Anstalt der Universität Basel

SOMMAIRE

Dans ce travail, les différents modes d'alimentation embryonnaire des Gastéropodes Prosobranches sont envisagés par rapport aux adaptations correspondantes des embryons. L'étude comparée de l'ontogenèse des Prosobranches fournit un bon exemple de cénogenèse.

INTRODUCTION

En 1943, FRANC publia un important mémoire sur l'embryologie des Prosobranches qui fut, à notre connaissance, le dernier grand travail paru en langue française traitant de ce sujet. Nous nous consacrons depuis plusieurs années à des recherches sur les organes larvaires et l'alimentation embryonnaire des Gastéropodes et nos plus importants résultats sont résumés ici. Précisons que seule l'embryogenèse nous préoccupe ici; la période postembryonnaire fera le sujet d'une note ultérieure.

Nous tenons, par cette étude, à exprimer notre grande reconnaissance aux Laboratoires de Biologie marine français (Banyuls : Professeurs PETIT et DRACH; Roscoff : Pr. TEISSIER) où nous avons pu travailler pendant plusieurs années. Nous devons une profonde gratitude au Pr. PORTMANN pour l'intérêt qu'il n'a cessé de témoigner à nos recherches.

TABEAU I.

Les différents types d'ontogénèses chez les Gastéropodes.
Le moment de l'éclosion est marqué par une barre noire.

Prosobranchia	Opisthobranchia	Pulmonata
<p>souvent de l'albumen, parfois des oeufs nutritifs (adelphophagie)</p> <p>les premières phases embryonnaires diffèrent d'après le contenu en vitellus</p> <p><u>Stade de deux cellules</u></p> <p>trochophore (après 1 jour) pourvu bientôt des organes typiques pour les Mollusques</p> <p>Véligère (après 2 jours)</p> <p>Véligère planctonique libre (souvent 3 à 5 semaines ; parfois pendant plus de 2 mois)</p> <p>Véligère intracapsulaire (parfois pendant plus de 4 mois)</p> <p>Phase de fixation, métamorphose</p> <p>Métamorphose (rapide ou lente)</p> <p>Métamorphose (abritée, lente)</p> <p>Stade rampant</p> <p>Stade rampant</p> <p>Stade rampant partiellement : vélliconche (Nassa)</p>	<p>les premières phases embryonnaires diffèrent d'après le contenu en vitellus</p> <p>Véligère planctonique libre (pendant 3 semaines environ)</p> <p>Développement intracapsulaire quelquefois avec des ébauches réduites des organes larvaires</p> <p>Métamorphose (rapide)</p> <p>partiellement métamorphose (lente)</p> <p>Stade rampant</p> <p>Stade rampant (des organes adultes souvent en forme de quelques cellules) + partiellement : métamorphose</p>	<p>albumen, CaCO₃ pour la coquille</p> <p>les premières phases embryonnaires se ressemblent à cause du contenu en vitellus pauvre</p> <p>Véligère libre</p> <p>Développement intracapsulaire sans véligère typiques, mais avec des autres organes transitoires (pendant 10 jours jusqu'à 4 mois et plus)</p> <p>Métamorphose</p> <p>Métamorphose (= cryptométabolie, lente)</p> <p>Stade rampant</p> <p>Stade rampant</p>
<p><i>Patella</i></p>	<p><i>Lamellaria, Philbertia Fusus, Nucella, Buccinum</i></p> <p><i>Aplysia, Archidoris</i></p> <p><i>Fayssiara, Cenia, Runcina</i></p>	<p><i>Amphibola</i></p> <p><i>Helix, Limax, Arion</i></p>

A) TYPE DU DÉVELOPPEMENT

A l'exception des espèces vivipares, les œufs de Prosobranches sont presque toujours rassemblés dans des pontes plus ou moins grandes ou réunis dans des capsules (oothèques). Les œufs de quelques Archaeogastéropodes perdent leur chorion déjà pendant la segmentation; cependant, la plupart des Prosobranches quittent les enveloppes de l'œuf comme trochophore, véligère ou au stade rampant (voir Tableau I).

Le développement qui passe par un stade véligère a été toujours considéré comme comportant une métamorphose; d'autre part, on a fréquemment mal interprété l'embryogenèse conduisant à un stade rampant. PELSENEER, par exemple, a parlé d'un développement condensé. En réalité, les organes larvaires sont encore mieux développés dans ce mode d'ontogenèse, appelé cryptométabolie (JEZIKOW) ou métamorphose abritée (PORTMANN, 1955). Chez les Prosobranches terrestres (*Pomatias*) et les Pulmonés, ils sont remplacés par d'autres formations transitoires. Pour cette raison, l'ontogenèse d'un Gastéropode, même lorsqu'elle est « directe », est toujours une métamorphose (1).

La métamorphose possède généralement deux caractéristiques principales (voir GARSTANG) :

1. La formation de l'organisme adulte est liée à la régression des organes larvaires, la croissance continue des organes larvo-adultes et l'apparition des organes proprement adultes. Ceux-ci se différencient souvent à partir d'ébauches qui forment un amas de quelques cellules et qui ont été comparées par PORTMANN et SANDMEIER aux disques imaginaires des insectes.

2. La répartition de l'espèce dépend des adaptations locomotrices et alimentaires de l'embryon.

Les adaptations locomotrices manquent dans le développement intracapsulaire qui, par contre, est accompagné de toute une série d'adaptations nutritives. Des organes construits pour une phase véligère libre peuvent y subir un changement de fonction, tels que ceux indiqués dans le tableau suivant.

(1) Des vrais organes transitoires se trouvent aussi chez les Céphalopodes pourvus d'un stade planctonique; il s'agit donc également d'une métamorphose (voir FIORONI, 1964).

TABLEAU II

Exemples de changements de fonction des organes des larves véligères

	véligère libre	véligère intracapsulaire
vélum	natation dans l'eau de mer	mouvement dans le liquide pé- rivitellin partiellement : rotation oeufs nutritifs (<i>Cassidaria</i>), "placenta" (<i>Veloplacenta</i>).
gouttière nutri- tive	transport automatique du mi- croplancton pendant la nata- tion.	partiellement : transport des plaquettes de vitellus (<i>Cassi- daria</i> , voir tableau IV).
vésicule cépha- lique	contient des cellules tégumen- taires vacuolisées qui sont importantes pour les change- ments physiologiques.	assure partiellement la rota- tion des oeufs nutritifs (<i>Bursa</i>) et la résorption d'albumine (<i>Pomatias</i>).

Des organes profondément liés aux structures adultes des Mollusques peuvent jouer un rôle important pendant la période embryonnaire; ainsi des parties du muscle columellaire fonctionnent comme rétracteur du vélum de la larve.

B) LES PREMIÈRES PHASES EMBRYONNAIRES

La segmentation de tous les Gastéropodes se fait d'après le mode spiral; la richesse en vitellus n'a pas d'influence. Beaucoup

LEGENDE DES FIGURES

(al)	albumen	(IP)	intestin postérieur
(bf)	bourrelet de fermeture (<i>Fusus</i>)	(IR)	iridocytes
(BP)	bord palléal	(m)	macromère
(c)	coquille	(mc)	muscle columellaire
(civ)	cellules tégumentaires vacuo- lisées	(mce)	masse céphalique (<i>Pomatias</i>)
(cl)	cœur larvaire	(MP)	métapodium
(CD)	cœur définitif	(O)	œil
(CP)	cavité palléale	(OE)	oesophage
(CT)	cténidie (branchie)	(OP)	opercule
(eg)	élargissement en forme de gésier de l'oesophage (<i>Poli- nices</i>)	(PIG)	pigmentation
(ent)	entoderme	(PO)	proboscis
(G)	ganglion	(PP)	propodium
(gh)	glande hépatique (hépatopan- créas, foie)	(PR)	poche radulaire
(GHY)	glande hypobranchiale	(R)	rein définitif
(gn)	gouttière nutritive	(rl)	rein larvaire
(GO)	ganglion osphradial	(S)	statocyste
(GP)	glande pédieuse	(s'al)	sac de l'albumen (<i>Fusus</i>)
(IM)	intestin moyen (estomac)	(SI)	siphon
		(T)	tentacule
		(ve)	vélum
		(vc)	vésicule céphalique
		(ves)	vésicule de l'intestin posté- rieur (<i>Buccinum</i>)

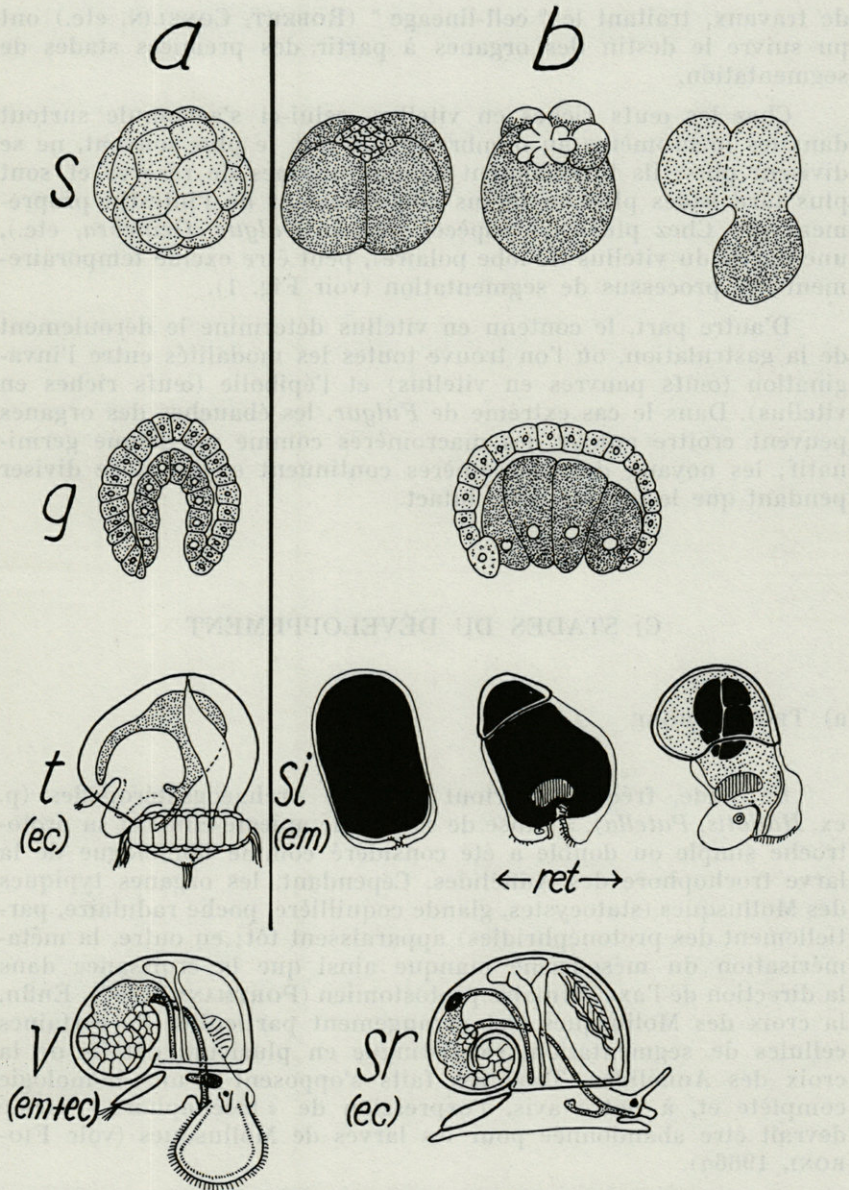


FIG. 1. — Quelques stades du développement des Prosobranches. a : formes pauvres en matières nutritives, b : formes riches en matières nutritives; s : segmentation, g : gastrulation; t : trochophore, si : stades d'ingurgitation (de gauche à droite : *Nucella*, *Ocenebra*, *Fusus*), v : véligère, sr : stade rampant; ec : stade d'éclosion, em : stade embryonnaire, ret : stades embryonnaires retardés par l'ingurgitation d'albumen ou des œufs nutritifs.

de travaux, traitant le " cell-lineage " (ROBERT, CONKLIN, etc.) ont pu suivre le destin des organes à partir des premiers stades de segmentation.

Chez les œufs riches en vitellus, celui-ci s'accumule surtout dans les macromères au nombre de 1-4 qui, le plus souvent, ne se divisent plus; ils fonctionnent comme organes de réserve et sont plus tard isolés plus ou moins complètement de l'intestin proprement dit. Chez plusieurs espèces (*Nassa*, *Fulgur*, *Ocinebra*, etc.), une partie du vitellus (le lobe polaire), peut être exclue temporairement des processus de segmentation (voir Fig. 1).

D'autre part, le contenu en vitellus détermine le déroulement de la gastrulation, où l'on trouve toutes les modalités entre l'invagination (œufs pauvres en vitellus) et l'épibolie (œufs riches en vitellus). Dans le cas extrême de *Fulgur*, les ébauches des organes peuvent croître autour des macromères comme un disque germinatif; les noyaux des macromères continuent encore à se diviser pendant que le plasma reste intact.

C) STADES DU DÉVELOPPEMENT

a) TROCHOPHORE

Ce stade, fréquent surtout chez les Archaeogastéropodes (p. ex. *Haliotis*, *Patella*), à cause de sa plaque apicale ciliée et sa prototroche simple ou double a été considéré comme homologue de la larve trochophore des Annélides. Cependant, les organes typiques des Mollusques (statocystes, glande coquillière, poche radulaire, partiellement des protonéphridies) apparaissent tôt; en outre, la métamérisation du mésoderme manque ainsi que la croissance dans la direction de l'axe primaire protostomien (PORTMANN, 1960). Enfin, la croix des Mollusques, cet arrangement particulier de certaines cellules de segmentation, se distingue en plusieurs détails de la croix des Annélides. Tous ces faits s'opposent à une homologie complète et, à notre avis, l'expression de « trochophore » même devrait être abandonnée pour les larves de Mollusques (voir FIORONI, 1966a).

Le stade de Reisinger, proposé par RIEDL n'est valable que pour la forme aberrante de *Rhodope*. Des espèces avec une résorption considérable d'albumen ou avec adelphophagie possèdent des stades d'ingurgitation hautement spécialisés (Fig. 1).

b) LA VÉLIGÈRE

Ce stade larvaire asymétrique, typique pour presque tous les Prosobranches, existe comme véligère nageante libre (planctonique) ou comme forme intracapsulaire. La période postembryonnaire planctonique est le plus souvent courte (3 à 5 semaines), mais peut s'étendre aussi à quelques mois. La larve intracapsulaire montre des adaptations spéciales qui facilitent une vie embryonnaire très longue (jusqu'à 4 mois).

Les organes transitoires typiques qui disparaissent pendant la métamorphose sont les suivants (voir les Fig. 2, 3 et 4) :

1) Le vélum qui contient des cellules ciliées flanquant son bord, la gouttière nutritive, le sinus sanguin et souvent des septums vélares.

2) La vésicule céphalique.

3) Le cœur larvaire (= sinus superficiel contractile (PELSENEER)) se composant de cellules épidermiques et des éléments mésodermiques contractiles, sert surtout à la circulation du liquide coelomique entre les sinus sanguins du pied et du vélum et contribue pour cette raison aussi à la respiration.

4) Les reins larvaires pairs (cellules rénales transitoires) sont des organes d'excrétion; à côté du liquide vacuolaire qui contient aussi des produits de sécrétion et des cellules migratrices ayant pénétré dans les vacuoles, se trouvent en plus des amœbocytes (= " Kristallzellen " (PORTMANN, 1930)). Celles-ci contiennent des concrétions et se dirigent vers l'espace périvitellin. Chez certaines espèces, le rein larvaire joue peut-être aussi un rôle dans la résorption du vitellus. Chez quelques espèces se trouvent également des protonéphridies qui semblent être liés écologiquement à la vie dans l'eau douce.

5) Les cellules tégumentaires vacuolisées, spécialement grandes sur la vésicule céphalique, le vélum entre les tentacules, le pied et le bord du manteau, jouent un rôle important dans les changements physiologiques de l'embryon; leur fonction excrétrice (FRANC a appelé ces cellules des néphrocytes secondaires) n'est pas encore prouvée.

6) La coquille larvaire (protoconche) se transforme en règle directement en coquille adulte (téloconche). Chez les formes du type « echinospira » munies de deux coquilles, la coquille externe est rejetée pendant la métamorphose; l'interne devient la téloconche. L'opercule est généralement conservé (à l'exception de *Crepidula*, *Patella* et quelques autres espèces).

L'oesophage est toujours pourvu de cellules ciliées qui aident à transporter les matières nutritives extraembryonnaires. Chez *Fusus* un bourrelet de fermeture composé des hautes cellules, permet une fermeture rythmique transitoire de l'oesophage pendant la période d'ingestion. Un élargissement en forme de gésier sert chez les espèces de *Polinices* (*Natica*) comme réserve d'albumine ou des plaquettes vitellines des œufs nourriciers. Dans les ontogénèses des œufs riches en vitellus, la différenciation de la poche radulaire est retardée le plus souvent; mais elle peut aussi apparaître très tardivement chez quelques véligères planctoniques.

Les cils vibratiles de l'estomac se trouvent surtout auprès des ouvertures des autres parties de l'intestin. L'estomac contient en plus des cellules sécrétrices, mais est, histologiquement peu différencié pendant la phase embryonnaire.

Les deux sacs de la glande digestive (= hépatopancréas, foie), généralement de grandeur différente, servent à l'absorption de tous les aliments larvaires qui s'accumulent dans leurs grandes vacuoles (1). Il existe quelquefois aussi des cellules sécrétrices peu serrées; chez *Fusus* cependant elles composent d'abord tout le diverticule droit. Le sac gauche forme chez cette espèce un sac de l'albumen spécialisé qui contient d'une manière semblable aux Pulmonés toute la masse protéique dévorée par l'embryon.

L'intestin postérieur pourvu quelquefois aussi de cellules sécrétrices, possède sur toute sa longueur des cils vibratiles. Chez les formes avec des œufs nourriciers, qui peuvent être munies d'un élargissement ou même d'une large vésicule spécialisée au milieu de l'intestin postérieur (chez *Buccinum*), les cils servent à la destruction mécanique des plaquettes en vitellus. Chez *Viviparus*, l'intestin postérieur emmagasine l'albumine.

Le protolécithe est, quand il s'agit d'une forme pauvre en vitellus, dispersé uniformément dans toutes les cellules entodermiques de l'intestin. Chez les stades avec alimentation embryonnaire riche, il est limité à une jusqu'à quatre macromères. Il est rare que les macromères se multiplient encore par des divisions supplémentaires. Celles-ci, pourvues d'un nucléus très grand, sont situées dans la région du début de l'intestin postérieur, et au moins pendant quelque temps, plus ou moins isolées de l'intestin. L'absorption du protolécithe est souvent arrêtée pendant la résorption des aliments extraembryonnaires; si tel est le cas, la résorption du protolécithe ne reprend que dans la phase post-embryonnaire.

(1) La glande embryonnaire est, chez les embryons de beaucoup d'embranchements, en relation avec la résorption du vitellus (p. ex. Céphalopodes, Araignées, Crustacés, Téléostéens, etc.).

Le vélum (avec des contours ronds), le cœur larvaire et des reins larvaires sont aussi caractéristiques pour les Opisthobranches qui ont de plus des reins anaux et souvent plusieurs autres organes de fonction inconnue. Les embryons des Pulmonés avec leur sac de l'albumen compliqué, les protonéphridies et les cellules nucales sont plus évoluées. Le vélum manque ou est seulement présent sous forme de petite ébauche; par contre, les vésicules du pied et de la tête sont fortement développées.

Les organes définitifs (cœur, reins et les organes palléaux) apparaissent chez la véligère plus âgée, soit dans la capsule, soit pendant la phase postembryonnaire chez les véligères planctoniques. Les organes génitaux se différencient même chez les formes intracapsulaires seulement pendant la période postembryonnaire (voir FIORONI, 1966a).

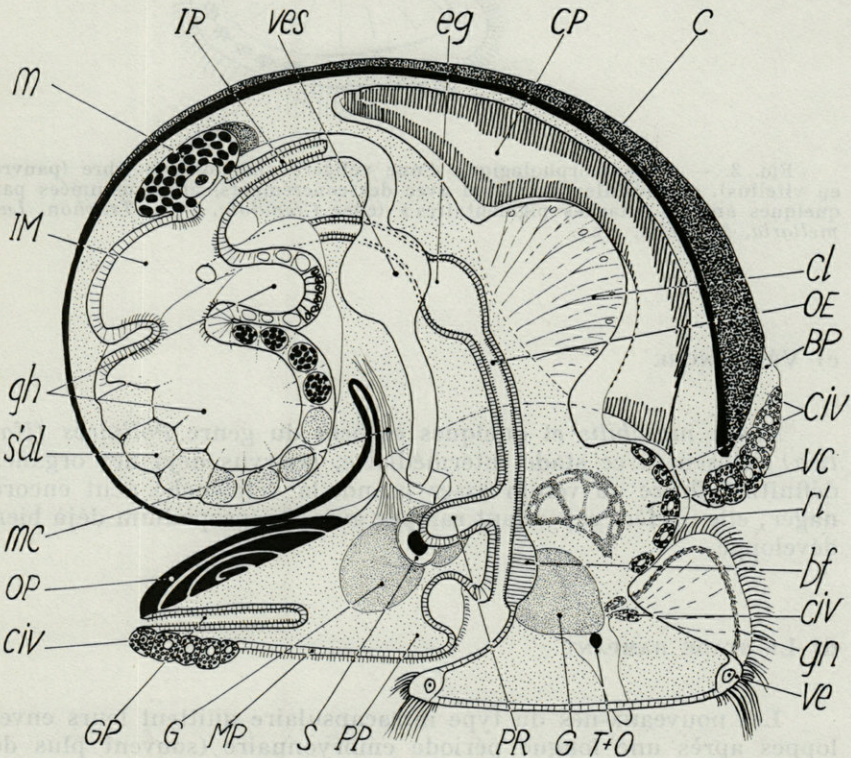


FIG. 2. — Type morphologique d'une véligère. Tous les organes larvaires des différents types sont réunis dans un seul exemplaire hypothétique. Le néphroducte du rein définitif et les autres organes adultes ne sont pas représentés.

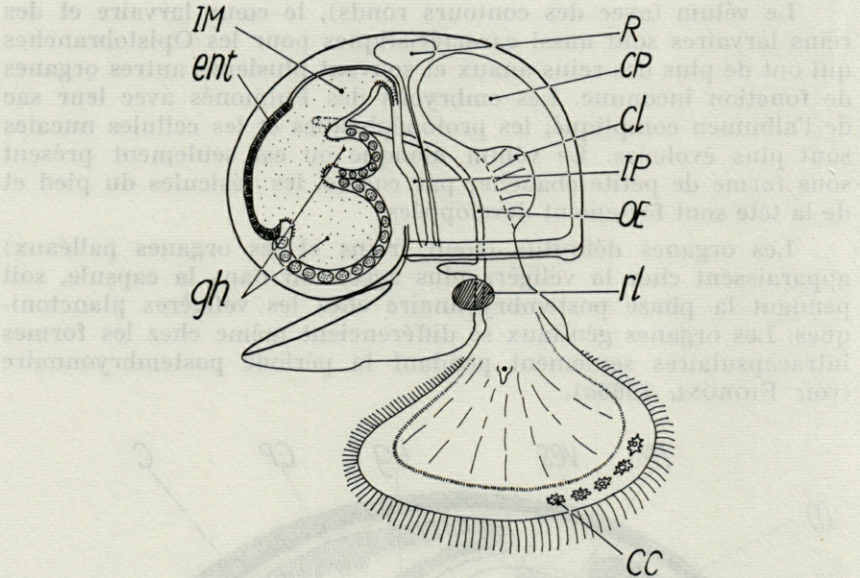


FIG. 3. — Type morphologique d'une véligère planctonique libre (pauvre en vitellus). cc : cellules du vélum avec des concrèments, aussi nommées par quelques auteurs « taches pigmentaires » (chez *Crepidula*, *Bela*, *Trophon*, *Lamellaria*, *Mangelia*, etc.).

c) VÉLICONCHE

Nassa mutabilis et quelques espèces du genre *Polinices* (*Natica*) éclosent à ce stade intermédiaire, pourvus déjà des organes définitifs. Grâce au vélum assez grand, la véliconche peut encore nager; elle préfère cependant ramper avec son propodium déjà bien développé.

d) LE STADE RAMPANT

Les nouveaux-nés du type intracapsulaire quittent leurs enveloppes après une longue période embryonnaire (souvent plus de deux mois). La structure histologique de l'intestin moyen et les réserves alimentaires considérables montrent encore des caractères embryonnaires; mais extérieurement, la ressemblance avec les adultes est parfaite.

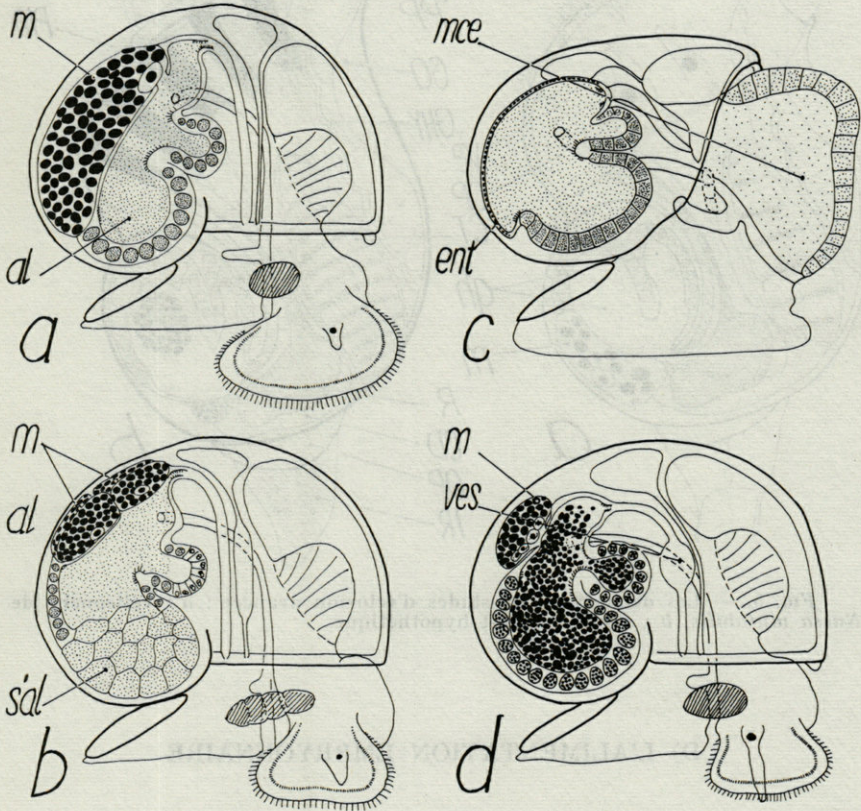


FIG. 4. — Types de véligères intracapsulaires (riches en matières nutritives) : a-c : nutrition avec albumine (a : *Nassa mutabilis*; b : *Fusus spec.*, c : *Pomatias elegans*). d : nutrition par des œufs nutritifs (*Buccinum undatum*) (voir aussi les tableaux III et IV).

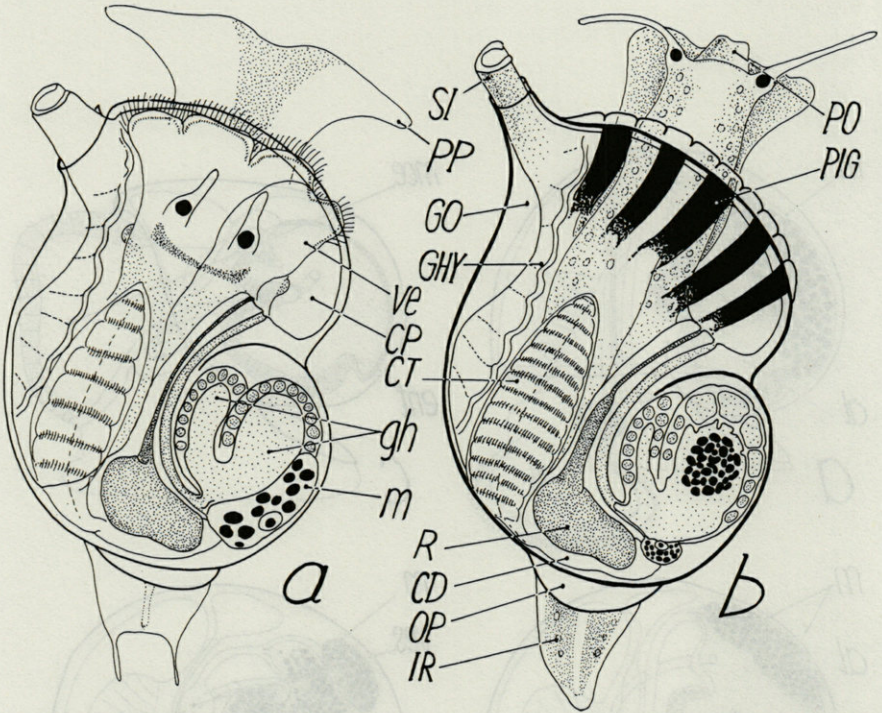


FIG. 5. — Les deux types de stades d'éclosion avancée : a : véliconche de *Nassa mutabilis*, b : stade rampant hypothétique.

D) L'ALIMENTATION EMBRYONNAIRE

Les tableaux III et suivants démontrent qu'il existe à côté du protolécithe (= vitellus propre à l'embryon) des aliments extraembryonnaires : albumen (= deutolécithe (FOL)) et des œufs nourriciers.

a) PROTOLÉCITHE

Chez plusieurs Prosobranches (Fig. 3) et presque tous les Opisthobranches, le vitellus propre à l'embryon représente la seule source nutritive embryonnaire. Il est distribué pendant la segmen-

tation sur l'ensemble de l'entoderme et sur beaucoup d'autres cellules du corps. Il existe dans ce cas une relation directe entre le diamètre de l'œuf et la longueur de la coquille (de la végétère ou du stade rampant) au moment de l'éclosion.

b) RESSOURCES NUTRITIVES SUPPLÉMENTAIRES (voir tab. III)

Dans ce cas, le protolécithe est presque toujours concentré dans des macromères; l'éclosion se déroule au stade rampant. Les

TABLEAU III

Quelques types d'alimentation embryonnaire des Prosobranches, d'après les résultats de CLAPARÈDE, PORTMANN (1925, 1955), SMITH, CREEK et FIORONI

ressources alimentaires embryonnaires :	disposition du protolécithe :	organes au service de l'alimentation embryonnaire (hors de l'intestin) :	exemple :
protolécithe	distribué dans toutes les cellules entodermiques	-	<i>Patella vulgata</i>
protolécithe et albumines	distribué dans toutes les cellules entodermiques	élargissement en forme de gésier de l'oesophage (entassement) masse céphalique (résorption)	<i>Polinices (Natica) spec.</i> <i>Pomatias elegans</i>
	isolé dans des macromères	-	<i>Nassa mutabilis</i>
		bourrelet de fermeture de l'oesophage et sac de l'albumen (entassement)	<i>Fusus spec.</i>
protolécithe et des oeufs nourriciers	distribué dans toutes les cellules entodermiques	vélum (destruction mécanique des plaquettes en vitellus) et élargissement goitreux de l'oesophage (entassement)	<i>Polinices catena</i>
	isolé dans des macromères	vélum et pied (rotation des oeufs nutritifs)	<i>Neritina fluviatilis</i>
		vélum (rotation des oeufs nutritifs)	<i>Cassidaria spec.</i>
		vésicule céphalique (rotation des oeufs nutritifs)	<i>Bursa spec.</i>
		oesophage aplati (ingurgitation) et vésicule de l'intestin postérieur (destruction mécanique des plaquettes en vitellus)	<i>Buccinum undatum</i>

variations individuelles de taille sont remarquables, fait qui correspond à la nutrition variable de chaque embryon. La résorption des aliments supplémentaires est liée à un stade d'ingurgitation spécialisé; elle est le facteur principal responsable du retard du développement. Ce fait divise la période embryonnaire de ces formes en trois périodes :

1. phase : l'absorption du protolécithe est relativement faible; pendant cette période les premiers organes se différencient (tube digestif, statocystes, glande coquillière, reins larvaires, cellules tégumentaires vacuolisées);

2. phase : la digestion du protolécithe est interrompue pendant la résorption des aliments supplémentaires; ce processus retarde pour quelque temps le développement des autres organes;

3. phase : la résorption des ressources alimentaires extraembryonnaires et du reste du protolécithe se poursuit dans la phase postembryonnaire; elle est accompagnée par l'apparition et la différenciation continue des organes adultes et par la régression des éléments transitoires.

1°) *Albumines* (= deutolécithe; Fig. 4 a-c, tab. IV)

Les albumines sont entassées dans l'espace périvitellin entre l'embryon et le chorion ou dans le liquide de l'oothèque. Elles sont ingurgitées par l'oesophage et résorbées dans la glande hépatique; la quantité d'albumen varie d'une espèce à l'autre. Des adaptations particulières se trouvent chez quelques formes spécialisées; telles le bourrelet de fermeture et le sac de l'albumen de *Fusus* qui représente, en analogie avec les Pulmonés, la partie antérieure du diverticule droit de la glande digestive, spécialisée pour entasser les albumines. Chez *Pomatias*, les cellules tégumentaires vacuolisées prennent part à la résorption des masses protéiques.

Les Pulmonés présentent un maximum de digestion d'albumine parmi les Gastéropodes; (les œufs de *Helix waltoni* peuvent atteindre la grandeur des œufs du passereau).

2°) *Œufs nutritifs* (Fig. 4 d, tab. V)

Des œufs arrêtés dans leur développement (avant la segmentation ou pendant les premières phases de celle-ci) servent de nourriture aux embryons normaux (adelphophagie). Leur détermination est encore incertaine (STAIGER et DUPOUY); le rôle des spermatozoïdes atypiques à ce sujet (voir HYMAN et PORTMANN, 1926) n'est pas encore prouvé.

TABLEAU IV

*Les caractères embryonnaires de quelques Prosobranches
spécialisés dans la résorption de l'albumine,
d'après les recherches de BOBRETZKY, HOFFMANN, CREEK, PORTMANN (1925)
et FIORONI (1965)*

espèce	ponse	oeufs	résorption de l'albumen	digestion de l'albumen	localisation du protolécithe	organes larvaires
<i>Nassa mutabilis</i> (forme marine)	Les 5 à 27 oeufs sont dans une oothèque tubulaire et flottent dans l'albumen liquide	riches en vitellus ; diamètre 500 μ	par l'oesophage (avec des cellules ciliées)	dans les deux sacs de la glande hépatique qui atteignent leur structure histologique définitive seulement dans la période post-embryonnaire	Une macromère grande se réduit surtout dans la période post-embryonnaire	typiques ; le vélum atteint des dimensions remarquables
<i>Fusus spec.</i> (forme marine)	Les 3 à 21 oeufs sont dans une oothèque lentiforme et situés dans l'albumen compact	très riches en vitellus ; forme ovale, longueur : 540-650 μ , largeur : 440-550 μ	par l'oesophage (avec des cellules ciliées) qui peut se fermer rythmiquement pendant l'ingurgitation par un bourrelet de fermeture transitoire	surtout dans un sac de la glande hépatique qui est spécialisé d'abord pour l'entassement. Il se réduit dans la période postembryonnaire. Les deux diverticules hépatiques atteignent leur structure définitive seulement dans la période postembryonnaire	quatre macromères grandes se réduisent seulement dans la période post-embryonnaire	typiques ; le vélum reste cependant petit
<i>Pomatias elegans</i> (forme terrestre)	L'oeuf isolé est entouré par une couche d'albumen épaisse (diamètre vers 2 mm)	pauvres en vitellus ; diamètre 140 μ	par les cellules spécialisées de la masse céphalique (= région transformée de la vésicule céphalique et du vélum)	dans les deux sacs de la glande hépatique qui se forment déjà avant la torsion et sont transformées encore pendant l'embryogenèse dans leur structure adulte	des macromères isolées manquent	manquent surtout les reins larvaires typiques et le coeur larvaire

TABLEAU V
Les différentes formes d'adelphophagie chez les Prosobranches,
 d'après les travaux de CLAPARÈDE, GLASER, PORTMANN (1925),
 PORTMANN-SANDMEIER, FRANC, FIORONI (1966a) et FIORONI-SANDMEIER

principe de l'adelphophagie	organes en service de l'adelphophagie :	disposition des oeufs nutritifs (dans l'oothèque) :	espèces :
rotation des oeufs nutritifs	rotation avec l'aide de la vésicule céphalique	les oeufs nutritifs forment une colonne médiane peu serrée	<i>Bursa spec.</i>
	rotation derrière le vélum ; les plaquettes en vitellus détachées parviennent par la gouttière nutritive dans le stomodéum	les oeufs nutritifs sont disposés d'une manière lâche	<i>Cassidaria spec.</i>
	rotation avant le stomodéum avec l'aide du vélum et du pied	les oeufs nutritifs sont peu serrés	<i>Meritina fluviatilis</i>
destruction mécanique des oeufs nutritifs	détachement des plaquettes en vitellus par les cellules ciliées du vélum	les oeufs nutritifs forment une colonne médiane dense	<i>Polinices catena</i>
ingurgitation des oeufs nutritifs	le stomodéum forme des lèvres proéminentes pendant l'ingurgitation, cellules ciliées de l'oesophage, les mouvements péristaltiques de l'oesophage provoquent un changement de forme des oeufs nutritifs pendant l'ingurgitation	la masse centrale dense des oeufs nutritifs est retenue ensemble par une membrane détachée de la paroi de la capsule	<i>Fasciolaria tulipa</i> <i>Nucella lapillus</i> <i>Pisania maculosa</i> <i>Ocinebra spec.</i>
		les oeufs nutritifs sont peu serrés	<i>Buccinum undatum</i> <i>Nux spec.</i> <i>Cassidaria echinophora,</i> etc.

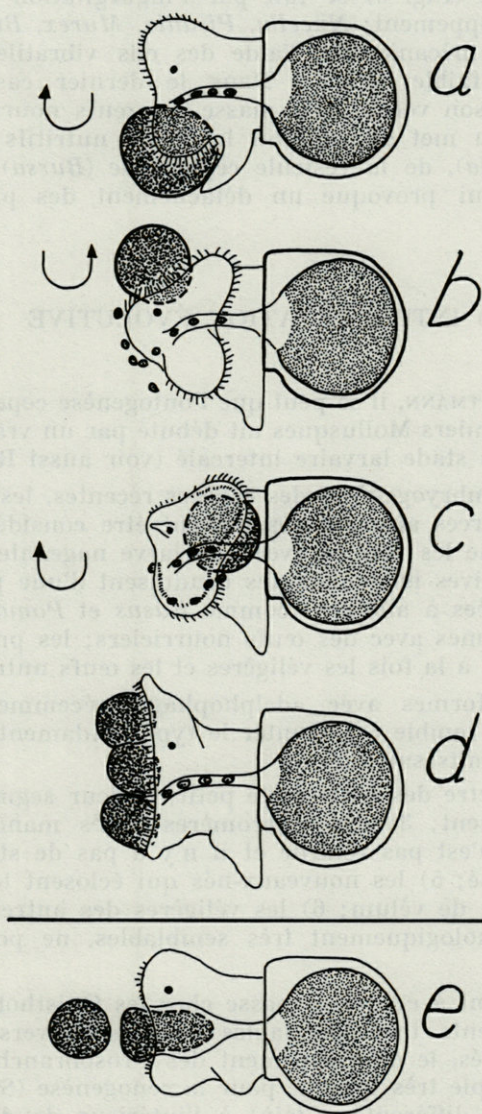


FIG. 6. — Les différents types d'adelphophagie. a-c : rotation des œufs nourriciers (a : *Neritina fluviatilis*, b : *Bursa spec.*, c : *Cassidaria spec.*), d : destruction mécanique par les cils vibratiles du vélum (*Polinices catena*); e : absorption par ingurgitation (type hypothétique). — Les flèches donnent la direction de la rotation des œufs nutritifs. — Voir aussi le tableau IV.

L'absorption (Fig. 6) se fait par l'ingurgitation (avec grand retard du développement; *Nucella*, *Pisania*, *Murex*, *Buccinum*) ou par destruction mécanique à l'aide des cils vibratiles du vélum (sans ou avec faible retard). Dans le dernier cas, l'embryon s'accroche avec son vélum à la masse des œufs nourriciers (*Polinices catena*) ou met en rotation les œufs nutritifs à l'aide du vélum (*Cassidaria*), de la vésicule céphalique (*Bursa*) ou du pied (*Neritina*), ce qui provoque un détachement des plaquettes de vitellus.

E) INTERPRÉTATION ÉVOLUTIVE

D'après PORTMANN, il se peut que l'ontogenèse cependant hypothétique des premiers Mollusques ait débuté par un vrai développement direct sans stade larvaire intercalé (voir aussi RIEDL).

Parmi les embryogenèses des espèces récentes, les ontogenèses riches en ressources alimentaires doivent être considérées comme plus évoluées que les formes avec une larve nageante libre. Deux tendances évolutives indépendantes conduisent d'une part vers les formes spécialisées à albumen comme *Fusus* et *Pomatias*, d'autre part vers les formes avec des œufs nourriciers; les processus évolutifs concernent à la fois les véligères et les œufs nutritifs.

Parmi les formes avec adelphophagie récemment connues, *Polinices catena* semble représenter le type fondamental comme le démontrent les faits suivants :

1) Le diamètre des œufs reste petit; 2) leur segmentation est arrêtée tardivement; 3) des macromères isolés manquent; 4) le développement n'est pas retardé et il n'y a pas de stade d'ingurgitation spécialisé; 5) les nouveaux-nés qui éclosent tôt possèdent souvent un reste de vélum; 6) les véligères des autres espèces de *Polinices*, morphologiquement très semblables, ne possèdent pas d'œufs nutritifs.

Contrairement à ce qui se passe chez les Opisthobranches, où des développements très semblables conduisent vers des stades adultes très variés, le développement des Prosobranches nous démontre un exemple très typique pour la cénogenèse (SEWERTZOFF). Des ontogenèses différentes (déjà) à l'intérieur de divers genres ayant des adaptations embryonnaires spécialisées, finissent par des formes adultes très semblables (= "umwegige Entwicklung" (NAUCK)).

En regardant la résorption embryonnaire des ressources alimentaires, il faut distinguer plusieurs possibilités qui ont été réa-

lisées chez les Prosobranches. A l'encontre de l'opinion de plusieurs auteurs (voir la littérature chez BOBRETZKY, SACCARRÃO et PORTMANN, 1960), les ontogénèses riches en vitellus des Prosobranches ne représentent pas un premier degré de l'embryogenèse des Céphalopodes. Les différences ontogénétiques, morphologiques et fonctionnelles sont trop grandes (voir tab. VI). Le complexe des macro-

TABLEAU VI
*Comparaison de quelques différences ontogénétiques
entre les Prosobranches et les Céphalopodes*

	Prosobranchia	Cephalopoda
oeufs	pauvres ou riches en vitellus	riches ou très riches en vitellus
gastrulation	invagination (embolie) ou épibolie	très spécialisée (pseudogastrulation, cryptomère)
complexe entodermique	organogénétique (des macromères sont quelquefois temporairement isolées de l'intestin)	divisé en deux parties : 1. syncytium de vitellus transitoire du sac vitellin 2. plaque entodermique comme ébauche de l'intestin moyen et postérieur
ressources alimentaires de l'embryon	protolécithe et souvent des matières nutritives supplémentaires : albumine, oeufs nourriciers	protolécithe
type du développement	indirect avec beaucoup d'organes transitoires	plus ou moins direct (les larves planctoniques avec des vrais organes larvaires!)

mères (1 à 4) représente une formation propre aux Prosobranches. Il ne correspond pas à une phase primaire du syncytium du sac vitellin, mais doit, à notre avis, être considéré comme une adaptation spéciale à la nutrition embryonnaire; elle permet en liaison avec la résorption des ressources nutritives extraembryonnaires un arrêt transitoire de la digestion du protolécithe.

RÉSUMÉ

Le travail résume surtout les différents modes d'alimentation embryonnaire des Prosobranches (protolécithe, albumines, œufs nutritifs). Les adaptations correspondantes de l'embryon sont toujours liées à une métamorphose qui peut être plus compliquée dans le cas du développement intracapsulaire que pour la larve véligère nageante libre. Les différents modes d'ontogénèses des Prosobranches représentent des exemples pour la cénogénèse.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Arbeit referiert vor allem über die verschiedenen Möglichkeiten der embryonalen Ernährung der Prosobranchier (Protoleith, Eiweisse, Nöhreier). Die damit korrelierten Anpassungen des Embryos sind immer mit einer Metamorphose verbunden, welche im Falle der intrakapsulären Entwicklung noch komplizierter als beim Typ mit freischwimmendem Veliger sein kann. Die verschiedenen Ontogenesetypen der Vorderkiemer werden als Beispiele für Kaenogenese betrachtet.

SUMMARY

The paper deals namely with the different modes of embryonic nutrition (protolecithe, albumines, food-eggs). The adaptions of the embryo are always connected to a metamorphosis, which is often more complicated by the intracapsular development than by the free swimming veliger. The different ontogenetic types of the Prosobranchs are regarded as examples of caenogenesis.

BIBLIOGRAPHIE

- BOBRETZKY, M., 1877. Studien über die embryonale Entwicklung der Gastropden. *Arch. mikr. Anat.*, 13 : 95-169.
CLAPARÈDE, E., 1857. Anatomie und Entwicklungsgeschichte der *Neritina fluviatilis*. *Müllers Arch.*, 1857 : 109-248.

- CONKLIN, E.G., 1897. The Embryology of *Crepidula*. *J. Morph.*, 13 : 1-226.
- CREEK, G.A., 1951. The reproductive system and embryology of the Snail *Pomatias elegans* (Müller). *Proc. Zool. Soc. London*, 121 : 599-640.
- DUPOUY, J., 1964. La tératogenèse germinale mâle des Gastéropodes et ses rapports avec l'oogenèse atypique et la formation des œufs nourriciers. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 103 : 217-368.
- FIORONI, P., 1964. Zum embryonalen Grössenwachstum bei Tintenfischen. *Rev. Suisse Zool.*, 71 : 777-804.
- FIORONI, P., 1965. Zur embryonalen Entwicklung und zum Schlüpfzustand von zwei mediterranen *Nassa*-Arten. *Rev. Suisse Zool.*, 72 : 543-568.
- FIORONI, P., 1966. Un nouveau cas de rotation des œufs nutritifs chez un gastéropode Prosobranchie marin. *Vie Milieu*, 17 : 109-119.
- FIORONI, P., 1966a. Zur Morphologie und Embryogenese des Darmtraktes und der transitorischen Organe bei Prosobranchiern. *Rev. Suisse Zool.*, 73 : 621-876.
- FIORONI, P., und E. SANDMEIER, 1964. Ueber eine neue Art der Nähreierbewältigung bei Prosobranchierveligern. *Vie Milieu, Suppl.* 17 : 235-249.
- FOL, H., 1879-80. Etudes sur le développement des Mollusques. Troisième mémoire : Sur le développement des Gastéropodes pulmonés. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 8 : 103-222.
- FRANC, A., 1943. Etudes sur le développement de quelques Prosobranches méditerranéens. *Thèse Fac. Sc. Alger*.
- GARSTANG, W., 1929. The origin and evolution of larval forms. *Brit. Assoc. Adv. Sc. Rep.*, 79 : 77-98.
- GLASER, O., 1906. Ueber den Kannibalismus bei *Fasciolaria tulipa* (var. *distans*) und deren larvale Exkretionsorgane. *Z. wiss. Zool.*, 80 : 80-121.
- HOFFMANN, W., 1902. Ueber die Ernährung der Embryonen von *Nassa mutabilis* Lam. *Z. wiss. Zool.*, 72 : 657-720.
- HYMAN, O.W., 1923. Spermic dimorphism in *Fasciolaria tulipa*. *J. Morph.*, 37 : 307-383.
- HYMAN, O.W., 1935. Natural partial fertilization in *Fasciolaria tulipa*. *J. Morph.*, 41 : 267-281.
- PELSENEER, P., 1935. Essai d'éthologie zoologique d'après l'étude des Mollusques. *Publ. Fond. Agathon de Potter (Acad. Roy. Belgique)*, 1 : 1-662.
- PORTMANN, A., 1925. Der Einfluss der Nähreier auf die Larvenentwicklung von *Buccinum* und *Purpura*. *Z. Morph. Oekol. Tiere*, 3 : 526-541.
- PORTMANN, A., 1926. Le rôle du spermatozoïde atypique dans la formation des œufs nourriciers de *Buccinum undatum*. *Arch. Zool.*, 65 : 103-124.
- PORTMANN, A., 1930. Die Larvalnieren von *Buccinum undatum* L. *Z. Zellforsch.*, 10 : 401-410.
- PORTMANN, A., 1955. La métamorphose « abritée » de *Fusus* (Gast. Prosobranches). *Rev. Suisse Zool.*, 62 (Suppl.) : 236-252.
- PORTMANN, A., 1960. Généralités sur les Mollusques. *Traité de Zool. (Grassé)*, 5 (II) : 1625-1654.

- PORTMANN, A. und E. SANDMEIER, 1965. Die Entwicklung von Vorderdarm, Macromeren und Enddarm unter dem Einfluss von Nöhreiern bei *Buccinum*, *Murex* und *Nucella* (Gastrop. Prosobranchia). *Rev. Suisse Zool.*, 72 : 187-204.
- RIEDL, R., 1960. Beiträge zur Kenntnis der *Rhodope veranii*, Teil II : Entwicklung. *Z. wiss. Zool.*, 163 : 237-316.
- ROBERT, A., 1902. Recherches sur le développement des Troques. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 10 : 269-538.
- SACARRÃO, G.F., 1962. On the position of the ontogeny of Cephalopods in relation to the development of the other molluscs. *Rev. Fac. Ciénc. Univ. Lisboa*, 10 : 5-54.
- SMITH, F.G.W., 1935. The development of *Patella vulgata*. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, B 225 : 95-125.
- STAIGER, H., 1951. Cytologische und morphologische Untersuchungen zur Determination der Nöhreier bei Prosobranchiern. *Z. Zellforsch.*, 35 : 495-549.

Reçu le 11 décembre 1965.

THE RETICULO-ENDOTHELIAL APPARATUS OF *ELEDONE CIRROSA*

Angus E. STUART

Department of Pathology,
University of Edinburgh

ABSTRACT

The reticulo-endothelial apparatus of *Eledone cirrosa* has been investigated by the intravenous injection of colloidal carbon. Phagocytic cells were found in several glands. A primitive recognition system may exist in the gland of Hensen.

The purpose of this paper is to describe the distribution of phagocytic cells in the different organs of one species of octopus, *Eledone cirrosa*, and to assess whether this group of cells can properly be called a reticulo-endothelial system. The carbon used in these experiments has been specially prepared (BENACERRAF, BIOZZI, HALPERN and STIFFEL, 1957). When used in mammals this material is stable in serum, does not normally cross the capillary barrier and is non toxic for the reticulo-endothelial cells and the organism. The particles are homogenous in size and measure about 250 Å in diameter.

It is generally recognised that although the invertebrates have phagocytic or amoeboid wandering cells, they are probably immunologically inert and certainly do not respond to antigens in the same way as fish or mammals. The octopus is an extremely complex

Acknowledgements. — I am indebted to the Ciba Foundation and to Professor DRACH for their encouragement and help. I am especially grateful to Michel GALANGAU for valuable technical aid.

and highly developed invertebrate (YOUNG, 1964) and possesses a leucoformative centre variously called the gland of Hensen or Faussek, the white body or the "corps blanc". Particular attention has been given in this paper to the phagocytic cells of this organ with the hypotheses in view that the function of this organ is immunological.

MATERIAL AND METHODS

ANIMALS

11 females of *Eledone cirrosa* weighing approximately 250 - 350 grams were used. Of these 9 were injected intravenously in one of the lateral arm veins with carbon. The animals were anaesthetised with a solution of urethane in sea water before injection and were killed with urethane at intervals of 3, 4 and 14 days after injection. The 2 uninjected animals served as normal controls.

CARBON

This was injected intravenously with a No. 19 hypodermic needle in small, intermediate and high doses as follows, a single injection of 1 ml., 2 consecutive daily injections of 1 ml., and 2 daily consecutive injections of 2 ml. The concentration of carbon was 16 mgs/100 ml.

HISTOLOGY

Small pieces of tissue were placed in Halmi's fixative and paraffin sections stained with haematoxylin and eosin. The following organs were examined. Liver, muscle, posterior salivary gland, anterior salivary gland, eye and gland of Hensen, gills, branchial heart, gill spleen, skin. Blood smears were air dried and stained by Leishman's method. The nomenclature of ISGROVE (1903) has been used.

RESULTS

The carbon was well tolerated in all doses. During the intravenous injection the carbon spread backwards into the small lateral radicles and simultaneously the veins of the arms became very black quite suddenly. When the animal had recovered from the anaesthetic and the arms were firmly adherent to the plastic aquarium one could clearly observe the superficial carbon filled veins. These vessels pulsed rhythmically, segments alternately filling with carbon and then emptying, giving the impression of black streaks followed by clear. At 7 hr. the concentration of circulating carbon was much diminished as judged by the degree of vascular staining. Eventually all the carbon was cleared from the circulating blood.

At necropsy (fig. 1) the organs containing most carbon were the gills and posterior salivary gland both of which became entirely black (fig. 2). The gland of HENSEN (fig. 3) and gill spleen were less deeply pigmented. The anterior salivary gland contained only a small amount of carbon and was greyish white in colour. The liver, kidney, heart, large vessels, muscles, alimentary tract and ovaries showed no pigmentation.

Microscopic examination of the gill after the large dose of carbon reveals an abundance of densely packed phagocytic cells (fig. 4). With a smaller dose (figs. 5 and 6) it is seen that only the stromal phagocytic cells contain carbon and the epithelium has none. The small vessels are patent and show no thrombosis.

The posterior salivary gland (fig. 7) contains large numbers of phagocytic cells within the stroma. These phagocytic cells are intimately mixed with mononuclear leucocytes which do not contain carbon. These mononuclear cells closely resemble the human monocyte.

The anterior salivary gland contains far fewer phagocytic cells than the lower. Occasionally carbon is deposited extracellularly on the basement membranes and collagenous tissue of the acini. Fig. 8 shows carbon deposited beneath the tall columnar cells. Slight to moderate numbers of phagocytic cells were also found in the gill spleen and branchial heart.

The gland of Hensen contained moderate numbers of phagocytic cells within the sinusoids (fig. 9). None were sessile and the solid cords of leucopoietic tissue failed to show any phagocytic activity. Sections through the pouches of the vena cava showed only traces of carbon in a small number of the excretory cells although the capillary endothelial cells had taken up moderate amounts (fig. 10).

The peripheral blood (fig. 11) showed mononuclear cells 12-15 μ in diameter. The cytoplasm contained minute and barely discernible granules. The nucleus was characteristically lobed and very similar to the human monocyte.

DISCUSSION

The carbon used in these experiments was stable in invertebrate blood and did not aggregate into large clumps or cause thrombosis. It is not toxic and large doses can be given without ill effects. Most workers have used either carmine or indian ink for the study of invertebrate phagocytic systems. STAUBER (1950) investigated the fate of India ink injected intracardially into the oyster and TRIPP (1958) used red blood cells of vertebrates for a similar investigation. CHENG and STREISFELD (1963) showed that the haemocytes of the trematode *Megalodiscus temperatus* were capable of phagocytosing indian ink and that the haemocytes were subsequently eliminated by migration into the alimentary tract. BROWN and BROWN (1965) studied the fate of thorium dioxide injected into the pedal sinus of *Bullia*. This material has the advantage of being opaque to x-rays and its distribution can be followed by serial radiographs. Colloidal carbon is not radio-opaque but is readily visible in histological sections. Using techniques devised for mammals by BENACERAFF, BIOZZI, HALPERN and STIFFEL (1956) it would be possible to make quantitative measurements of R.E.S. activity and at the same time observe whether agents which stimulated or depressed the R.E.S. were active at this level of evolution (STUART, 1963).

When insoluble particulate matter is injected into mammals it is stored in the reticulo-endothelial system and may be found in the Kupffer cells of the liver, splenic macrophages and histiocytes of abdominal and thoracic lymph nodes. Excretion is slow and some materials such as thorotrast or carbon are stored for years although some loss occurs by migration of phagocytic cells into the lung. By contrast most invertebrates excrete foreign particulate matter readily. BROWN and BROWN (1965) described in *Bullia* the removal of phagocytic haemocytes which migrated by various routes to the outside of the body. The main pathway was through the heart wall into the pericardial cavity and via the renopericardial canal into the lumen of the kidney from which the cells escaped into the mantle cavity. No such mechanism was observed in *Eledone* where only minute traces of carbon were found in the excretory cells and as long as 14 days after injection an abundance of carbon was still present in various organs.

The phagocytic powers of various tissues can be very roughly graded as follows. Posterior salivary gland and gills > gland of Hensen > anterior salivary gland > branchial spleen. The abundance of phagocytes in the gill can be correlated with the view that this is a protective barrier between the organism and external environment but it is difficult to explain why the salivary gland has so many of these cells. The dense packing of carbon filled cells in the interstices of the gland suggests the presence of a sinusoidal vascular system in which the cells are in direct contact with the blood. This view is supported by the work of GRAZIADEI (1962) who described the anatomy of blood vessels in the posterior salivary gland of *Octopus vulgaris*. He found that the salivary artery, which is a branch of the cephalic aorta, divided inside the gland into a capillary network which supplied the walls of excretory ducts, and into a sinusoidal system which supplied the secretory glandular part of the organ. The two systems, capillary and sinusoidal were intercommunicating.

The function of the gland of Hensen still remains obscure. In a detailed and illustrated study BOLOGNARI (1951) has discussed the physiology of this organ and has suggested that it may also have renal function by degrading purines to xanthine which is subsequently excreted into the blood. CAZAL and BOGORAZE (1943) reviewed the histology of this organ and supported the view that it formed leucocytes. They injected carmine which was taken up by large cells with vacuolated nuclei and basophilic cytoplasm. These cells are almost certainly the same as the phagocytic cells detected with colloidal carbon and the present work confirms this earlier observation by these authors. NECCO and MARTIN (1963) were able to grow the cells of the white body in tissue culture and noted two types of cells, one spindle shaped and the other rounded. This accords with the present observations which show both phagocytic cells and non-phagocytic leukoblastic cells. Many of the latter resemble monocytes and this is the dominant cell in the peripheral blood. BARBER and GRAZIADEI (1965) made an electron microscopic study of the blood of cephalopods and apart from amoebocytes noted no other type of cell. Their amoebocytes had numerous mitochondria in the cytoplasm, an endoplasmic reticulum with ribosomes and also large membrane bound granules approximately 0.5μ in diameter. It is not known whether these correspond to the avidly phagocytic cells found in the present study.

It now seems clear that the octopus has an extensive reticulo-endothelial apparatus and it would be surprising if it did not contain a least a primitive "recognition system" for foreign materials. Phagocytic activity is greatly enhanced if the ingested particles are coated with globulin and the theory is put forwards

that the acquisition during evolution of globulin forming cells had as its main function the facilitation of phagocytosis by the reticulo-endothelial system. Since a conspicuous feature of the octopus is a lack of lymphatics and discrete foci of lymphoid tissue the problem arises as to whether it is able to opsonise foreign substances. Because of this lack of cellular sophistication the octopus offers a suitable experimental model for studies in immunology.

SUMMARY

The reticulo-endothelial apparatus of *Eledone cirrosa* has been investigated by the intravenous injection of specially prepared colloidal carbon. Phagocytic cells were found in the posterior salivary gland and gills, the white body or gland of Hensen, anterior salivary gland and branchial spleen. In the gland of Hensen both phagocytic and non phagocytic leukoblastic cells were found. These cells resemble monocytes and it is suggested that this organ may be responsible for a primitive recognition system useful in basic immunological responses.

RÉSUMÉ

Le système réticulo-endothélial de *Eledone cirrosa* a été étudié par injection intraveineuse d'une préparation spéciale de carbone colloïdal. Des cellules phagocytaires ont été trouvées dans la glande salivaire postérieure et les branchies, le « corps blanc » ou glande de Hensen, la glande salivaire antérieure et la glande branchiale. Des cellules leucoblastiques phagocytaires et non phagocytaires ont été trouvées dans la glande de Hensen. Ces cellules ressemblent aux monocytes, et il est possible que cet organe constitue un système primitif de reconnaissance utile dans les réponses immunologiques de base.

ZUSSAMENFASSUNG

Das reticulo-endotheliale System von *Eledone cirrosa* wurde an Hand von intravenösen Einspitzungen eines speziell zubereiteten, gallertartigen Kohlenstoffes untersucht. Phagozyten sind in der

hinteren Speicheldrüse, den Kiemen, im weissen Körper, auch Hensen'sche Drüse genannt, in der vorderen Speicheldrüse und in der Kiemendrüse gefunden worden. Phagocytäre und nicht phagocytäre Leucoblasten wurden in der Hensen-schen Drüse entdeckt. Diese Zellen gleichen den Monocyten; es wird vermutet, dass der weisse Körper ein einfaches Erkennungssystem darstellt, das brauchbar ist für fundamentale immunologische Antworten.

REFERENCES

- BARBER, V.C. and P. GRAZIADEI, 1965. The fine structure of cephalopod blood vessels. *Zeit. f. Zellforsch.*, **66** : 765-781.
- BENACERAF, B., G. BIOZZI and B.N. HALPERN, 1956. *In* Physiopathology of the reticulo-endothelial system. Edit. B.N. Halpern, Blackwell, Oxford.
- BOLOGNARI, A., 1951. Mofolofia, struttura e funzione del « corpo bianco » dei Cefalopodi. *Arch. Zool. Ital.*, **XXXVI**, 253-285.
- BROWN, A.C. and R.J. BROWN, 1965. The fate of thorium dioxide injected into the pedal sinus of Bullia (Gastropoda : Prosobranchiata). *J. Exp. Biol.*, **42** : 509-519.
- CAZAL, P. and D. BOGORAZE, 1943. Recherches sur les corps blancs du Poulpe (*Octopus vulgaris* Lam.). Leur fonction globuligène et néphrocytaire. *Bull. de l'Institut Océanographique*, n° **842**, 29 avril.
- CHENG, T.C. and S.D. STREISFELD, 1963. Innate Phagocytosis in the Trematodes *Megalodiscus temperatus* and *Haematoloechus* sp. *J. Morph.*, **113**, n° 3 : 375-380.
- GRAZIADEI, P., 1962. Sulla vascolarizzazione e sulla innervazione delle ghiandole salivari posteriori di *Octopus vulgaris*. *Rivista di Biologica*, **LV** (4) : 385-395.
- ISGROVE, A., 1909. L.M.B.C. Memoirs. XVIII Eledone pub. Williams and Norgate, London.
- NECCO, A. and R. MARTIN, 1963. Behaviour and estimation of the mitotic activity of the white body cells in *Octopus vulgaris*, cultured in vitro. *Exp. Cell Res.*, **30** : 588-623.
- STAUBER, L.A., 1950. The fate of india ink injected intracardially into the oyster, *ostrea virginia* gmelin. *Biological Bull.*, **98**, 227-241.
- STUART, A.E., 1963. Structural and Functional Effects of lipids on the reticulo-endothelial system. *Colloq. Int. du Centre National de la Recherche Scientifique*, n° **115**, 129-146.
- TRIPP, M.R., 1958. Disposal by the oyster of intracardially injected red blood cells of vertebrates. *Proc. Nat. Shellfisheries Assoc.*, **48**, 148-147.
- YOUNG, J.Z., 1964. *A model of the Brain*. Oxford, Clarendon Press.

Reçu le 11 mai 1966.

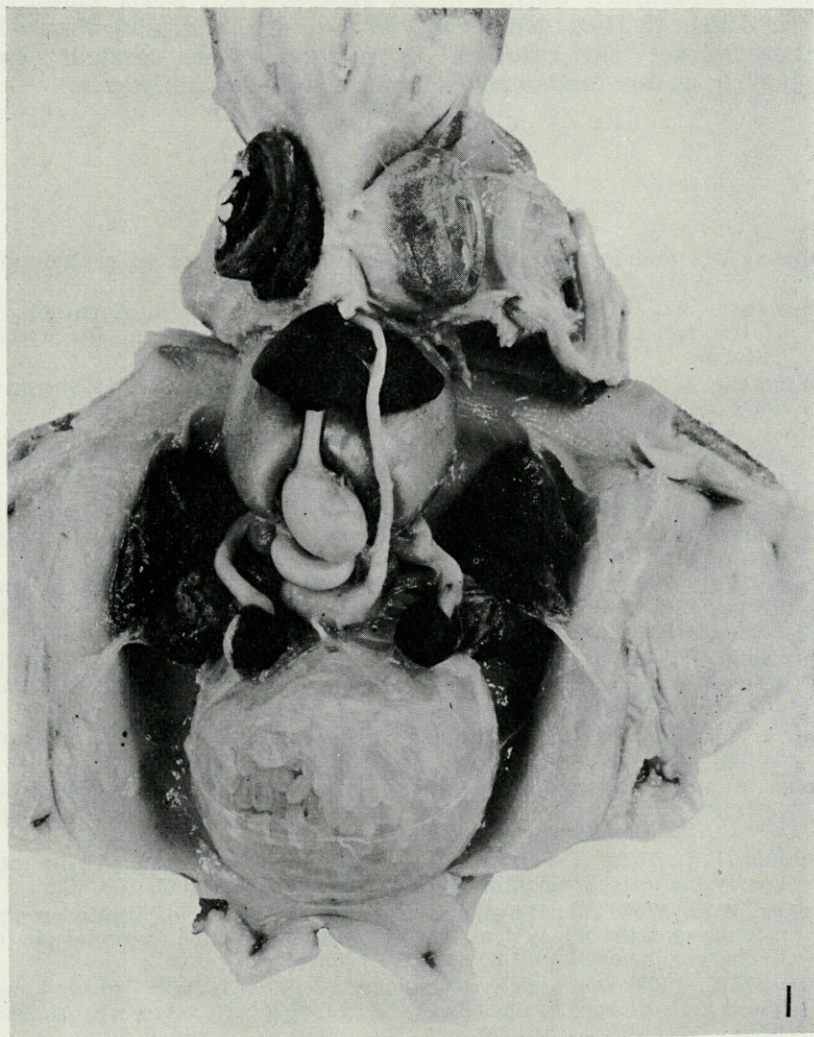


FIG. 1. — Dissection made 2 days after injection of high dose of colloidal carbon. Organs containing phagocytic cells appear black.

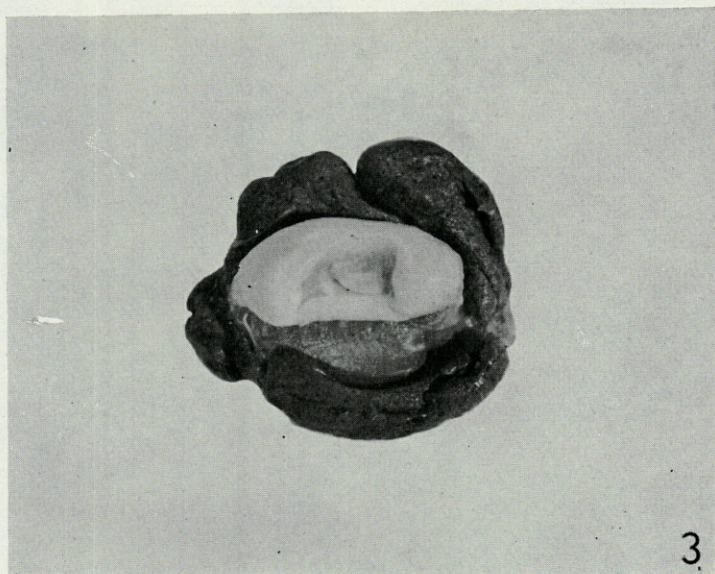
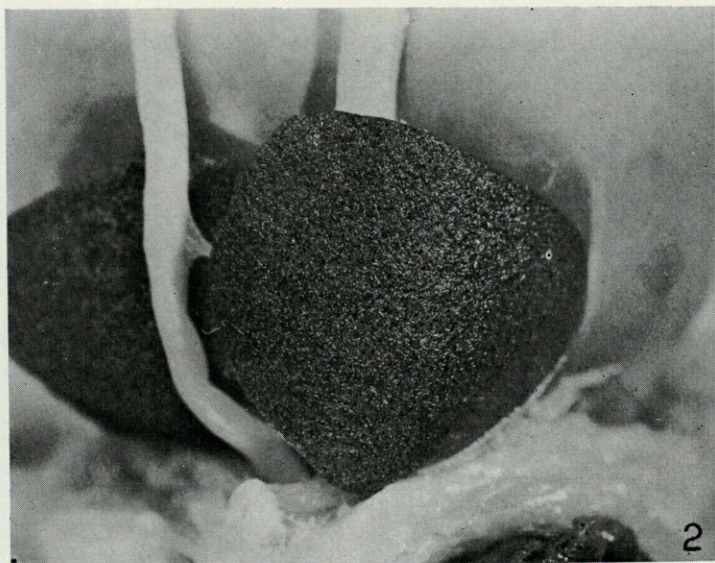


FIG. 2. — Posterior salivary gland after intravenous injection of carbon. The natural colour is white; note the black appearance (enlarged from fig. 1).

FIG. 3. — The gland of Hensen or Faussek after carbon. The central pale structure is the optic ganglion, the surrounding collar of dark tissue represents the lobes of the gland which is normally white.

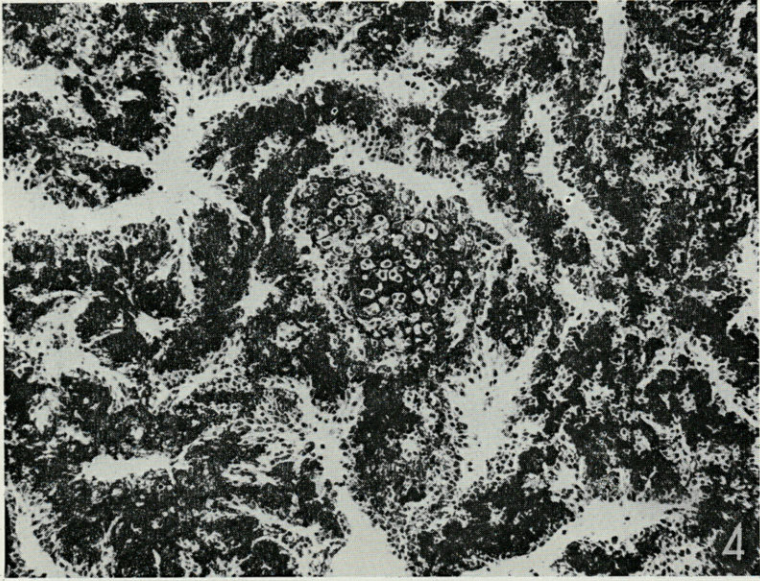


FIG. 4. — Gill after large dose of carbon. H. & E. $\times 100$.

FIG. 5. — Gill after small dose of carbon. H. & E. $\times 100$.

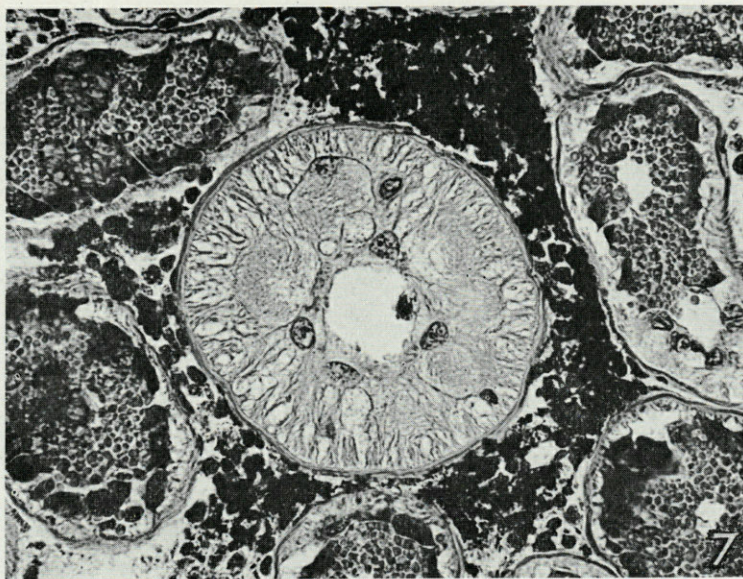
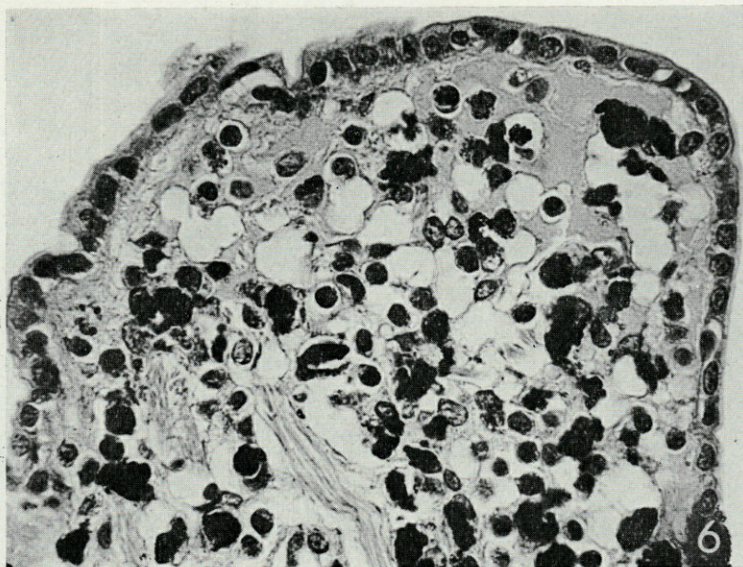


FIG. 6. — Gill after small dose of carbon. H. & E. $\times 550$.
Note abundance of deeply pigmented stromal phagocytes.

FIG. 7. — Posterior salivary gland showing abundant stromal phagocytic cells. H. & E. $\times 400$.

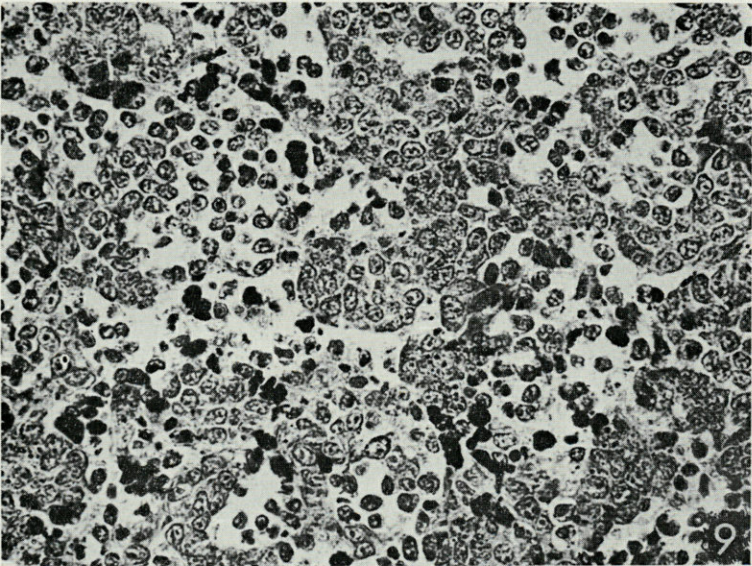
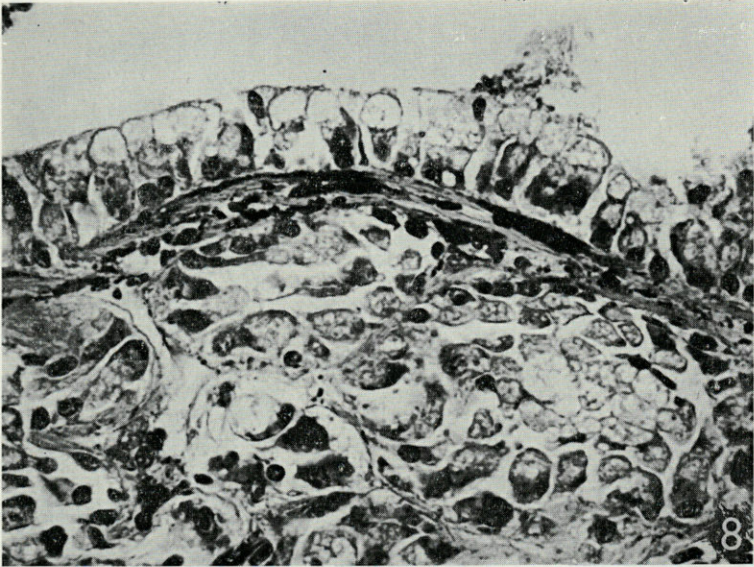


FIG. 8. — Anterior salivary gland showing anomolous deposition of carbon on collagenous fibres beneath the columnar epithelium. H. & E. $\times 500$.

FIG. 9. — Gland of Hensen. The carbon containing phagocytic cells are lying free within sinusoidal channels bounded by solid cords of leucoblastic tissue. H. & E. $\times 425$.

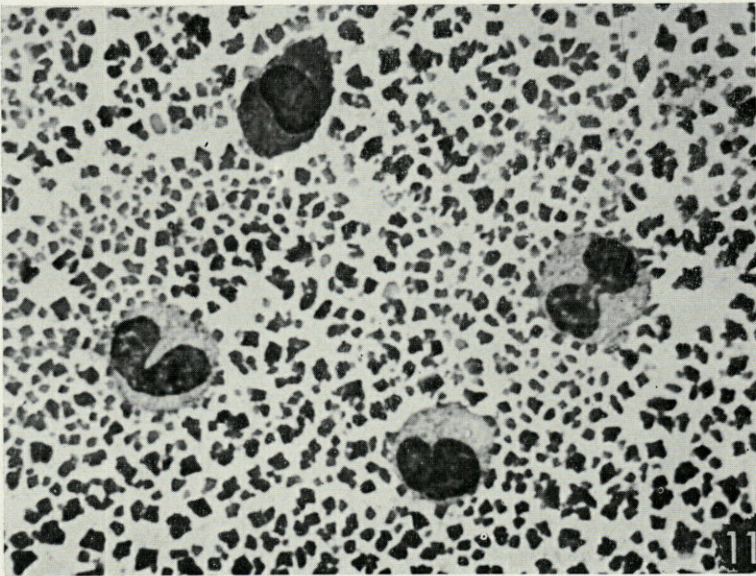
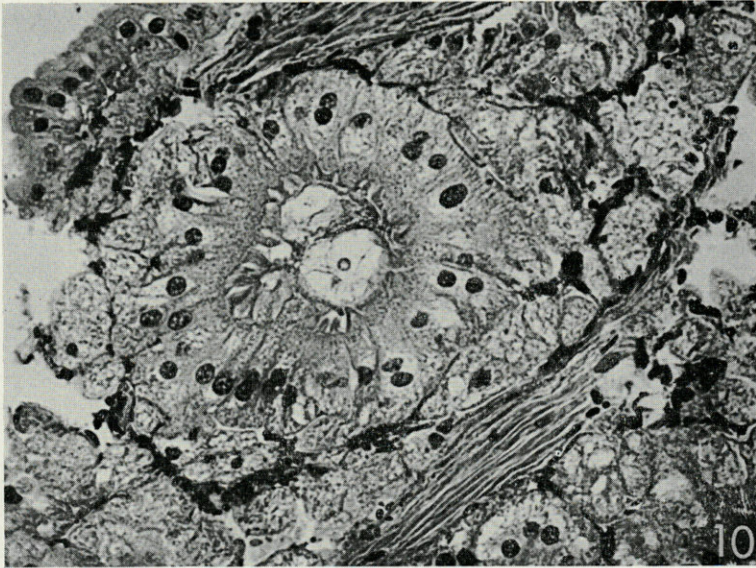


FIG. 10. — Section through pouches of vena cava after high dose of carbon showing absence of carbon in secretory cells and small amounts in endothelial cells. H. & E. $\times 300$.

FIG. 11. — Peripheral blood. $\times 1000$ (Leishman). Note resemblance of nuclei to human monocytes.

COPÉPODES ASSOCIÉS AUX INVERTÉBRÉS DES CÔTES DU ROUSSILLON

VI. SUR DEUX ESPÈCES NOUVELLES DE LA FAMILLE DES *SPONGIOCNIZONTIDAE*

par Jan H. STOCK

Zoölogisch Museum,
Université d'Amsterdam, Pays-Bas

SOMMAIRE

La prospection méthodique des Copépodes parasites des Eponges dans la région de Banyuls a permis la découverte de deux espèces nouvelles appartenant à la curieuse famille des *Spongiocnizontidae*. Les trois espèces de cette famille sont, peut-être provisoirement, réunies dans le genre unique *Spongiocnizon*.

Lorsque, en 1963, nous avons découvert pour la première fois aux environs de Banyuls un Copépode spongicole apode se distinguant immédiatement des autres Copépodes connus par la structure de son antenne antérieure (biramée chez la femelle, biramée et chélifforme chez le mâle), nous pensions qu'il s'agissait d'une trouvaille fortuite d'une unique espèce, représentant un genre nouveau et une famille nouvelle. Dans le travail consacré à cette forme si remarquable, nous avons donné le nom de *Spongiocnizon petiti* à ce parasite de l'éponge *Hemimycale columella* (Bowerbank) (voir STOCK & KLEETON, 1964). A notre grande surprise, nous avons trouvé pendant les deux dernières années, deux nouveaux membres du genre *Spongiocnizon*, également dans les environs de Banyuls.

Il semble donc que les représentants de la famille des *Spongiocnizontidae* sont moins rares que nous ne le pensions.

Le travail sur le terrain a été subventionné par le Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, sur proposition de l'Organisation Néerlandaise pour le Développement de la Recherche Scientifique (Z.W.O.) La Haye. Je tiens à remercier la Direction et le personnel, scientifique et technique, du Laboratoire Arago (Banyuls-sur-Mer), pour les facilités de travail mises à ma disposition, ainsi que M. J. VACELET, de la Station Marine d'Endoume (Marseille), qui a bien voulu déterminer certains Spongiaires, hôtes des parasites décrits ci-après.

SPONGIOCNIZON VERMIFORMIS spec. nov. Fig. 1-12

MATÉRIEL EXAMINÉ

Dans une éponge, *Iophon hyndmani* (Bowerbank) var. *funis* Topsent.

— 12 milles au large de St.-Cyprien (Pyrénées-Orientales). Chalutage par 60-90 m. Fond de vase sableuse. 9 sept. 1964. 4 ♀, 6 ♂. Une femelle a été choisie comme holotype, un mâle comme allotype; les autres deviennent paratypes (Z.M.A. Co. 101.002).

— Entre St.-Cyprien et Le Racou (Pyrénées-Orientales). Chalutage par 36-37 m. Fond de vase sableuse. 12 août 1965. 9 ♀, 1 ♂ (Z.M.A. Co. 101.003).

DESCRIPTION

Femelle et mâle sont vermiformes (figs. 1, 2, 5). La femelle a 1 127 - 2 061 μ de longueur, moyenne 1 567 μ (dimensions basées sur 10 exemplaires), le mâle 998 - 1 272 μ , moyenne 1 108 μ (6 exemplaires).

Le corps est asegmenté; il conserve presque le même diamètre sur toute sa longueur. En vue latérale, le corps montre une légère courbure, dont le côté concave se situe à la face dorsale de l'animal. En position tout à fait caudale se trouve une échancrure médiane, pourvue de petits cils cuticulaires sans arrangement visible, dans laquelle débouche le rectum (fig. 3). Au niveau de l'anus, on voit,

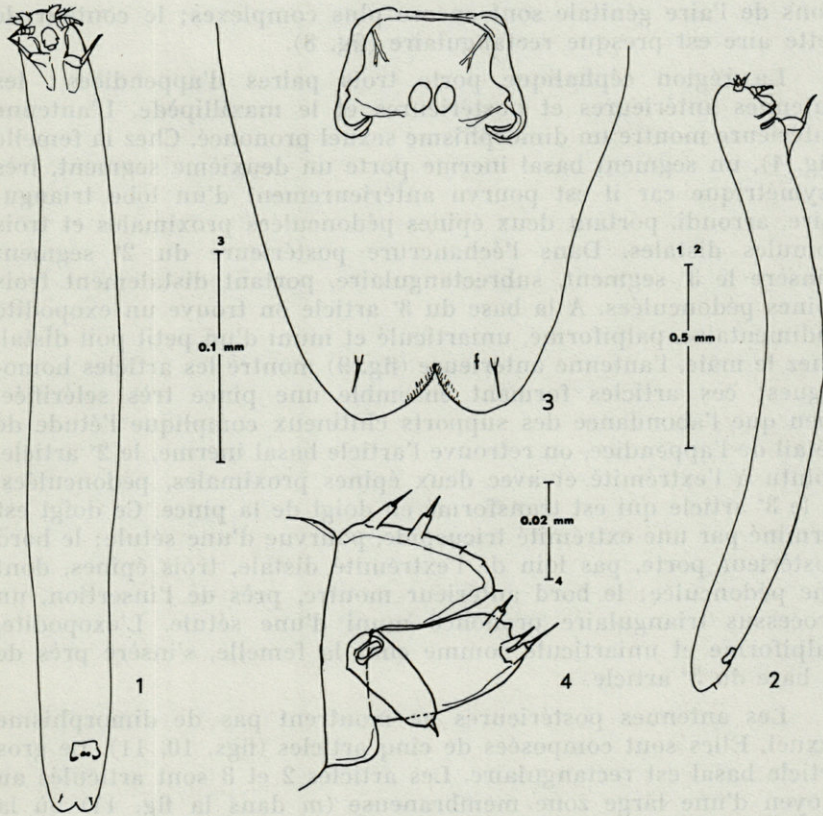


FIG. 1-4. — *Spongiocnizon vermiformis* spec. nov., ♀, 1, animal entier, en vue ventrale; 2, animal entier, vue de droite; 3, l'extrémité postérieure du corps, avec l'aire génitale et les rames caudales rudimentaires en vue ventrale; 4, antenne antérieure.

- | | | | |
|------|--|-------|--|
| (a) | aile latérale du repli délimitant l'atrium buccal; | (gm) | gonflement basal des maxillipèdes (latéral ou médian); |
| (ag) | aire génitale; | (li) | lèvre inférieure; |
| (b) | bouche; | (ls) | lèvre supérieure; |
| (e) | oesophage; | (m) | membrane articulaire au niveau de la flexion de l'antenne postérieure; |
| (f) | rudiment de la furca; | (mxp) | maxillipède. |
| (gi) | gonflement interantennaire; | | |

Ces explications sont communes à toutes les figures.

à gauche et à droite, une soie pédonculée, qui représente sans doute les rames caudales (fig. 3). Un peu plus antérieurement, se situe chez la femelle le cadre chitineux trapézoïdal, renforcé d'une façon complexe d'épaississements bien sclérifiés, que nous avons appelé « l'aire génitale ». Près du bord postérieur et de la ligne médiane, les deux gonopores sont visibles (fig. 3). Chez le mâle, les sclérifica-

tions de l'aire génitale sont encore plus complexes; le contour de cette aire est presque rectangulaire (fig. 8).

La région céphalique porte trois paires d'appendices : les antennes antérieures et postérieures et le maxillipède. L'antenne antérieure montre un dimorphisme sexuel prononcé. Chez la femelle (fig. 4), un segment basal inerme porte un deuxième segment, très asymétrique car il est pourvu antérieurement d'un lobe triangulaire, arrondi, portant deux épines pédonculées proximales et trois spinules distales. Dans l'échancrure postérieure du 2° segment s'insère le 3° segment, subrectangulaire, portant distalement trois épines pédonculées. A la base du 3° article on trouve un exopodite rudimentaire, palpiforme, uniarticulé et muni d'un petit poil distal. Chez le mâle, l'antenne antérieure (fig. 9) montre les articles homologues; ces articles forment ensemble une pince très sclérifiée. Bien que l'abondance des supports chitineux complique l'étude de détail de l'appendice, on retrouve l'article basal inerme, le 2° article, pointu à l'extrémité et avec deux épines proximales, pédonculées, et le 3° article qui est transformé en doigt de la pince. Ce doigt est terminé par une extrémité tricuspide, pourvue d'une sétule; le bord postérieur porte, pas loin de l'extrémité distale, trois épines, dont une pédonculée; le bord antérieur montre, près de l'insertion, un processus triangulaire prononcé muni d'une sétule. L'exopodite, palpiforme et uniarticulé comme chez la femelle, s'insère près de la base du 3° article.

Les antennes postérieures ne montrent pas de dimorphisme sexuel. Elles sont composées de cinq articles (figs. 10, 11). Le gros article basal est rectangulaire. Les articles 2 et 3 sont articulés au moyen d'une large zone membraneuse (*m* dans la fig. 11) où la flexion de A_2 se réalise. Dans la fig. 10 on voit une antenne fléchie, dans la fig. 11 la même antenne étendue. Sur la ligne médiane, entre les antennes antérieures et postérieures, un gonflement très net, d'homologie incertaine, s'élève (*gi*, dans les figures 6 et 7).

Les maxillipèdes ne montrent pas non plus de différences sexuelles. Sur deux renflements très nets du corps (*gm*, dans les figures 6, 7 et 12), s'insère l'article basal triangulaire, qui porte à son tour la griffe biarticulée. Distalement, cette griffe est pubescente.

Entre les antennes et les maxillipèdes, deux replis bien sclérifiés prennent naissance (fig. 6). Ces replis délimitent une partie de la face ventrale du céphalon, la partie que nous avons appelé l'atrium buccal. Les replis sont également bien visibles en vue latérale (fig. 7). Au centre de cet atrium (fig. 6) on trouve la trompe constituée par les lèvres supérieure et inférieure. La lèvre supérieure (*ls*, dans les figures 6 et 7) forme la partie dominante de la trompe; elle consiste en deux parties, qui sont marquées par des

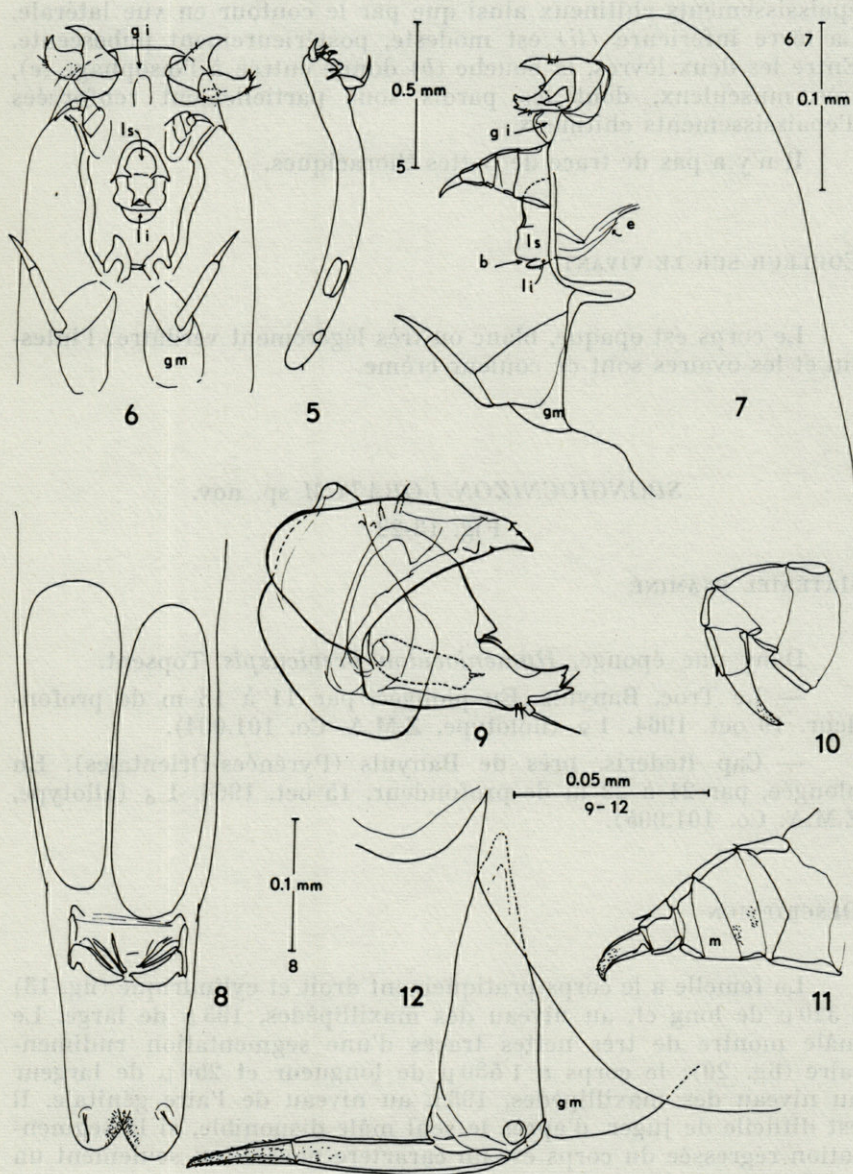


FIG. 5-12. — *Spongiocnizon vermiformis* spec. nov., ♂. 5, animal entier, en vue latérale; 6, région céphalique, en vue ventrale; 7, région céphalique, vue de gauche; 8, extrémité postérieure du corps, en vue ventrale; 9, antenne antérieure, vue médio-ventrale; 10, antenne postérieure, en position de flexion; 11, antenne postérieure étendue; 12, maxillipède.

épaississements chitineux ainsi que par le contour en vue latérale. La lèvre inférieure (*li*) est modeste, postérieurement pubescente. Entre les deux lèvres, la bouche (*b*) donne entrée à l'œsophage (*e*), très musculéux, dont les parois sont partiellement renforcées d'épaississements chitineux.

Il n'y a pas de trace de pattes thoraciques.

COULEUR SUR LE VIVANT

Le corps est opaque, blanc ou très légèrement verdâtre; l'intestin et les ovaires sont de couleur crème.

SPONGIOCNIZON LOBATUM sp. nov.

Fig. 13-22

MATÉRIEL EXAMINÉ

Dans une éponge, *Hymeniacidon brevicuspis* Topsent.

— Le Troc, Banyuls. En plongée, par 11 à 18 m de profondeur. 19 oct. 1964. 1 ♀ (holotype, Z.M.A. Co. 101.004).

— Cap Rederis, près de Banyuls (Pyrénées-Orientales). En plongée, par 21 à 22 m de profondeur. 15 oct. 1964. 1 ♂ (allotype, Z.M.A. Co. 101.005).

DESCRIPTION

La femelle a le corps pratiquement droit et cylindrique (fig. 13) 1 320 μ de long et, au niveau des maxillipèdes, 193 μ de large. Le mâle montre de très nettes traces d'une segmentation rudimentaire (fig. 20); le corps a 1 530 μ de longueur et 250 μ de largeur au niveau des maxillipèdes, 193 μ au niveau de l'aire génitale. Il est difficile de juger, d'après le seul mâle disponible, si la segmentation régressée du corps est un caractère normal ou seulement un artéfact par suite de la conservation.

L'aire génitale (♀) est de forme rectangulaire arrondie (fig. 16) et ses épaississements chitineux sont assez simplement rangés. L'aire génitale du mâle n'a pas été étudiée en détail. Comme chez

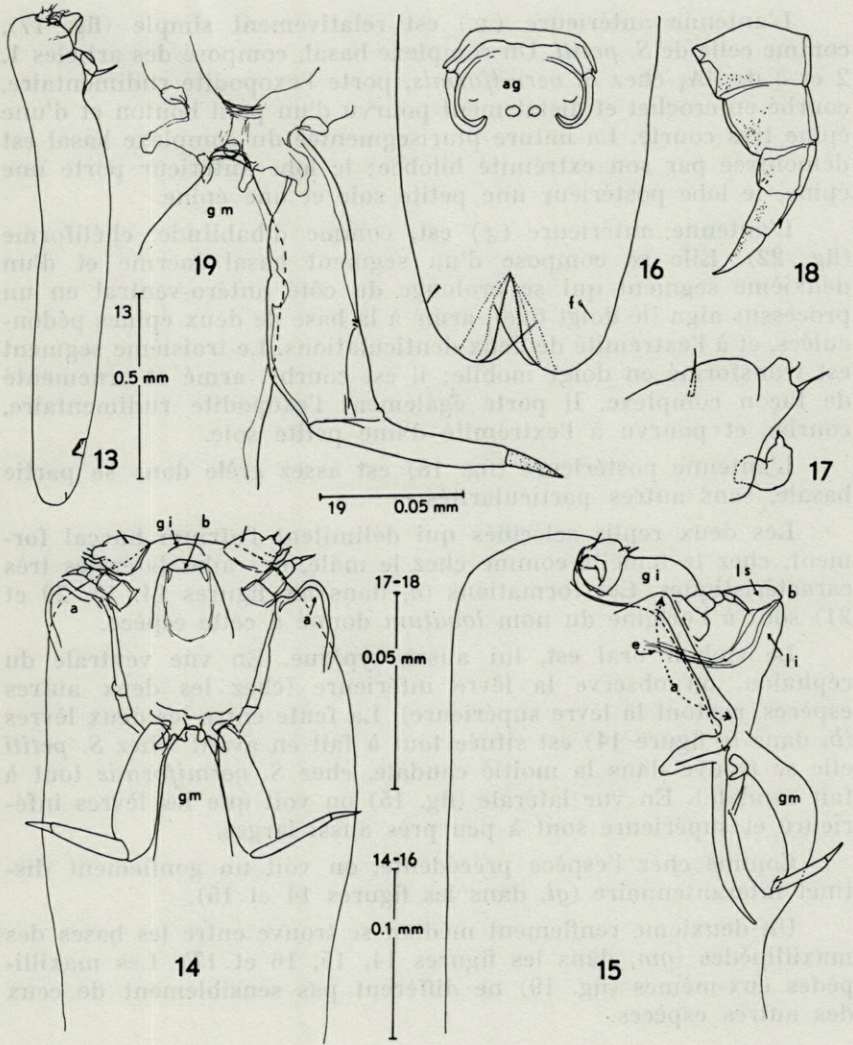


FIG. 13-19. — *Spongiocnizon lobatum* spec. nov., ♀ (holotype). 13, animal entier, vue de droite; 14, région céphalique, en vue ventrale; 15, région céphalique, vue de droite; 16, extrémité postérieure du corps, en vue ventrale; 17, antenne antérieure; 18, antenne postérieure; 19, maxillipède et sa région d'insertion, en vue ventrale.

les autres espèces, les rames furcales sont réduites à une seule petite soie de chaque côté. Le rectum débouche dans l'échancrure terminale; les bords latéraux de l'échancrure sont ornés de chaque côté de trois rangées de spinules (fig. 16).

L'antenne antérieure (♀) est relativement simple (fig. 17), comme celle de *S. petiti*. Un complexe basal, composé des articles 1, 2 et 3 de l'A₁ chez *S. vermiformis*, porte l'exopodite rudimentaire, courbé en crochet et distalement pourvu d'un petit bouton et d'une épine très courte. La nature plurisegmentée du complexe basal est démontrée par son extrémité bilobée; le lobe antérieur porte une épine, le lobe postérieur une petite soie et une épine.

L'antenne antérieure (♂) est, comme d'habitude, chéliforme (fig. 22). Elle se compose d'un segment basal inerme et d'un deuxième segment qui se prolonge du côté antéro-ventral en un processus aigu (le doigt fixe), armé à la base de deux épines pédonculées, et à l'extrémité de deux denticulations. Le troisième segment est transformé en doigt mobile; il est courbe, armé et orné de façon complexe. Il porte également l'exopodite rudimentaire, courbe, et pourvu à l'extrémité d'une petite soie.

L'antenne postérieure (fig. 18) est assez grêle dans sa partie basale, sans autres particularités.

Les deux replis sclérifiés qui délimitent l'atrium buccal forment, chez la femelle comme chez le mâle, des ailes latérales très caractéristiques. Ces formations (*a*, dans les figures 14, 15, 20 et 21) sont à l'origine du nom *lobatum* donné à cette espèce.

Le siphon oral est, lui aussi, typique. En vue ventrale du céphalon, on observe la lèvre inférieure (chez les deux autres espèces, surtout la lèvre supérieure). La fente entre les deux lèvres (*b*, dans la figure 14) est située tout à fait en avant (chez *S. petiti* elle se trouve dans la moitié caudale, chez *S. vermiformis* tout à fait caudale). En vue latérale (fig. 15) on voit que les lèvres inférieure et supérieure sont à peu près aussi larges.

Comme chez l'espèce précédente, on voit un gonflement distinct interantennaire (*gi*, dans les figures 14 et 15).

Un deuxième renflement médian se trouve entre les bases des maxillipèdes (*gm*, dans les figures 14, 15, 16 et 17). Les maxillipèdes eux-mêmes (fig. 19) ne diffèrent pas sensiblement de ceux des autres espèces.

COLORATION

Le corps est d'un blanc sale; les organes internes sont d'un blanc clair. L'œil n'est pas visible.

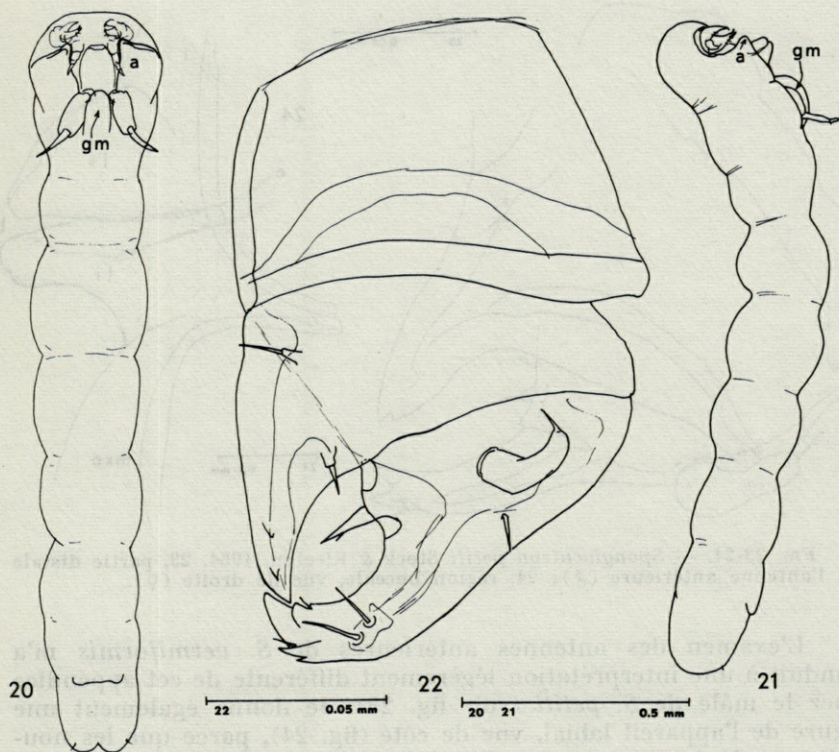


FIG. 20-22. — *Spongiocnizon lobatum* spec. nov., ♂ (allotype). 20, animal entier, en vue ventrale; 21, animal entier, vue de droite; 22, antenne antérieure.

SPONGIOCNIZON PETITI Stock & Kleeton, 1964

Fig. 23-24

A la lumière de la découverte de deux espèces nouvelles, j'ai cru utile de réétudier l'espèce-type du genre *Spongiocnizon*. Cette espèce, *S. petiti*, a été retrouvée à plusieurs reprises depuis sa description originale. Elle est un parasite constant et spécifique de son hôte, l'éponge *Hemimycale columella*. Je la connais maintenant de Port-Vendres (localité-type), de la digue et des rochers devant le Laboratoire Arago à Banyuls, et des Caps l'Abeille et Oullestreil; les hôtes, dont j'ai isolé le parasite, vivaient entre 8 et 27 m de profondeur.

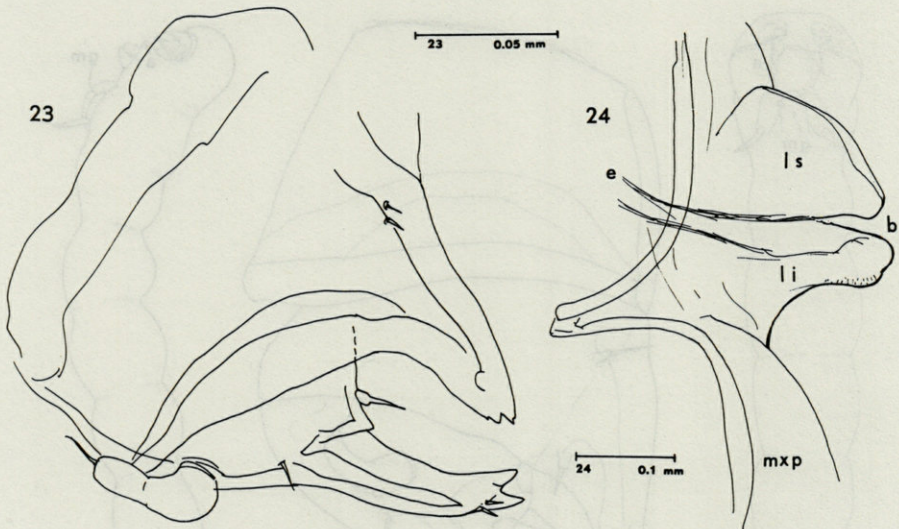


FIG. 23-24. — *Spongiocnizon petiti* Stock & Kleeton, 1964. 23, partie distale de l'antenne antérieure (♂); 24, région buccale, vue de droite (♀).

L'examen des antennes antérieures de *S. vermiformis* m'a conduit à une interprétation légèrement différente de cet appendice chez le mâle de *S. petiti* (voir fig. 23). Je donne également une figure de l'appareil labial, vue de côté (fig. 24), parce que les nouvelles espèces ont montré l'importance de ce caractère.

SPONGIOCNIZON sp.

Dans une éponge de couleur bleuâtre, *Anchione tenacior* Topsent, nous avons trouvé deux exemplaires d'un très petit *Spongiocnizon*, qui sont caractérisés par l'absence totale d'une aire génitale bien sclérifiée. La longueur de ces spécimens est 966 et 580 μ . Abstraction faite de l'absence de l'aire génitale, la totalité des autres caractères ressemble à ceux de *S. petiti*. Pour le moment, je suppose donc qu'il s'agit des jeunes de cette espèce. Si, au contraire, l'absence d'épaississements chitineux dans l'aire génitale et la petite taille ne sont pas dues à l'état juvénile du matériel, une nouvelle espèce doit être créée pour cette forme. La solution de ce problème est soumise à la récolte d'un matériel plus riche provenant du

même hôte. Le présent échantillon a été ramassé en plongée au Cap Rederis, près de Banyuls, par 23 à 30 m de profondeur, le 17 septembre 1964.

SUR LA DISTINCTION DES ESPÈCES DE *SPONGIOCNIZON*

Les trois espèces connues jusqu'ici diffèrent mutuellement par quatre caractères : (1) la forme générale du corps, (2) la forme de l'atrium buccal et des lèvres, (3) l'arrangement des sclérifications dans l'aire génitale, et (4) la structure de l'antenne antérieure. Ces quatre caractères sont valables pour le mâle ainsi que pour la femelle.

S. petiti est l'espèce la plus grande (2 à 3 mm); son corps prend la forme de cornichon, l'extrémité postérieure du corps est plus aiguë que le bout antérieur. Les deux autres espèces ont généralement moins de 2 mm de longueur; elles sont cylindriques (*lobatum*) ou même vermiformes (*vermiformis*).

L'atrium buccal consiste en deux replis essentiellement parallèles chez *petiti*, divergents chez *vermiformis*, pourvus de deux lobes antéro-latéraux chez *lobatum*. Les sclérifications et épaississements qui forment le cadre de l'aire génitale sont très complexes, mais diffèrent nettement d'une espèce à l'autre.

Les antennes antérieures des femelles de *petiti* et *lobatum* sont régressées; elles consistent en un seul complexe basal portant l'exopodite rudimentaire. Chez *vermiformis* au contraire, l'homologie avec l'A₁ du mâle est beaucoup plus claire; on compte trois articles bien individualisés en dehors de l'exopodite rudimentaire. Chez le mâle, les différences entre les A₁ sont surtout visibles au niveau du 3^e article (le doigt mobile), dont l'armature et l'ornementation sont spécifiques.

J'ai cru utile d'attribuer les trois espèces connues à un seul genre, *Spongiocnizon*, quoique je doive admettre que la structure de l'antenne antérieure (♀) de *S. vermiformis*, de même que la segmentation du corps (♂) de *S. lobatum* sont des caractères d'une haute valeur taxonomique. Il paraît préférable d'attendre la découverte d'autres formes nouvelles, avant de créer des genres nouveaux dans la famille des *Spongiocnizontidae*.

RÉSUMÉ

Deux espèces nouvelles de Copépodes parasites d'éponges, de la famille des *Spongiocnizontidae*, ont été décrites des environs de Banyuls. Quoique toutes les deux diffèrent quelque peu du type de la famille, jusqu'ici unique, *Spongiocnizon petiti*, elles ont été attribuées au genre *Spongiocnizon* et appelées *S. vermiformis* spec. nov. (parasite de *Iophon hyndmani* var. *funis*) et *S. lobatum* spec. nov. (parasite de *Hymeniacidon brevicuspis*). Des localités nouvelles ont été signalées pour *S. petiti*, tandis qu'un *Spongiocnizon* de petite taille (*S. petiti* jeune ou une espèce nouvelle ?) a été décrit comme parasite d'*Anchione tenacior*.

SUMMARY

Two new species of copepod sponge parasites of the family *Spongiocnizontidae* have been described from the Banyuls area. Although both diverge somewhat from the hitherto only known member of the family, *Spongiocnizon petiti*, they have been referred to the genus *Spongiocnizon*, and called *S. vermicularis* spec. nov. (parasitic in *Iophon hyndmani* var. *funis*) and *S. lobatum* (parasitic in *Hymeniacidon brevicuspis*). New localities have been recorded for *S. petiti*, and a small *Spongiocnizon* (juvenile *S. petiti* or a new species ?), parasitic in *Anchione tenacior*, is described.

ZUSAMMENFASSUNG

Zwei neue Arten in Schwämmen parasitierender Copepoden aus der Familie der *Spongiocnizontidae* werden aus der Umgebung von Banyuls beschrieben. Obwohl beide etwas von der familientypischen, bisher einzigen Art *Spongiocnizon petiti* abweichen, werden sie der Gattung *Spongiocnizon* zugeordnet und als *S. vermiformis* spec. nov. (Parasit von *Iophon hyndmani* var. *funis*) und *S. lobatum* spec. nov. (Parasit von *Hymeniacidon brevicuspis*) bezeichnet. Für *S. petiti* werden neue Fundorte angegeben; ein kleines Exemplar von *Spongiocnizon* (junges *S. petiti* oder eine neue Art ?) wird als Parasit von *Anchione tenacior* beschrieben.

RÉFÉRENCE

STOCK, J.H. & G. KLETON, 1964. Copépodes associés aux Invertébrés des côtes du Roussillon, IV. Description de *Spongiocnizon petiti* gen. nov., sp. nov., Copépode spongicole remarquable. *Vol. jub. G. Petit, Vie et Milieu*, suppl. 17 : 325-336.

Reçu le 25 juillet 1966.

COPÉPODES ASSOCIÉS AUX INVERTÉBRÉS DES CÔTES DU ROUSSILLON

VII. SUR DEUX ESPÈCES-JUMELLES DE CYCLOPOÏDES

SIPHONOSTOMES :

SCOTTOCHERES ELONGATUS (T. & A. Scott)

et *S. LAUBIERI* spec. nov.

par Jan H. STOCK

Zoölogisch Museum,
Université d'Amsterdam, Pays-Bas

SOMMAIRE

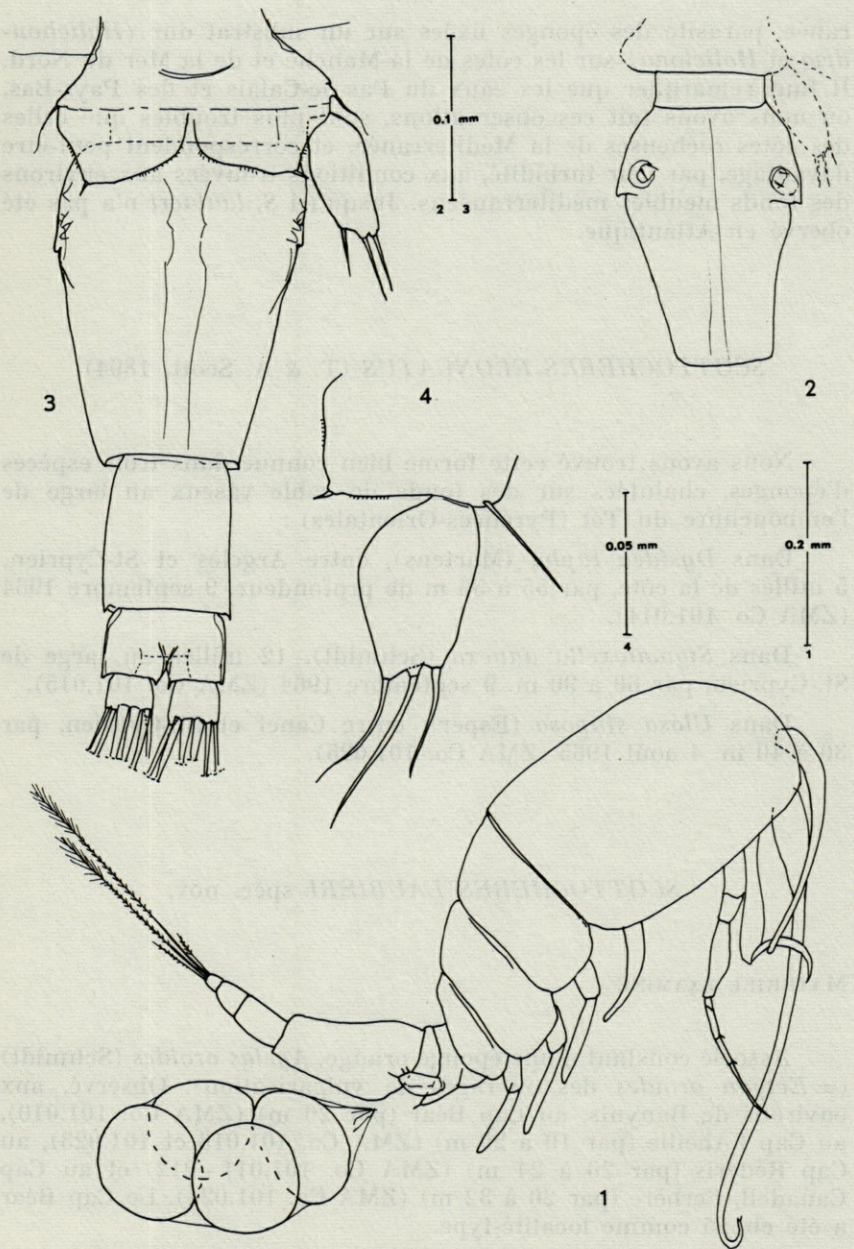
Ce travail démontre l'existence de deux espèces-jumelles dans le genre *Scottocheres* : *S. elongatus* (T. et A. Scott) et *S. laubieri* spec. nov. De morphologie très semblable, ces deux formes ont une répartition écologique différente; toutes deux vivent sur des Spongiaires. *S. elongatus* se trouve sur des espèces provenant de substrat meuble, *S. laubieri* sur des espèces différentes, provenant de substrat dur.

Dans mes collections figuraient, depuis plusieurs années, deux exemplaires d'un Cyclopoïde siphonostome, appartenant au genre *Scottocheres*, proche de l'espèce *S. elongatus* (T. & A. Scott, 1894), mais non complètement identique. Ces deux exemplaires avaient été trouvés sur la face dorsale d'un Gastéropode Nudibranche, *Peltodoris atromaculata* (Bergh). Etant donné les faibles différences entre ces deux spécimens et *S. elongatus*, j'ai cru utile de remettre leur description jusqu'à la découverte d'un matériel plus abondant. Mais l'examen attentif de plusieurs dizaines de *Peltodoris* pendant

les années suivantes ne m'a pas procuré de nouveaux exemplaires de ce parasite. Or, pendant la récolte de Nudibranches en plongée en scaphandre autonome, on a observé que la nourriture de *Peltodoris atromaculata* consiste en éponges, et que la plupart de ces animaux se trouvent sur une seule espèce de Spongiaire, *Petrosia ficiformis* Poiret. L'idée m'est venue que l'existence de *Scottocheres* sur *Peltodoris* était peut-être accidentelle, et que l'hôte normal serait un Spongiaire. Le triage systématique de nombreuses éponges a amplement confirmé cette idée; il est vrai que l'hôte régulier de *Scottocheres* n'est pas *Petrosia ficiformis*, mais une éponge qui vit côte à côte avec celle-ci sur les mêmes rochers, *Agelas oroides* (Schmidt). Les Copépodes trouvés dans *Agelas* [et, entre parenthèses, également sur une deuxième espèce d'éponge, *Hymeniacion brevicuspis* (Topsent)], provenant des fonds rocheux et coralligènes entre 10 et 30 m aux environs de Banyuls, étaient identiques au matériel original trouvé sur *Peltodoris*. Ce matériel diffère de façon constante, par l'armature des pattes 2 à 5, de *Scottocheres elongatus*.

Les données sur l'existence de *S. elongatus* en Méditerranée remontent au travail de GIESBRECHT (1899), qui dit (p. 83) avoir reçu quelques exemplaires de cette espèce directement de Th. SCOTT, et que les quelques illustrations qui accompagnent sa monographie ont été faites d'après ce matériel anglais. Il ajoute avoir retrouvé par la suite la même bête à Naples, et une comparaison minutieuse a montré son identité avec celle du Firth of Forth. Vu la ressemblance entre le *Scottocheres* méditerranéen et *S. elongatus* atlantique, je croyais d'abord que GIESBRECHT avait néanmoins confondu les deux espèces. Mais cela n'est pas le cas : les deux espèces se trouvent toutes les deux, en Méditerranée; l'une, l'espèce nouvelle, dans des éponges, surtout *Agelas*, des fonds durs (roches, coralligènes), l'autre, *S. elongatus*, dans certaines espèces d'éponges (*Dysidea tupha* (Martens), *Ulosa stuposa* (Esper) et *Sigmatoxella annexa* (Schmidt)) des fonds meubles (sable vaseux).

Le cas présent est donc un exemple intéressant d'espèces-jumelles : deux formes de morphologie très similaire, mais nettement distincte et de répartition un peu différente (non seulement les hôtes sont différents, mais également l'habitat de ces hôtes). Un cas analogue a été décrit par LAUBIER & REYSS, 1964, dans le genre *Pseudomyicola*. Ils distinguent trois sous-espèces de *P. spinosus*, dont une, *P. spinosus spinosus* est inféodée à *Mytilus galloprovincialis* qui habite l'étagé médiolittoral, tandis que *P. spinosus petiti* et *P. spinosus stocki* vivent dans deux Mollusques, *Pinna pectinata* et *Pteria hirundo*, des fonds vaseux à grands Hydriaires de 60 à 120 m de profondeur. Il est fort curieux d'ailleurs que le *S. elongatus*, qui habite des éponges des fonds meubles en Méditer-



FIGS. 1-4. *Scottocheres laubieri* spec. nov., ♀. 1, femelle ovigère, en vue latérale; 2, segment génital, en vue dorsale; 3, urosome, en vue ventrale, légèrement pressé entre lame et lamelle; 4, cinquième patte.

ranée, parasite des éponges fixées sur un substrat dur (*Halichondria* et *Haliclona*) sur les côtes de la Manche et de la Mer du Nord. Il faut remarquer que les eaux du Pas-de-Calais et des Pays-Bas, où nous avons fait ces observations, sont plus troubles que celles des côtes rocheuses de la Méditerranée, et correspondent peut-être davantage, par leur turbidité, aux conditions trouvées aux environs des fonds meubles méditerranéens. Jusqu'ici *S. laubieri* n'a pas été observé en Atlantique.

SCOTTOCHERES ELONGATUS (T. & A. Scott, 1894)

Nous avons trouvé cette forme bien connue dans trois espèces d'éponges, chalutées sur des fonds de sable vaseux au large de l'embouchure du Tet (Pyrénées-Orientales) :

Dans *Dysidea tupa* (Martens), entre Argelès et St-Cyprien, 5 milles de la côte, par 55 à 56 m de profondeur. 9 septembre 1964 (ZMA Co. 101.014).

Dans *Sigmattoxella annexa* (Schmidt), 12 milles au large de St.-Cyprien, par 60 à 90 m. 9 septembre 1964 (ZMA Co. 101.015).

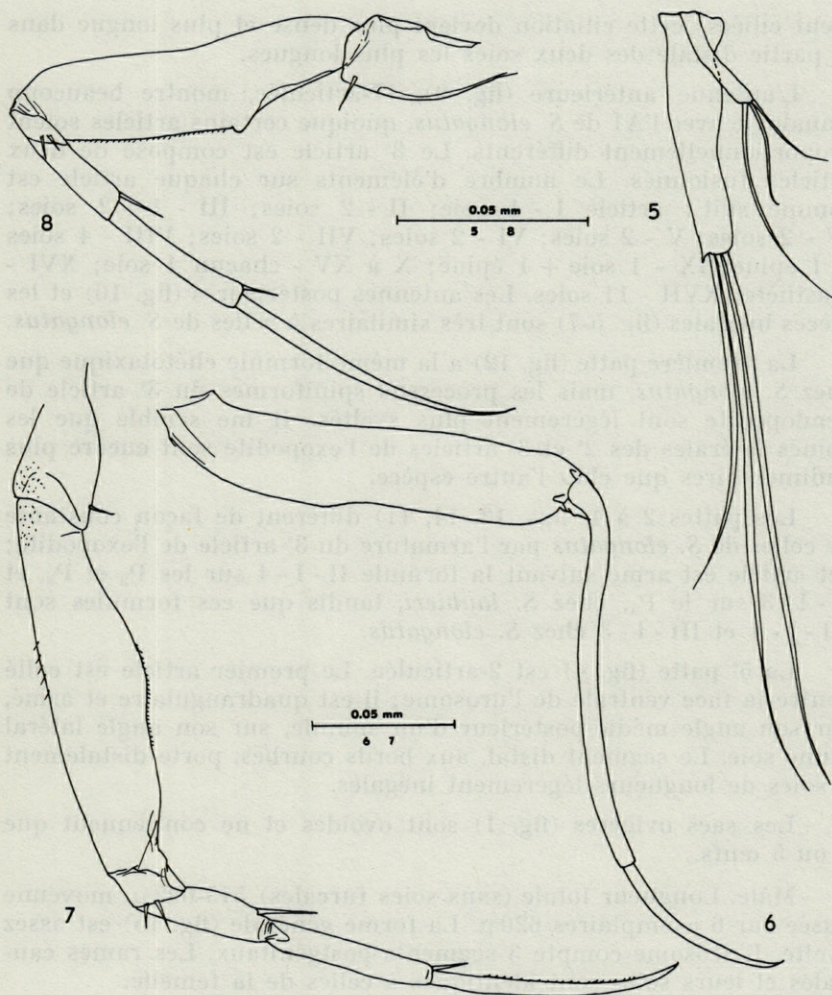
Dans *Ulosa stiposa* (Esper), entre Canet et St.-Cyprien, par 30 à 40 m 4 août 1965 (ZMA Co. 101.025).

SCOTTOCHERES LAUBIERI spec. nov.

MATÉRIEL EXAMINÉ

Associé constant d'une éponge orange, *Agelas oroides* (Schmidt) (= *Ectyon oroides* des ouvrages de vulgarisation). Observé, aux environs de Banyuls, au Cap Béar (par 20 m) (ZMA Co. 101.010), au Cap l'Abeille (par 10 à 20 m) (ZMA Co. 101.013 et 101.023), au Cap Rédéris (par 20 à 24 m) (ZMA Co. 101.011 - 012) et au Cap Canadell, Cerbère (par 20 à 32 m) (ZMA Co. 101.024). Le Cap Béar a été choisi comme localité-type.

Trouvé par hasard dans l'éponge rouge, *Hymeniacidon breviscuspis* (Topsent), au Cap Canadell (ZMA Co. 101.022).



Figs. 5-8. *Scottocheres laubieri* spec. nov. 5, maxille antérieure (♀); 6, maxille postérieure (♀); 7, maxillipède (♀); 8, maxillipède (♂).

DESCRIPTION

Femelle. Longueur totale (sans soies furcales) 805 - 1 030 μ , moyenne basée sur 10 exemplaires 924 μ . La morphologie du corps, de l'urosome et des rames caudales (fig. 1, 3) ressemble beaucoup à celle de *S. elongatus*. Les 4 soies furcales terminales sont fine-

ment ciliées; cette ciliation devient plus dense et plus longue dans la partie distale des deux soies les plus longues.

L'antenne antérieure (fig. 9), 17-articulée, montre beaucoup d'analogie avec l'A1 de *S. elongatus*, quoique certains articles soient proportionnellement différents. Le 3^e article est composé de deux articles fusionnés. Le nombre d'éléments sur chaque article est comme suit : article I - 1 soie; II - 2 soies; III - 1 + 2 soies; IV - 2 soies; V - 2 soies; VI - 2 soies; VII - 2 soies; VIII - 4 soies + 1 épine; IX - 1 soie + 1 épine; X à XV - chacun 1 soie; XVI - 1 asthète; XVII - 11 soies. Les antennes postérieures (fig. 10) et les pièces buccales (fig. 5-7) sont très similaires à celles de *S. elongatus*.

La première patte (fig. 12) a la même formule chétotaxique que chez *S. elongatus*, mais les processus spiniformes du 3^e article de l'endopodite sont légèrement plus sveltes. Il me semble que les épines latérales des 2^e et 3^e articles de l'exopodite sont encore plus rudimentaires que chez l'autre espèce.

Les pattes 2 à 4 (figs. 13, 14, 11) diffèrent de façon constante de celles de *S. elongatus* par l'armature du 3^e article de l'exopodite; cet article est armé suivant la formule II - I - 4 sur les P₂ et P₃, et II - I - 3 sur le P₄, chez *S. laubieri*, tandis que ces formules sont III - I - 4 et III - I - 3 chez *S. elongatus*.

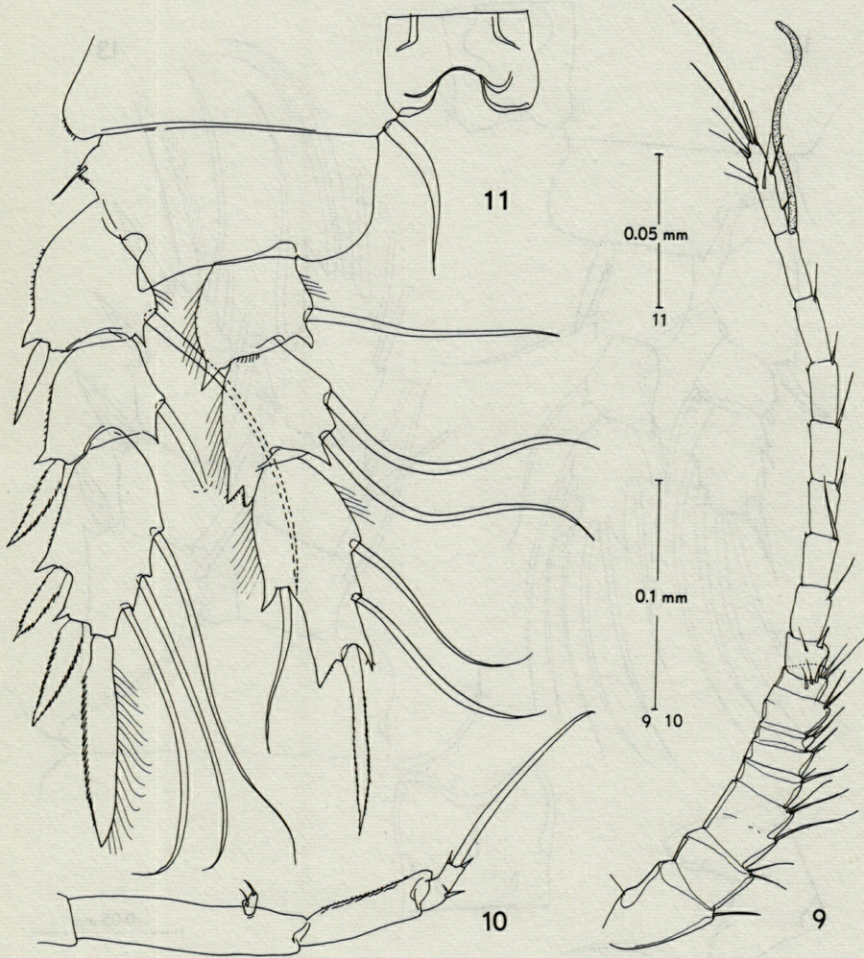
La 5^e patte (fig. 4) est 2-articulée. Le premier article est collé contre la face ventrale de l'urosome; il est quadrangulaire et armé, sur son angle médio-postérieur d'un spinule, sur son angle latéral d'une soie. Le segment distal, aux bords courbes, porte distalement 3 soies de longueurs légèrement inégales.

Les sacs ovigères (fig. 1) sont ovoïdes et ne contiennent que 4 ou 5 œufs.

Mâle. Longueur totale (sans soies furcales) 515-692 μ , moyenne basée sur 6 exemplaires 620 μ . La forme générale (fig. 15) est assez svelte. L'urosome compte 3 segments postgénétaux. Les rames caudales et leurs soies sont identiques à celles de la femelle.

Les différences sexuelles dans les appendices portent sur l'A1, le mxp, P₃ et P₅. L'antenne antérieure (fig. 17) est préhensile, 15-articulée; elle est surtout remarquable par de petits asthètes supplémentaires insérés aux articles 2, 3 (2 asthètes), 4, 6, 7, 8, 9, 11 et 12. Le long asthète sur l'article pénultième est accompagné d'une forte épine. Le nombre de soies est pratiquement identique à celui trouvé chez la femelle.

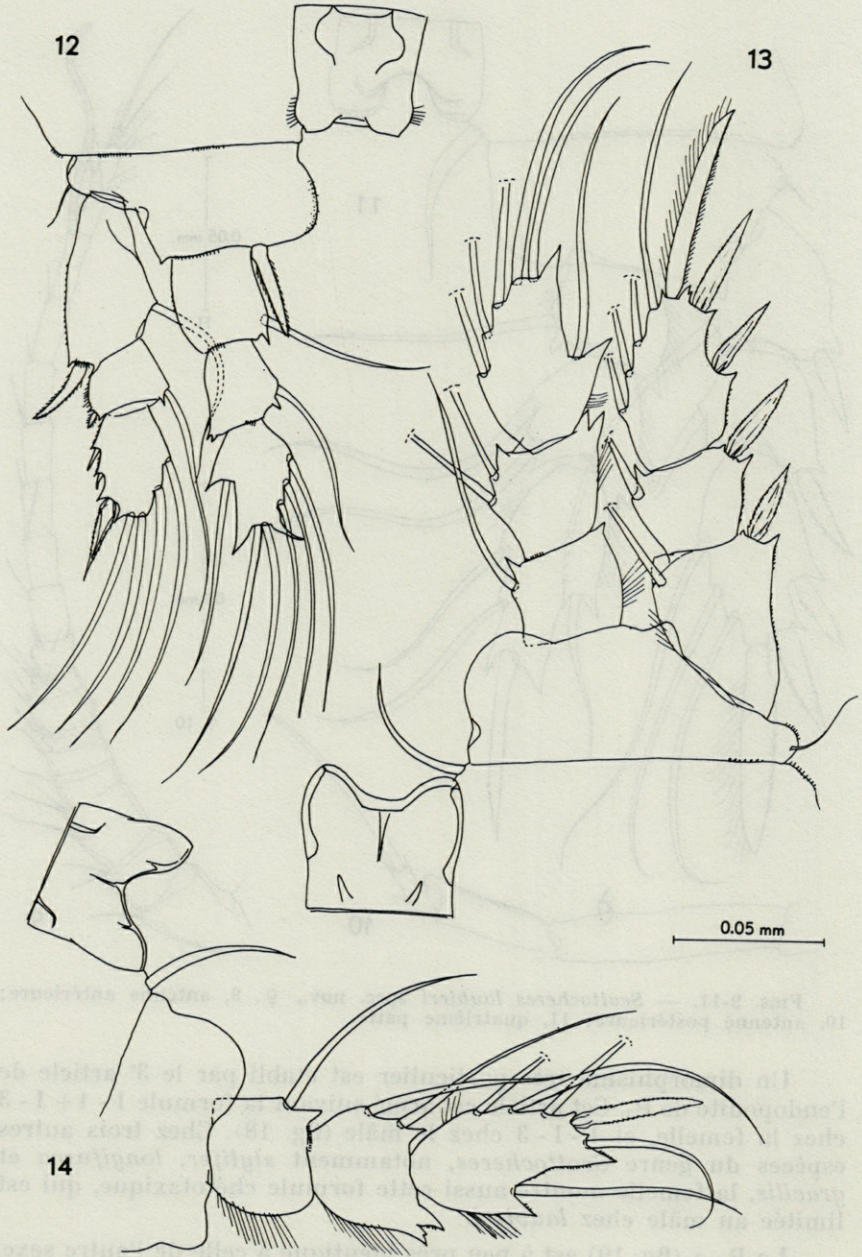
Le maxillipède (fig. 8) montre le dimorphisme sexuel normal : son 2^e article est pourvu, chez le mâle, d'un processus triangulaire arrondi, absent chez la femelle.



Figs. 9-11. — *Scottocheres laubieri* spec. nov., ♀. 9, antenne antérieure; 10, antenne postérieure; 11, quatrième patte.

Un dimorphisme très particulier est établi par le 3^e article de l'endopodite de P₃. Cet article est armé suivant la formule 1 - 1 + I - 3 chez la femelle, et 1 - I - 3 chez le mâle (fig. 18). Chez trois autres espèces du genre *Scottocheres*, notamment *styliifer*, *longifurca* et *gracilis*, la femelle montre aussi cette formule chétotaxique, qui est limitée au mâle chez *laubieri*.

La P₅ ♂ (fig. 19) est à peu près identique à celle de l'autre sexe, sauf que l'article distal est relativement plus petit, comparé à l'article basal.



Figs. 12-14. — *Scottocheres laubieri* spec. nov., ♀. 12, première patte; 13, deuxième patte; 14, troisième patte (exopodite omis).

COLORATION

Le thorax est opaque, blanc ou légèrement orange; l'abdomen est transparent, incolore. Les yeux sont d'un rouge clair. Certains organes internes sont visibles par transparence : l'intestin est grisâtre ou légèrement mordoré, les ovaires sont verdâtres. Les sacs ovigères sont, suivant le stade de maturation des œufs, verts ou d'un vert grisâtre. Cette coloration est indépendante de l'hôte dans lequel les Copépodes ont vécu.

REMARQUES

Quoique très proche de *S. elongatus*, l'espèce nouvelle diffère d'elle d'une façon constante, par sa préférence pour des hôtes différents, et surtout par la formule chétotaxique du 3^e article de l'exopodite des P₂, P₃ et P₄, et par la présence, sur le côté médian de l'article basal de P₅, d'une spinule. Chez *S. elongatus*, cet article montre à l'endroit homologue une tache claire dans la chitine, mais une spinule manque.

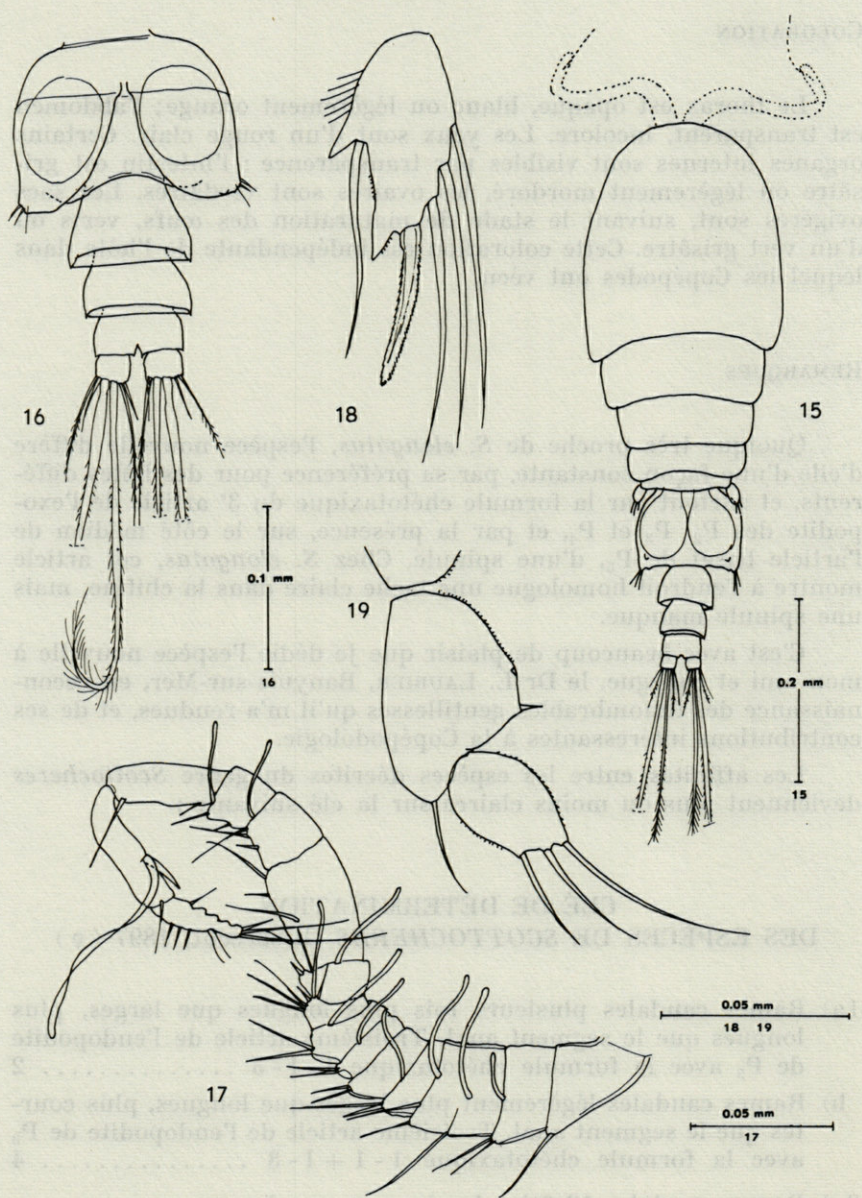
C'est avec beaucoup de plaisir que je dédie l'espèce nouvelle à mon ami et collègue, le Dr L. LAUBIER, Banyuls-sur-Mer, en reconnaissance des innombrables gentilleses qu'il m'a rendues, et de ses contributions intéressantes à la Copépodologie.

Les affinités entre les espèces décrites du genre *Scottocheres* deviennent plus ou moins claires sur la clé suivante :

CLÉ DE DÉTERMINATION

DES ESPÈCES DE *SCOTTOCHERES* Giesbrecht, 1897 (♀)

- 1a) Rames caudales plusieurs fois plus longues que larges, plus longues que le segment anal. Troisième article de l'endopodite de P₃ avec la formule chétotaxique 1 - I - 3 2
- b) Rames caudales légèrement plus larges que longues, plus courtes que le segment anal. Troisième article de l'endopodite de P₃ avec la formule chétotaxique 1 - 1 + I - 3 4
- 2a) Rames caudales 12 fois plus longues que larges.
S. stylifer Giesbrecht, 1902 (Antarctique)
- b) Rames caudales 4 à 5 fois plus longues que larges 3



Figs. 15-19. *Scottocheres laubieri* spec. nov., ♂. 15, animal entier, en vue dorsale; 16, urosome, en vue ventrale; 17, antenne antérieure; 18, troisième article de l'endopodite de la troisième patte; 19, cinquième patte.

- 3a) Articles 3 et 4 de A_1 bien individualisés. P_5 n'atteint pas la dent latérale du segment génital.
S. longifurca Giesbrecht, 1897 (Naples)
- b) Articles 3 et 4 de A_1 complètement fusionnés. P_5 s'étend au-delà de la dent latérale du segment génital.
S. gracilis Hansen, 1923 (S.O. d'Islande)
- 4a) P_5 avec trois soies terminales. Deuxième article de l'endopodite de P_1 avec 1 soie médiane. Troisième article de l'endopodite de P_4 avec la formule chétotaxique 1 - I - 2 5
- b) P_5 avec une soie terminale. Deuxième article de l'endopodite de P_1 avec 2 soies médianes. Troisième article de l'endopodite de P_4 avec la formule chétotaxique 1 - 1 + I - 2.
S. latus Nicholls, 1944 (Australie méridionale)
- 5a) Troisième article des exopodites de P_2 , P_3 et P_4 avec trois épines latérales. Article basal de P_5 sans épine médiane.
S. elongatus (T. & A. Scott, 1894) (Atlantique septentrional et Méditerranée)
- b) Troisième article des exopodites de P_2 , P_3 et P_4 avec deux épines latérales. Article basal de P_5 avec épine médiane.
S. laubieri spec. nov. (Méditerranée occidentale).

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le personnel scientifique et technique du Laboratoire Arago à Banyuls-sur-Mer, pour son hospitalité et assistance, ainsi que M. J. VACELET (Marseille) et M^{me} G. GRAAT (Willemstad) qui ont bien voulu identifier les éponges, hôtes des Copépodes décrits dans cette note.

Le travail sur le terrain a été subventionné par le Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, sur proposition de l'Organisation Néerlandaise pour le Développement de la Recherche Scientifique (Z.W.O.), La Haye.

RÉSUMÉ

Deux espèces-jumelles de Copépodes, *Scottocheres elongatus* (T. & A. Scott) et *S. laubieri* spec. nov., sont associées aux Spongiaires dans la région de Banyuls. *S. elongatus* se trouve dans trois

espèces d'éponges provenant des fonds meubles (sable vaseux), *S. laubieri* dans deux autres espèces d'éponges provenant des fonds durs (roches, coralligènes). L'hôte typique de l'espèce nouvelle est *Agelas oroides* (Schmidt).

SUMMARY

Two sibling species in copepods, *Scottocheres elongatus* (T. & A. Scott) and *S. laubieri* spec. nov., are associated with sponges in the Banyuls area. *S. elongatus* has been found in three species of sponges from soft bottoms (muddy sand), *S. laubieri* in two other species of sponges from hard bottoms (rocks, calcareous algae). The type-host of the new species is *Agelas oroides* (Schmidt).

ZUSSAMENFASSUNG

Zwei Zwillingsarten von Copepoden, *Scottocheres elongatus* (T. & A. Scott) und *S. laubieri* spec. nov., sind in der Umgebung von Banyuls mit Schwämmen assoziiert. *S. elongatus* kommt in drei Schwammarten auf Weichböden (Schlicksand) vor, *S. laubieri* in zwei anderen Schwammarten auf Harthöden (Fels, Kalkalgengründe). Der für die neue Art typische Wirt ist *Agelas oroides* (Schmidt).

RÉFÉRENCES

- GIESBRECHT, W., 1897. System der Ascomyzontiden, einer semiparasitischen Copepoden-Familie. *Zool. Anz.*, 20 : 9-14, 17-24.
- GIESBRECHT, W., 1899. Die Asterocheriden des Golfes von Neapel. *Fauna & Flora Golfes Neapel*, 25 : i-vi, 1-217, pl. I-XI.
- GIESBRECHT, W., 1902. Copepoden. *Rés. Voy. « Belgica » (Zool.)* : 1-49, pl. I-XIII (Buschmann, Anvers).
- HANSEN, H.J., 1923. Crustacea Copepoda, 2. Copepoda parasita and hemiparasita. *Danish Ingolf-Exped.*, 3B (7) : 1-92, pl. I-V.
- LAUBIER, L. & D. REYSS, 1964. Sub-spéciation chez un Copépode parasite, *Pseudomyicola spinosus* (Raff. & Mont.), et description de deux sous-espèces nouvelles. *Vie et Milieu*, suppl. 17 : 291-308.
- NICHOLLS, A.G., 1944. Littoral Copepoda from South Australia, 2. Calanoida, Cyclopoida, Notodelphyoida, Monstrilloida and Caligoida. *Rec. So. Austr. Mus.*, 8 (1) : 1-62.
- SCOTT, T. & A. SCOTT, 1894. On some new and rare Crustacea from Scotland. *Ann. Mag. nat. Hist.*, (6) 13 : 137-149, pl. VIII-IX.

Reçu le 30 août 1966.

SUR QUATRE CRÂNES DE *TURSIOPS TRUNCATUS*
(Montagu, 1821) (CETACEA, DELPHINIDAE)
DE MÉDITERRANÉE
(RÉGION DE BANYULS-SUR-MER, FRANCE)

par P.J.H. VAN BREE et G. PETIT

SOMMAIRE

Ce travail fournit un certain nombre d'observations et les mensurations crâniennes de 4 Dauphins (*Tursiops truncatus*) capturés dans la région de Banyuls-sur-Mer. Les valeurs relevées correspondent aux chiffres habituels chez cette espèce.

Bien que les Dauphins appartenant au genre *Tursiops* Gervais, 1855 soient très communs et puissent être rencontrés dans presque toutes les mers (à l'exception des eaux polaires) et bien qu'ils soient considérés comme les Cétacés les mieux connus, la taxonomie à l'intérieur du genre n'est pas encore parfaitement claire. Outre l'espèce bien connue *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) (Atlantique et Méditerranée), quelques autres espèces ou formes ont été décrites; par exemple *Tursiops aduncus* (Ehrenberg, 1833) (cf. = *Tursiops catalania* Gray, 1862) dans l'Océan Indien et la Mer Rouge et *Tursiops gilli* Dall, 1873 (cf. = *T. nuuanu* Andrews, 1911) dans l'Océan Pacifique. En outre, au niveau inférieur de la systématique, les auteurs ont décrit des catégories auxquelles il est difficile d'assigner un rang (cf. sous-espèce, forme locale) comme *Tursiops truncatus parvimanus* van Beneden, 1886 (Adriatique) et *Tursiops truncatus ponticus* Bobrinskii, 1944 (Mer Noire). On ne

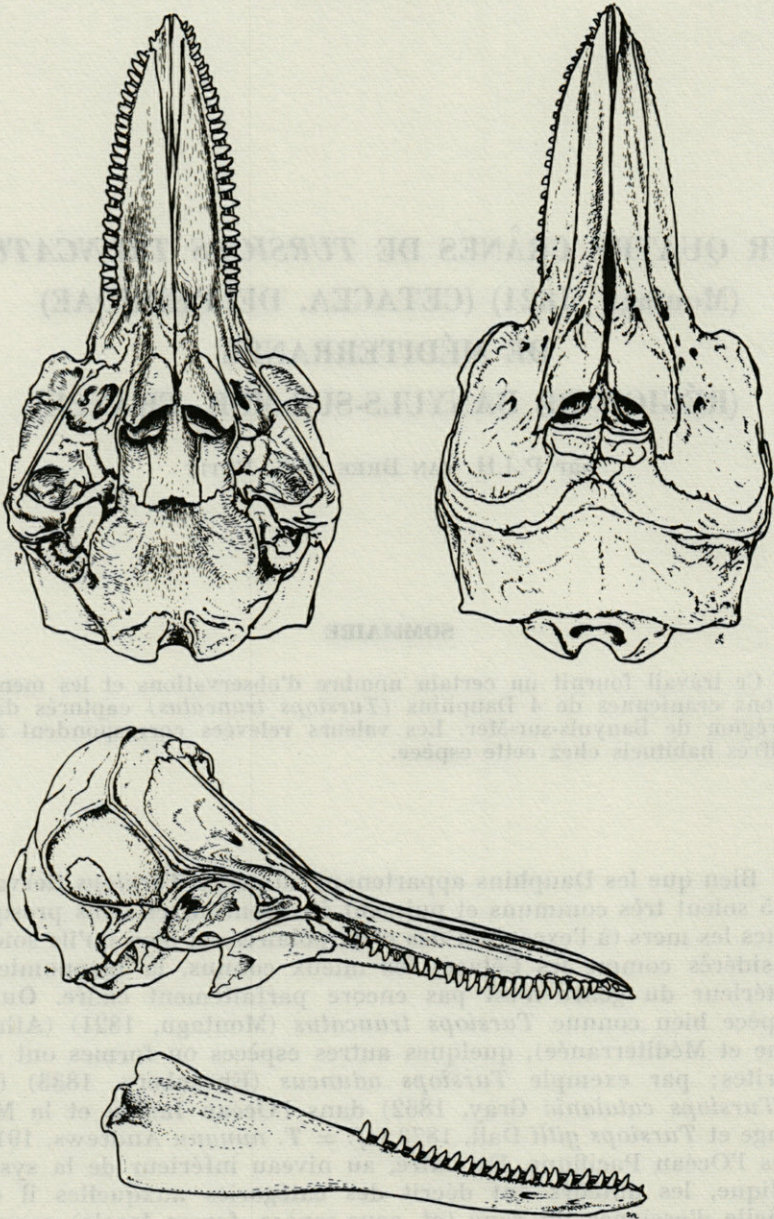


FIG. 1. — Crâne de *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821); exemplaire juvénile, Cbl 430 mm (ZMA 4900).

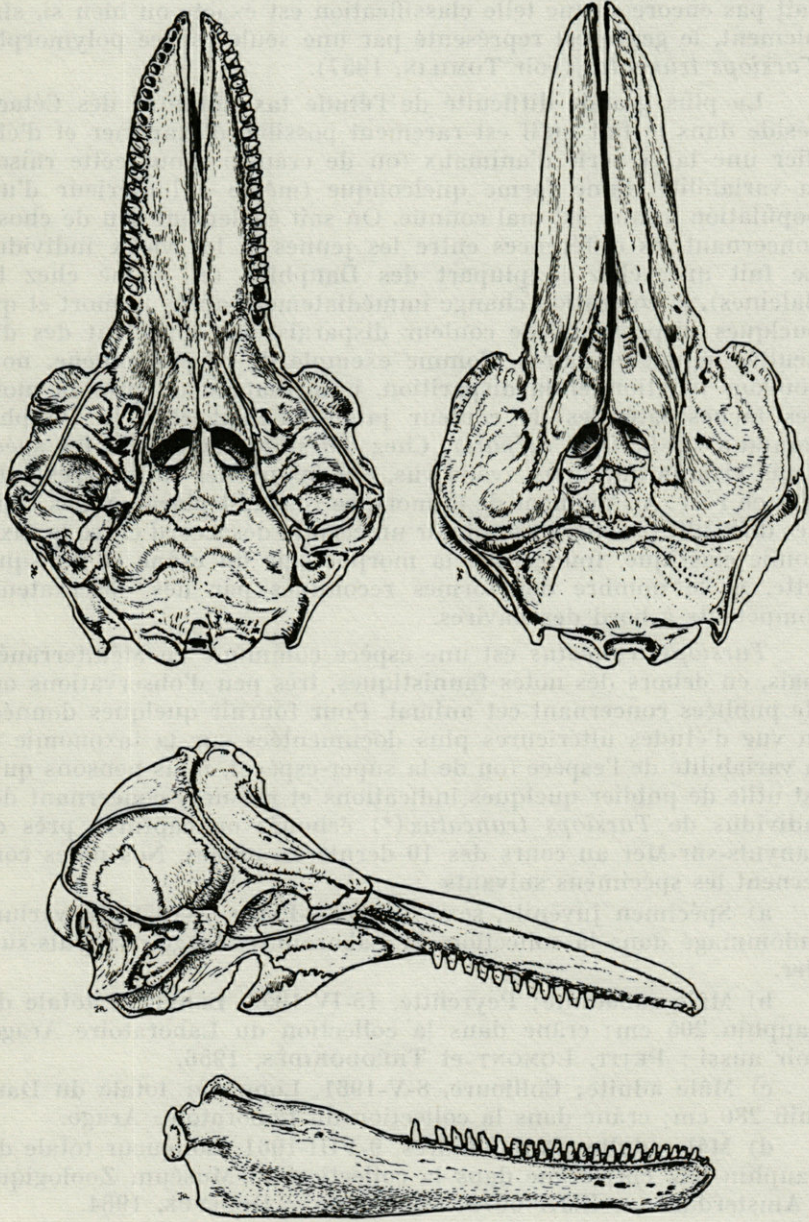


FIG. 2. — Crâne de *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821); exemplaire adulte, Cbl 543 mm (ZMA 8633).

sait pas encore si une telle classification est exacte ou bien si, simplement, le genre est représenté par une seule espèce polymorphe, *Tursiops truncatus* (voir TOMILIN, 1957).

La plus grande difficulté de l'étude taxonomique des Cétacés réside dans le fait qu'il est rarement possible d'examiner et d'étudier une large série d'animaux (ou de crânes). Pour cette raison, la variabilité d'une forme quelconque (même à l'intérieur d'une population locale) est mal connue. On sait également peu de choses concernant les différences entre les jeunes et les vieux individus. Le fait que, chez la plupart des Dauphins (et même chez les Baleines), la coloration change immédiatement après la mort et que quelques dispositions de couleur disparaissent, apportent des difficultés supplémentaires. Comme exemple de ce phénomène, nous pouvons mentionner la disparition, immédiatement après la mort, des taches latérales de couleur jaune brillant chez le Dauphin commun (*Delphinus delphis*). Chez *Tursiops truncatus*, les spécimens vivants que nous avons vus, ont les parties inférieures colorées en rose. Au moment de la mort, ce rose fait place au gris clair. Ces difficultés se manifestent par un certain désaccord entre la taxonomie classique, fondée sur la morphologie du crâne et du squelette, et le nombre des formes reconnues par des observateurs compétents à bord des navires.

Tursiops truncatus est une espèce commune en Méditerranée, mais, en dehors des notes faunistiques, très peu d'observations ont été publiées concernant cet animal. Pour fournir quelques données en vue d'études ultérieures plus documentées sur la taxonomie et la variabilité de l'espèce (ou de la super-espèce), nous pensons qu'il est utile de publier quelques indications et mesures concernant des individus de *Tursiops truncatus* (*) échoués ou capturés près de Banyuls-sur-Mer au cours des 10 dernières années. Nos notes concernent les spécimens suivants :

a) Spécimen juvénile, sexe ? Argelès-Plage, X-1959. Calvarium endommagé dans la collection du Laboratoire Arago, Banyuls-sur-Mer.

b) Mâle subadulte; Peyrefitte, 15-IV-1956. Longueur totale du Dauphin 205 cm; crâne dans la collection du Laboratoire Arago. Voir aussi : PETIT, LOMONT et THÉODORIDÈS, 1956.

c) Mâle adulte; Collioure, 8-V-1961. Longueur totale du Dauphin 280 cm; crâne dans la collection du Laboratoire Arago.

d) Mâle adulte; Port-Vendres, 9-VIII-1961. Longueur totale du Dauphin 322 cm; crâne dans la collection du Muséum Zoologique à Amsterdam (= ZMA 5072). Voir aussi : DOLLFUS, 1964.

(*) En ce qui concerne le problème de nomenclature *Tursiops truncatus* contre *Tursiops tursio* nous nous référons à TRUE, 1903.

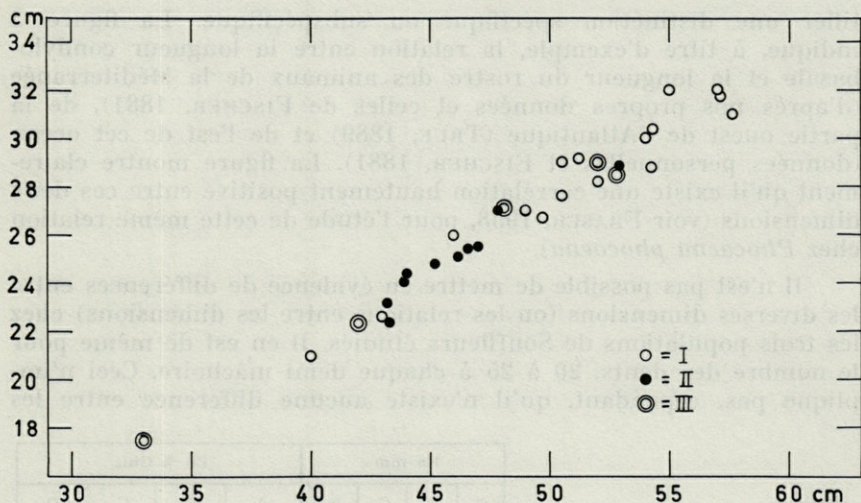


FIG. 3. — Relation entre la longueur condylobasale (horizontal) et la longueur du rostre (vertical) des spécimens de *Tursiops truncatus*, provenant de l'Atlantique (I partie est; II partie ouest) et de la Méditerranée (III).

Les spécimens c) et d) ont été capturés au filet dans les eaux côtières. Pour le spécimen a), seul le crâne a été trouvé sur la plage. Le spécimen b) a été trouvé, entier, sur la plage, peu après sa mort. Un 5^e individu s'est échoué au Racou (Collioure) le 5-VIII-1954, mais nous ne connaissons aucune donnée le concernant et seul le cerveau a été conservé.

Le tableau indique les dimensions des crânes des individus ci-dessus mentionnés et le pourcentage de ces diverses dimensions par rapport à la longueur condylobasale (dans ce cas = longueur totale du crâne). Un simple coup d'œil sur ces mesures, et spécialement les pourcentages, indique clairement que la forme du crâne varie avec la taille des animaux. Ce phénomène est connu depuis longtemps; voir, par exemple, TRUE (1889) et MILLER (1923). La croissance disharmonique et, d'un certain point de vue également, le « télescopage » du crâne, apparaissent clairement en comparant les dessins ci-joints d'un crâne juvénile de *Tursiops truncatus* (Cbl = 430 mm) et de celui d'un adulte ayant terminé sa croissance (Cbl = 543 mm). La différence entre la largeur bitygomatique et celle de la boîte crânienne au niveau des pariétaux est aussi un bon critère d'âge chez cette espèce de Cétacés.

Si nous comparons les crânes de *Tursiops truncatus* de la Méditerranée avec ceux en provenance de l'Atlantique oriental et occidental, nous ne trouvons pas de différence susceptible de jus-

tifier une distinction spécifique ou subs spécifique. La figure 3 indique, à titre d'exemple, la relation entre la longueur condylo-basale et la longueur du rostre des animaux de la Méditerranée (d'après nos propres données et celles de FISCHER, 1881), de la partie ouest de l'Atlantique (TRUE, 1889) et de l'est de cet océan (données personnelles et FISCHER, 1881). La figure montre clairement qu'il existe une corrélation hautement positive entre ces deux dimensions (voir FRASER, 1958, pour l'étude de cette même relation chez *Phocaena phocoena*).

Il n'est pas possible de mettre en évidence de différences entre les diverses dimensions (ou les relations entre les dimensions) chez les trois populations de Souffleurs étudiés. Il en est de même pour le nombre des dents, 20 à 25 à chaque demi mâchoire. Ceci n'implique pas, cependant, qu'il n'existe aucune différence entre les

Spécimen	En mm				En % Cbl.			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Longueur totale (Cbl.)	330	420	530	528	100	100	100	100
Longueur du rostre	175	223	294	288	53,0	53,1	55,4	54,5
Largeur de la base du rostre	80	105	130	142	24,2	25,0	24,5	26,8
Largeur entre les angles pré-orbitaires du processus sous-orbitaire	148	180	238	245	44,8	42,8	44,9	46,4
Largeur entre les angles post-orbitaires du processus sous-orbitaire	167	208	257	276	50,6	49,5	48,5	52,2
Largeur de la boîte crânienne entre les pariétaux	163	187	208	195	49,3	44,5	39,2	36,9
Largeur entre les apophyses zygomatiques	168	209	270	287	50,9	49,7	50,9	54,3
Largeur maximum des prémaxillaires	63	83	100	101	19,1	19,7	18,9	19,1
Longueur de la rangée dentaire de la mâchoire supérieure (jusqu'à l'extrémité des maxillaires) :								
à droite	-	195	247	242	-	46,4	46,6	45,8
à gauche	-	195	247	242	-	46,4	46,6	45,8
Longueur de la rangée dentaire de la mâchoire inférieure (jusqu'à l'extrémité de la mandibule) :								
à droite	-	192	255	240	-	45,7	48,1	45,4
à gauche	-	190	253	240	-	45,2	47,7	45,4
Longueur maximale de la mandibule	-	349	453	450	-	83,0	85,4	85,2
Hauteur de la mandibule à l'apophyse coronofde	-	89	100	100	-	21,2	18,9	18,9

couleurs et les dessins des animaux. Nos données concernant l'aspect extérieur des Dauphins (morts ou vivants) des régions étudiées sont trop peu nombreuses pour nous permettre d'exprimer une opinion à ce sujet.

SUMMARY

Notes and skull measurements are given of four Bottlenosed Dolphins from the Mediterranean near Banyuls-sur-Mer, France. No differences in the skull dimensions of *Tursiops truncatus* from the Eastern and Western Atlantic and those studied from the Mediterranean have been found.

RÉSUMÉ

Des observations et des mesures du crâne ont été données pour quatre Dauphins capturés en Méditerranée près de Banyuls-sur-Mer, France. Aucune différence n'a été trouvée entre les dimensions craniennes de *Tursiops truncatus* de l'Atlantique occidental et oriental et celles des *Tursiops truncatus* étudiés de la Méditerranée.

ZUSAMMENFASSUNG

Von vier, im Mittelmeer bei Banyuls-sur-Mer, Frankreich, gefangenen Tümmler wurden einige Angaben gemacht und Schädelmasse gegeben. Es konnten keine Unterschiede dieser Masse zwischen den *Tursiops truncatus* des Ost- und Westatlantik und denjenigen, die im Mittelmeer untersucht wurden, festgestellt werden.

BIBLIOGRAPHIE

- DOLLFUS, R. Ph., 1964. A propos de la récolte à Banyuls d'un cystique de cestode chez *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821). *Vie Milieu*, suppl. 17 (volume jubilaire - Georges Petit) : 177-204.
- FISCHER, P., 1881. Cétacés du sud-ouest de la France. *Actes Soc. Linn. Bordeaux*, 35 : 1-219, 8 pls.
- FRASER, F.C., 1958. Common or Harbour Porpoises from French Africa. *Bull. IFAN* (série A), 20 (1) : 276-285.

- MILLER, G.S., 1923. The telescoping of the cetacean skull. *Smithson. Miscell. Coll.*, 76 (publ. 2720) : 1-70, 8 pls.
- PETIT, G., H. LOMONT & J. THÉODORIDÈS, 1956. Contenu stomacal aberrant ayant provoqué une obstruction intestinale chez un dauphin (*Tursiops tursio* Fabr.). *Vie Milieu*, 7 (3) : 422-424.
- TOMILIN, A.G., 1957. Zverii SSSR i priilyezhaxhik stran, Tom. 9, Kitobrazniye. *Akad. Nauk SSSR, Moscou* : 1-756, 12 pls.
- TRUE, Fr. W., 1889. Contributions to the natural history of the cetaceans; a review of the family Delphinidae. *Bull. U.S. Nat. Mus.*, 36 : 1-191, 47 pls.
- TRUE, Fr. W., 1903. Note on the Bottlenosed Porpoise of the North Atlantic. *Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia*, 55 : 313-314.

Reçu le 4 octobre 1966.

RÉSUMÉ

Les observations et les mesures du crâne ont été données pour quatre Dauphins capturés en Méditerranée près de Banyuls-sur-Mer, France. Aucune différence n'a été trouvée entre les dimensions craniennes de *Tursiops truncatus* de l'Atlantique occidentale et orientale et celles des *Tursiops truncatus* étudiés de la Méditerranée.

ZUSAMMENFASSUNG

Von vier im Mittelmeer bei Banyuls-sur-Mer, Frankreich, gefangenen Delfinen wurden einige Angaben gemacht und Schädelmessungen gegeben. Es konnten keine Unterschiede dieser Masse zwischen dem *Tursiops truncatus* des Ost- und Westatlantik und denjenigen, die im Mittelmeer untersucht wurden, festgestellt werden.

BIBLIOGRAPHIE

- BOLLAS, R. P., 1964. A propos de la révolte à Banyuls d'un cétacé de ceinture chez *Tursiops truncatus* (Montagu). *Bull. Vie Milieu*, suppl. 17 (volume inédit) - Georges Falin : 177-204.
- FISCHER, P., 1881. Cétacés du sud-ouest de la France. *Actes Soc. Linn. Bordeaux*, 32 : 1-212, 8 pls.
- FISCHER, P. C., 1958. Cranium of Harbour Porpoise from French Africa. *Bull. FAO (pêche A)*, 19 (1) : 273-285.

DOCUMENTS FAUNISTIQUES ÉCOLOGIQUES ET MÉTÉOROLOGIQUES

SUR LA PRÉSENCE À BANYULS-SUR-MER DU ZOANTHAIRE *GERARDIA SAVAGLIA* (BERTOLONI)

Gerardia savaglia (Bertoloni, 1819), unique espèce de la famille des *Gerardiidae*, est un grand Zoanthaire qui, par la composition chimique de son axe corné, constitue un terme de passage entre ce groupe et celui des Antipathaires (ROCHE et TIXIER-DURIVAUT, 1951). La synonymie de cette espèce est assez confuse, mais les descriptions anciennes sont généralement suffisantes pour l'identification, en particulier l'important travail de LACAZE-DUTHIERS (1864), qui nomme l'espèce *Gerardia lamarcki*, créant le genre *Gerardia* pour distinguer cette forme des *Leiopathes* dans lesquels elle était rangée jusqu'à cette date par de nombreux auteurs.

La répartition géographique de cette espèce est assez peu connue; Rossi (1958) indique les quelques stations indiscutables : côtes d'Algérie entre la Calle et Bône, Mer Egée, Mer Adriatique, Golfe de Gènes et île de Madère, unique localité non méditerranéenne. La répartition bathymétrique est encore moins bien connue : *Gerardia savaglia* semble rechercher des fonds rocheux ou des fonds coralligènes, entre 35 et 50 m de profondeur.

Jusqu'ici, cette espèce pouvait donc être considérée comme une forme sténotherme chaude, localisée au bassin méditerranéen oriental et à la partie la plus orientale du bassin occidental.

Au cours de l'été 1965, nous avons eu l'occasion de récolter par 40 - 45 m de profondeur, au large du cap Rederis, un exemplaire de *Gerardia savaglia* d'une cinquantaine de centimètres de hauteur. La récolte a été faite sur un fond rocheux; les Gorgones *Paramuricea clavata* (Risso), *Lophogorgia sarmentosa* (Esper) et une forme blanche (dépourvue de Zooxanthelles) d'*Eunicella stricta* (Bertoloni) vivent sur ces mêmes fonds.

La récolte d'un second spécimen dans la même station, par 45 m de profondeur, en juin 1966, confirme la présence normale de *Gerardia savaglia* dans la région de Banyuls (cet exemplaire de taille identique au précédent nous a été donné par son collecteur, M^{me} J. GRIVET).

Les deux spécimens récoltés étaient dépourvus du curieux Cirripède parasite *Laura gerardiae* Lac.-Duth.

Cette localité nouvelle, dans une des régions les plus froides de la Méditerranée occidentale, démontre que *G. savaglia* est relativement eurytherme, et probablement présente sur tout le pourtour du bassin occidental, mais à une profondeur et sur des fonds rarement atteints lors d'explorations en scaphandre autonome.

Par ailleurs, une excellente photographie en couleurs vient d'être publiée par MÖHRES (1964, d'après la traduction française parue en 1965), sous le nom erroné de *Paramuricea chamaeleon* (Pl. 25). Le Professeur MÖHRES a eu l'obligeance de nous fournir les renseignements suivants concernant les localités : îles de Giglio (entre la Spezia et Carrara), golfe de Naples, par une cinquantaine de mètres de profondeur. La première localité correspond aux données de Rossi (1958, 1961 et 1965), la seconde fournit une station intermédiaire entre le golfe de Gênes et les côtes d'Afrique du Nord.

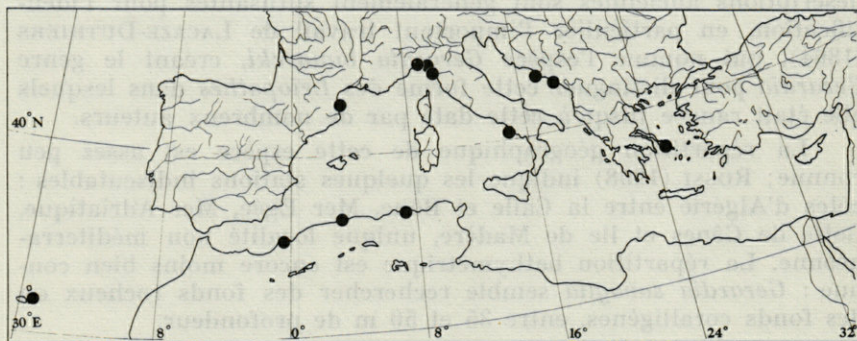


FIG. 1. — Carte de répartition de *Gerardia savaglia* (d'après Rossi, 1958, complétée).

La figure 1 donne les diverses localités de *G. savaglia*, d'après les données de Rossi (1958), et les nouvelles stations.

Conformément aux observations de Rossi (1961), qui remarque la turbidité élevée et les courants violents d'un fond à *G. savaglia* près de la Spezia, la station du cap Rederis est particulièrement sombre, et la turbulence élevée.

Enfin, il est à noter que, pour la région de Banyuls, une étendue de substrat dur telle que celle du cap Rederis constitue pour la profondeur de 40-50 m, une exception.

Lucien LAUBIER et Jacques THEODOR

RÉFÉRENCES

- LACAZE-DUTHIERS, H., 1864. Mémoire sur les Antipathaires (genre *Gerardia*, L.D.). *Annales Sc. nat., Zool.*, 5^e sér., II : 169-239.
- MÖHRES, F.P., 1964. Welt unter Wasser, Chr. Belser Verlag, Stuttgart, d'après la traduction française de HUSSON, R., 1965, Le monde sous-marin; animaux de la Méditerranée, Hatier, Paris, 1-256 p.
- ROCHE, J. et A. TIXIER-DURIVAUT, 1951. Rapport des Gérardiidés avec les Zoanthides et les Antipathaires. *Bull. Mus. nat. Hist. nat.*, 2^e sér., 23 : 402-409.
- ROSSI, L., 1958. Primo rinvenimento di *Gerardia savaglia* (Bert.) (Zoantharia) nei mari italiani (golfo di Genova). *Doriana*, 2 (85) : 1-8.
- ROSSI, L., 1961. Sur un faciès à Gorgonaires de la pointe du Mesco (golfe de Gênes) (note préliminaire). *Rapp. P.-v. Réun. Commn int. Explor. scient. mer Méditerr.*, XVI (2) : 517-521.
- ROSSI, L., 1965. Il coralligeno di Punta Mesco (La Spezia). *Res Ligusticae*, CXLIII, in *Ann. Mus. Civ. Stor. nat. Genova*, LXXV : 144-180.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Les auteurs sont priés de se conformer aux indications suivantes :

1) TEXTE :

Les manuscrits, dactylographiés en double interligne sur le recto seulement de feuilles numérotées, seront présentés sous leur forme définitive. Les noms propres doivent être en capitales, ou soulignés d'un double trait, les noms scientifiques (familles, genres et espèces ou sous-espèces) d'un seul trait.

Le titre du manuscrit doit être suivi du prénom usuel et du nom du ou de chacun des auteurs, ainsi que de l'adresse du Laboratoire dans lequel a été effectué le travail. Deux résumés, l'un en français, l'autre en anglais, doivent obligatoirement figurer à la fin du texte; ils seront conformes au Code du bon usage en matière de publications scientifiques (UNESCO/NS/177).

Les références bibliographiques seront groupées à la fin du texte dans l'ordre alphabétique des noms d'auteurs; elles doivent être conformes au modèle suivant :

FOREST, J. and L.-B. HOLTHUIS, 1960. The occurrence of *Scyllarus pygmaeus* (Bate) in the mediterranean. *Crustaceana*, 1 (2) : 156-163, 1 fig.

PRUVOT, G., 1895a. Coup d'œil sur la distribution générale des Invertébrés dans la région de Banyuls (golfe du Lion). *Archs Zool. exp. gén.*, (3) 3: 629-658, 1 pl.

Le titre des périodiques doit être abrégé d'après les règles internationales (*World list of scientific periodicals*, 4^e édition).

2) ILLUSTRATIONS :

Les dessins devront être exécutés à l'encre de Chine sur papier calque assez fort, bristol, carte à gratter, papier millimétré bleu. Lettres et chiffres seront soigneusement écrits, et suffisamment grands pour qu'ils demeurent lisibles après la réduction. Les clichés photographiques seront en principe reproduits sans réduction, soit au format de 105 × 160 mm environ.

Le numéro d'ordre des figures sera indiqué au crayon bleu sur les originaux ou au dos des clichés photographiques. Le texte des légendes sera placé à la fin du manuscrit sur feuilles séparées, et non sur les figures.

3) EPREUVES ET TIRÉS A PART :

Un jeu d'épreuves accompagné du manuscrit est envoyé aux auteurs, qui doivent retourner l'ensemble après correction dans les meilleurs délais.

Cinquante tirés à part sont offerts aux auteurs. Les exemplaires supplémentaires, facturés directement par l'imprimeur, doivent être commandés dès réception de l'imprimé spécial.

IMPRIMERIE
LOUIS-JEAN
— GAP —

Le Directeur de la publication : P. DRACH

Dépôt légal : N° 4348 — Date de parution : Octobre 1967

N° d'impression : 265 - 1967