

Université de Mons-Hainaut
Faculté des Sciences
Laboratoire de Biologie Marine

**Cycle vital et biologie de *Myzostoma cirriferum* (Myzostomida),
symbiose obligatoire de la comatule *Antedon bifida* (Echinodermata).**

Thèse présentée en vue de l'obtention
du grade légal de Docteur en Sciences
(groupe des Sciences Zoologiques).

Promoteur de thèse: Prof. M. Jangoux

Igor Eeckhaut
Mars 1995

free exponer heel → intercycle!
free ext. sporellie levert geen aanzet op voor
levensduren. } 6 maat
maar 1 pion-cyclus } ??

- Orgae mechanism: multicellular life cycle.

Trichiomellida: [groep] eumorphie.

Opv 3 fan → synapomorfie.

tDNA ≠ genetique.

Université de Mons-Hainaut
Faculté des Sciences
Laboratoire de Biologie Marine

35336

Cycle vital et biologie de *Myzostoma cirriferum* (Myzostomida),
symbiose obligatoire de la comatule *Antedon bifida* (Echinodermata).

Thèse présentée en vue de l'obtention
du grade légal de Docteur en Sciences
(groupe des Sciences Zoologiques).

Promoteur de thèse: Prof. M. Jangoux

Igor Eeckhaut
Mars 1995

REMERCIEMENTS

Mes plus vifs remerciements s'adressent au Professeur Michel Jangoux. J'avais déjà pu l'apprécier en tant que pédagogue lors de mes études de Licencié en Sciences Zoologiques, il s'est avéré être un excellent mentor au cours de ces six années de recherches. Il sera toujours pour moi un très bon conseiller.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance aux Professeurs R. Glaçon (Directeur de la Station Marine de Wimereux, France), A. Guille (Directeur du Laboratoire Arago de Banyuls-sur-Mer; France) et P. Lassere (ex-Directeur de l'Observatoire Océanologique de Roscoff; France) pour m'avoir permis d'effectuer dans les Stations qu'ils dirigent les missions scientifiques indispensables à la réalisation de cette thèse. Je remercie également les Professeurs D. Lane (Ultrastructure Laboratory; National University of Singapore) et J. Bouillon (ex-Directeur de la Station Léopold III; Papouasie Nouvelle-Guinée) qui, en me donnant l'occasion d'effectuer des séjours d'étude au sein de leurs structures d'accueil, m'ont permis d'élargir mes connaissances pratiques en matière de symbioses.

Je remercie les nombreuses personnes qui m'ont aidé au cours de mes récoltes.

J'adresse mes remerciements au Professeur J. A. Heuson-Stiennon (Service d'Histologie; Université de Mons) et aux Docteurs J. Van Goethem et K. Wouters (IRSNB) pour m'avoir permis d'utiliser leurs microscopes électroniques.

J'exprime toute ma gratitude envers Mesdames E. Bricourt et A. Maes ainsi qu'envers Messieurs J. Cillis, J. Harray et P. Postiau pour l'aide technique qu'ils m'ont apportée.

Je remercie le Docteur C. Massin pour m'avoir consacré une partie de son temps lors de mes recherches bibliographiques sur les myzostomes.

J'adresse un merci tout particulier à Mademoiselle I. Thiebaut et à Messieurs B. Eeckhaut et C. Eeckhaut pour la relecture et la mise en forme du travail écrit.

Je voudrais rappeler que sans le Docteur M. -C. Lahaye, aucun travail sur les myzostomes n'aurait probablement vu le jour dans ce laboratoire. En étudiant la biologie des crinoïdes, elle a remarqué ces animaux étranges vivant à leur surface. Elle m'a guidé et conseillé au cours de mon mémoire de fin de licence d'une manière telle que ce travail a pu déboucher sur une recherche doctorale. Je la remercie chaleureusement.

J'attire l'attention sur l'ambiance sereine et conviviale que j'ai rencontrée chaque jour au sein de notre équipe de recherche sans laquelle aucun travail n'aurait pu être réalisé correctement. Cette ambiance est le fruit de tous mes collègues présents et passés que je tiens à remercier particulièrement.

J'ai pu bénéficier au cours de cette thèse d'une Bourse de l'IRSIA (durant trois ans), d'un mandat d'Aspirant du FNRS (durant deux ans) et d'une bourse FNRS-de Cloedt (durant un an).

RESUME

Les symbioses sont légion en milieu marin. Parmi les plus remarquables, on note celles associant échinodermes et myzostomes. Par plusieurs de leurs caractéristiques, elles illustrent excellemment le phénomène de symbiogénèse. D'abord elles sont obligatoires (il n'existe pas de myzostome libre). Ensuite elles sont hautement spécifiques (tous les myzostomes connus - ca 130 espèces - sont des symbiotes d'échinodermes) et concernent un groupe de symbiotes infestants de haut rang taxonomique (selon les auteurs, les myzostomes sont considérés soit comme une classe, soit comme un phylum). Enfin elles sont extrêmement anciennes puisqu'elles existaient déjà au Cambrien.

Le présent travail porte sur la biologie des symbioses myzostoméennes en prenant pour modèle le couple formé par *Myzostoma cirriferum* et son hôte, le crinoïde comatuléen *Antedon bifida*. Les buts principaux étaient: (1) sur le plan étho-écologique de décrypter le cycle vital du symbioète, d'estimer sa longévité, d'analyser son mode d'infestation et de comprendre la structure et la dynamique des populations qu'il forme; (2) sur le plan morpho-fonctionnel d'analyser finement les organes sensoriels du symbioète et ses appareils digestif et reproducteur, c'est-à-dire les structures les plus directement impliquées dans la réussite du mode de vie symbiotique.

Pendant les cinq premiers jours de leur existence, les embryons et les larves de *M. cirriferum* sont libres et se développent dans la colonne d'eau. L'infestation est le fait des larves au stade de métatrochophore; elle s'effectue *via* le système de capture de particules alimentaires des hôtes (*i. e.*, le système ambulacraire). Pendant les deux mois qui suivent, les juvéniles puis les jeunes mâles sont ectoparasites: ils vivent attachés dans les sillons pinnulaires des hôtes et y provoquent des déformations tégumentaires. Les mâles âgés et les adultes hermaphrodites sont ectocommensaux: ils se déplacent librement à la surface des hôtes où ils s'alimentent, se reproduisent et meurent (leur durée de vie est de l'ordre de quatre mois).

La densité de la population de *M. cirriferum* varie au cours de l'année: elle augmente fortement entre la mi-janvier et le début mars (jusqu'à 71 myzostomes par hôte) et diminue ensuite sensiblement pour se stabiliser de l'été au début de l'hiver suivant. Ces fluctuations sont indépendantes de la biologie du myzostome; elles seraient à mettre en relation avec des variations saisonnières dans l'activité alimentaire des hôtes.

La particularité de l'épiderme de *M. cirriferum* est d'être un myoépithélium. Outre cela, cet épiderme présente d'assez nombreuses structures sensorielles parmi lesquelles les papilles et cirres seraient des mécanorécepteurs (rôle tactile) et les organes latéraux des chémorécepteurs de contact qui seraient responsables de la reconnaissance (*i. e.*, l'identification) du substrat hôte.

M. cirriferum s'alimente en détournant les particules alimentaires charriées par les sillons ambulacrariaires des comatules. Il dispose pour cela d'un organe antérieur extensible, l'introvert, auquel est associé le pharynx. Grâce à sa puissante musculature, ce dernier aspire des particules et les amène dans les parties troncales du tube digestif (*i. e.*, l'estomac, les caecums et l'intestin) où s'effectue la digestion.

Les *M. cirriferum* adultes sont hermaphrodites. L'appareil génital femelle est impair; il se localise dans la partie dorsale du tronc; il se compose d'un ovaire unique asaculaire et d'un tractus génital très ramifié s'ouvrant à l'extérieur par un gonopore postéro-ventral. L'appareil génital mâle est pair; il se dispose ventralement de part et d'autre de la chaîne nerveuse; il se compose, tant à gauche qu'à droite, d'une paire de testicules asaculaires et d'un tractus génital fortement ramifié s'ouvrant par un gonopore à hauteur d'un des parapodes de la troisième paire. L'ovogénèse se réalise pour l'essentiel au sein du parenchyme, le tractus génital femelle renfermant exclusivement des œufs fécondés. La spermatogénèse s'effectue au sein de cellules-cystes qui transitent de la région testiculaire vers la vésicule séminale en même temps que les spermatogonies qu'elles renferment se transforment progressivement en spermatozoïdes.

La reproduction de *M. cirriferum* s'effectue toute l'année. Elle implique le transfert de spermatophores d'individus donneurs vers d'autres receveurs. Les spermatophores fraîchement transférés sont des "sacs" aplatis contenant spermatozoïdes et cellules germinales abortives. Une fois attachés sur les receveurs, ils provoquent la lyse de leur myoépiderme ce qui permet la pénétration du contenu spermatophoral dans le parenchyme, pénétration qui aboutit à la fécondation interne des ovocytes vitellogéniques. Les œufs fécondés s'accumulent dans l'utérus et la ponte à lieu régulièrement.

Les symbioses myzostoméennes doivent leur réussite à la fois à l'existence d'un mode d'infestation très efficace et d'une stratégie de reproduction originale et très appropriée, réussite renforcée par l'acquisition, chez les myzostomes, d'une morphologie parfaitement adaptée à la vie sur crinoïde.

TABLE DES MATIERES

A. INTRODUCTION.....	1-
1. Les catégories de symbiose.....	2
2. Les myzostomes, des organismes symbiotiques obligatoires	4
2.1. Les myzostomes: aperçu historique de leur étude	5
2.2. Les types de relations symbiotiques entre myzostomes et échinodermes.....	7
2.3. Morphologie des myzostomes.....	9
2.4. La reproduction et le développement.....	14
B. BUT DU TRAVAIL	17
C. MATERIEL ET METHODES.....	18
1. Origine et conservation du matériel.....	18
2. Comptage et mesure du matériel collecté.....	18
3. Observations et expérimentations <i>in vivo</i>	19
4. Microscopie.....	20
D. ETUDE ETHO-ECOLOGIQUE.....	22
1. Présentation de l'hôte, <i>Antedon bifida</i>	22
2. Cycle vital et mode d'infestation de <i>Myzostoma cirriferum</i>	23
2.1. Description du cycle vital.....	23
2.2. Comportement des larves et des individus postmétamorphiques.....	26
2.3. La croissance.....	31

3.	Quantification de l'infestation	32
3.1.	Fréquence et taux d'infestation en relation avec la localisation des comatules dans la population qu'elles forment.....	33
3.2.	Fréquence et taux d'infestation en relation avec la taille des comatules	34
3.3.	Evolution saisonnière des fréquence et taux d'infestation.....	35
4.	Structure et dynamique de la population de <i>Myzostoma cirriferum</i>	37
4.1.	Structure de la population de <i>Myzostoma cirriferum</i> en relation avec la localisation des comatules dans la population qu'elles forment	37
4.2	Structure de la population de <i>Myzostoma cirriferum</i> en relation avec la taille des <i>Antedon bifida</i> infestés	38
4.3.	Structure de la population de <i>Myzostoma cirriferum</i> en relation avec la saison (dynamique de population).....	39
5.	Cycle reproducteur.....	40
5.1.	La maturité ovarienne.....	40
5.2.	Le transfert spermatophoral.....	41
5.3.	Les pontes.....	41
6.	Discussion	42
6.1.	<i>Myzostoma cirriferum</i> : biologie du symbioïte.....	42
6.2.	<i>Myzostoma cirriferum</i> : biologie de la population de symbiotes	45
E.	LE TEGUMENT ET LES ZONES EPIDERMIIQUES SENSORIELLES	49
1.	Morphologie externe de <i>Myzostoma cirriferum</i>	49
2.	Comportement des appendices tégumentaires	50
3.	Structure fine du tégument et des zones épidermiques sensorielles.....	50
3.1.	La cuticule.....	51
3.2.	L'épiderme standard	51
3.3.	L'épiderme sensoriel.....	52
3.4.	Le derme	55
4.	Discussion	56
4.1.	L'épiderme sensoriel.....	56
4.2.	L'épiderme standard et le derme.....	59

F. L'INTROVERT ET L'APPAREIL DIGESTIF.....	61
1. Anatomie digestive et comportement alimentaire de <i>Myzostoma cirriferum</i>	61
2. Ultrastructure de l'introvert et de l'appareil digestif	62
2.1. L'introvert et le pharynx.....	62
2.2. Les organes digestifs du tronc.....	64
3. Le contenu digestif	66
4. Discussion	66
G. LES APPAREILS GENITAUX, LES SPERMATOPHORES ET LA REPRODUCTION	70
1. Les appareils génitaux.....	70
1.1. Le tractus génital femelle	70
1.2. L'ovaire.....	72
1.3. Les tractus génitaux mâles	74
1.4. Les testicules.....	76
2. Structure des spermatophores et reproduction.....	78
2.1. Comportement des myzostomes au cours de la reproduction.....	78
2.2. Structure des spermatophores transférés.....	79
2.3. La pénétration intradermique.....	80
3. Discussion.....	81
3.1. L'appareil génital femelle.....	82
3.2. L'appareil génital mâle.....	83
3.3. Structure des spermatophores et pénétration intradermique	85
H. DISCUSSION GENERALE.....	89
1. Les myzostomes: actuels pour cause de symbiose.....	89
2. Les myzostomes: rapports, différences, affinités	92
I. BIBLIOGRAPHIE	97
J. ANNEXE.....	107

A. INTRODUCTION

A. INTRODUCTION

Se trouver dans un environnement adéquat est primordial pour tout organisme. Si certains, qualifiés de libres, vivent sur ou dans des substrats abiotiques, d'autres s'établissent, pour tout ou partie de leur cycle vital, sur ou dans d'autres organismes avec lesquels ils entrent en symbiose. Sans symbiose, le monde vivant ne ressemblerait en aucune façon à celui que nous connaissons. Selon toute vraisemblance en effet, les symbioses ont été à l'origine de l'avènement des cellules eucaryotiques à partir des cellules procaryotique (Margulis & Bermudes 1985). Elles représentent aussi un mode de vie adopté par de très nombreuses espèces à un moment particulier de leur évolution. Ainsi, par exemple, la majorité des plantes terrestres sont associées à des champignons; sans ces symbioses, nommées mycorhizes, il est probable que la colonisation de la surface de la terre par les végétaux aurait été difficile voire impossible et que, par voie de conséquence, la conquête du milieu terrestre par les animaux n'aurait pu avoir lieu. Les espèces constituant des couples symbiotiques évoluent ensemble et acquièrent petit à petit une morphologie, une physiologie ou un comportement de mieux en mieux adaptés à leur mode de vie. Cette co-évolution, ou symbiogénèse (selon Margulis 1991), peut aboutir à l'extrême à une dépendance obligatoire d'un des deux partenaires vis-à-vis de l'autre, voire à une dépendance obligatoire réciproque.

Les symbioses sont légion en milieu marin. Parmi les plus remarquables on note celles où coexistent des échinodermes et des myzostomes. Les myzostomes sont des symbiotes obligatoires (Jangoux 1990); ils constituent un des plus anciens groupes connus d'organismes infestants parmi le Règne des Animalia (Brett 1978; Arendt 1985). La présente recherche porte sur les symbioses développées entre myzostomes et échinodermes et il m'a paru, en conséquence, pertinent de l'introduire par deux aspects complémentaires: le premier, très général, présentera les différentes catégories de symbioses; le second, plus particulier, donnera un aperçu global du groupe des myzostomes et des relations qu'ils ont développées avec leurs hôtes échinodermiques.

1. Les catégories de symbiose

Le terme "symbiose" (du grec *sun*: avec et *bios*: vie) a été introduit dans la littérature scientifique en 1879 par Heinrich Anton de Bary professeur de botanique à l'Université de Strasbourg. de Bary utilisa ce terme dans un sens général englobant les diverses relations classiquement qualifiées de commensalisme, mutualisme et parasitisme. Actuellement, et selon les auteurs, le mot symbiose est utilisé soit dans son sens originel (une coexistence intime entre organismes hétéospécifiques*) soit dans un sens plus restrictif indiquant que la coexistence est bénéfique aux deux partenaires (le mot symbiose est alors utilisé dans le sens de mutualisme; voir plus loin).

Une symbiose intéresse toujours au moins deux organismes: le premier, le symbiote hôte ou plus simplement l'hôte, est généralement le plus grand et sert au moins de support à l'autre; le second, le symbiote infestant ou plus simplement le symbiose, est généralement le plus petit et bénéficie toujours peu ou prou de la présence de son hôte. On appellera ectosymbiotes les organismes qui s'installent en surface des hôtes; semblablement, on nommera endosymbiotes ceux qui prennent place dans les cellules, les tissus, les cavités ou la lumière des organes des hôtes. Quatre catégories majeures de symbiose sont généralement reconnues suivant la nature des relations développées entre les partenaires: la phorésie, le commensalisme, le parasitisme et le mutualisme (Cheng 1967, Kinne 1980, Noble et Noble 1982).

La phorésie (du grec *phoros*: porter) est une symbiose bénéfique pour un des deux symbiotes, le phoronte, et neutre pour l'autre, l'hôte. Le bénéfice que retire le phoronte est l'acquisition d'un support, d'un moyen de transport, et/ou d'un abri apporté par l'hôte. Au terme de phorésie, Morton (1989) préfère celui d'aegisme (du grec *aegidos*: bouclier) sous lequel il regroupe l'épizoïsme (où l'épizoonte - ou épibionte - est simplement attaché à la surface de l'hôte), l'endoécisme (où l'endokète se dispose dans le terrier de l'hôte), l'inquilisme (où l'inquilin est situé dans le corps de l'hôte), et la phorésie (où le phoronte, attaché à la surface de son hôte, se fait transporter par lui).

*Le terme symbiose sera utilisé tout au long de ce travail dans son acceptation originelle

Le commensalisme (du latin *cum*: avec et *mensa*: table) est une symbiose bénéfique pour un des deux symbiotes, le commensal, et neutre pour l'autre, l'hôte. Le bénéfice que retire le commensal de la relation est, outre l'acquisition d'un support, d'un transport et/ou d'un abri, celui d'un apport alimentaire.

Le parasitisme (du grec *para*: à l'opposé et *sitos*: nourriture) est une symbiose bénéfique pour un des deux symbiotes, le parasite, et néfaste pour l'autre, l'hôte. Les bénéfices que peut retirer un parasite de cette relation sont généralement l'acquisition d'un abri et d'un apport énergétique (*i. e.*, nutritif ou alimentaire). Les effets produits sur l'hôte peuvent être d'ordre structurel et/ou fonctionnel (Kinne 1980). Ils peuvent impliquer des changements dans la structure et le fonctionnement des organes, tissus ou cellules de l'hôte ainsi que des changements dans l'expression de processus tel la croissance, la métamorphose ou la reproduction de l'hôte.

Le mutualisme (du latin *mutuus*: réciproque) est une symbiose bénéfique pour les deux symbiotes, nommés mutualistes (Kinne 1980). Les bénéfices que peuvent retirer les mutualistes sont variés allant d'un simple échange de services à des échanges métaboliques complexes.

Que les symbioses soient temporaires, permanentes, facultatives ou obligatoires, leur déroulement implique que se succèdent nécessairement trois phases: la rencontre, la coexistence et la séparation (ces termes traduisent les termes anglais "contact", "establishment", "escape" proposés par Cheng 1967). **La rencontre** peut être l'effet du hasard et résulter, par exemple, de l'action des courants marins; elle dépendra parfois de l'activité de l'hôte qui en se déplaçant ou en s'alimentant peut la favoriser; elle peut aussi être le fait du symbiose infestant lorsqu'il a la capacité de se diriger activement vers son hôte, conséquence d'une attraction exercée par ce dernier. **La période de coexistence** correspond à la durée de vie de la symbiose. Elle implique, pour perdurer, qu'existe une tolérance réciproque entre les partenaires de telle sorte qu'un équilibre symbiotique soit atteint. **La séparation** correspond au moment où le symbiose infestant (ou sa progéniture) quitte l'hôte. Cette séparation sera active ou passive selon qu'elle résulte ou non de l'activité du symbiose infestant; elle implique dans tous les cas que l'espèce infestante passe par une période de vie libre dont la finalité est la rencontre d'un nouvel individu de l'espèce-hôte.

La réussite d'une symbiose signifie que les trois phases présentées ci-dessus se réalisent avec succès et de façon récurrente. L'espèce infestante trouve alors en la présence de l'espèce hôte un environnement où elle peut s'épanouir: elle s'adaptera de façon plus ou moins marquée à son hôte qui lui-même pourra également s'adapter à elle (Douglas 1994). Cette réciprocité se traduira à long terme par des modifications morphologique, physiologique et/ou comportementale des partenaires du couple symbiotique, principalement de l'espèce infestante (Kinne 1980). Selon Kinne (1980), les effets d'une co-évolution symbiotique se traduisent concrètement sur l'espèce infestante par une réduction des organes locomoteurs et sensoriels, l'apparition d'organes intervenant dans l'attachement à l'hôte, l'apparition de mécanismes assurant une grande spécificité dans la reconnaissance de l'hôte et du site d'infestation sur l'hôte, une modification des structures et des processus digestifs, une augmentation du potentiel reproducteur et un changement de la forme générale du corps.

2. Les myzostomes, des organismes symbiotiques obligatoires

Le taxon des Myzostomida forme un groupe cosmopolite d'environ cent quarante espèces d'organismes invertébrés marins dont la particularité est qu'elles sont toutes inféodées à des échinodermes: on ne connaît en effet aucun myzostome vivant librement pas plus qu'il n'y a de myzostome associé à un hôte non échinodermique. Cette symbiose est d'autant plus remarquable qu'elle est très ancienne: certains fossiles d'échinodermes datant du Cambrien montrent des traces d'une activité parasitaire similaires à celles laissées par certains myzostomes parasites actuels (von Graff 1885; Piveteau 1952; Brett 1978; Meyer & Ausich 1983). Ceci fait des Myzostomida un des plus anciens groupes connus d'organismes infestants parmi les Animalia. La longue co-évolution qui a existé entre les échinodermes et les myzostomes s'est traduite pour ces derniers par l'acquisition d'une morphologie tellement particulière que leur position systématique précise a été, depuis leur découverte, un sujet de controverses: on a en effet considéré les myzostomes comme un groupe de trématodes (Leuckart 1827, 1830, 1836) ou de crustacés (Semper 1858); comme un taxon comprenant également certains achètes (les Myzhelmintha; Diesing 1859); comme appartenant aux Stélechopoda, un taxon englobant également les tardigrades et les linguatulides (Graff 1877; Nansen 1885); comme appartenant aux Procoelomata, un taxon incluant aussi les acantocéphales (Mattéi & Marchand 1987, 1988); ou encore comme une classe ou un phylum proche des annélides polychètes (Jägersten 1940a, Clark 1978, respectivement).

Tableau 1. Les premiers écrits sur les myzostomes.

Les premiers écrits sur les myzostomes sont dus à la plume de Leuckart (1827, 1830, 1836). Dans ses deux premiers articles, Leuckart rapporte l'existence de nouvelles espèces d'organismes symbiotiques associées aux crinoïdes sans cependant les décrire:

"...ainsi qu'un nouveau genre que j'ai trouvé plusieurs fois en tant que parasite sur le disque de *Comatula mediterranea* et que j'ai appelé *Myzostomum parasiticum*."

(extrait traduit de Leuckart 1827)

"Finalement, il semble selon lui [Leuckart] qu'il y ait un nouveau genre de parasite nommé *Myzostoma* appartenant aux trématodes. Il [Leuckart] en a déjà découvert deux espèces vivant sur le disque de *Comatula* en tant que parasite. 1) *Myz. glabrum* sur *Comat. mediterranea* et 2) *Myz. costatum* sur une *Comatula* de la Mer Rouge."

(extrait traduit de Leuckart 1830)

Le simple fait de les nommer ne constitue pas une information suffisante pour valider les noms des nouvelles espèces symbiotiques que mentionne Leuckart; leurs noms sont dès lors tous des *nomina nuda*. Il faut attendre 1836 pour qu'il réalise une diagnose précise du genre *Myzostoma*:

"Un autre point qui a attiré mon attention dans l'étude effectuée par Thompson¹ est la courte description d'un animal parasite de *Comatula*. Thompson ne l'a sans doute pas assez bien étudié sans quoi il aurait dû trouver par exemple sur la face ventrale du corps des petites dépressions de part et d'autre de l'animal [Leuckart se réfère ici aux organes latéraux qui caractérisent les myzostomes]. La classification de cet animal est encore incertaine, ce pourrait être un crustacé ou un annélide. Toutefois, il ne me semble appartenir ni à l'un ni à l'autre mais bien appartenir aux trématodes... Déjà dans mon écrit en 1827, je parle d'un parasite situé sur la *Comatula mediterranea*, Lam. (une espèce de comatule que l'on peut également retrouver en Mer du Nord et dans l'Adriatique) et que j'avais alors appelé *Myzostoma parasiticum*. Ultérieurement, j'ai trouvé dans le Musée Zoologique de Francfort sur la *Comatula multiradiata*, Lam. en provenance de la Mer Rouge, une deuxième espèce de ce même parasite. J'ai pu observer cette espèce dans la nature et lors d'une session en 1829 de la Communauté des Scientifiques Docteurs en Zoologie à Heidelberg, j'ai appelé le parasite de *Comat. mediterranea* *Myzostoma glabrum* et celui de *Comat. multiradiata* *Myzost. costatum*. L'animal parasite décrit par Thompson constitue donc une troisième espèce caractérisée par ses cirres en marge du corps discoïde et c'est la raison pour laquelle j'appellerai celui-ci *Myzostoma cirriferum*... La diagnose du genre *Myzostoma* est la suivante selon les deux espèces que j'ai observées: *M. Corpore molli, disciformi, supra glabro, infra organis motoriis, tam acetabulis suctoriis in utroque latere 4-5, quam hamulis duriusculis instructo; ore anteriore, simplice, prominente, retractili.*"²

(extrait traduit de Leuckart 1836)

¹ Thompson est l'auteur, en 1836, d'un article dans lequel il décrit principalement *Antedon bifida*. Il y renseigne également la présence d'un organisme associé possédant un corps circulaire bordé de 18 à 20 cirres et sur la face ventrale duquel se trouvent les organes locomoteurs.

² M. Corps mou, discoïde, glabre dans sa partie supérieure, appendices locomoteurs situés dans la partie inférieure, possède au niveau des parties latérales autant de ventouses 4-5, que de crochets durs; partie antérieure simple, proéminente, rétractile.

2. 1. Les myzostomes: aperçu historique de leur étude

C'est Leuckart en 1827 qui, le premier, observe à la surface d'une comatule méditerranéenne une nouvelle espèce de symbiose qu'il nomme *Myzostomum parasiticum* (Leuckart 1827). Le même auteur, quelques années plus tard, nomme deux autres espèces, *Myzostoma glabrum* (qui se révèlera être identique à *M. parasiticum*) et *Myzostoma costatum* (Leuckart 1830) mais il faut cependant attendre 1836 pour qu'il réalise la diagnose précise du genre *Myzostoma* (du grec *myzo*: sucer et *stoma*: bouche) (Tableau 1). A la même époque, Thompson (1836) décrit sans le nommer un petit associé de la comatule *Antedon bifida* caractérisé par un corps circulaire bordé de dix-huit à vingt cirres marginales. Quelques années plus tard, Müller (1841) nomme *Cyclocirra thompsonii* l'associé observé par Thompson en omettant totalement les travaux de Leuckart et introduisant par la même occasion un synonyme de *M. cirriferum*. Löven (1842) fut le premier à écrire un mémoire en français sur cette même espèce qu'il nomme malencontreusement *M. cirrhiferum*.

Au cours de la seconde moitié du XIX^e siècle, les travaux descriptifs se rapportant aux myzostomes se multiplient. En 1875 et 1876, von Siebold publie deux lettres que lui adresse von Willemoes-Suhm, naturaliste participant aux expéditions Challenger, dans lesquelles il rapporte la découverte de nouvelles espèces dont certaines sont parasites de crinoïdes pédonculés bathyaux (von Siebold 1875, 1876). Graff (devenu par la suite von Graff) réalise en 1877 une monographie sur le genre *Myzostoma* dans laquelle il décrit douze espèces en provenance de la mer Méditerranée, de la mer Rouge et de la mer de Chine (Graff 1877). Profitant du matériel récolté au cours des nombreuses expéditions scientifiques effectuées à cette époque (principalement des expéditions du Porcupine, du Triton et du Challenger), von Graff (1883, 1884, 1887) publie des descriptions exhaustives de plus de quatre-vingts espèces. L'anatomie interne et l'embryologie de ces animaux commencent également à être étudiées principalement au travers des recherches de Metschnikoff (1866), Nansen (1885, 1887), Driesch (1896), Kostanescski (1897), Beard (1884, 1894, 1898) et Wheeler (1894, 1896, 1898). Jusqu'en 1895, tous les myzostomes décrits étaient des symbiotes de crinoïdes. Par la suite, plusieurs auteurs vont rapporter l'existence de symbiotes d'astéries (von Marenzeller 1895; Wheeler 1904; Wagin 1954; Grygier 1988) ou d'ophiures (Clark 1902; von Stummer-Traunfels 1903; Mc Clendon 1906; Fedotov 1914, 1916, 1925, 1929; Okada 1922; Fauvel 1936).

Tableau 2. Systématique des Myzostomida

Gösta Jägersten (1940a) a établi une systématique des Myzostomida encore actuellement en vigueur. Il considère les Myzostomida et les Annelida comme deux classes distinctes du phylum des Chaetophora. Il subdivise les Myzostomida en deux ordres et sept familles monogénériques. Depuis, seul un genre supplémentaire (*i. e.*, les *Asteromyzostomum*) a été décrit par Wagin (1954).

Classe Myzostomida

Ordre Proboscidea Jägersten, 1940

Famille Myzostomidae von Graff, 1884

- Genre *Myzostoma* Leuckart, 1836 (environ 120 espèces)

Ordre des Pharyngidea Jägersten, 1940

Famille Cystimyzostomidae Jägersten, 1940

- Genre *Cystimyzostomum* Jägersten, 1940 (10 espèces)

Famille Pulvinomyzostomidae Jägersten, 1940

- Genre *Pulvinomyzostomum* Jägersten, 1940 (1 espèce)

Famille Asteriomyzostomidae Jägersten, 1940

- Genre *Asteriomyzostomum* Jägersten, 1940 (2 espèces)

- Genre *Asteromyzostomum* Wagin, 1954 (3 espèces)

Famille Mesomyzostomidae von Stummer-Traunfels 1926

- Genre *Mesomyzostoma* Reimscheid, 1916 (2 espèces)

Famille Protomyzostomidae von Stummer-Traunfels 1926

- Genre *Protomyzostomum* Fedotov, 1914 (3 espèces)

Famille Stelechopidae von Graff, 1884

- Genre *Stelechopus* von Graff, 1884 (1 espèce)

Les descriptions de myzostomes se succèdent tout au long du premier tiers du XX^e siècle principalement au travers des travaux de Mc Clendon (1906, 1907), Boulenger (1913), von Stummer-Traunfels (1908, 1909), Remscheid (1916), Hara & Okada (1921), Atkins (1927), Okada (1933), Isquierdo (1934) et Jägersten (1937, 1940b). Pendant cette même période, Carazzi (1904) éclairent le développement embryonnaire des *Myzostoma*, Maidl (1910) expose sa conception sur la coelomogénèse (*sic*) dans ce genre et von Stummer-Traunfels (1926) rassemble les connaissances de l'époque sur ces invertébrés dans le Traité de Zoologie allemand "Handbuch der Zoologie" de Kükenthal et Krumbach. Jägersten publie entre 1930 et 1940, plusieurs travaux de nature anatomique (Jägersten 1934, 1936, 1938, 1939a, 1940c, d) ou ontogénique (1939b, 1940d). Il décrira (Jägersten 1940e) la biologie d'un turbellarié parasite de *Myzostoma* et proposera une systématique du groupe qui est celle encore actuellement en vigueur (Jägersten 1940a) (Tableau 2).

Entre 1940 et 1983 peu de recherches ont été effectuées. Kato (1952) réalise cependant un ouvrage qui fera référence sur les développements embryonnaire, larvaire et postmétamorphique d'un "suikuchimushi" (le nom vernaculaire japonais des myzostomes), *M. ambiguum*. Wagin (1954) décrit l'anatomie d'un genre nouveau, le genre *Asteromyzostomum*. Prenant (1959) résume l'état des connaissances sur ces vers dans le Traité de Zoologie de Grassé. Trois ans plus tard, Platel (1962) détaille l'anatomie microscopique de leur appareil digestif. A partir de 1983, des travaux portant sur la morphologie fine des gamètes mâles (Afzelius 1983, 1984; Mattéi et Marchand 1987, 1988) et des néphridies (Pietsch & Westheide 1987) des myzostomes sont publiés. Grygier fut il y a peu l'auteur de plusieurs articles taxonomiques (Grygier 1988, 1989, 1992) et zoogéographiques sur ces animaux (Grygier 1990, 1992). Son dernier travail résume les ouvrages publiés par des auteurs japonais tout au long du XX^e siècle mais restés jusqu'alors méconnus en Occident (Grygier 1994). Récemment, Woodham (1992) a fait état des résultats d'une étude écologique sur la dynamique d'une population de myzostomes d'un Loch écossais. Mes propres travaux, détaillés dans la présente thèse et regroupés en annexe (pour ceux qui ont fait l'objet de publication), se sont intéressés au mécanisme de la reproduction et de l'alimentation des myzostomes (Eeckhaut & Jangoux 1991, sous presse), à la morphologie et au fonctionnement de leurs organes sensoriels (Eeckhaut & Jangoux 1993), à la description d'espèces connues et nouvelles (Eeckhaut & Cominardi 1994; Eeckhaut *et al.* 1994) et au décryptage de leur cycle vital et de leur mode d'infestation (Eeckhaut *et al.* 1990; Eeckhaut & Jangoux 1992, 1993).

2. 2. Les types de relations symbiotiques entre myzostomes et échinodermes

Parmi les cinq classes d'échinodermes, seuls les crinoïdes, les astéries et les ophiures sont infestés par des myzostomes (on ne connaît pas de myzostome symbiose d'échinides ou d'holothuries). Aucune espèce de myzostome connue n'est capable d'infester des hôtes appartenant à différentes classes d'échinodermes. Si on se place à un niveau taxonomique inférieur, la spécificité de l'infestation variera d'un myzostome à l'autre: certains ne pourront infester qu'une seule espèce-hôte, d'autres se remarqueront sur des hôtes différents mais appartenant tous à une même famille, d'autres encore s'observeront sur des hôtes de familles différentes (Grygier 1990).

Les quelques cas étudiés suggèrent que les infestations myzostoméennes sont numériquement importantes. Dans le fjord de Kola (Russie), Fedotov (1916) rapporte que plus de 50% des *Gorgonocephalus eucnemis* (ophiures) recensées sont parasitées par des *Protomyzostomum polynephrys*. Le taux d'infestation, couramment de dix individus par hôte, atteint parfois la centaine (Fedotov 1916). L'infestation exercée par le *Myzostoma cirriferum* rapportée par différents auteurs varie fortement et va de quelques individus retrouvés sur des comatules appartenant à des populations peu denses (Graff 1877; Platel 1962) à plusieurs dizaines (Beard 1884; Izquierdo 1934) voire plusieurs centaines d'individus (Jägersten 1940d; Woodham 1992) observés sur des comatules formant des populations denses.

Les myzostomes adultes sont ectosymbiotiques ou endosymbiotiques. Les ectosymbiotes sont soit commensaux de crinoïdes ou d'ophiures soit parasites d'astéries; les endosymbiotes sont soit commensaux de crinoïdes soit parasites de crinoïdes, d'astéries ou d'ophiures.

Les ectocommensaux de crinoïdes forment plus de 80% des espèces connues et comprennent la majeure partie des représentants du genre *Myzostoma* auxquels il faut ajouter l'espèce unique du genre *Stelechopus*, *S. hyocrinii*. Certains de ces myzostomes se déplacent activement sur la surface de leur hôte et se nourrissent de particules charriées par leurs sillons ambulacrariaires; d'autres, immobiles, se situent autour de la bouche de leur hôte dans laquelle ils puisent leur nourriture.

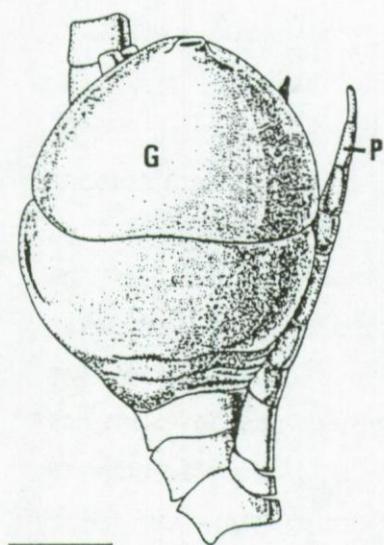
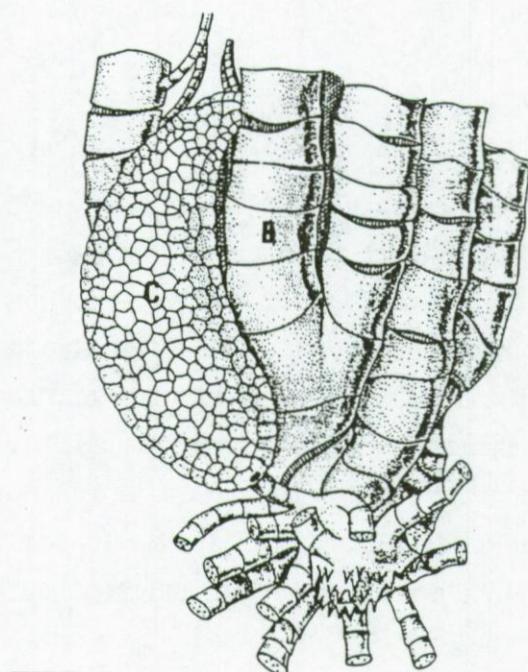
A**B**

Fig. 1. Déformations tégumentaires de crinoïdes provoquées par des infestations myzostoméennes. Dessins illustrant une galle provoquée par *Myzostoma deformator* sur une pinnule du lys de mer *Endoxocrinus alternicirrus* (A) et un cyste provoqué par *Cystimyzostomum murrayi* sur un bras de la comatule *Stiremetra breviradiata* (B) (d'après von Graff 1884).

Abréviations. B: bras; C: cyste; G: galle; P: pinnule. Echelle: 2 mm.

Les ectocommensaux d'ophiures sont représentées par quatre espèces de *Myzostoma*, *M. japonicum*, *M. gerlachei*, *M. ingolfi* et *M. holotuberculatum* (Mc Clendon 1906; Fauvel 1936; Jägersten 1937; Grygier 1990). Ces myzostomes se localisent à la base des bras des ophiures et ne semblent pas altérer la structure de l'hôte.

Les ectoparasites d'astéries sont représentés par trois espèces qui appartiennent toutes au genre *Asteromyzostomum* (Wagin 1954; Grygier 1988). Ces myzostomes seraient attachés indifféremment dans les sillons ambulacraires ou à l'extérieur de celles-ci par des "tentacules périoraux" (*sic*) s'insérant dans le tégument de l'hôte (Grygier 1988).

Seul le *Pulvinomyzostomum pulvinar* est endocommensal de crinoïdes (von Graff 1884; Wheeler 1896; Eeckhaut & Jangoux 1992). Il vit dans la partie antérieure du tube digestif où il prélève ses aliments. Il ne provoque aucune déformation de l'hôte et ne semble pas d'avantage altérer sa croissance. Il peut cependant oblitérer une grande partie de la lumière digestive et pourrait affecter par là l'alimentation de l'hôte ce qui amène certains auteurs à qualifier cette espèce de semi-parasite (Jangoux 1990) ou de parasite (Prenant 1959).

Les endoparasites de crinoïdes infestent soit les gonades ou le coelome proche des gonades et se nourrissent des gamètes ou des coelomocytes de l'hôte - c'est le cas des deux seules espèces connues de *Mesomyzostoma*, *M. katoi* et *M. reichenspergi* -, soit le tégument de l'hôte - c'est le cas de quelques espèces du genre *Myzostoma* et de tous les représentants du genre *Cystimyzostomum* - (Jangoux 1990). Les parasites du tégument sont qualifiés de gallicoles ou de cysticoles suivant le type de déformation tissulaire qu'ils induisent (von Stummer-Traunfels 1926; Jangoux 1990). Les espèces gallicoles provoquent des déformations spectaculaires des ossicules originels de l'hôte qui se développent considérablement formant ainsi les parois dures d'un abri pour le parasite (Fig. 1A) (Jangoux 1990; Eeckhaut & Cominardi 1994). Les espèces cysticoles ne provoquent pas, ou alors peu, de déformations des ossicules originels de l'hôte mais peuvent par contre induire la formation d'une multitude de petites plaques squelettiques qui renforcent la paroi de l'abri du parasite (Fig. 1B) (Jangoux 1990; Eeckhaut & Cominardi 1994). Les espèces gallicoles et cysticoles bénéficient ainsi d'une protection contre d'éventuels prédateurs. Ils ne se nourrissent pas des tissus de l'hôte mais détournent le flux de particules charriées par les sillons ambulacrariaux de l'hôte au travers de petites ouvertures mettant en relation leur abri avec le milieu extérieur (Jangoux 1990).

Les endoparasites d'astéries infestent soit les caecums pyloriques, soit le coelome de leur hôte. Ils sont représentés par les deux seules espèces connues d'*Asteriomyzostomum*,

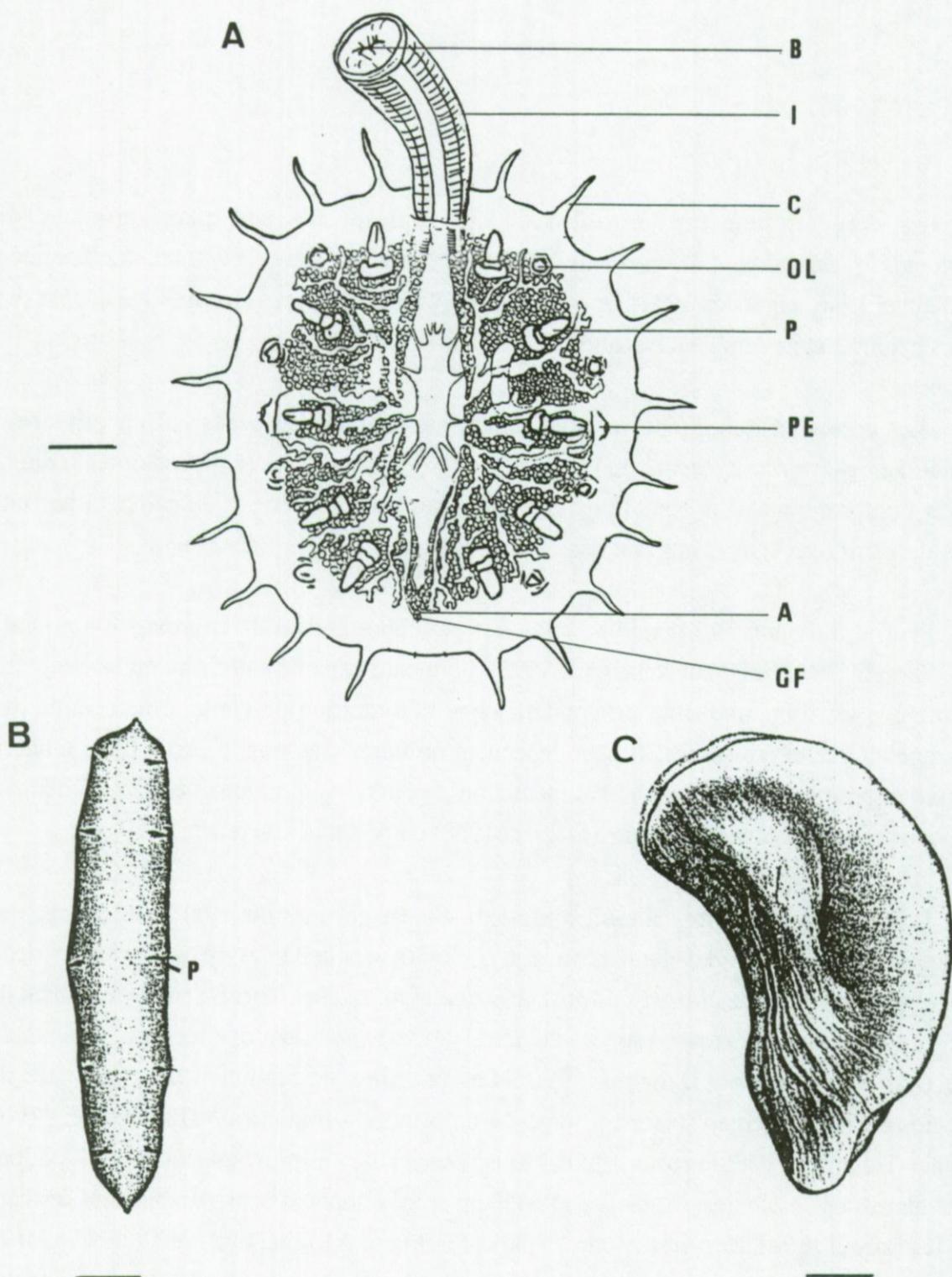


Fig. 2. Anatomie externe des myzostomes. Vues ventrales de *Myzostoma cirriferum* (A; d'après Löven 1842) et de *Mesomyzostoma reichenspergi* (B; d'après Reimscheid 1916); vue latérale de *Cystimyzostomum cysticolum* (C; d'après Reimscheid 1916).

Abréviations. A: anus; B: bouche; C: cirre; GF: gonopore femelle; I: introvert; OL: organe latéral; P: parapode; PE: pénis. Echelles: 0,2 mm pour les Figs. A et B; 1 mm pour la Fig. C

A. asteriae et *A. fisheri* (von Marenzeller 1895; von Stummer-Traunfels 1903; Wheeler 1904). *A. asteriae* se nourrirait du bol alimentaire de son hôte (von Stummer-Traunfels 1903).

Les endoparasites d'ophiures infestent les bourses génitales ou les gonades de leur hôte. On en connaît trois espèces toutes du genre *Protomyzostomum*: *P. astrocladi*, *P. polynephris* et *P. sagamiense* (Fedotov 1914, 1916, 1925; Okada 1922). Ils se nourrissent des gamètes de leur hôte.

Enfin, pour être complet, il me faut citer trois espèces du genre *Myzostoma* (*M. platypus*, *M. ijimaii* et *M. aruense*) qui sont toutes endosymbiotes de crinoïdes et ont été retrouvées indifféremment dans le tégument ou dans la lumière du tube digestif de leur hôte (Grygier 1990)

2. 3. Morphologie des myzostomes

A. Morphologie externe

Sans jamais dépasser le centimètre, le corps des myzostomes varie fortement suivant le type de relation symbiotique qu'ils entretiennent avec leur hôte.

Le corps des espèces ectocommenses se compose toujours d'un introvert antérieur, cylindrique et extensible, et d'un tronc postérieur, ovoïde, aplati dorso-ventralement et dont la face dorsale est convexe et la face ventrale concave (Fig. 2A) (le *Stelechopus hyocrinii* est l'unique exception à cette règle: il ne possèderait pas d'introvert; von Graff 1884). L'introvert est un organe extensible à l'apex duquel s'ouvre la bouche entourée, chez certaines espèces, de papilles buccales tactiles (Prenant 1959). L'introvert est rétracté dans une poche antéro-ventrale lorsque le myzostome est au repos, il s'étend lorsque celui-ci s'alimente. La face ventrale du tronc présente divers organes pairs disposés de part et d'autre du plan sagittal: des parapodes (généralement cinq paires), des organes dits latéraux (généralement quatre paires) et des pénis (une paire). Les parapodes sont les organes locomoteurs ou fixateurs des myzostomes; ce sont de petits cônes tégumentaires à l'apex desquels s'observe une soie en forme de crochet. Les organes latéraux seraient pour les uns des ventouses (von Graff 1884; Boulenger 1911), pour les autres des organes sensoriels (Nansen 1885; von Stummer-Traunfels 1926); ils consistent en des invaginations tégumentaires qui alternent avec les

3

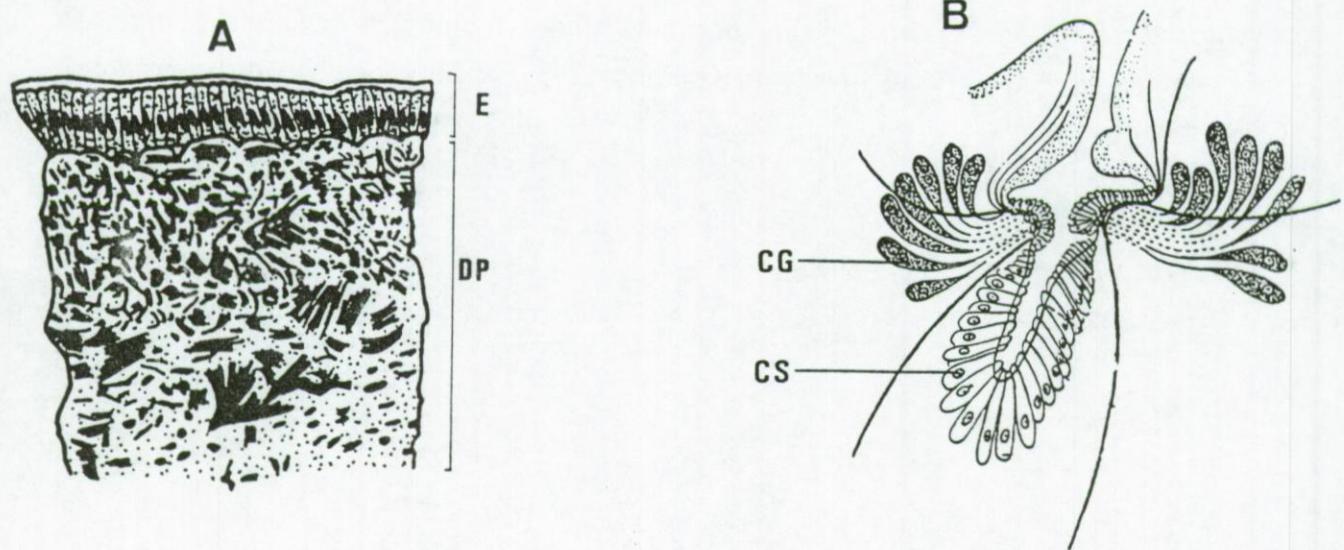


Fig. 3. Tégument. Dessins illustrant la structure du tégument d'*Asteriomyzostomum asteriae* (A) et celle d'un organe latéral de *Protomyzostomum polynephris* (B) (d'après von Stummertraunfels 1926).

Abréviations. CG: cellule glandulaire; CS: cellule sensorielle; E: épiderme; DP: derme parenchymateux.

parapodes et se situent près de la marge du corps. Les deux pénis sont les voies d'évacuation des produits génitaux mâles; ce sont des tubes tégumentaires situés à hauteur de la troisième paire de parapodes et à l'apex desquels s'ouvrent les gonopores. La marge du tronc est parfois pourvue de cirres disposés également par paires. Les cirres sont des cônes tégumentaires considérés comme organes sensoriels tactiles (Nansen 1885; von Stummer-Traunfels 1926). Un anus et un pore génital femelle s'ouvrent à l'opposé de la bouche dans la partie postéro-ventrale du tronc.

Le corps des espèces ectoparasites et endosymbiotiques est fortement modifié (Figs 2B, C). Il est généralement dépourvu d'introvert ou alors dispose d'un introvert réduit. Le tronc sera replié dorsalement sur lui-même (c'est le cas du *Pulvinomyzostomum pulvinar* et des *Cystimyzostomum*), ou vermiforme (c'est le cas des *Protomyzostomum* et des *Mesomyzostoma*), ou plus large que long (c'est le cas des *Asteriomyzostomum*) ou encore extrêmement plissé et en forme de champignon (c'est le cas des *Asteromyzostomum*). Les appendices et organes externes (cirres, parapodes et organes latéraux) sont réduits en nombre et en taille, voire absents chez certains. Les pénis sont généralement réduits à de simples orifices génitaux.

B. Morphologie interne

Le tégument est formé de deux couches superposées: un épiderme cuticulisé et monostratifié recouvrant un derme parenchymateux (Fig. 3A) (von Stummer-Traunfels 1926; Prenant 1959). L'épiderme "standard", dont la composition cellulaire n'a été détaillée dans aucun travail, montre à sa surface de nombreuses touffes de cils disséminées sur la totalité du tronc (von Stummer-Traunfels 1926; Prenant 1959). von Stummer-Traunfels (1926) distingue des zones épidermiques sensorielles localisées: les cirres, pénis et papilles buccales où ont été observés des "poils raides tactiles" (*sic*) et les organes latéraux où l'épiderme est formé de cellules sensorielles et de cellules glandulaires (Fig. 3B). Le derme est composé de cellules parenchymateuses baignant dans un liquide interstitiel et de fibres musculaires intraparenchymateuses (Nansen 1885; Prenant 1959).

L'appareil digestif est formé successivement d'un pharynx, d'un estomac des côtés duquel partent des caecums digestifs pairs, et d'un intestin (Figs 2A, 4A, B) (Jägersten 1940c; Platel 1962). Des "glandes salivaires" ont également été décrites chez les représentants des

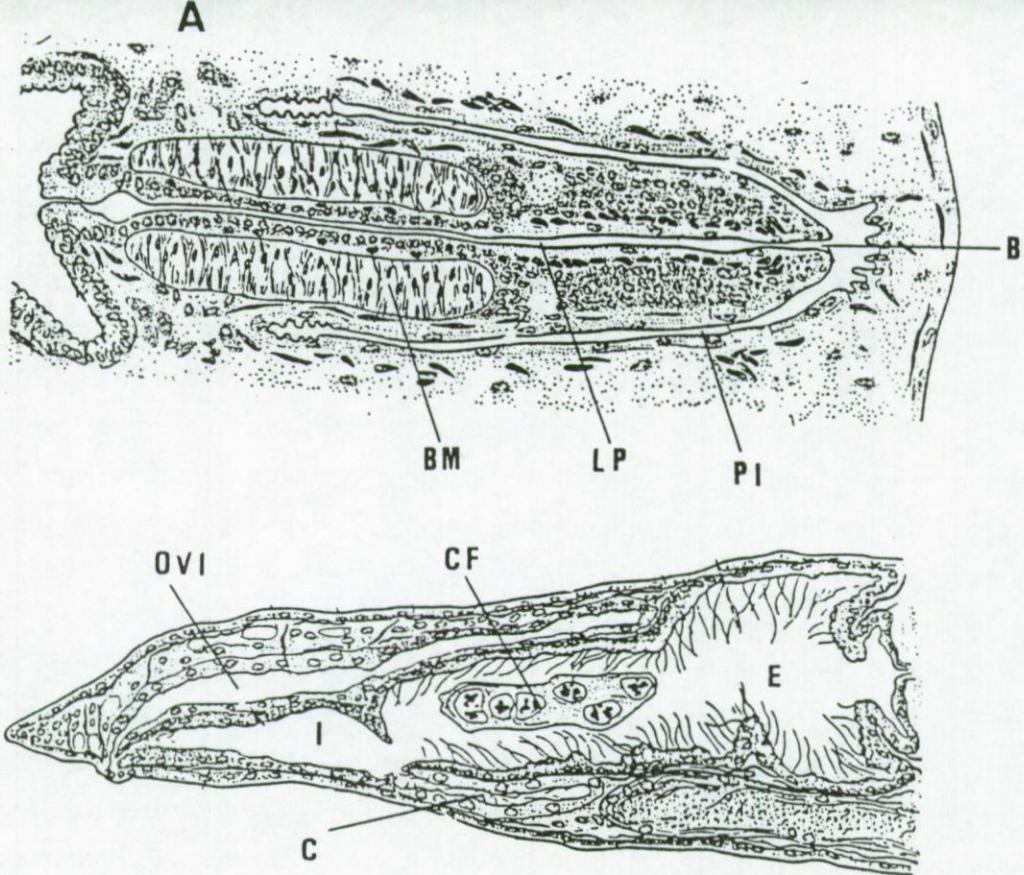


Fig. 4. Appareil digestif. Dessins d'une coupe frontale dans le pharynx et de l'introvert (A), et d'une coupe sagittale dans l'estomac et de l'intestin (B) de *Myzostoma cirriferum* (d'après Platel 1962).

Abréviations. B: bouche; BM: bulbe musculeux; C: conduit utéro-intestinal; CF: corps en fuseau; E: estomac; I: intestin; LP: lumière pharyngienne; PI: poche de l'introvert; OVI: oviducte.

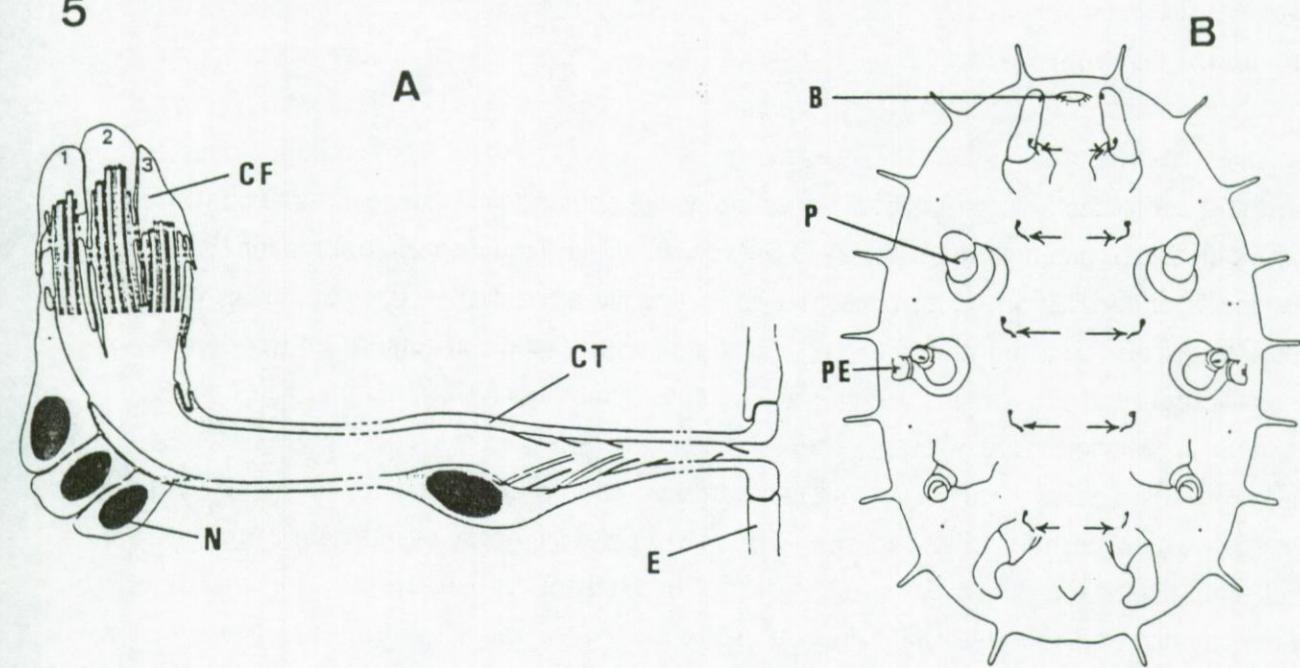


Fig. 5. Système excréteur. Schémas illustrant la structure d'une protonéphridie (A) et la disposition des orifices néphridiens (flèches; B) chez *Myzostoma cirriferum* (d'après Pietsch & Westheide 1987).

Abréviations. B: bouche; CF: cellule flamme; CT: cellule tubulaire; E: épiderme; N: noyau; P: parapode; PE: pénis.

genres *Myzostoma*, *Protomyzostomum*, *Asteriomyzostomum* et *Mesomyzostoma* (Jägersten 1940a). L'anatomie des organes digestif a été détaillée chez *M. cirriferum* (Figs 4A, B) (Jägersten 1940c; Platel 1962). Chez cette espèce, le pharynx est inclu dans l'introvert et est formé d'un épithélium glandulaire cuticulisé entouré dans sa partie postérieure d'une puissante musculature, le bulbe musculeux. L'estomac, les caecums digestifs et l'intestin sont situés dans le tronc; leur épithélium n'est pas cuticulisé et est entouré d'une fine musculature. L'estomac et l'intestin forment une vaste cavité sagittale. L'épithélium stomacal est cylindrique et cilié alors que celui de l'intestin est pavimenteux et non cilié. Les caecums digestifs sont des tubules symétriques aveugles qui naissent de chaque côté de l'estomac. Au nombre de trois paires, ils se divisent chacun au moins deux fois avant d'atteindre la région marginale du tronc. L'épithélium des caecums est très variable: il peut être très aplati ou cubique et, dans ce dernier cas, est formé de cellules comprenant dans leur cytoplasme une énorme vésicule qualifiée d'excrétrice par Jägersten (1940c). Les "glandes salivaires" sont des grappes de cellules intraparenchymateuses situées autour du pharynx. Ces cellules sont pourvues de longs et fins "canalicles salivaires" qui parcourent la longueur de l'introvert et débouchent dans la lumière du pharynx non loin de la bouche (Jägersten 1940a, c; Platel 1962).

Platel (1962) a abordé la mécanique alimentaire chez le *M. cirriferum*. Lorsque l'introvert s'étend et se place dans un des sillons ambulacrariaux de l'hôte, la musculature pharyngienne se met en action assurant l'aspiration de l'eau et des particules alimentaires jusque dans l'estomac. Le battement des cils stomachaux chasse les particules dans les caecums où leur devenir n'est pas précisé. Quelques minutes après l'entrée des particules dans les caecums, des contractions musculaires chassent vers l'estomac les "vésicules excrétrices" des cellules caeca, vésicules qui ont été préalablement sécrétées par apocrinie dans la lumière des caecums (Jägersten 1940c; Platel 1962). Là, elles s'agglomèrent et forment une masse fécale appelée "corps en fuseau" qui, transitant rapidement par l'intestin, est expulsé à l'extérieur par contraction musculaire (Jägersten 1940c).

Le système excréteur a été uniquement étudié chez *M. cirriferum* (Pietsch & Westheide 1987). Il est formé de cinq paires de protonéphridies disposées de part et d'autre du plan sagittal du myzostome et s'ouvrant indépendamment à l'extérieur par des orifices situés à la base des parapodes (Figs 5A, B). Chaque protonéphridie est faite d'une cellule tubulaire et de trois cellules flammes situées dans le parenchyme.

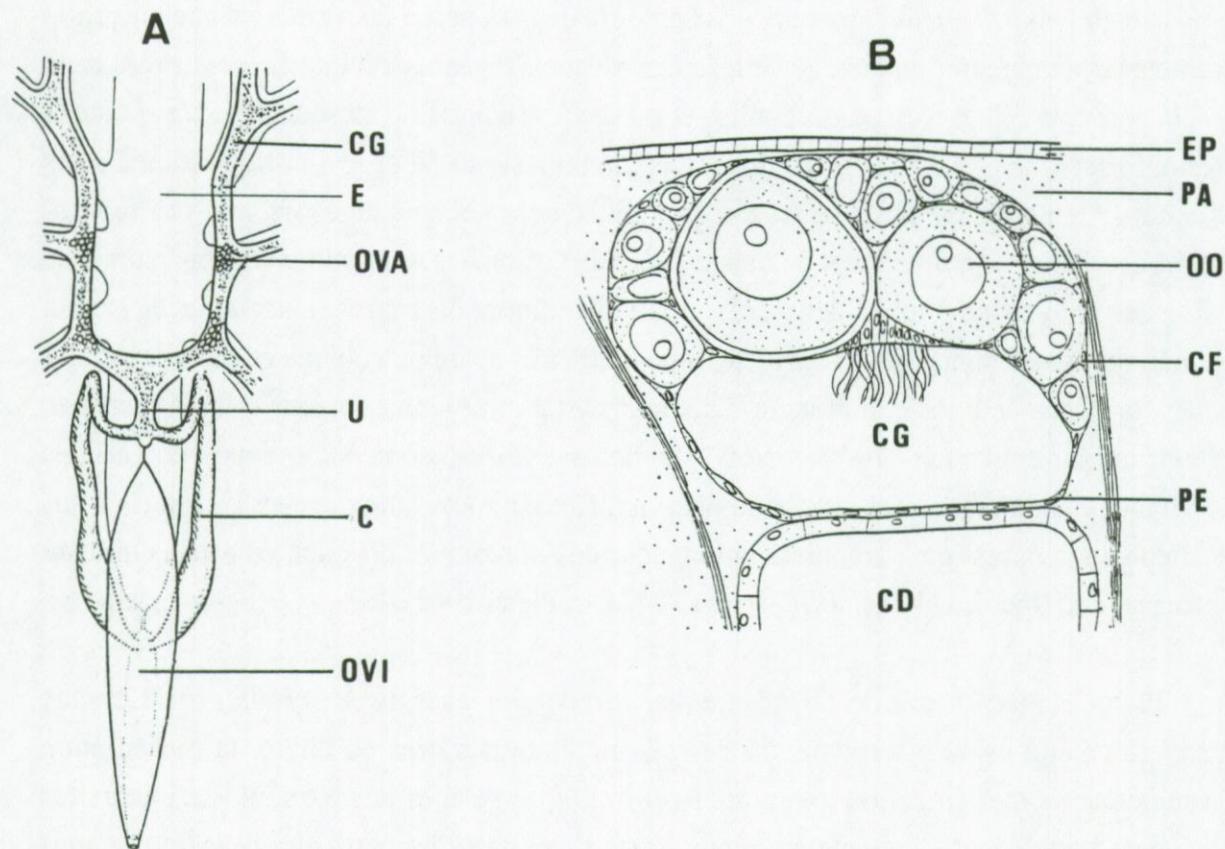


Fig. 6. Appareil génital femelle. Schéma illustrant la structure du système génital femelle (A) et dessin illustrant une coupe transversale au niveau d'un diverticule génital (B) de *Myzostoma cirriferum* (d'après Jägersten 1934).

Abréviations. C: conduit utéro-intestinal; CD: caecum digestif; CF: cellule folliculaire; CG: canal génital; E: estomac; EP: épiderme; OO: ovocyte; OVA: ovarie; OVI: oviducte; PA: parenchyme; PE: péritonéum; U: utérus.

Les appareils génitaux mâle et femelle sont chacun formés d'une ou de plusieurs gonades associées à un ensemble de cavités et de canaux génitaux (Beard 1894; Maidl 1910; von Stummer-Traunfels 1926). A l'état adulte, la majorité des myzostomes sont hermaphrodites simultanés. Toutefois, quelques espèces du genre *Cystimyzostomum* ainsi que le *Pulvinomyzostomum pulvinar* sont des hermaphrodites protandres: leurs adultes sont donc fonctionnellement femelles. Les appareils génitaux mâle et femelle des espèces hermaphrodites simultanés sont situés respectivement ventralement et dorsalement par rapport au système digestif alors que ceux des espèces hermaphrodites protandres ne sont pas confinés à une partie restreinte du tronc. Les appareils génitaux détaillés ci-dessous sont ceux qui caractérisent le genre *Myzostoma*. Les différences que l'on retrouve entre ces appareils et ceux des autres genres sont résumées dans les Tableaux 3 et 4.

L'appareil génital femelle des *Myzostoma* se compose d'un ovaire et d'un ensemble de cavités et de canaux permettant l'évacuation des gamètes. On note deux cavités sagittales successives non ciliées: la plus postérieure est appelée "oviducte" (elle est en relation avec l'extérieur par le gonopore) et l'autre "utérus". Des canaux génitaux ciliés et aveugles partent de l'utérus pour longer dorsalement les caecums digestifs; ces canaux génitaux sont eux-mêmes longés dorsalement par l'ovaire (Figs 6A, B) (Jägersten 1934). Celui-ci est fait de cellules germinales à divers stades de l'ovogénèse associées à des cellules folliculaires (*sic*) (Jägersten 1934). Il me faut également signaler l'existence d'une paire de conduits malencontreusement appelés "néphridies" qui prennent naissance au niveau de l'utérus, longent latéralement l'appareil digestif et s'ouvrent dans la partie ventrale de l'intestin ce qui amène certains auteurs à nommer cloaque la partie postérieure de l'intestin (Fig. 6A) (Jägersten 1940a; Prenant 1959).

L'appareil génital mâle des *Myzostoma* est double: il se compose d'une ou de deux paires de testicules et d'une paire de canaux génitaux disposés symétriquement de part et d'autre de la chaîne nerveuse ventrale (Fig. 7A). Les testicules sont relativement diffus et disséminés dans le parenchyme duquel ils sont séparés par une lame basale épaisse nommée "tunique résistante" (Prenant 1959). Chaque testicule est formé d'un certain nombre de cystes gamétiques ou spermatocystes composés chacun d'une "grande cellule" qui entoure des gamètes mâles en cours de spermatogénèse (Fig. 7B) (Jägersten 1934). Le processus de spermogénèse a été récemment étudié chez *Myzostoma cirriferum* (Afzelius 1983, 1984) et *Myzostoma sp.* (Mattéi & Marchand 1987, 1988). Arrondi au départ, chaque spermatide évolue en un spermatozoïde filiforme dont la structure est unique au sein du règne animal (Fig.

Tableau 3. L'appareil génital femelle dans les différents genres de myzostomes

Genres	Ovaire	Canaux génitaux	Cavités génitales	Conduits utéro-intestinaux	Références
<i>Myzostoma</i>	- En position dorsale	- Dorsaux par rapport aux caecums digestifs	- Deux cavités dorsales successives: l'oviducte et l'utérus	- Une paire	Wheeler 1896; Jägersten 1934, 1940a
<i>Cystimyzostomum</i>	- S'étend à la fois dorsalement et ventralement	- Entourent les caecums digestifs	- Deux cavités dorsales successives: l'oviducte et l'utérus	- Une paire	von Graff 1884; Prenant 1959
<i>Pulvinomyzostomum</i>	- S'étend à la fois dorsalement et ventralement	- Entourent les caecums digestifs	- Deux cavités dorsales successives: l'oviducte et l'utérus	- Une paire	Wheeler 1896; Jägersten 1940a
<i>Asteriomyzostomum</i>	- En position dorsale	- Dorsaux par rapport aux caecums digestifs	- Une cavité dorsale	- Une paire	von Stummer-Traufels 1903; Wheeler 1904
<i>Asteromyzostomum</i>	- En position dorsale	- Dorsaux par rapport aux caecums digestifs	- Une cavité dorsale	- Une paire	Wagin 1954
<i>Mesomyzostoma</i>	- En position dorsale	- Entourent les caecums digestifs	- Une cavité dorsale	- Une paire	Reimscheid 1916
<i>Protomyzostomum</i>	- En position dorsale	- Entourent les caecums digestifs	- Une cavité dorsale	- Plusieurs paires ou absents	Fedotov 1914; Okada 1922; Jägersten 1940a
<i>Stelechopus</i>	- En position dorsale	Système de canaux présent ¹		- Absents	von Graff 1884; Jägersten 1940a

¹ Pas d'autres informations disponibles

- *Introduction* -

Tableau 4. L'appareil génital mâle dans les différents genres de myzostomes.

Genres	Testicules	Canaux efférents	Canaux déférents	Vésicules séminales	Canaux péniens	Références
<i>Myzostoma</i>	- Deux ou quatre testicules en situation ventro-latérale	- Nombreux	- Quatre	- Deux	- Deux canaux développés	Wheeler 1896; Jägersten 1934, 1940a
<i>Cystimyzostomum</i>	- Deux testicules en situation ventro-latérale - Un des testicules peut être atrophié	- Nombreux	- Absents	- Deux	- Deux canaux rudimentaires ou pas de canaux	von Graff 1884; Prenant 1959
<i>Pulvinomyzostomum</i>	- Deux testicules en situation ventro-latérale	- Nombreux	- Absents	- Absentes	- Deux canaux rudimentaires	Wheeler 1896; Jägersten 1940a
<i>Asteriomyzostomum</i>	- Deux testicules en situation ventro-latérale - Un des testicules peut être atrophié	- Nombreux	- Deux	- Absentes	- Deux canaux rudimentaires	von Stummer-Traunfels 1903; Wheeler 1904
<i>Asteromyzostomum</i>	- En position ventrale ¹			Système de canaux présents ¹		Wagin 1954
<i>Mesomyzostoma</i>	- Deux testicules en position ventro-latérale	- Nombreux	- Quatre	- Absentes	- Deux canaux rudimentaires	Reimscheid 1916
<i>Protomyzostomum</i>	- Deux testicules en position ventro-latérale pouvant parfois envahir la partie dorsale des individus	- Nombreux	- Quatre	- Absentes	- Absents	Fedotov 1914; Okada 1922; Jägersten 1940a
<i>Stelechopuss</i>	- Deux testicules en position ventro-latérale - Absence de cellules-cystes			Système de canaux présents ¹		von Graff 1884; Jägersten 1940a

¹ Pas d'autres informations disponibles

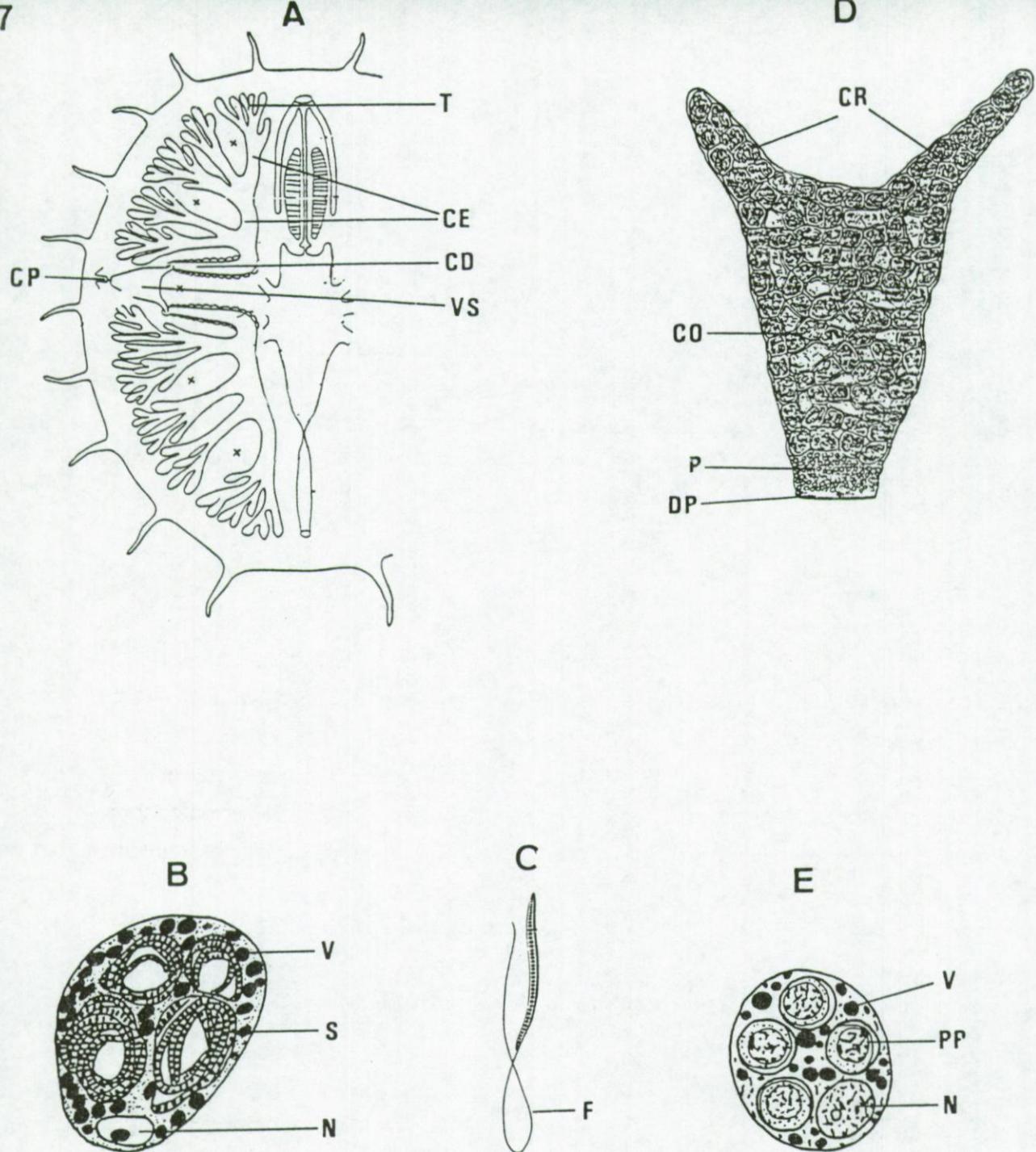


Fig. 7. Appareil génital mâle. Schéma illustrant la structure de l'appareil génital mâle (A) et dessins illustrant la structure d'un spermatocyste, d'un spermatozoïde, d'un spermatophore et d'un podocyste (B à E, respectivement) de *Myzostoma cirriferum* (d'après Jägersten 1934).

Abréviations. CD: canal déférent; CE: canal efferent; CO: corps; CP: canal pénien; CR: corne; DP: disque pédieux; F: flagelle; N: noyau; P: pied; PP: petit podocyte; S: spermatozoïde; T: testicule; V: vésicule; VS: vésicule séminale.

7C). Le spermatozoïde est formé d'un corps très allongé et d'un long flagelle. La majeure partie du corps est occupée par un noyau où s'observe une quarantaine de granules de nature chromatinienne selon Afzelius (1983, 1984), protéique selon Mattéi & Marchand (1987, 1988). Le flagelle prend naissance à l'extrémité du spermatozoïde, se recourbe dès sa sortie et longe la cellule en y restant attaché pour finalement se terminer par une portion libre (Fig. 7C).

En même temps que se déroule la spermatogénèse, les spermatocystes changent de place: d'abord proches de la marge du corps, ils se retrouvent en fin de spermatogénèse au sein des canaux génitaux. Ces derniers forment deux ensembles symétriques constitués chacun de nombreux canaux efférents, de deux canaux déférents, d'une vésicule séminale et d'un canal pénien (Fig. 7A). Les canaux efférents correspondent aux parties distales des testicules et sont donc formés de la lame basale épaisse qui entoure les spermatocystes (Jägersten 1934; Prenant 1959). Ils convergent vers les canaux déférents qui partent perpendiculairement à la chaîne nerveuse et acheminent les spermatocystes vers les vésicules séminales. Chaque vésicule séminale est une vaste cavité ovoïde ou sphérique où s'accumulent les spermatocystes et où se forme un spermatophore. Le canal pénien est une voie où transite rapidement le spermatophore avant d'être émis. Contrairement à celui qui borde les canaux déférents et la vésicule séminale, l'épithélium du canal pénien est cuticulisé et cilié (Jägersten 1934).

Jägersten (1934) distingue quatre parties au spermatophore de *M. cirriferum*: les deux cornes, le corps, le pied et le disque pédieux (Fig. 7D). Les cornes et le corps, représentant la plus grande partie du spermatophore, sont formés essentiellement de spermatocystes à spermatozoïdes. Le pied, situé sous le corps, est formé de spermatocystes particuliers, les podocystes, constitués chacun d'une grande cellule, le grand podocyte, entourant des cellules plus petites à aspect pycnotique, les petits podocytes (Fig. 7E) (Jägersten 1934). Le disque pédieux est la partie du spermatophore la plus basale; il est formé d'un matériel probablement sécrété par les cellules de la vésicule séminale (Jägersten 1934).

2.4. La reproduction et le développement

La reproduction a été décrite chez *M. cirriferum* (Jägersten 1934), *M. ambiguum* (Kato 1952) et *M. alatum* (Eeckhaut & Jangoux 1992). Chez ces trois espèces, l'attouchement de deux individus prélude toujours à l'émission du spermatophore de l'un, le donneur, vers l'autre, le receveur. Le spermatophore est émis grâce à une contraction de la vésicule séminale qui le propulse vers un endroit quelconque du tégument du receveur. Jägersten (1934) a

8

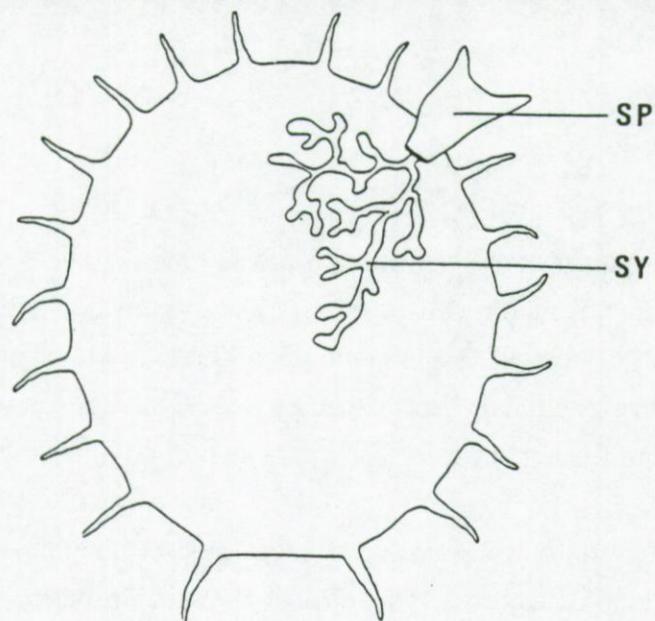


Fig. 8. La reproduction. Schéma illustrant l'accolement d'un spermatophore et l'expansion du syncytium spermatique chez *Myzostoma cirriferum* (d'après Jägersten 1934).

Abréviations. SP: spermatophore; SY: syncytium spermatique.

9

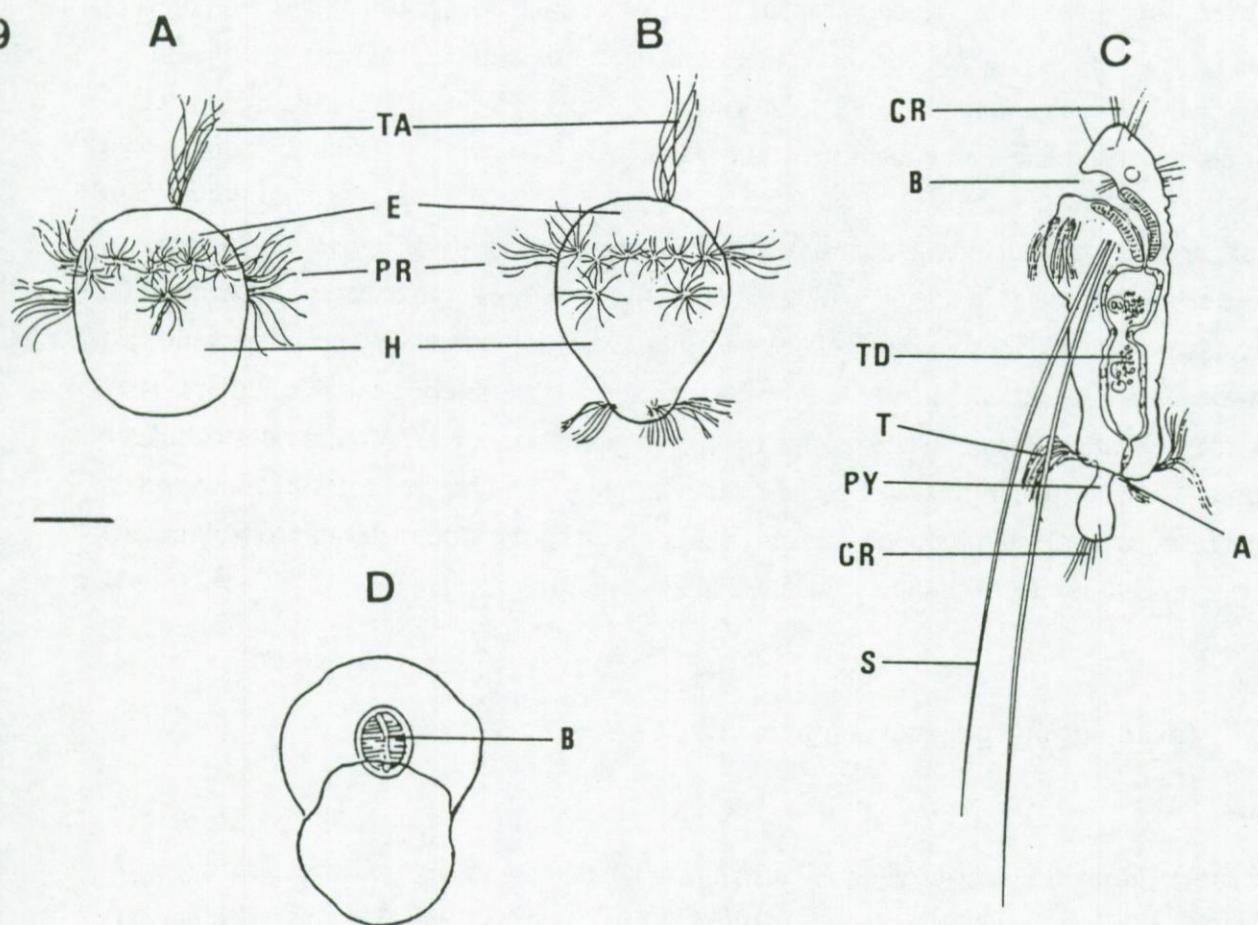


Fig. 9. Le développement larvaire. Schémas illustrant la structure des larves protrochophore (A), trochophore (B), metatrochophore (C) et métamorphique (D) de *Myzostoma parasiticum* (d'après Jägersten 1939b)

Abréviations. A: anus; B: bouche; CR: cils raides sensoriels; E: épisphere; H: hyposphère; PR: prototroche; PY: pygydium; S: soie; T: télotroche; TA: touffe apicale; TD: tube digestif. Echelle: 10 µm

observé le devenir du spermatophore après expulsion chez *M. cirriferum*. Peu après l'accolement du spermatophore, l'épiderme du receveur se lyse, et les podocystes d'abord, les spermatocystes ensuite, pénètrent dans le tégument (Fig. 8). Lors de cette pénétration, tous les cystes fusionnent entre eux donnant naissance à un énorme syncytium qui entoure les petits podocytes et les spermatozoïdes et qui s'étend dans le parenchyme du myzostome receveur. Le syncytium arrive finalement à hauteur des canaux génitaux femelles où les spermatozoïdes sont libérés et fécondent les gamètes femelles matures qui sont alors dirigés vers l'utérus d'abord et l'oviducte ensuite où ils s'accumulent. Les oeufs fécondés sont finalement émis vers l'extérieur par le pore génital femelle.

La segmentation des oeufs s'effectue dans la colonne d'eau. Chez *M. parasiticum* et *M. ambiguum* elle est spirale et caractérisée par la formation d'un lobe polaire avant chaque division (Driesch 1896; Wheeler 1898; Kato 1952). Chaque embryon évolue en une larve pélagique.

Le développement larvaire est connu au travers celui de quatre espèces, *M. cirriferum* (Beard 1898), *M. parasiticum* (Beard 1898; Jägersten 1939b), *M. ambiguum* (Kato 1952) et *M. alatum* (Eeckhaut & Jangoux 1992). Chacune de ces espèces présente quatre stades successifs qui sont la protrochophore, la trochophore, la métatrochophore et la larve métamorphique (Fig. 9A à D). La protrochophore est sphérique à ovoïde et possède une couronne de cils vibratiles, la prototroche, qui divise le corps en deux parties, l'épisphère et l'hyposphère. La trochophore est pyriforme et possède toujours, en plus de la prototroche, une touffe de cils vibratiles épisphérique. La métatrochophore est pyriforme et possède toujours un tube digestif, un pygidium, deux paquets de soies latérales et, en plus des cils vibratiles, des "cils raides sensoriels" (Beard 1898; Jägersten 1939b; Kato 1952). La prototroche s'est divisée en plusieurs touffes ciliées et une télotroche située à la base de l'hyposphère s'est différenciée. Le tube digestif en forme de "S" s'ouvre à l'extérieur d'une part par une bouche située au niveau de la prototroche et d'autre part par un anus situé à la base de l'hyposphère sur la face opposée à la bouche. Les deux paquets de soies larvaires composés de quatre à six soies sont situés de part et d'autre du plan sagittal et prennent naissance au niveau de la prototroche. Les "cils raides sensoriels" sont situés au bout du pygidium, au niveau de la bouche et au niveau de l'épisphère. Ces trois premiers stades larvaires sont également caractérisés par la présence de touffes ciliées vibratiles dont la disposition et le moment d'apparition varieront suivant l'espèce envisagée. La larve métamorphique est vermiforme et ne possède plus ni cils sensoriels ou vibratiles, ni soies. Le développement larvaire dure de huit à onze jours.

10

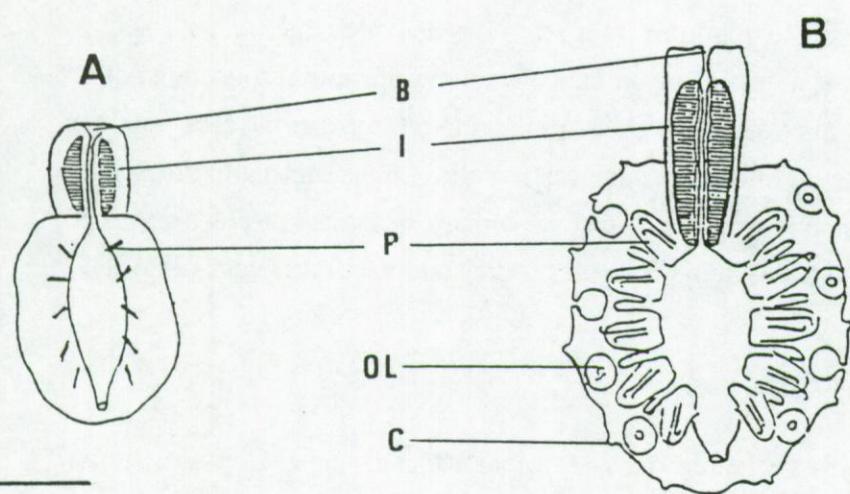


Fig. 10. Le développement postmétamorphique. Schémas illustrant deux stades pinnulaires de *Myzostoma ambiguum*, l'un jeune (A) et l'autre âgé (B) (d'après Kato 1952).

Abréviations. B: bouche; C: cirre; I: introvert; OL: organe latéral; P: parapode. Echelle: 100 µm.

Le développement postmétamorphique est connu chez plusieurs espèces du genre *Myzostoma* mais a été principalement détaillé chez *M. cirriferum* (Wheeler 1896; Jägersten 1940a), *M. parasiticum* (Wheeler 1896) et *M. ambiguum* (Kato 1952). Pour chacune de ces espèces, le corps des plus petits individus postmétamorphiques observés est formé d'une partie antérieure cylindrique et étroite, le futur introvert, et d'une partie postérieure cylindrique plus large, le futur tronc (Fig. 10A). La partie postérieure, tout en s'aplatissant, acquiert progressivement des parapodes, des organes latéraux et des cirres, ces derniers se développant un peu plus tardivement (Fig. 10B). La partie antérieure, tout en restant cylindrique, se rétracte progressivement dans le tronc.

Le développement postmétamorphique s'effectue entièrement sur l'hôte. Chez *M. cirriferum*, les individus en cours de développement restent pratiquement immobiles et sont situés à l'intérieur des sillons ambulacrariaires des hôtes (Jägersten 1940a). Ce n'est que lorsque tous leurs appendices et organes externes sont formés que les individus sortent des sillons ambulacrariaires et se déplacent alors sur toute la surface de l'hôte (Jägersten 1940a).

B. BUT DU TRAVAIL

B. BUT DU TRAVAIL

Les myzostomes illustrent excellemment le phénomène de symbiogénèse. Symbiotes obligatoires, ils ont développé des associations hautement spécifiques (ils sont tous inféodés à des échinodermes, la plupart à des crinoïdes) qui sont également remarquablement anciennes (elles existaient déjà au Cambrien). Ainsi, si des myzostomes s'observent encore dans la faune actuelle, c'est parce qu'ils sont entrés en symbiose avec un phylum hôte, celui des échinodermes, dont le succès ne s'est pas démenti depuis les temps fossilières les plus anciens. Paradoxalement et malgré le haut rang taxonomique qu'occupent les myzostomes (*i. e.*, une classe d'annélides ou un phylum à part entière), peu de recherches leur ont été consacrées.

Le présent travail porte sur la biologie des myzostomes et des symbioses auxquelles ils participent. Pour ce faire, j'ai choisi d'étudier le couple crinoïde-myzostome le plus commun des côtes européennes, celui formé par les espèces *Antedon bifida* et *Myzostoma cirriferum*. La recherche s'est effectuée selon deux approches complémentaires, l'une étho-écologique, l'autre morpho-fonctionnelle. Les buts de l'approche étho-écologique étaient de décrypter le cycle vital du symbiose, d'estimer sa longévité, d'analyser son mode d'infestation et de comprendre la structure et la dynamique des populations qu'il forme. L'approche morpho-fonctionnelle s'est particulièrement intéressée aux organes sensoriels du myzostome et à ses appareils digestifs et reproducteurs, en fait aux structures les plus directement impliquées dans la relation du symbiose avec son hôte et/ou dans la réussite de la symbiose.

C. MATERIEL ET METHODES

C. MATERIEL ET METHODES

1. Origine et conservation du matériel

Les *Myzostoma cirriferum* Leuckart, 1836 et leurs hôtes *Antedon bifida* (Pennant, 1777) ont été récoltés à Morgat (Baie de Douarnenez, Bretagne, France) dans un site choisi à la fois pour sa facilité d'accès et parce qu'il présentait une population dense de comatules (Lahaye 1987). Ce site est un amas de blocs de béton (destinés à l'origine à former une digue) situés à une centaine de mètres au large du rivage. Les blocs occupent une surface de quelques 200 m² (environ vingt mètres de long sur dix mètres de large) et leur empilement forme une bute dont la base et le sommet reposent respectivement à dix et trois mètres de profondeur à marée haute. Les *A. bifida* vivent sur ces blocs de béton; ils colonisent leurs parties basales sur une hauteur d'environ deux mètres.

Les récoltes se sont faites à marée haute en plongée (scaphandre autonome) entre octobre 1988 et août 1993 (Tableau 5). Après les avoir détachées du substrat, les comatules (et les myzostomes associés) sont rassemblées dans un filet de récolte. Le matériel récolté a été conservé vivant dans les aquariums en circuit ouvert de l'Observatoire Océanologique de Roscoff, ou dans un aquarium en circuit fermé au Laboratoire de Biologie marine de l'Université de Mons.

2. Comptage et mesure du matériel collecté

Pour les comptage et mesure du matériel récolté, seules les comatules saines - c'est-à-dire ne présentant aucune blessure physique suite à la récolte et au transport - ont été utilisées. Chacune d'elles (avec les myzostomes associés) a été fixée pendant 24 h au liquide de Bouin, rincée à l'eau distillée et conservée dans de l'éthanol 70%. La taille des *A. bifida* a été relevée par la

Tableau 5. Calendrier des récoltes des couples *Antedon bifida* - *Myzostoma cirriferum*.

1988	1989	1990	1991	1992	1993
30-10	02-03	04-01	28-02	27-02	16-01
15-12	15-05	01-03	11-06	26-05	13-04
	15-09	22-05	21-10	06-11	03-06
		21-08			24-08
		20-11			

mesure de la longueur de leur bras non régénérant le plus long selon la méthode de Lahaye (1987). Les *M. cirriferum* associés ont été repérés sous la loupe binoculaire, séparés de leur hôte, dénombrés, et leur taille établie par la mesure de la longueur de leur axe antéro-postérieur à l'aide d'un oculaire micrométrique.

3. Observations et expérimentations *in vivo*

Le matériel vivant a été observé au microscope ordinaire (Leitz Laborlux S) ou à contraste de phase (Olympus IMT-2), ou sous loupe binoculaire (Wild M3, Wild M6) à l'Observatoire Océanologique de Roscoff ou au Laboratoire de Biologie marine de l'Université de Mons.

Les myzostomes postmétamorphiques ont été observés sur leurs hôtes ou en boîte de Pétri après séparation d'avec ceux-ci (la séparation s'effectuait par aspiration douce des individus à l'aide d'une pipette Pasteur). Les embryons et larves de myzostomes ont été observés après mises en culture des oeufs fécondés issus des pontes d'individus postmétamorphiques. Les pontes ont été provoquées en séparant les myzostomes adultes de leurs hôtes puis en augmentant progressivement la température de l'eau de mer jusqu'à atteindre la température ambiante (15-20°C). Les oeufs récoltés ont été placés dans des boîtes de Pétri (10 cm de diamètre) contenant environ 50 ml d'eau filtrée à 0,2 µm auquel a été rajouté de la streptomycine sulfate à la concentration de 50 mg/l (selon la méthode de D'Agostino 1975) (nombre d'oeufs: 4 par ml). Une fois le stade larvaire atteint, les boîtes de Pétri ont été doucement agitées. L'eau a été renouvelée chaque jour.

Des tests visant à caractériser le comportement des larves et des individus postmétamorphiques de *M. cirriferum* ont été effectués. Les méthodes utilisées pour la réalisation de ces tests seront détaillées aux endroits adéquats du chapitre D.

4. Microscopie

Microscopie photonique (M P). Les individus destinés à la M P ont été fixés 24 h soit au liquide de Bouin, soit dans une solution neutralisée à pH 7,8 de formaldéhyde 4%. D'autres ont été fixés pendant 3 h dans une solution de glutaraldéhyde 3% en tampon cacodylate de sodium (0,1M). Les diverses colorations effectuées ont été mises en oeuvre selon les techniques préconisées par Ganter et Jollès (1969-1970) ou par Gabe (1968).

Le matériel fixé au liquide de Bouin a été déshydraté dans des solutions d'éthanol de concentrations croissantes, enrobé au paraplast et sectionné en coupes de 7 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome à glissière muni d'un couteau de verre. Certaines coupes obtenues ont été utilisées pour une analyse topographique et colorées au trichrome de Masson ou à l'hémalun de Mayer-phloxine-vert lumière. D'autres ont fait l'objet d'une analyse histochimique et ont été colorées soit au bleu alcian à pH 1 et pH 2,6 (contrôle par méthylation) ou à l'acide périodique Schiff (contrôle par acétylation) pour la détection des mucopolysaccharides, soit au bleu de bromophénol mercurique ou suivant la technique de la tétrazoréaction de Danielli (contrôle par benzoïlation) pour la détection des protéines. Les zones digestives absorbantes (endocytose) des *M. cirriferum* ont également été mises en évidence sur du matériel fixé au liquide de Bouin: des individus préalablement amenés à ingérer une solution de ferritine (SIGMA) 0,5% dans de l'eau de mer; le fer contenu dans leurs cellules digestives (*i. e.*, la ferritine endocytée) a été révélé par la technique de Perls. PAS

Le matériel fixé au formaldéhyde 4% a été utilisé pour l'analyse histochimique. Une partie de ce matériel a été postchromisé au bichromate de potassium et enrobé à la gélatine avant d'être sectionné en coupes de 10 µm d'épaisseur à l'aide d'un cryotome muni d'un couteau en acier. Les coupes obtenues ont été colorées au noir Soudan B pour la détection des lipides. L'autre partie du matériel a été déshydratée, enrobée dans une résine acrylique (LR White, London Resin Company, Basingstoke, GB) qui est polymérisée à froid et sectionnée en coupe de 0,5 µm d'épaisseur (coupes semi-fines) à l'aide d'un ultratome Reischert ONU2 muni d'un couteau de verre. Les coupes ont été colorées suivant la réaction nucléale de Feulgen et Rossenbeck (contrôle par non-hydrolyse) pour la détection des acides nucléiques.

Le matériel fixé au glutaraldéhyde 3% en tampon cacodylate a été rincé trois fois dans ce tampon, post-fixé durant 1 h dans une solution de tétr oxyde d'osmium 1% en tampon cacodylate et rincé une dernière fois dans ce même tampon. Le fixateur, le tampon et le post-fixateur étaient neutralisés à pH 7,8 et leurs osmolalités étaient ajustées à 1030 mosm/kg au moyen de NaCl; tous les bains se sont déroulés à 4°C. Le matériel a été ensuite déshydraté dans des solutions d'éthanol de concentrations croissantes, enrobé dans une résine époxy (Spurr Resin Kit, Taab, Aldermaston, GB, Spurr 1969) et sectionné en coupe de 0,5 µm d'épaisseur (coupes semi-fines) à l'aide d'un ultratome Reischert OMU2 muni d'un couteau de verre. Les coupes obtenues ont été utilisées pour une analyse topographique et colorées au moyen d'un mélange équivolumique de bleu de méthylène 1% (dans une solution de tétraborate de sodium 1%) et d'azur II 1%.

Microscopie électronique à transmission (M E T). Les individus destinés à la M E T ont été fixés dans une solution de glutaraldéhyde 3% en tampon cacodylate de sodium, post-fixés, déshydratés et enrobés comme indiqué ci-dessus. Des coupes ultra-fines de 40 à 50 nm d'épaisseur ont été réalisées à l'aide d'un ultratome LKB III ou V muni d'un couteau de diamant. Elles ont été contrastées à l'acétate d'uranyl et au citrate de plomb (Reynolds 1963) et observées avec un microscope électronique à transmission Philips EM 300 ou Zeiss EM 10.

Microscopie électronique à balayage (M E B). Les individus destinés à la M E B ont été fixés au liquide de Bouin pendant 24 h (parfois après anesthésie dans une solution d'éthanol 5% dans de l'eau de mer pendant 10 min), déshydratés dans des solutions d'éthanol de concentrations croissantes, sèchés par la méthode du point critique en utilisant le CO₂ comme liquide de transition (appareil à point critique Polaron), collés sur des supports en aluminium, métallisés à l'or (métalliseur Jeol JFC-1100E) et observés à l'aide d'un microscope électronique à balayage Philips 515 ou Jeol JSM 6100.

D. ETUDE ETHO-ECOLOGIQUE

D. ETUDE ETHO-ECOLOGIQUE

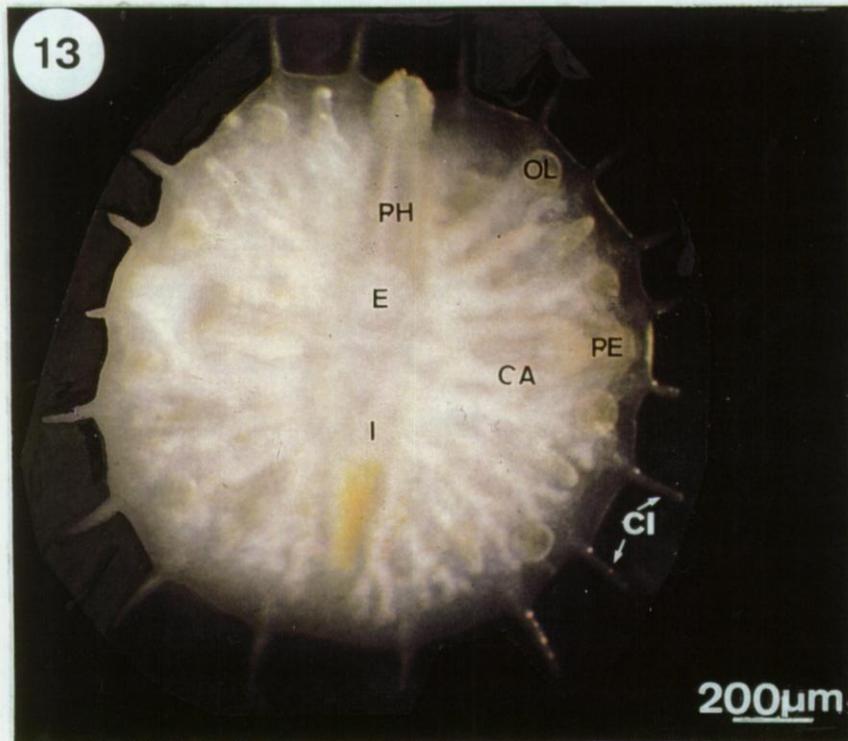
1. Présentation de l'hôte, *Antedon bifida*

Antedon bifida, crinoïde comatuléen de la famille des Antedonidae, a une durée de vie estimée à une année (Lahaye *et al.* 1990). Espèce gonochorique et semelpare, elle se reproduit de mai à juillet, période à l'issue de laquelle les individus qui se sont reproduits meurent (Lahaye *et al.* 1990). La fécondation est externe et l'embryogénèse aboutit à l'élosion d'une larve pélagique et lécitotrophe, la doliolaria (Lahaye 1987). Après environ 48 heures de vie pélagique, la doliolaria se fixe au substrat. Elle mettra quelque six jours pour se métamorphoser (l'individu métamorphique est dit cystidéen) en un individu exotrophe pédonculé, le pentacrinoïde (Lahaye 1987). La longévité du pentacrinoïde est d'environ 110 jours au terme desquels la couronne pentacrinoïdienne se détachera de son pédoncule, donnant ainsi naissance à une comatule juvénile (Lahaye 1987). Le juvénile, tout comme l'adulte, est formé d'une partie centrale, le calice, d'où partent dix bras rayonnants. Chaque bras porte de part et d'autre et de façon alterne un grand nombre de structures appelées pinnules (Fig. 11). Le calice est en forme de cône inversé. Il présente à son pôle inférieur des structures en serres, les cirres, qui permettent l'accrochage de la comatule au substrat. Le pôle supérieur du calice est élargi et comprend une bouche centrale et un cône anal décentré à l'apex duquel s'ouvre l'anus. De la bouche partent cinq sillons ciliés, les sillons ambulacraires, qui se divisent chacun en deux pour longer la face orale de chaque bras où ils donnent naissance de façon répétitive à un grand nombre de branches latérales qui courrent chacune jusqu'à l'extrémité d'une pinnule (Fig. 12). Chacun des sillons ambulacraires est bordé de part et d'autre par des tentacules (ou podia) et par des languettes (Fig. 12). Les podia sont des organes permettant la capture des particules alimentaires (certains podia pinnulaires) ou régulant le trajet des particules charriées vers la bouche (d'autres podia pinnulaires et tous les podia brachiaux et calicinaux) (Lahaye & Jangoux 1985). Les languettes sont des structures de protection qui viennent recouvrir les sillons ambulacraires, et donc les podia, en cas de danger.

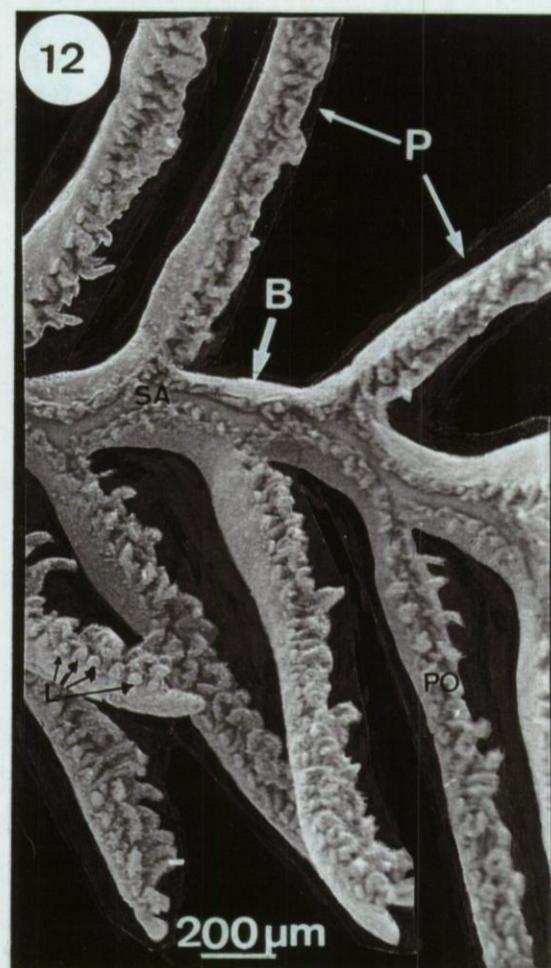
11



13

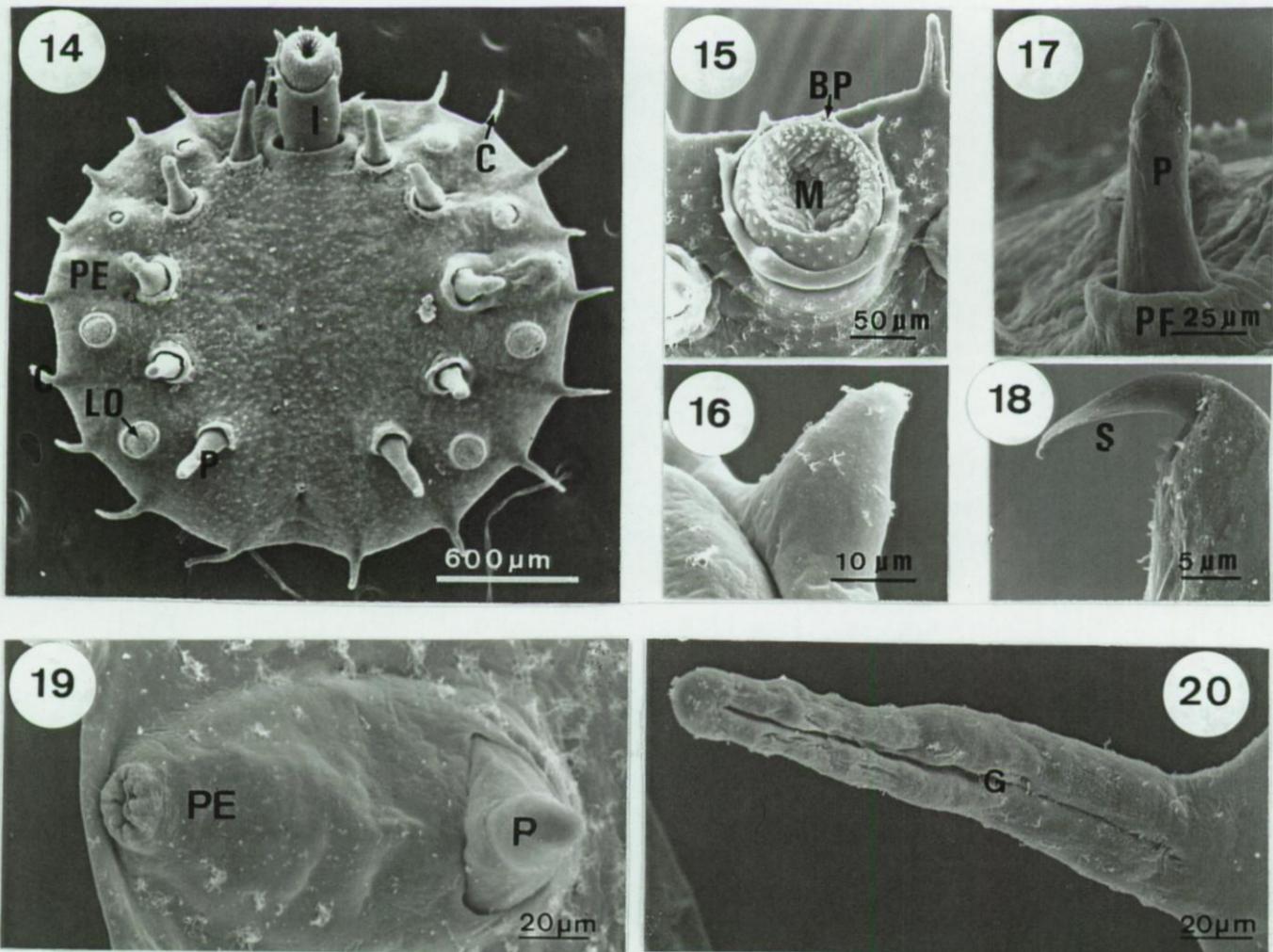


12



Figs 11 à 13. Le couple symbiotique *Antedon bifida*-*Myzostoma cirriferum*. Vue générale de l'hôte, *A. bifida* et du symbioète *M. cirriferum* (MO; Figs 11 et 13, respectivement) et de détail d'une portion de bras d'*A. bifida* (MEB; Fig. 12).

Abréviations. B: bras; C: cirre de la comatule; CA: caecum; CI: cirre du myzostome; E: estomac; I: intestin; L: languette; OL: organe latéral; P: pinnule; PE: pénis; PH: pharynx; PO: podia; SA: sillon ambulacraire.



Figs 14 à 20. *Myzostoma cirriferum*. Anatomie externe d'un individu adulte (MEB).

Fig. 14. Vue générale de la face ventrale.

Figs 15, 16. Vue supérieure de l'introvert (15) et détail d'une papille buccale (16).

Figs 17, 18. Vue générale d'une parapode (17) et détail d'une soie parapodiale (18).

Fig. 19. Vue du pénis gauche et de la parapode qui lui est associé (il s'agit de la parapode n°3).

Fig. 20. Vue ventrale d'une cirre.

Abréviations. BP: papille buccale; C: cirre; G: sillon; I: introvert; L: lèvre; LO: organe latéral; M: bouche; P: parapode; PE: pénis; PF: repli parapodial; S: soie.

2. Cycle vital et mode d'infestation de *Myzostoma cirriferum*

2.1. Description du cycle vital

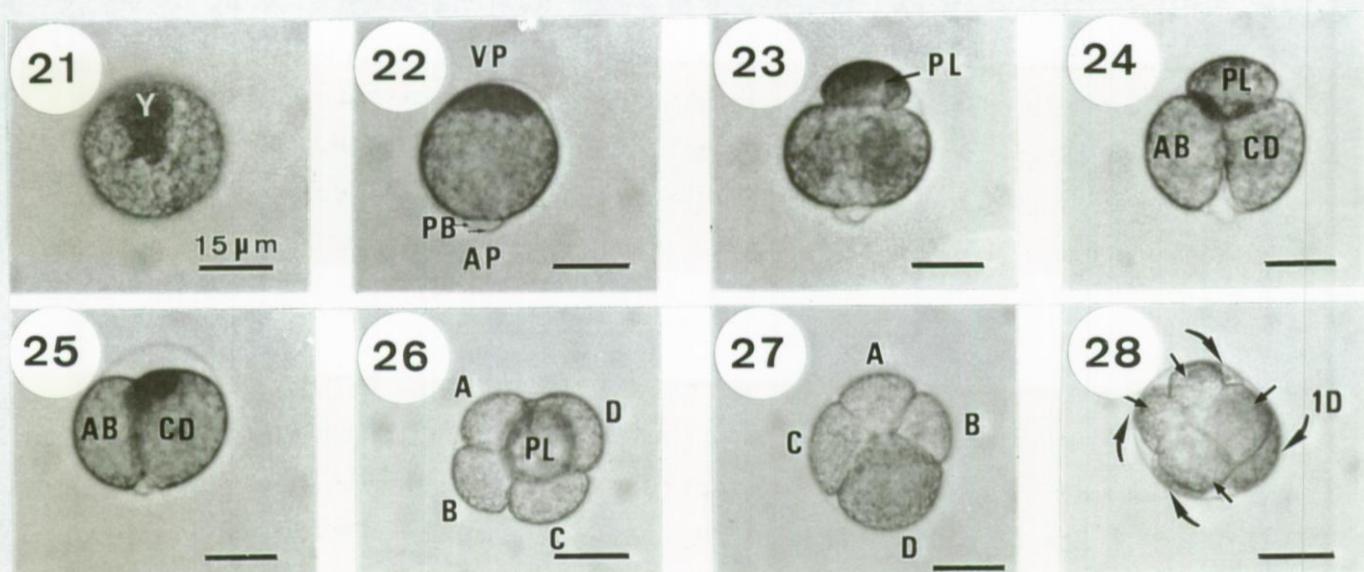
Morphologie de l'adulte. Les individus adultes de *Myzostoma cirriferum* sont légèrement colorés en orange, rose ou rouge. Ils sont translucides, ce qui permet l'observation de certains organes internes tels que l'appareil digestif ou la paire de vésicules séminales (Fig. 13). Le corps de *M. cirriferum* est formé d'un court introvert antérieur cylindrique et d'un large tronc postérieur ovoïde et aplati dorso-ventralement (Fig. 14). L'introvert mesure environ 600 µm de long pour 150 µm de diamètre chez les plus grands individus. C'est un organe extensible: il peut s'étendre ou se rétracter dans une poche antéro-ventrale du tronc (Figs 14, 15). A son apex s'ouvre une bouche entourée d'une lèvre elle-même bordée de quatre paires de papilles buccales (Figs 14, 15, 16). Le tronc des adultes mesure de 0,7 à 2,4 mm de long. Dans sa région postéro-ventrale se situent un anus et un pore génital femelle. On note la présence, sur la face ventrale du tronc, de parapodes (cinq paires), d'organes latéraux (quatre paires) et de pénis (une paire); chaque élément d'une même paire se situant près de la périphérie du tronc, de part et d'autre du plan sagittal de l'individu (Fig. 14). Les parapodes sont des cônes tégumentaires de quelque 100 µm de long entourés à leur base d'un repli tégumentaire annulaire et présentant à leur apex l'extrémité d'une soie en forme de crochet (Figs 17, 18). Les organes latéraux alternent avec les parapodes (Fig. 14). Ils sont formés d'un dôme microvilleux et cilié de 100 µm de diamètre associé à un repli tégumentaire. Ce sont des organes extensibles: rétractés, le dôme est recouvert par le repli tégumentaire, alors qu'étendus, le dôme est découvert et entouré par le repli. Les pénis sont situés à hauteur des parapodes de la troisième paire, ce sont des organes cylindriques de 100 µm de long à l'apex desquels s'ouvrent les pores génitaux mâles (Fig. 19). A la marge du tronc s'observent dix paires de cirres, appendices en forme d'aiguille mesurant de 60 à 100 µm de long (rétractés ou étendus, respectivement) (Fig. 20).

Reproduction, ponte et début d'embryogénèse. La reproduction chez *M. cirriferum* s'effectue par transfert de spermatophore d'un individu donneur vers un individu receveur, transfert qui permettra ultérieurement la fécondation interne des ovocytes matures du receveur*. Les œufs fécondés (Fig. 21) sont évacués dans le milieu extérieur par le pore génital femelle.

* La structure et le fonctionnement des appareils reproducteurs ainsi que les modalités de la reproduction font l'objet du chapitre G.

Tableau 6. Chronologie du début de l'embryogénèse de *Myzostoma cirriferum* (de la première division de maturation au stade 8 blastomères).

Temps écoulé après la ponte (min)	Événements
120	Première division de maturation (1er globule polaire)
130	Seconde division de maturation (2ème globule polaire)
135	Apparition du premier lobe polaire
138	Premier clivage (formation d'un stade 2 blastomères avec lobe polaire)
145	Le premier lobe polaire fusionne avec le blastomère CD (formation du véritable stade 2 blastomères)
158	Apparition du second lobe polaire
159	Second clivage (formation d'un stade 4 blastomères avec lobe polaire)
168	Le second lobe polaire fusionne avec le blastomère D (formation du véritable stade 4 blastomères)
198	Apparition du troisième lobe polaire et commencement du troisième clivage (division du blastomère D)
205	Division des blastomères A, B, C et fusion entre le troisième lobe polaire et le blastomère 1D (formation du véritable stade 8 blastomères)



Figs 21 à 28. *Myzostoma cirriferum*. Les premières étapes de l'embryogénèse (MO).

Fig. 21. Oeuf fécondé venant d'être pondu.

Fig. 22. Oeuf après deux divisions de maturation.

Fig. 23. Apparition du premier lobe polaire.

Fig. 24. Stade 2 blastomères recouvert d'un lobe polaire.

Fig. 25. Stade 2 blastomères.

Fig. 26. Stade 4 blastomères recouvert d'un lobe polaire (le lobe polaire est situé sous les blastomères).

Fig. 27. Stade 4 blastomères.

Fig. 28. Stade 8 blastomères.

Abréviations. AP: pôle animal; PB: globule polaire; PL: lobe polaire; VP: pôle végétal; Y: vitellus.

L'embryogénèse se déroule en pleine eau selon une chronologie résumée dans le Tableau 6. A 20°C, la première division de maturation a lieu deux heures après la ponte: du pôle animal émerge le premier globule polaire; le second globule polaire apparaît 10 min plus tard (Fig. 22). La segmentation est spirale et a pu être suivie jusqu'au stade 8 blastomères. Le premier clivage est précédé par la formation d'un premier lobe polaire au pôle végétal (2h 15 min après la ponte): l'oeuf s'étrangle perpendiculairement à l'axe animal-végétal (axe A-V) (Fig. 23). Presque simultanément, l'oeuf se divise parallèlement à l'axe A-V donnant naissance à un stade 2 blastomères (blastomères AB et CD) recouvert par un lobe polaire (Fig. 24). Peu après, le lobe polaire fusionne avec le blastomère CD ce qui amène la formation d'un stade 2 blastomères "régulier" (Fig. 25). Le second clivage (2h 38 min) est précédé par la formation d'un second lobe polaire qui se forme par un étranglement du blastomère CD. Presque simultanément, le blastomère AB et la partie non polaire du blastomère CD se divisent, donnant naissance à un stade 4 blastomères (blastomères A, B, C et D) recouvert par un lobe polaire (Fig. 26). Peu après (2h 48 min), le lobe polaire fusionne avec le blastomère D, donnant naissance à un stade 4 blastomères régulier (Fig. 27). Durant ce second clivage, les deux globules polaires ont régressé et disparu. Le troisième clivage (3h 18 min) est également précédé par la formation d'un troisième lobe polaire qui se forme par étranglement du blastomère D. Les quatre blastomères se divisent presque simultanément (3h 25 min) et le lobe polaire finit par fusionner avec le blastomère 1D pour donner naissance au stade 8 blastomères régulier (Fig. 28).

Développement larvaire. Le suivi de larves en élevage a permis de reconnaître quatre stades larvaires successifs: la protrochophore, la trochophore, la métatrochophore et la larve métamorphique. La protrochophore est sphérique et mesure 30 (18 h après la ponte) à 40 µm de diamètre (48 h après la ponte) (Fig. 29). La prototroche (*i. e.*, la touffe ciliée équatoriale) divise son corps en deux parties, l'hyposphère et l'épisphère (à l'apex de l'épisphère se situe une touffe ciliée; Fig. 29). La trochophore est pyriforme (l'hyposphère s'étant légèrement allongée) et mesure de 40 (48 h après la ponte) à 50 µm de long (72 h après la ponte) (Fig. 30). La métatrochophore est également pyriforme et mesure de 50 (72 h après la ponte) à 70 µm de long (10 jours après la ponte) (Figs 31, 32). Elle présente deux groupes de quatre soies latérales denticulées qui atteignent une longueur de 150 µm après 10 jours de vie larvaire (Fig. 35). Dès le quatrième jour, la métatrochophore acquiert une bouche antéro-ventrale (localisée à hauteur de la prototroche scindée chez elle en plusieurs touffes ciliées), un pygydium extensible de 5 à 15 µm de long (selon qu'il est rétracté ou étendu) et une couronne ciliée hyposphérique entourant le pygydium (Figs 32, 36). Vers le cinquième jour, une touffe de cils raides apparaît à l'extrémité du pygydium (Fig. 36). La larve métamorphique ne possède ni cils ni soies (la perte des soies précède celle de la ciliature) (Figs 33, 34). Cette larve, qui mesure 70 µm de

Figs 29 à 42. *Myzostoma cirriferum*. Illustrations des développements larvaire et postmétamorphique (MEB).

Fig. 29. Larve protrochophore.

Fig. 30. Larve trochophore.

Figs 31, 32. Larves métatrochophores jeune (31) et âgée (32).

Figs 33, 34. Larves métamorphiques jeune (33) et âgée (34).

Figs 35, 36. Détail d'une soie (35) et du pygydium (36) d'une métatrochophore.

Figs 37 à 41. Juvéniles de 70 (37), 100 (38), 200 (39), 300 (40) et 400 µm (41) de long.

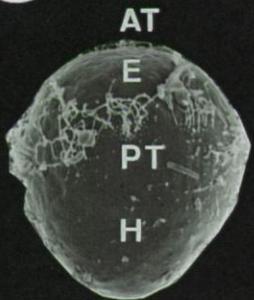
Fig. 42. Stade mâle.

Abréviations. A: anus; AT: touffe ciliée apicale; BP: papille buccale; C: cils; CI: cirre; E: épisphere; H: hyposphère; HC: couronne ciliée hyposphérique; I: introvert; LO: organe latéral; M: bouche; P: parapode; PE: pénis; PT: prototroche; PY: pygydium; S: soie; T: tronc..

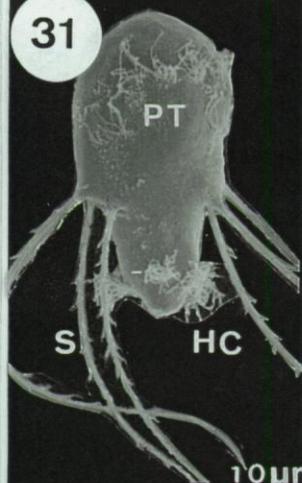
29



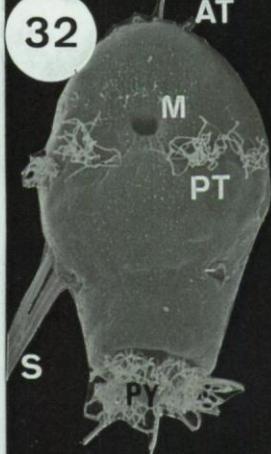
30



31



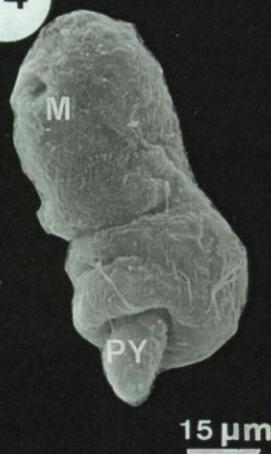
32



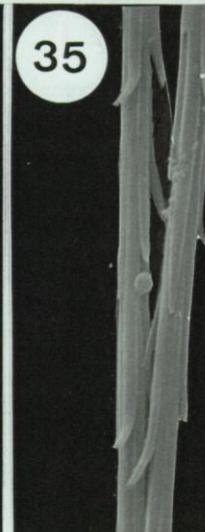
33



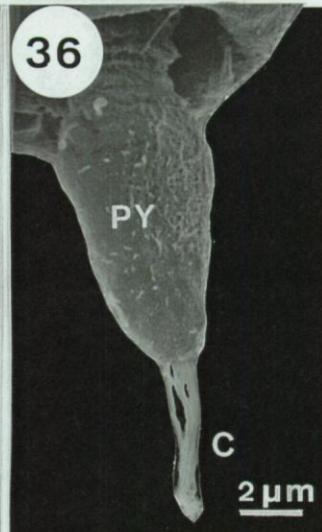
34



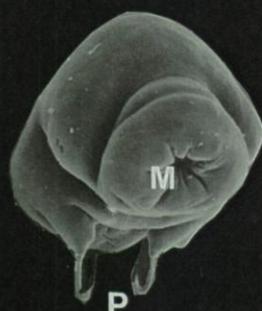
35



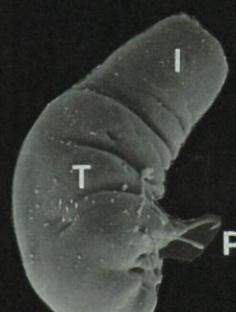
36



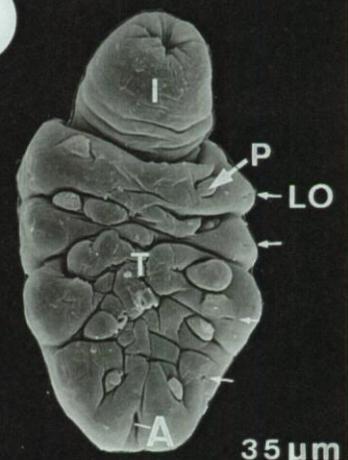
37



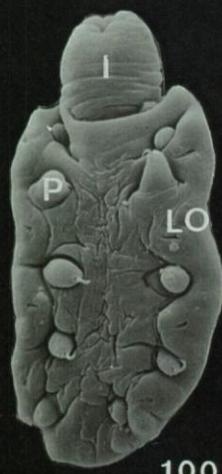
38



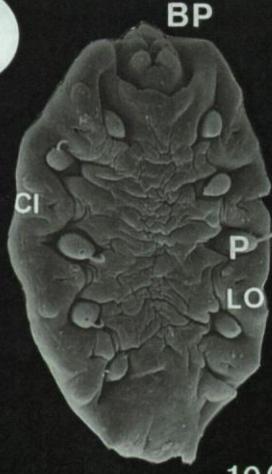
39



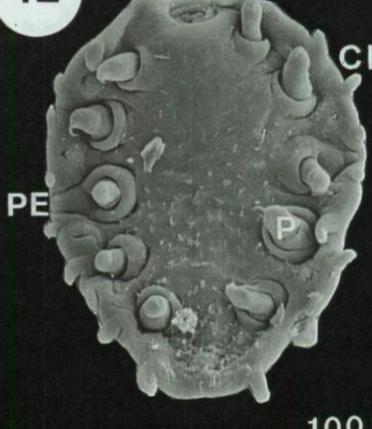
40



41



42



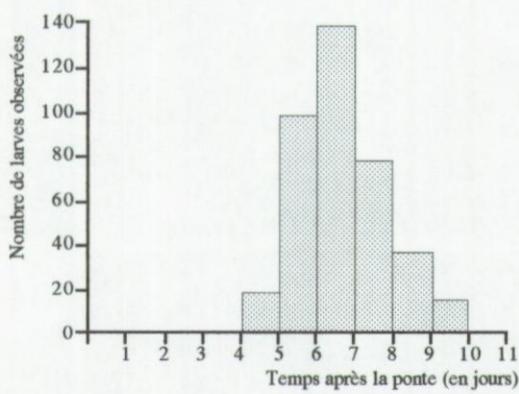


Fig. 43. Moment d'apparition des larves métamorphiques de *Myzostoma cirriferum* dans des élevages larvaires réalisés *in vitro*.

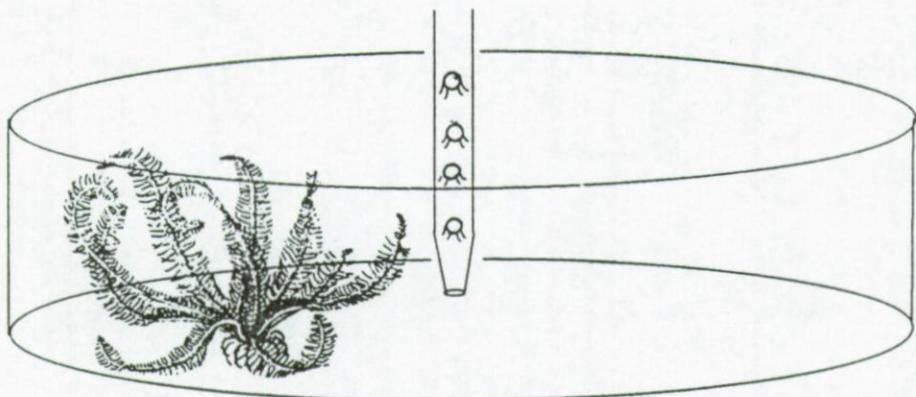
long et est plissée ventralement, peut apparaître dès le cinquième jour après la ponte; cependant, la transformation en larves métamorphique s'effectue majoritairement vers le septième jour (Fig. 43). La figure 43 renseigne les moments d'apparition des larves métamorphiques dans une culture larvaire comprenant au départ 394 oeufs provenant tous d'une même ponte. Elle montre que la transformation des métatrocophores en larves métamorphiques est maximale lors du septième jour, et que le dixième jour, cette transformation a touché toutes les larves. Dans les conditions de laboratoire, les larves métamorphiques meurent 12 à 14 jours après la ponte.

Développement postmétamorphique. On peut distinguer trois stades postmétamorphiques: les stades juvénile, mâle et hermaphrodite.

Blanchâtre et légèrement translucide, le juvénile ne renferme ni spermatozoïde ni ovocyte mature et mesure de 70 à 500 µm de long (Figs 37, 38). Le plus petit juvénile observé mesurait 70 µm de long pour 30 µm de large (Fig. 37). En forme de pois et plissé ventralement, son corps est divisé en deux parties relativement cylindriques: une partie antérieure étroite et une partie postérieure plus large qui correspondent respectivement au futur introvert et au futur tronc de l'adulte. La bouche s'ouvre à l'apex du futur introvert qui n'est, à ce moment, pas encore rétractile (Figs 37, 38). La partie postérieure, qui correspond au deux tiers de la longueur totale du corps, porte une paire de parapodes ventraux (correspondant à la troisième paire de parapodes de l'adulte). Lorsque le myzostome juvénile atteint 200 µm de long, l'introvert et le tronc sont mieux différenciés. L'introvert est alors légèrement enfoncé dans une dépression du tronc qui formera la poche de l'introvert (Fig. 39). Sur le tronc s'observent, l'anus (postéro-ventral), cinq paires de petits parapodes et quatre paires d'organes latéraux en forme de fente (Fig. 39). Le juvénile de 300 µm de long possède en plus quatre paires de papilles buccales entourant la bouche (Fig. 40). A 400 µm de long, le juvénile commence à ressembler à l'adulte: l'introvert est pratiquement totalement rétracté dans le tronc qui est maintenant fortement aplati et possède six paires de cirres marginaux (Fig. 41).

De couleur similaire à celle du juvénile, le mâle renferme des spermatozoïdes et dispose d'un tractus génital mâle bien différencié. Il mesure entre 500 et 700 µm de long. L'introvert peut se rétracter totalement dans le tronc, ce dernier est devenu aussi large que long et possède tous ses appendices: cinq paires de parapodes, quatre paires d'organes latéraux, dix paires de cirres marginaux et une paire de pénis (Fig. 42).

A



B

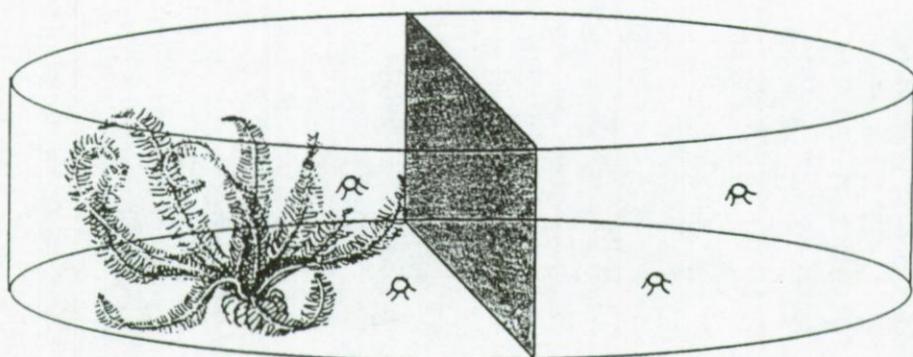


Fig. 44 A, B. Schémas illustrant la méthode utilisée pour tester le pouvoir attracteur d'*Antedon bifida* sur les larves de *Myzostoma cirriferum*. Au début de chaque test, les larves sont déposées au centre d'une boîte de Pétri dans laquelle séjourne une comatule (A). A la fin de chaque test, une cloison en plastique divise la boîte de Pétri en deux parties équivalentes où sont recensés les nombres des larves (B).

De plus en plus coloré au fur et à mesure qu'il grandit, l'hermaphrodite ou myzostome adulte renferme des spermatozoïdes, des ovocytes matures et des tractus génitaux mâle et femelle bien différenciés. Il mesure entre 700 et 2400 µm de long.

2. 2. Comportement des larves et des individus postmétamorphiques

Comportement larvaire. La larve devient mobile 18 h après la ponte. Entre 18 et 24 h, la protrochophore tourne sur elle-même dans le sens contraire des aiguilles d'une montre mais elle est incapable de se déplacer (elle tourne "sur place"). Entre 24 et 72 h, les larves protrochophores puis trochophores nagent en se dirigeant droit devant elles tout en tournant sur elles-même. Avec l'apparition des soies (72 h), la nage de la métatrochophore change: tournant toujours sur elle-même, la trajectoire de son déplacement n'est plus droite mais spirale, les spires s'effectuant dans le sens contraire des aiguilles d'une montre. A partir du cinquième jour, la métatrochophore devient moins mobile et s'arrête souvent de nager. Elle montre également une tendance certaine à s'accrocher à toute particule sestonique se trouvant dans la colonne d'eau ainsi qu'au fond des récipients d'élevage. La larve métamorphique est capable de nager durant quelques heures à la manière d'une métatrochophore. Elle devient ensuite immobile, conséquence de la perte de sa ciliature.

Pour répondre à la question de savoir si *A. bifida* exerce une attraction sur les larves de *M. cirriferum*, 16 lots de larves ont été constitués. Les lots comprenaient de 34 à 58 larves de même âge (soit quatre lots de protrochophores âgées de 1 jour, quatre lots de trochophores âgées de 2 jours, quatre lots de métatrochophores âgées de 3 jours et quatre lots de métatrochophores âgées de 6 jours) Au début de chaque test, le lot à tester était placé dans une boîte de Pétri de 10 cm de diamètre où se trouvait une comatule (cette dernière était disposée d'une manière telle qu'elle se situait dans une des deux moitiés de la boîte) (Fig. 44 A). A la fin de chaque test - soit 1h, 3h, 5h ou 15h après la mise en présence des larves et de l'hôte - on notait la répartition des larves dans la boîte: pour ce faire, on divisait la boîte de Pétri en deux parties équivalentes par une cloison en plastique, l'une des parties incluant la comatule, et le nombre de larves dans chaque partie était alors dénombré (Fig. 44 B). Le Tableau 7 rassemble les résultats obtenus. Au total 761 larves ont été utilisées (197 protrochophores, 211 trochophores, 177 métatrochophores de 3 jours et 176 métatrochophores de 6 jours). Aucun stade larvaire n'est attiré par *A. bifida* (seuil de signification $p=0,05$; test Khi-deux) à une

exception près: le cas des métatrochophores âgées de 6 jours mises en présence durant une heure avec un *A. bifida* (seuil de signification $p=0,05$; test Khi-deux). Ce dernier résultat nécessitant d'être vérifié, cinq lots comprenant de 39 à 54 métatrochophores âgées de 6 jours ont été testés. Chaque lot était placé dans une boîte de Pétri en présence d'une comatule durant 1h. Les résultats de ces tests sont rassemblés dans le Tableau 8: ils montrent que les métatrochophores âgées de 6 jours utilisées ici ne sont pas attirées par *A. bifida* (seuil de signification $p=0,05$; test Chi deux).

Tableau 7. Tests du pouvoir attracteur d'*Antedon bifida* sur les larves de *Myzostoma cirriferum*. Le tableau indique les nombres des larves de *M. cirriferum* recensées dans les deux parties - A ou B - de la boîte de Pétri (la partie A est celle où se trouve la comatule).

Durée des tests	Protrochophores (âgées de 1 jour)		Trochophores (âgées de 2 jours)		Métatrochophores (âgées de 3 jours)		Métatrochophores (âgées de 6 jours)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
1h	20	25	30	23	20	24	30	4
3h	30	20	10	32	16	24	18	20
5h	20	30	33	25	25	30	22	27
15h	25	27	20	28	20	18	30	25

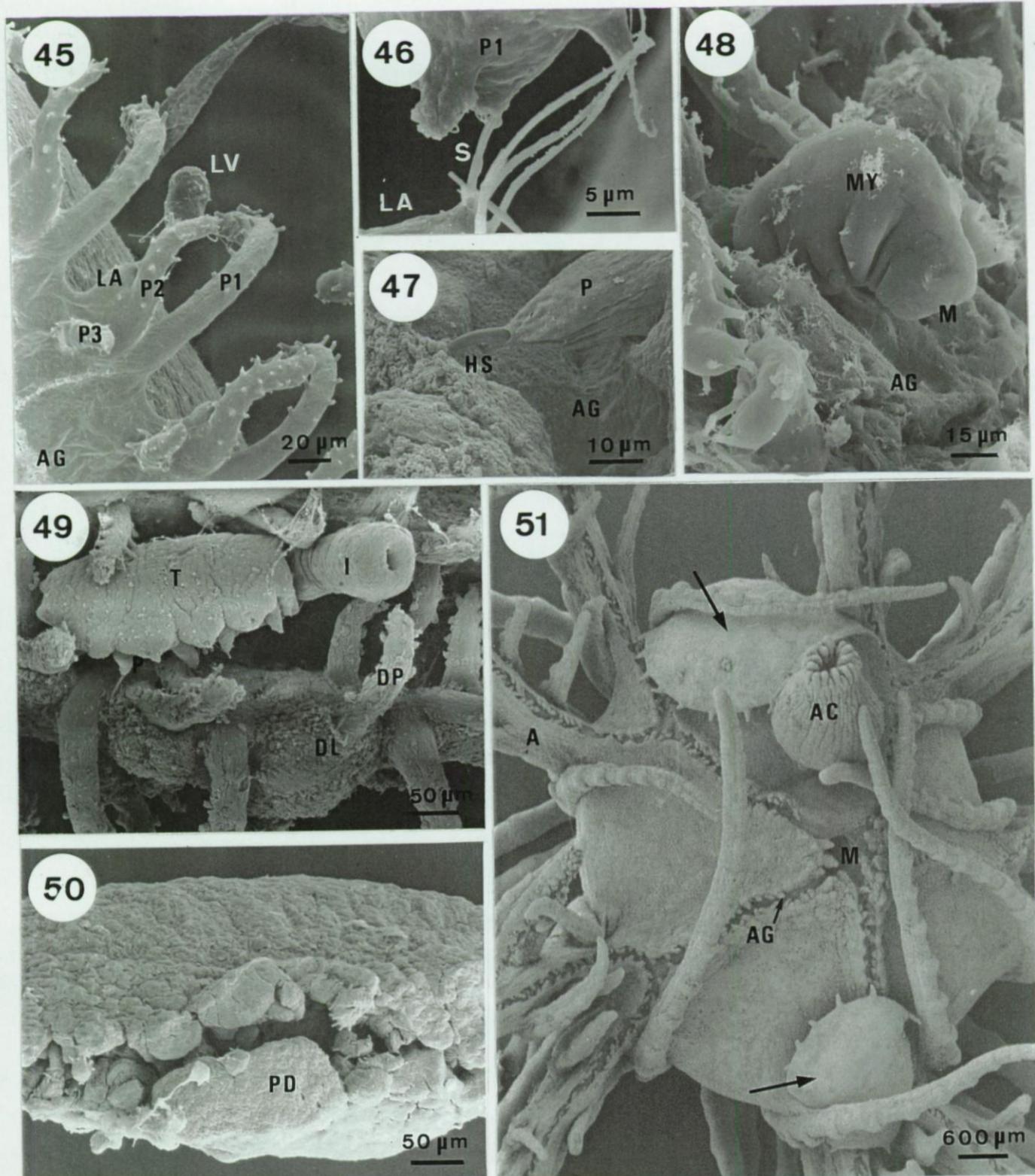
Tableau 8. Tests du pouvoir attracteur d'*Antedon bifida* sur les métatrochophores de *Myzostoma cirriferum* âgées de 6 jours. Le tableau indique les nombres des métatrochophores recensées dans les deux parties - A et B - de la boîte de Pétri (la partie A est celle où se trouvait la comatule). La durée de chaque test est de 1h.

Métatrochophores (âgées de 6 jours)	
A	B
31	22
28	26
25	21
22	27
20	19

Pour répondre à la question de savoir si la présence d'un *A. bifida* favorise la métamorphose des larves de *M. cirriferum*, dix lots de larves ont été utilisés: cinq lots ont été testés, les cinq autres ont servi de contrôle. Les lots comprenaient de 32 à 49 métatrocophores âgées de 6 jours. Chaque lot testé a été placé dans une boîte de Pétri contenant un *A. bifida*. Chaque lot contrôle a été placé dans une boîte de Pétri vide (*i. e.*, sans comatule). 15 h après le début de l'expérimentation, le nombre de larves sans soie (*i. e.*, les larves métamorphiques) et celui des larves avec soies (*i. e.*, les métatrocophores) étaient recensés. Les résultats de ces tests sont exposés dans le Tableau 9. Ils montrent que la présence d'une comatule n'influence pas la métamorphose larvaire (seuil de signification $p=0,05$; test Khi-deux).

Tableau 9. Test de l'effet de la présence d'*Antedon bifida* sur l'entrée en métamorphose des larves de *Myzostoma cirriferum*. Le tableau rassemble les résultats de cinq tests et d'autant de contrôles et renseigne les nombres de larves métamorphiques et non métamorphosées observés après 15h dans des boîtes de Pétri contenant (test) ou non (contrôle) une comatule.

Test			Contrôle		
Lots	Nombre de larves testées	Nombre de larves métamorphiques/non métamorphosées	Lots	Nombre de larves testées	Nombre de larves métamorphiques/non métamorphosées
1t	47	17/30	1c	39	12/27
2t	36	10/26	2c	49	15/34
3t	45	8/37	3c	39	7/32
4t	44	20/24	4c	48	22/26
5t	47	15/32	5c	32	12/20
Total:			Total:		
70/149			68/139		



Figs 45 à 51. *Myzostoma cirriferum*. Comportement des larves infestantes et des individus postmétamorphiques (MEB).

Figs 45, 46. Vues générale (45) et de détail (46) de l'attachement d'une larve infestante sur un podia pinnulaire.

Fig. 47. Vue d'une parapode d'un individu postmétamorphique ancrée dans le tégument du sillon ambulacraire de l'hôte.

Figs 48, 49. Individus pinnulaires de 100 (48) et 400 µm de long (49).

Fig. 50. Déformation pinnulaire créée par un myzostome.

Fig. 51. Individus vagiles sur le calice de l'hôte (flèches).

Abréviation. A: bras; AC: cône anal; AG: sillon ambulacraire; DL: languette déformée; DP: podia déformé; HS: soie parapodiale; I: introvert; LA: languette; LV: larve; M: bouche; MY: myzostome; P: parapode; P1, P2, P3: podia primaire, secondaire, tertiaire; PD: déformation pinnulaire; S: soie larvaire; T: tronc.

On a également tenté d'infester expérimentalement des *A. bifida* maintenus en aquariums en plaçant des protrochophores, des trochophores, des métatrochophores et des larves métamorphiques dans les parages immédiats de l'hôte. Les larves ont toutes et toujours été traitées par l'hôte comme n'importe quelle particule en suspension: lorsqu'une larve nage près d'une pinnule, elle est capturée par les podia pinnulaires. Toutefois, le devenir des larves capturées varie selon leur stade de développement. Lorsque des protrochophores, des trochophores ou des larves métamorphiques sont attrapées par les podia, ceux-ci se courbent et rabattent les larves dans les sillons ambulacrariaux. Dans la majorité des cas, ces larves sont rejetées à l'extérieur un peu en aval dans la gouttière sous l'action de podia et de languettes; dans les autres cas, les larves sont conduites jusqu'à la bouche de l'hôte qui les avale. En revanche, le devenir des métatrochophores capturées peut sensiblement varier. Certaines s'attachent passivement au podia qui les attrapent, leurs soies s'y enfonçant (Figs 45, 46). D'autres seront poussées par les podia dans le sillon ambulacraire où elles peuvent également s'attacher passivement par leurs soies. D'autres encore, qui ne s'attachent pas dans le sillon ambulacraire, seront rejetées dans la colonne d'eau par l'action combinée de podia et de languettes. D'autres enfin seront charriées par le courant ciliaire jusqu'à la bouche de l'hôte qui les avale pour les régurgiter ensuite suite à une contraction de la partie antérieure de son tube digestif.

Comportement postmétamorphique. Tout le développement postmétamorphique de *M. cirriferum* s'effectue sur son hôte, *A. bifida*. Deux types de comportement peuvent être distingués durant le développement postmétamorphique: l'un où les individus sont immobiles et fixés dans les sillons ambulacrariaux des pinnules de l'hôte (ces individus sont qualifiés de pinnulaires) et l'autre où les individus sont mobiles et se déplacent librement à la surface de l'hôte (ces individus sont qualifiés de vagiles).

Les individus pinnulaires sont jeunes; ils mesurent de 70 à 600 µm de long (Figs 48, 49). Ils sont toujours fixés dans les sillons ambulacrariaux des pinnules, majoritairement celles qui sont proches du calice, les pinnules distales étant rarement infestées. La distribution de ces individus a été observée et notée au cours du recensement effectué en mars 1989: plus de 70% d'entre eux se trouvaient dans les sillons des trente pinnules les plus basales de chacun des bras de l'hôte (Fig. 52). Les individus pinnulaires se fixent par leurs soies parapodiales, leur face ventrale faisant toujours face au fond du sillon ambulacraire, et leur partie antérieure (*i. e.*, leur futur introvert) étant toujours dirigé vers l'aval du sillon (Figs 47, 48, 49). Les pinnules infestées le sont généralement par un seul myzostome, rarement par deux. Lorsqu'ils mesurent

52

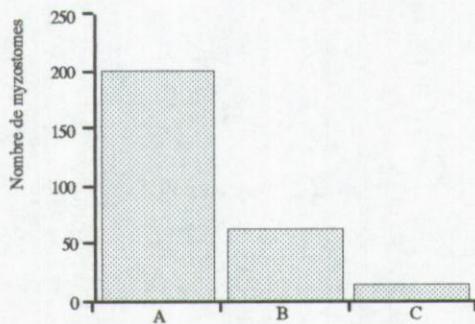


Fig. 52. Histogramme illustrant la position des *Myzostoma cirriferum* observés dans les sillons ambulacrariaires des pinnules d'*Antedon bifida* (mars 1989). Les catégories A, B, C désignent respectivement les trente pinnules les plus basales de chaque bras, les 30 pinnules suivantes et les pinnules situées au-delà des soixante pinnules les plus basales de chaque bras (nombre d'hôtes observés: 10).

53

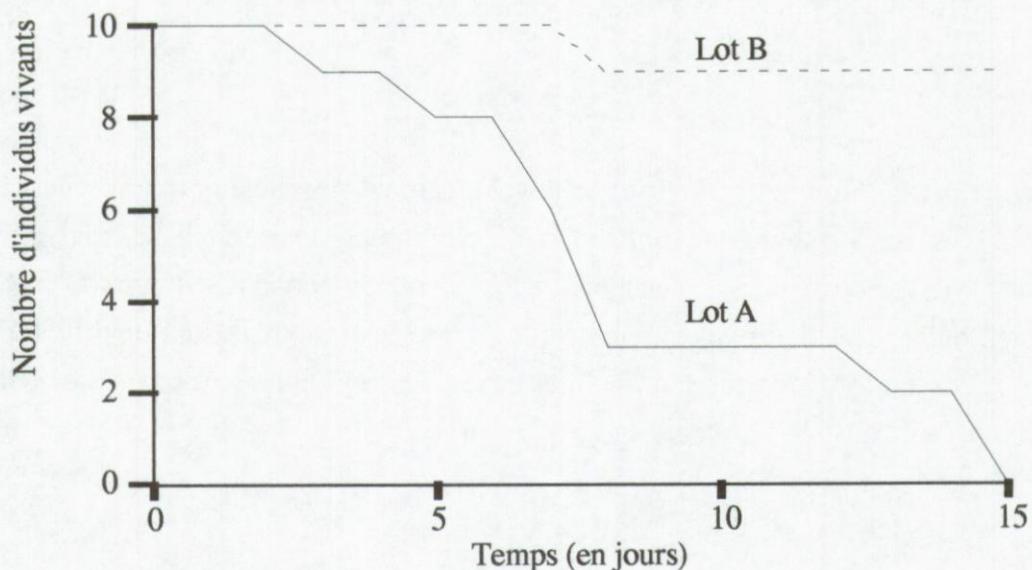


Fig. 53. Graphique illustrant le temps de survie de deux lots de dix *Myzostoma cirriferum*, les uns maintenus séparés de tout hôte (lot A, trait plein), les autres séparés de leurs hôtes puis réinstallés sur des *Antedon bifida* préalablement non infestés (lot B, trait pointillé).

moins de 500 µm de long, les individus sont fermement fixés aux pinnules; au delà de 500 µm, ils deviennent progressivement mobiles, les plus grands individus pinnulaires étant capables de se déplacer dans leur sillon. Les individus pinnulaires fixés provoquent des déformations asymétriques affectant l'un des côtés de la pinnule (Figs 49, 50). La déformation, en forme de toit, recouvre parfois le sillon sur toute sa largeur, la longueur de cette déformation dépendant de la taille du myzostome infestant (les plus grandes déformations mesuraient près de 450 µm de long).

A partir de 600 µm de long, les myzostomes deviennent totalement mobiles (individus vagiles) et leurs parapodes - qui servaient jusqu'alors d'appendices de fixation - leurs servent à présent d'appendices locomoteurs. Jusqu'à la taille de 1 mm de long, ils sont très mobiles et se retrouvent partout à la surface de l'hôte à l'exception des sillons ambulacrariaux à l'intérieur desquels ils ne pénètrent jamais. Ils peuvent ainsi parcourir un bras de comatule de quelque 4 cm de long en 2 à 3 secondes. Lorsqu'ils grandissent, ils deviennent moins mobiles et restent généralement confinés sur le calice de l'hôte (Fig. 51).

Séparés de leur hôte, les *M. cirriferum* sont incapables de marcher ou de nager. Pour estimer la capacité de survie des *M. cirriferum* postmétamorphiques après qu'ils aient été séparés de leurs hôtes, dix myzostomes adultes ont été retirés des comatules et placés dans une boîte de Pétri déposée dans un aquarium en circuit ouvert. La durée de survie de ces individus a été comparée à celle d'individus contrôles représentés par dix adultes séparés de leurs hôtes puis replacés sur des *A. bifida* jusqu'alors non infestés et déposés dans le même aquarium que les myzostomes maintenus séparés. Quinze jours après la séparation, tous les individus-tests étaient morts alors que neuf des dix individus contrôles étaient toujours vivants (Fig. 53).

La fidélité des *M. cirriferum* à leur hôte originel (*i. e.*, les *A. bifida* sur lesquels ils ont été prélevés) a été testée. Pour cela, on a présenté à des individus préalablement retirés de leurs hôtes différents types de substrats potentiels (Tableau 10). Lors du test, le myzostome une fois séparé de son hôte est placé dans une boîte de Pétri contenant de l'eau de mer filtrée, la face dorsale contre le fond de la boîte. Le substrat à tester, préalablement rincé à l'eau de mer pendant 10 min, est présenté au myzostome de façon telle qu'il touche la face ventrale de l'individu. Lors de l'attouchement, l'individu testé peut se comporter de trois façons différentes, façons qui ont été chaque fois répertoriées: (1) l'individu s'agrippe fermement au substrat pendant plus de 10 secondes puis se déplace à sa surface, (2) l'individu s'agrippe

Tableau 10. Réponses de *Myzostoma cirriferum* isolés mis en présence de substrats potentiels. Réponse 1: l'individu s'agrippe fermement au substrat pendant plus de 10 secondes puis se déplace à sa surface; réponse 2: l'individu s'agrippe lâchement au substrat pendant moins de 10 secondes et s'en détache; réponse 3: l'individu ne s'agrippe pas au substrat.

	Substrats testés	Nombre de tests effectués*	Réponse des individus testés		
			1	2	3
Crinoïdes:	- Bras prélevé sur l'hôte originel	20	100	0	0
	- Bras prélevé sur un <i>A. bifida</i> qui n'était pas l'hôte originel	20	100	0	0
	- Bras prélevé sur l'hôte originel après qu'il ait été tué à l'eau distillée (bain de 10 min)	20	25	45	30
	- Bras prélevé sur l'hôte originel après qu'il ait été tué dans un tampon cacodylate de sodium ou dans un tampon sucre de 1000 mOsm/kg (bain de 10 min)	10	100	0	0
	- Bras de <i>Leptometra phalangium</i> (J. Müller)**	10	100	0	0
Astéries:	- Fragment de tégument d' <i>Asterias rubens</i> Linné	10	0	60	40
	- Fragment de tégument de <i>Marthasterias glacialis</i> (Linné)	14	15	70	15
Ophiures:	- Bras d' <i>Ophiotrix fragilis</i> (Abildgaard)	13	38	47	15
	- Bras d' <i>Ophiocomina nigra</i> (Abildgaard)	16	12	56	32
Echinides:	- Fragment de tégument de <i>Sphaerechinus granularis</i> (Lamarck)	10	0	80	20
Holothuries:	- Fragment de tégument d' <i>Holothuria forskali</i> Delle Chiaje	10	0	60	40
Substrats biotiques non échinodermiques:	- Fragments de tunique de <i>Phallusia mammillata</i> (Cuvier) (Urochordata)	10	0	0	100
	- Fragment de l'algue <i>Laminaria digitata</i> (Hudson) (Phophyceae)	10	0	0	100
Substrats abiotiques:	- Filtre Whatman	16	0	75	25
	- Filtre Whatman mis au contact d'un <i>A. bifida</i> pendant 10 min	16	12	88	0
	- Pâtes alimentaires cuites***	10	100	0	0

* Au total 215 tests ont été effectués. Ils ont impliqué l'emploi de 32 myzostomes différents. Chaque myzostome a subi une moyenne de 7 tests séparés de 15 en 15 minutes. Les substrats potentiels biotiques ont été prélevés sur des animaux vivants et présentés aux myzostomes soit directement après rinçage à l'eau de mer, soit après traitement (séjour dans de l'eau distillée ou dans un tampon d'osmolalité identique à celle de l'eau de mer) puis rinçage à l'eau de mer.

** Le test utilisant des *Leptometra phalangium* a été effectué à la Station Biologique Arago de Banyuls-sur-mer (France). Les *Leptometra* ont été récoltés par dragage (100 m de profondeur) en même temps que des *Antedon mediterranea* infestés par *M. cirriferum*.

*** Il s'agissait de capellini, pâtes dont le diamètre équivaut à celui d'un bras d'*A. bifida*. Des essais faits avec d'autres types de pâtes (aplaties - tagliatelle - ou plus larges - maccaroni-) n'ont jamais entraîné de réponse de type 1.

lâchement au substrat pendant moins de 10 secondes puis s'en détache, (3) l'individu ne s'agrippe pas au substrat. Le Tableau 10 rassemble les résultats obtenus. Les individus testés s'agrippent fermement et se déplacent volontier sur les bras d'*A. bifida* vivants ou tués dans un tampon d'osmolalité identique à celle de l'eau de mer, sur les bras de *L. phalangium* (une autre espèce de crinoïde) et sur certaines pâtes alimentaires cuites. En revanche, ils ne s'agrippent que lâchement sans jamais s'y déplacer sur les bras prélevés sur des *A. bifida* tués à l'eau distillée, sur les fragments vivants de tégument prélevés sur des échinodermes non crinoïdiens et sur des filtres Whatman. Les individus testés ne s'agrippent jamais à la tunique de *Phallusia mammillata*, ni au fragments de *Laminaria digitata*.

2. 3. La croissance

La vitesse de croissance de *M. cirriferum* a été estimée à partir de la mesure de l'accroissement au cours du temps de la longueur moyenne d'un échantillon de 52 individus postmétamorphiques placés sur 10 *A. bifida* non infestés à l'origine. Les *M. cirriferum* ont été séparés de leurs hôtes en mars 1991. L'échantillon a été constitué en prélevant les plus petits des individus vagiles. Une fois isolés, ces individus ont été rassemblés en dix groupes (neuf groupes de 5 individus et un groupe de 7 individus) puis replacés sur 10 *A. bifida* non infestés. Les comatules infestées expérimentalement ont ensuite été transférées du laboratoire de Roscoff vers celui de Wimereux où elles furent maintenues en vie dans un aquarium en circuit ouvert*. Toutes les trois semaines la longueur des myzostomes de l'échantillon a été mesurée: pour ce faire, les comatules sont retirées une à une de l'aquarium et placées dans une boîte de Pétri contenant de l'eau de mer; les myzostomes infestants sont alors repérés et séparés de leur hôte; ils sont placés dans une autre boîte de Pétri où leur longueur était mesurée; ils sont enfin réinstallés sur leur hôte et remis avec ces derniers dans l'aquarium.

L'étude de la croissance (accroissement de la longueur moyenne de l'échantillon) a pu être réalisée pendant 66 jours, après quoi une forte mortalité a décimé la population suivie (les caractéristiques des échantillons observés à chaque période sont reprises dans le Tableau 11).

*La température et la salinité de l'eau des aquariums de Roscoff et de Wimereux sont quasi similaires (10-13°C et 33‰ à Roscoff contre 10-13°C et 30‰ à Wimereux).

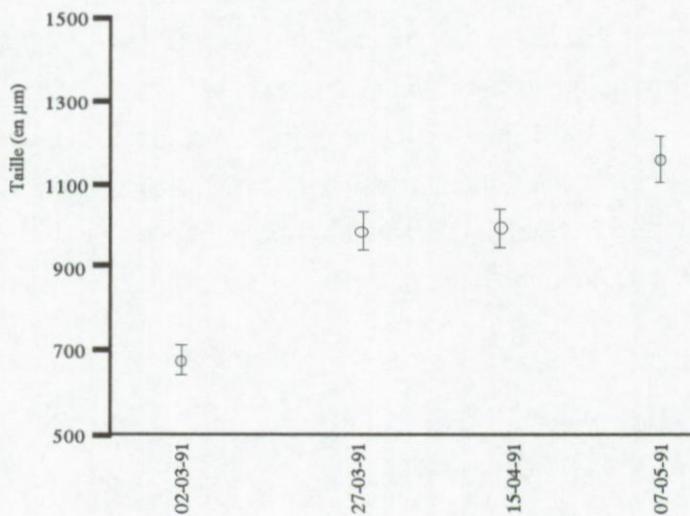


Fig. 54. Graphique illustrant l'accroissement de la longueur moyenne d'un échantillon de *Myzostoma cirriferum* élevé sur *Antedon bifida* en aquarium. Les barres verticales indiquent les intervalles de confiance à 95%.

- Etude étho-écologique -

La longueur moyenne de l'échantillon est passée de 0,675 à 1,160 mm de long durant ce laps de temps, ce qui correspond à un accroissement de la longueur moyenne de l'échantillon de 7 µm par jour (Fig. 54).

Tableau 11. Caractéristiques de l'échantillon de *Myzostoma cirriferum* élevé sur *Antedon bifida* en aquarium.

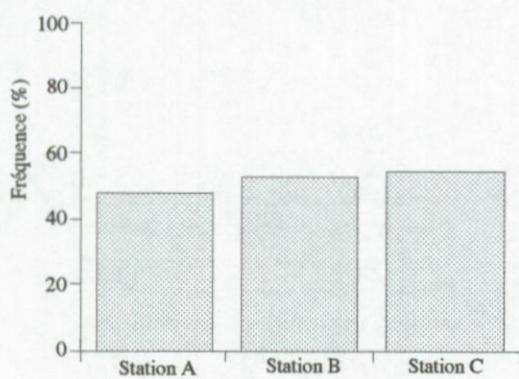
Date des observations	Nombre d'individus mesurés	Taille moyenne de l'échantillon (en µm)
02-03-91	52	675
27-03-91	47	980
15-04-91	49	995
07-05-91	43	1160
02-06-91	29	1090
22-06-91	15	955

3. Quantification de l'infestation

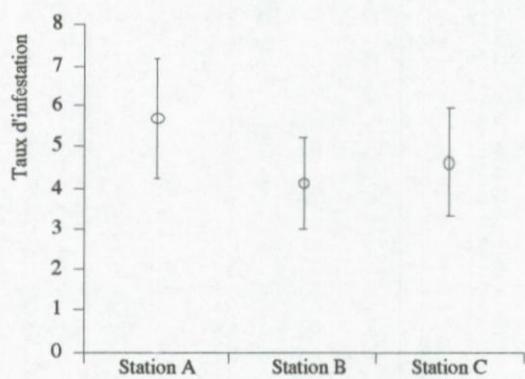
Myzostoma cirriferum est la seule espèce de symbiose obligatoire qui s'observe toute l'année sur les *Antedon bifida* de la population de Morgat. Outre elle, quatre espèces d'épibiontes facultatifs peuvent s'y retrouver au cours des mois de mai et juin: trois isopodes (*Talitrus saltator*, *Corophium volutator* et *Caprella linearis*) et un pycnogonide (*Nymphon gracile*). Des quatre, *Corophium volutator* et *Caprella linearis* sont les plus abondants (nous avons observé 20 individus de chaque espèce sur 101 comatules examinées en juin 1991) alors que *Talitrus saltator* et *Nymphon gracile* ne se rencontrent que très occasionnellement (respectivement 3 et 4 individus de ces espèces ont été observés sur l'échantillon de comatules examiné en juin 1991).

L'infestation d'*A. bifida* par *M. cirriferum* a été caractérisée par l'étude de deux paramètres: la fréquence d'infestation (F_i : le nombre d'*A. bifida* infestés dans la population, exprimé en %) et le taux d'infestation (T_i : le nombre moyen de *M. cirriferum* observés par *A.*

55



56



Figs 55 et 56. Fréquences (55) et taux (56) d'infestation des *Antedon bifida* récoltés aléatoirement en trois endroits distincts de la population de Morgat. Les barres verticales sur la figure 56 indiquent les intervalles de confiance à 95%.

bifida infesté). Ces deux paramètres ont été étudiés en fonction (1) de l'endroit prospecté dans la population d'*A. bifida*, (2) de la taille des *A. bifida* infestés et (3) de la saison.

3. 1. Fréquence et taux d'infestation en relation avec la localisation des comatules dans la population qu'elles forment

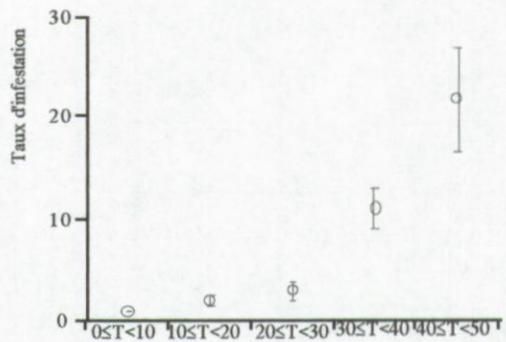
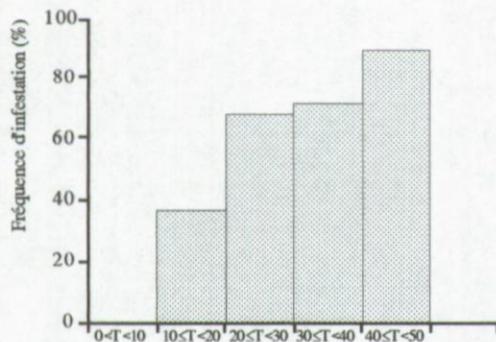
Au cours du mois de juin 1991, trois échantillonages de comatules furent effectués de façon aléatoire en trois stations différentes dans la population d'*A. bifida* (stations A, B et C), chaque station étant séparée des deux autres par une distance d'environ dix mètres (pour rappel, la population couvre une surface de quelque 200 m² et est installée à la base de blocs de béton immergés; voir "Matériel et méthodes"). Dans chaque station, un échantillon d'une trentaine de comatules de taille similaire a été prélevé (une analyse de la variance des tailles des trois échantillons nous indique que celles-ci peuvent être considérées comme identiques; seuil de signification p=0,05; test ANOVA). Les figures 55 et 56 illustrent respectivement les fréquences et taux d'infestation observés dans les trois échantillons analysés, échantillons dont les caractéristiques sont reprises dans le Tableau 12. Chacun des deux paramètres (F_i et T_i) peut être considéré comme identique dans les 3 échantillons (le test Khi-deux indique que la différence entre les fréquences d'infestation est statistiquement non significative au seuil de signification 0,05; le calcul de la variance indique que la différence entre les taux d'infestation est non significative au même seuil de signification).

Tableau 12. Caractéristiques des échantillons d'*Antedon bifida* prélevés en trois endroits différents de la population à Morgat.

Endroit de récolte	Nombre d' <i>A. bifida</i> récoltés	Longueur moyenne des échantillons d' <i>A. bifida</i> (longueur du bras en mm) \pm DS	Fréquence d'infestation (en %)	Taux d'infestation (min-max)
Station A	33	26,6 \pm 6,5	48	5,7 (1-18)
Station B	32	25,5 \pm 6,5	53	4,1 (1-10)
Station C	36	26,0 \pm 6,7	55	4,6 (1-15)

57

58



Figs 57 et 58. Fréquences (57) et taux (58) d'infestation observés parmi les cinq classes de taille d'*Antedon bifida* (analyse basée sur l'observation de 495 comatules récoltées au cours de 15 périodes de récolte). Les barres verticales de la figure 58 représentent les intervalles de confiance à 95%. T: longueur des bras des comatules (en mm)

3. 2. Fréquence et taux d'infestation en relation avec la taille des comatules

Aucun des *A. bifida* aux stades cystidéen et pentacrinoïde (*viz.*, les stades pédonculés métamorphique et postmétamorphique) que nous avons récoltés n'était infesté, seuls l'étaient les individus libres (*viz.*, le stade non pédonculé). Les bras de ces derniers, rassemblés au cours de quinze périodes de récolte, avaient une longueur comprise entre 6 et 49 mm; en conséquence, cinq classes de taille ont été définies, chacune d'une amplitude de 10 mm de longueur de bras. Les fréquences et taux d'infestation observés dans les cinq classes de taille des comatules sont illustrés par les figures 57 et 58. Les caractéristiques des *A. bifida* utilisés pour cette étude et de leurs myzostomes infestants sont détaillées dans le Tableau 13. Les fréquence et taux d'infestation sont pratiquement nuls pour les *A. bifida* de petite taille; ils sont d'autant plus élevés que la taille des comatules est plus grande (jusqu'à 21 myzostomes en moyenne par comatule de grande taille; Fig. 58).

Tableau 13. Caractéristiques de l'infestation observées dans cinq classes de taille d'*Antedon bifida* (rassemblés au cours de quinze périodes).

Classe de taille d' <i>A. bifida</i> (longueur du bras en mm)	Nombre d' <i>A. bifida</i> observés	Nombre de <i>M. cirriferum</i> recensés	Fréquence d'infestation (en %)	Taux d'infestation (min-max)
0 < T < 10	88	3	3,4	1 (1-1)
10 ≤ T < 20	171	150	37	2,4 (1-11)
20 ≤ T < 30	121	220	68	2,7 (1-12)
30 ≤ T < 40	65	493	71	10,7 (1-25)
40 ≤ T < 50	50	949	90	21,6 (2-71)

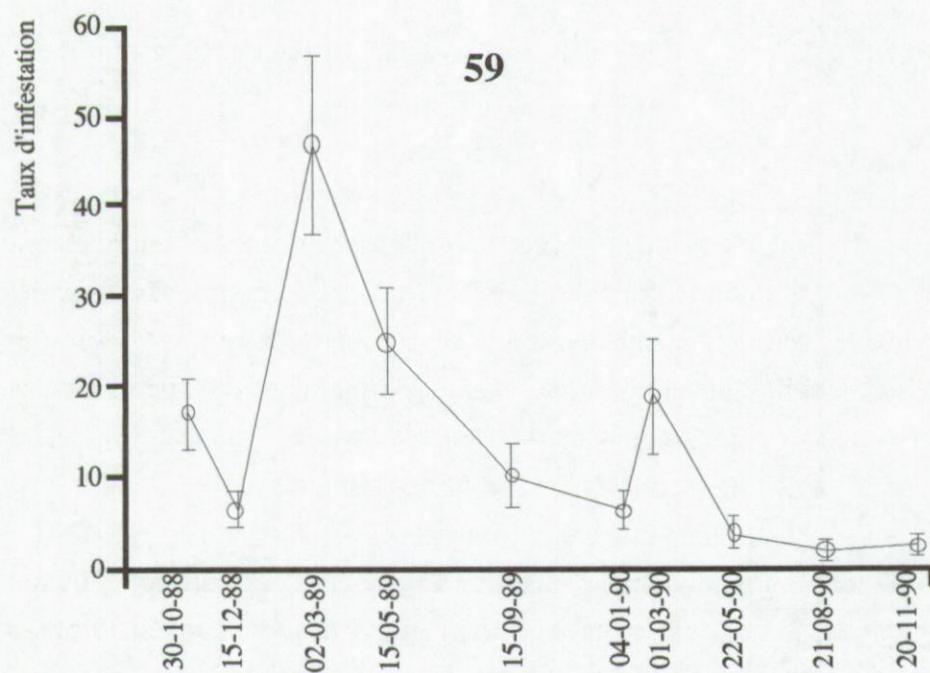


Fig. 59. Graphique illustrant l'évolution saisonnière du taux d'infestation d'*Antedon bifida* par *Myzostoma cirriferum* observée entre octobre 1988 et novembre 1990. Les barres verticales représentent les intervalles de confiance à 95%

Tableau 14. Caractéristiques des échantillons d'*Antedon bifida* récoltés entre octobre 1988 et novembre 1990 (échantillonnage A).

Période de récolte	Taux d'infestation (min-max)	Longueur moyenne des <i>A. bifida</i> récoltés (longueur du bras en mm) \pm DS
30-10-88	17,1 (6-25)	38 \pm 2
15-12-88	6,4 (2-11)	39 \pm 2
02-03-89	46,9 (24-71)	40 \pm 3
15-05-89	24,9 (14-38)	38 \pm 2
15-09-89	10,1 (5-21)	39 \pm 1
04-01-90	6,3 (3-13)	39 \pm 2
01-03-90	18,9 (7-35)	38 \pm 2
22-05-90	3,9 (1-8)	39 \pm 2
21-08-90	1,9 (1-5)	38 \pm 2
20-11-90	2,4 (1-7)	40 \pm 3

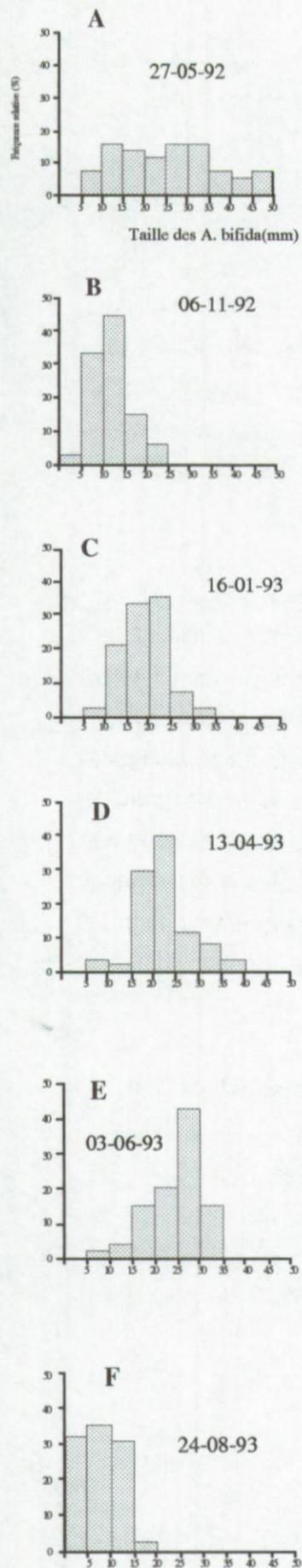
3. 3. Evolution saisonnière des fréquence et taux d'infestation

Le suivi de l'évolution saisonnière des fréquence et taux d'infestation a été effectué une première fois d'octobre 1988 à novembre 1990 sur des échantillons d'*A. bifida* de taille comparable (échantillonnage A) et une seconde fois de mai 1992 à août 1993 sur des échantillons d'*A. bifida* récoltés sans distinction de taille (*i. e.*, représentatifs de la structure de la population d'*A. bifida* au moment de la récolte) (échantillonnage B).

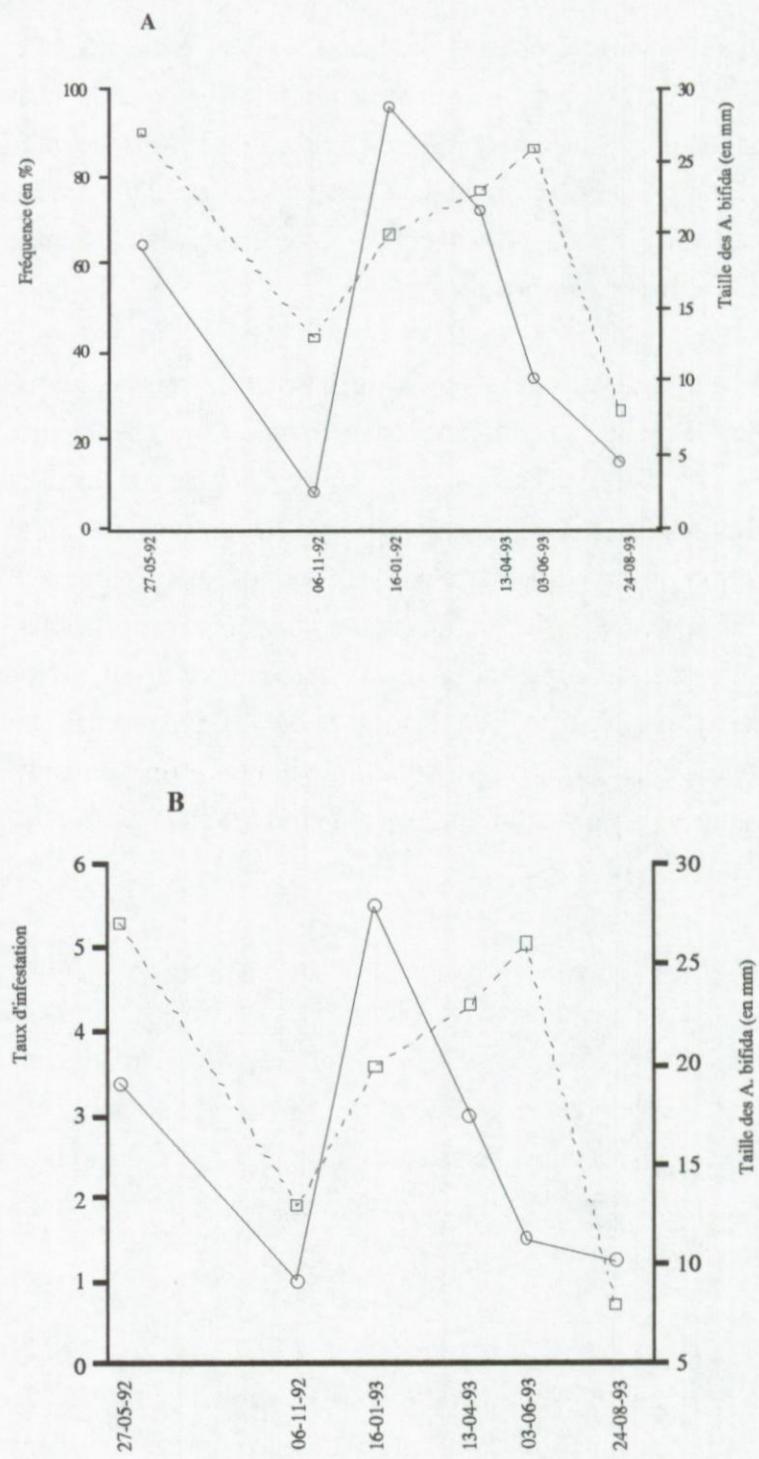
Echantillonnage A. A chacune des dix périodes entre octobre 1988 et novembre 1990, dix comatules de grande taille dont la longueur de bras variaient entre 35 et 43 mm ont été récoltées (la longueur moyenne des bras des *A. bifida* peut être considérée comme identique dans les dix échantillons; seuil de signification $p=0,05$; test Kruskal-Wallis) (Tableau 14). La fréquence d'infestation observée ne varie pas en fonction des périodes de récolte: elle est toujours de 100%. En revanche, le taux d'infestation varie fortement comme l'illustre la figure 59. Le taux d'infestation maximum est observé à la fin de l'hiver 1989, période durant laquelle il atteint 47 myzostomes par *A. bifida* (un maximum de 71 myzostomes sur un seul hôte a été observé à cette époque). Le taux d'infestation minimal est observé en août 90, période durant laquelle il est presque nul (un maximum de cinq myzostomes a été observé sur un seul hôte à cette époque).

L'allure de la courbe d'évolution des taux d'infestation observée sur deux ans suggère qu'elle suit un cycle. Deux cycles d'une durée correspondant à environ douze mois se dégagent de la figure 59: le premier va d'octobre 1988 à septembre 1989, le second de septembre 1989 à novembre 1990. Au cours de chaque cycle, le taux d'infestation évolue de manière similaire: il atteint un maximum à la fin de l'hiver (en mars 1989 et en mars 1990) et diminue ensuite du printemps à l'automne.

Echantillonnage B. Cet échantillonnage a permis de suivre l'évolution des fréquence et taux d'infestation en fonction de l'évolution de la structure de la population d'hôtes. Pour cette étude, six récoltes ont été effectuées entre mai 1992 et août 1993 (leurs caractéristiques sont détaillées dans le Tableau 15). Si on considère l'évolution de la structure de la population d'*A. bifida*, on remarque qu'en mai 1992 toutes les classes de taille sont représentées dans la



Figs 60 A à F. Distributions des fréquences de taille des échantillons d'*A. bifida* récoltés entre mai 1992 et août 1993 (échantillonnage B). La taille des *A. bifida* est représentée par la longueur des bras des individus en mm. Le nombre d'*A. bifida* est exprimé en fréquence relative.



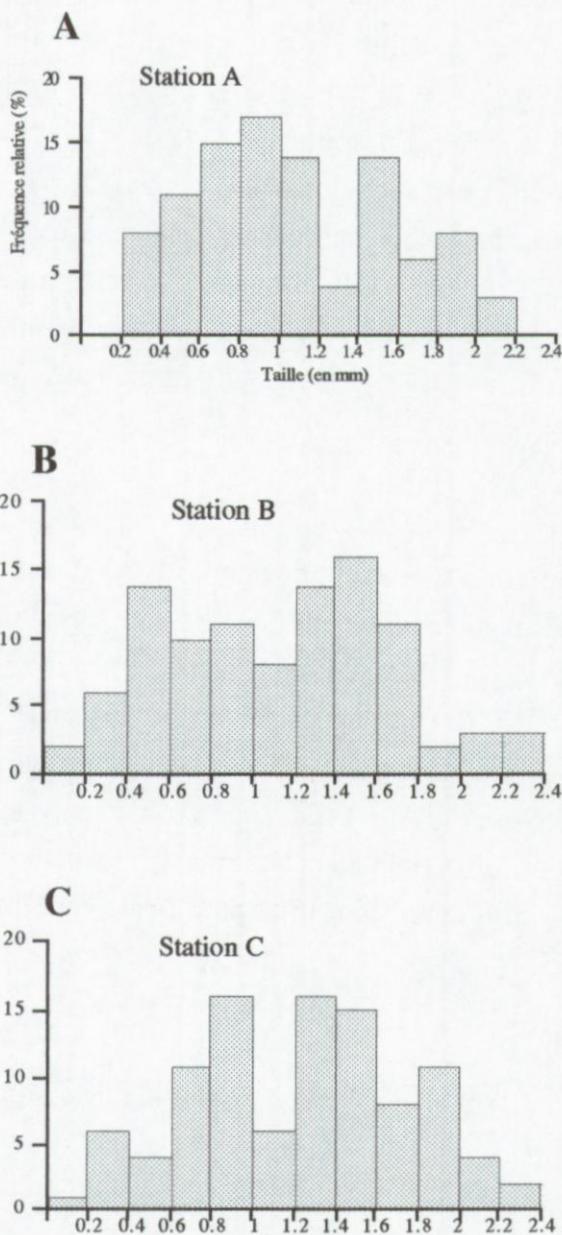
Figs 61 A et B. Graphiques illustrant l'évolution des fréquence (A) et taux (B) d'infestation en regard de la taille moyenne des échantillons d'*A. bifida* récoltés entre mai 1992 et août 1993 (échantillonnage B). Trait pointillé: évolution de la longueur moyenne des bras des échantillons d'*A. bifida*; trait plein: évolution de la fréquence (A) ou du taux d'infestation (B).

population alors qu'en novembre 1992 seules des petites comatules sont présentes (les comatules plus âgées se sont reproduites au cours du printemps et de l'été précédents et ont disparu) (Figs 60 A, B). En novembre 1992, les petites comatules forment une cohorte dont la longueur moyenne des bras est de 13 mm. En juin 1993, elles atteignent une longueur moyenne des bras de 26 mm (Figs 60 B à E; Tableau 15). A la fin du mois d'août 1993, seules les petites comatules de la nouvelle génération forment la population (Fig. 60 F). Si on considère à présent les fréquence et taux d'infestation, on remarque qu'ils suivent une évolution très semblable entre eux (Figs 61 A, B). Ils diminuent fortement de mai à novembre 1992 pour atteindre ce mois là une valeur très proche de zéro; de novembre 1992 à janvier 1993, ils augmentent fortement et arrivent à leur maximum; ils diminuent ensuite à nouveau pour devenir très faible en août 1993.

La partie du suivi réalisée entre novembre 1992 et juin 1993 permet de calculer que l'accroissement de la longueur moyenne des bras des comatules a été de $89 \mu\text{m j}^{-1}$ entre novembre 1992 et janvier 1993, de $39 \mu\text{m j}^{-1}$ entre janvier 1993 et avril 1993, et de $51 \mu\text{m j}^{-1}$ entre avril 1993 et juin 1993. Ainsi, la période où les fréquence et taux d'infestation atteignent leur maximum fait suite à une époque où l'accroissement de la taille moyenne de la population hôte est la plus forte (Figs 61 A, B). Ensuite, les fréquence et taux d'infestation diminuent progressivement jusqu'en août 1993 alors que la taille moyenne de la population hôte augmente toujours mais moins vite jusqu'en juin 1993 pour finalement diminuer brusquement de juin à août (Figs 61 A, B).

Tableau 15. Caractéristiques des *Antedon bifida* récoltés entre mai 92 et août 93 (échantillonnage B).

Période de récolte	Fréquence d'infestation (en %)	Taux d'infestation (min-max)	Nombre d' <i>A. bifida</i> récoltés	Longueur moyenne des <i>A. bifida</i> (longueur du bras en mm) ± DS
27-05-92	64	3,4 (1-12)	43	27±12
06-11-92	8	1 (1-1)	100	13±4
16-01-93	96	5,5 (1-16)	48	20±5
13-04-93	72	3 (1-12)	50	23±7
03-06-93	34	1,5 (1-4)	50	26±6
24-08-93	15	1,25 (1-2)	127	8±4



Figs 62 A à C. Distributions des fréquences de taille des *M. cirriferum* observés sur des échantillons d'*A. bifida* récoltés en 3 stations différentes dans la population à Morgat.

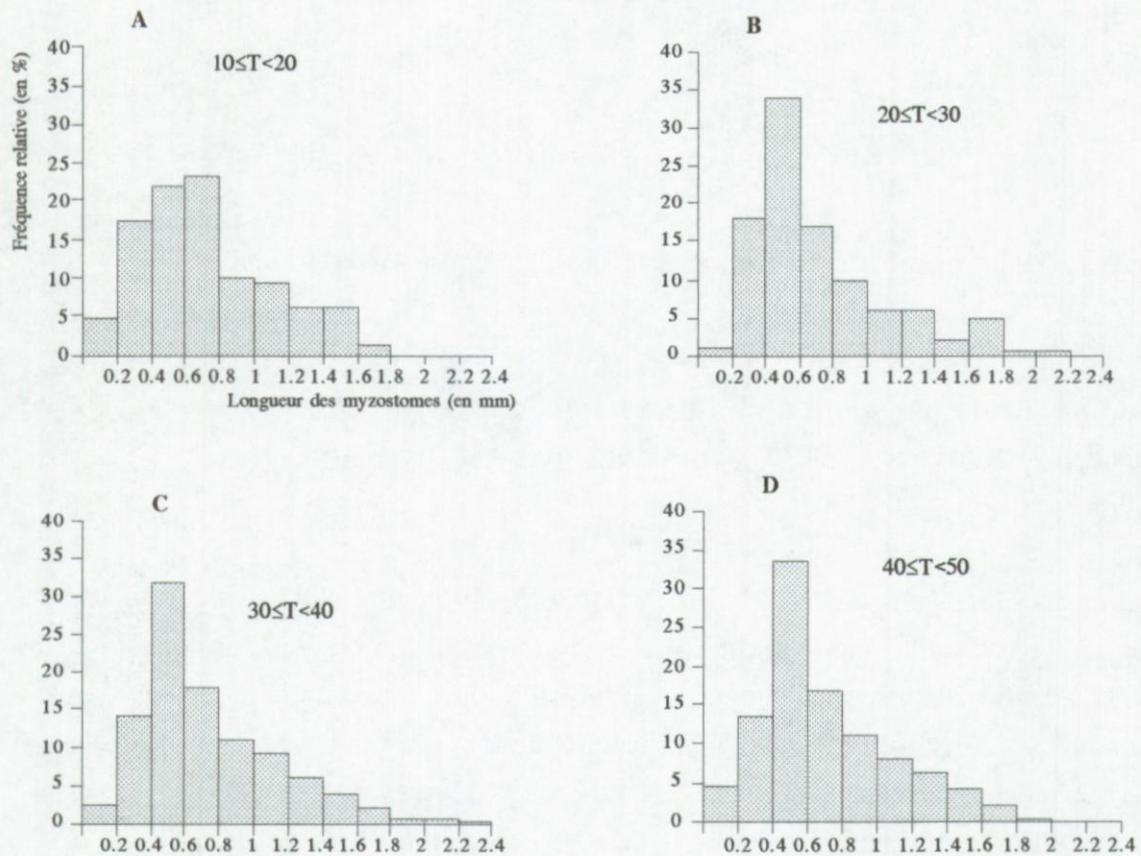
4. Structure et dynamique de la population de *Myzostoma cirriferum*

4. 1. Structure de la population de *Myzostoma cirriferum* en relation avec la localisation des comatules dans la population qu'elles forment

Les distributions des fréquences de taille des *Myzostoma cirriferum* infestant trois échantillons d'*Antedon bifida* récoltés de manière aléatoire en trois stations différentes de leur population (stations A, B, C; voir chapitre 3.1.) au cours du mois de juin 1991 ont été analysées. Les caractéristiques des trois échantillons d'*A. bifida* récoltés ainsi que celles des *M. cirriferum* qui les infestaient sont détaillées dans le Tableau 16. Les résultats de cette analyse sont illustrés par les figures 62 A à C. Les tailles moyennes des *M. cirriferum* observés dans les trois échantillons peuvent être considérées comme identiques (seuil de signification $p=0,05$; test ANOVA). Les proportions entre individus au stade pinnulaire d'une part, au stade vagile d'autre part peuvent également être considérées comme identiques dans les trois échantillons (seuil de signification $p=0,05$; test Khi-deux). En conséquence, la structure de la population de *M. cirriferum* peut être considérée comme semblable dans les trois stations étudiées.

Tableau 16. Caractéristiques des échantillons d'*A. bifida* récoltés en trois stations de la population de Morgat et des *M. cirriferum* recensés. P: individus pinnulaires; V: individus vagiles; T: total.

Endroit de récolte	Nombre d' <i>A. bifida</i> récoltés	Nombre de <i>M. cirriferum</i> observés			Taille moyenne des <i>M. cirriferum</i> ± DS (en µm)
		P	V	T	
Station A	33	8	82	90	1080±490
Station B	32	8	62	70	1130±510
Station C	36	8	84	92	1240±510



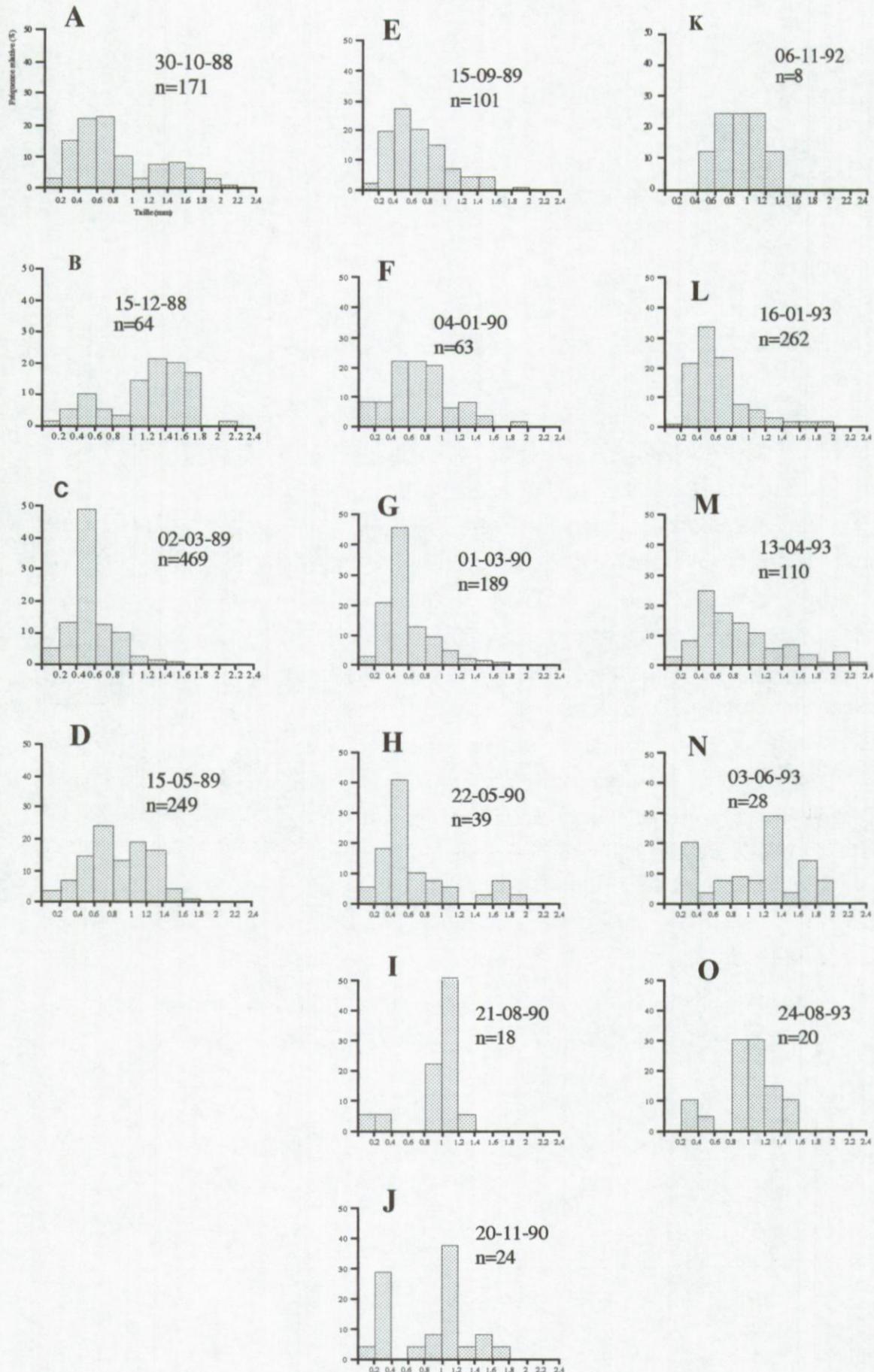
Figs 63 A à D. Distributions des fréquences de taille des *Myzostoma cirriferum* observés dans des classes de taille d'*Antedon bifida* de grandeur croissante (A à D, respectivement). T: longueur des bras des comatules (en mm).

4. 2. Structure de la population de *Myzostoma cirriferum* en relation avec la taille des *Antedon bifida* infestés

Les distributions des fréquences de taille des échantillons de *M. cirriferum* recensés dans cinq classes de taille d'*A. bifida* ont été analysées. La longueur des bras des *A. bifida* récoltés était comprise entre 6 et 49 mm. Seuls trois *M. cirriferum* ont été recensés sur des *A. bifida* de longueur de bras inférieure à 10 mm. Les fréquence et taux d'infestation observés dans les quatre autres classes de taille (amplitude des classes de taille: 10 mm de longueur de bras) sont illustrés par les figures 63 A à D. Les caractéristiques des échantillons d'*A. bifida* utilisés pour cette étude (*i. e.*, l'ensemble des comatules récoltés au cours de quinze périodes) et de leurs myzostomes infestants sont détaillées dans le Tableau 17. Les tailles moyennes des *M. cirriferum* observés dans les quatre classes de taille d'*A. bifida* peuvent être considérées comme identiques (seuil de signification $p=0,05$; test ANOVA). Semblablement, les proportions entre individus au stade pinnulaire et individus au stade vagile peuvent être considérées comme identiques dans les quatre classes de tailles (seuil de signification $p=0,05$; test Khi-deux). En conséquence, la structure de la population de *M. cirriferum* peut être considérée comme identique dans les quatre classes de taille d'hôtes envisagées. Autrement dit, la taille des myzostomes n'est nullement corrélée avec la taille de l'hôte qui les héberge (pour autant que ce dernier ait une longueur de bras supérieure à 10 mm)

Tableau 17. Caractéristiques des *M. cirriferum* observés dans quatre classes de taille d'*A. bifida*. P: individus pinnulaires; V: individus vagiles; T: total des individus observés.

Classe de taille d' <i>A. bifida</i> (longueur du bras en mm)	Nombre d' <i>A. bifida</i> récoltés	Nombre de <i>M. cirriferum</i> observés			Taille moyenne des échantillons de <i>M. cirriferum</i> \pm DS (en μm)
		P	V	T	
10 \leq T < 20	171	64	86	150	730 \pm 390
20 \leq T < 30	121	81	139	220	730 \pm 420
30 \leq T < 40	65	177	316	493	760 \pm 410
40 \leq T < 50	50	361	588	949	760 \pm 430



Figs 64 A à O. Distributions des fréquences de taille des échantillons de *Myzostoma cirriferum* observées au cours des quinze périodes de récolte (n indique le nombre de myzostomes observés).

4. 3. Structure de la population de *Myzostoma cirriferum* en relation avec la saison (dynamique de population)

Les distributions des fréquences de taille des *M. cirriferum* observés au cours de quinze périodes de récolte effectuées d'une part entre octobre 1988 et novembre 1989 (dix périodes de récolte) et d'autre part entre novembre 1992 et août 1993 (cinq périodes de récolte) ont été analysées (Figs. 64 A à O). A l'exception des périodes où l'effectif récolté est faible (n inférieur à 60 myzostomes), les classes de taille allant de 0 à 1,6 mm de long sont toujours représentées. Seuls 10% des individus observés ont une longueur supérieure à 1,6 mm. Au cours de quatre des quinze périodes de récolte (mars 1989, mars 1990, mai 1990 et janvier 1993), les myzostomes d'une longueur inférieure à 0,6 mm représentaient à eux seuls plus de 50% de l'effectif engrangé lors de ces récoltes.

L'évolution saisonnière du nombre des individus pinnulaires et de celui des individus vagiles a également été étudiée; elle est illustrée par la figure 65. La courbe de l'évolution du nombre d'individus pinnulaires montrent 3 pics reflétant l'abondance de ces individus à trois périodes, en mars 1989, mars 1990 et janvier 1993. La courbe de l'évolution du nombre d'individus vagiles montre également 3 pics reflétant l'abondance de ces individus au cours de trois périodes, en mai 1989, mars 1990 et janvier 1993.

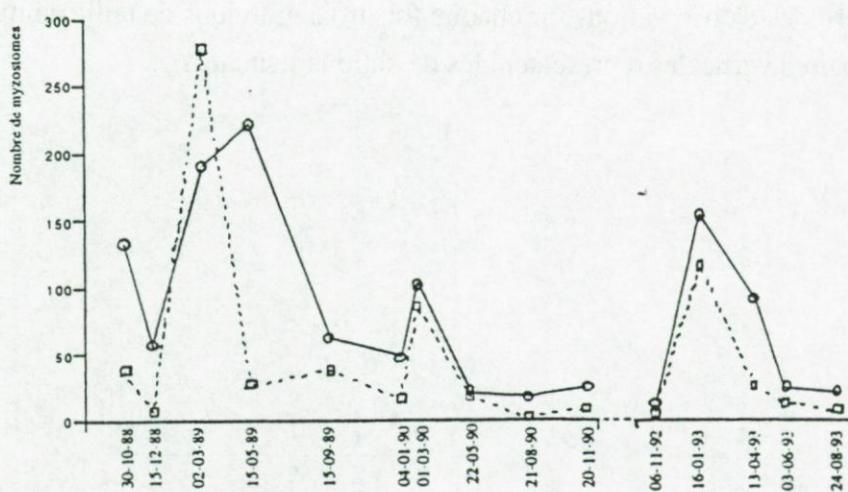


Fig. 65. *Myzostoma cirriferum*. Evolution du nombre d'individus pinnulaires (traits pointillés) et vagiles (traits pleins) observés au cours de quinze périodes de récolte.

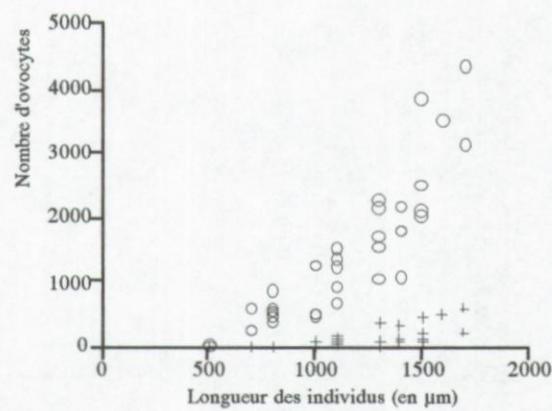
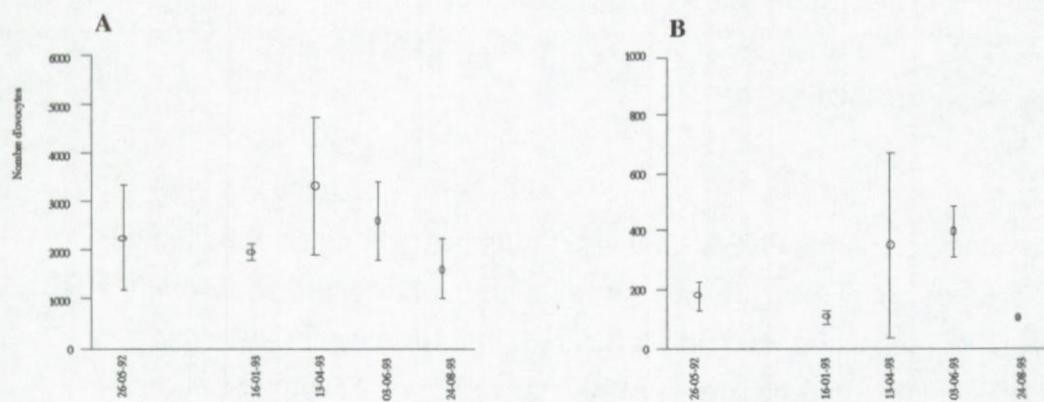
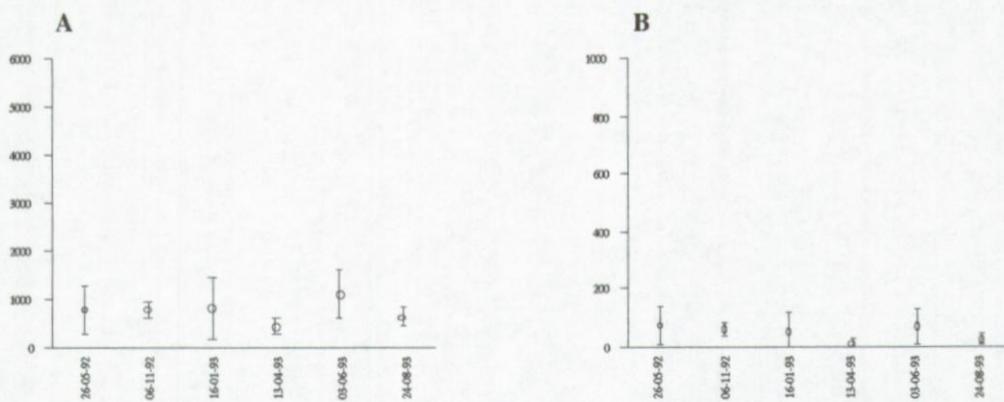


Fig. 66. *Myzostoma cirriferum*. Relation entre le nombre d'ovocytes et la taille des individus (o: ovocytes prévitellogéniques, +: ovocytes vitellogéniques et oeufs fécondés confondus).



Figs 67 A et B. *Myzostoma cirriferum*. Nombres moyens d'ovocytes prévitellogéniques (A) et nombres moyens des ovocytes vitellogéniques et des oeufs fécondés confondus (B) observés entre mai 1992 et août 1993 (5 périodes d'observation) sur chaque fois trois individus de taille comprise entre 1,2 et 1,8 mm de long (les barres verticales représentent les déviations standards).



Figs 68 A et B. *Myzostoma cirriferum*. Nombres moyens d'ovocytes prévitellogéniques (A) et nombres moyens des ovocytes vitellogéniques et des oeufs fécondés confondus (B) observés entre mai 1992 et août 1993 (6 périodes d'observation) sur chaque fois trois individus de taille comprise entre 0,6 et 1,2 mm (les barres verticales représentent les déviations standards).

5. Cycle reproducteur

Le cycle reproducteur de *Myzostoma cirriferum* a été caractérisé (1) par le comptage du nombre d'ovocytes prévitellogéniques et vitellogéniques que présentent les individus, (2) par la mesure des transferts spermatophoraux des individus donneurs vers les individus récepteurs et (3) par le comptage du nombre d'oeufs pondus par les individus. Ces différents éléments ont été analysés en fonction de la taille des myzostomes et de la saison.

5. 1. La maturité ovarienne

Le nombre d'ovocytes prévitellogéniques et celui de l'ensemble comprenant les ovocytes vitellogéniques et les oeufs fécondés* observés dans les appareils génitaux femelles de 39 individus de longueur comprise entre 0,5 et 1,8 mm ont été recensés. Pour ce faire, les individus, récoltés au cours de six périodes distinctes entre mai 1992 et août 1993, ont été fixés au liquide de Bouin et préparé pour l'observation histologique (les coupes de 7 µm d'épaisseur ont été colorées au bleu alcian). Un ovocyte (ou un oeuf fécondé) n'était comptabilisé qu'à la condition que son nucléole soit observé. Les résultats sont illustrés par la figure 66. Les individus d'une longueur inférieure à 0,6 mm ne possèdent pas plus de 20 ovocytes prévitellogéniques et sont dépourvus d'ovocytes vitellogéniques et d'oeufs fécondés (Fig. 66). Les individus de 0,6 à 1,2 mm de long ne possèdent pas plus de 1700 ovocytes prévitellogéniques et pas plus de 150 ovocytes vitellogéniques et oeufs fécondés confondus (Fig. 66). Les individus plus grands que 1,2 mm de long ne possèdent pas plus de 4300 ovocytes prévitellogéniques et pas plus de 500 ovocytes vitellogéniques et oeufs fécondés confondus (Fig. 66).

Le nombre moyen d'ovocytes prévitellogéniques (Figs 67A, 68A) et celui de l'ensemble comprenant les ovocytes vitellogéniques et les oeufs fécondés (Figs 67B, 68B) dans des échantillons récoltés entre mai 1992 et août 1993 ont été recensés. A chaque période, deux types d'échantillon ont été constitués et préparés comme précédemment pour la microscopie optique:

*Les caractéristiques morphologiques des ovocytes prévitellogéniques et vitellogéniques sont décrites dans le chapitre G (voir Figs 131 à 133).

Tableau 18. Résultats des tests déterminant la taille à laquelle *M. cirriferum* est susceptible d'émettre un spermatophore. La taille des individus receveurs était toujours supérieure à 1,2 mm de long.

Taille des individus émetteurs (en mm)	Nombre de paires d'individus testés	Nombre d'individus ayant émis un spermatophore
0,4≤T<0,6	2	0
0,6≤T<0,8	4	0
0,8≤T<1,0	5	0
1,0≤T<1,2	5	3
1,2≤T<1,4	4	4
1,4≤T<1,6	3	2
1,6≤T<1,8	3	3
1,8≤T<2,0	2	2

Tableau 19. Résultats des tests déterminant la taille à laquelle *M. cirriferum* est susceptible de garder un spermatophore. La taille des individus donneurs était toujours supérieure à 1,2 mm de long.

Taille des individus receveurs (en mm)	Nombre de paires d'individus testés	Nombre d'individus ayant reçu un spermatophore
0,4≤T<0,6	2	1
0,6≤T<0,8	2	1
0,8≤T<1,0	2	1
1,0≤T<1,2	3	2
1,2≤T<1,4	4	2
1,4≤T<1,6	3	3
1,6≤T<1,8	2	1
1,8≤T<2,0	2	1

le premier comprenait trois myzostomes de grande taille ($1,2\text{mm} < T < 1,8\text{mm}$; Fig. 67) et le second trois myzostomes de petite taille ($0,6\text{mm} < T < 1,2\text{mm}$; Fig. 68). Les résultats du recensement sont illustrés par les figures 67 et 68. Pour les deux catégories de taille, le nombre moyen d'ovocytes prévitellogéniques recensé peut être considéré comme identique quelle que soit la période de récolte (seuil de signification $p=0,05$; test de Kruskal Wallis). De même, pour les deux catégories de taille, le nombre moyen de l'ensemble formé par les ovocytes vitellogéniques et les oeufs fécondés peut être considéré comme identique quelle que soit la période de récolte (seuil de signification $p=0,05$; test de Kruskal Wallis).

5. 2. Le transfert spermatophoral

Le transfert spermatophoral est le processus par lequel un individu donneur projette un spermatophore sur le tégument d'un individu receveur (voir chapitre G). Au cours de chacune des vingt périodes de récolte au cours desquelles le comportement des *M. cirriferum* sur leurs hôtes a été observé, le transfert de spermatophores entre individus a pu être détecté. Les tailles à partir desquelles les myzostomes sont susceptibles d'émettre et de recevoir des spermatophores ont été estimées. Pour ce faire, nous avons séparé de leurs comatules-hôtes 96 individus d'une taille comprise entre 0,4 et 2,0 mm de long et nous les avons placés en les maintenant séparés dans des boîtes de Pétri pendant environ 3h. Nous avons ensuite provoqué l'attouchement des individus deux par deux ce qui, lorsque les individus testés étaient à maturité, provoquait automatiquement l'expulsion d'un spermatophore. Le test était considéré comme négatif si, 30 min après l'attouchement, aucun spermatophore n'avait été expulsé. Les résultats sont repris dans les Tableaux 18 et 19. Ils montrent que l'émission de spermatophores ne s'observe que chez des individus de taille égale ou supérieure à 1 mm. Par contre, quelle que soit leur taille, tous les individus sont susceptibles de voir adhérer des spermatophores sur leur tégument.

5. 3. Les pontes

Le nombre d'oeufs pondus durant une période de 24 h par 63 individus de taille comprise entre 0,1 et 2 mm de long a été recensé (les individus utilisés pour cette étude ont été récoltés au cours de cinq périodes entre janvier et novembre 1991). Pour ce faire, les myzostomes ont été séparés de leurs hôtes et placés dans une boîte de Pétri dont l'eau est amenée doucement à température ambiante. Les résultats obtenus sont illustrés par la figure 69. Les individus de

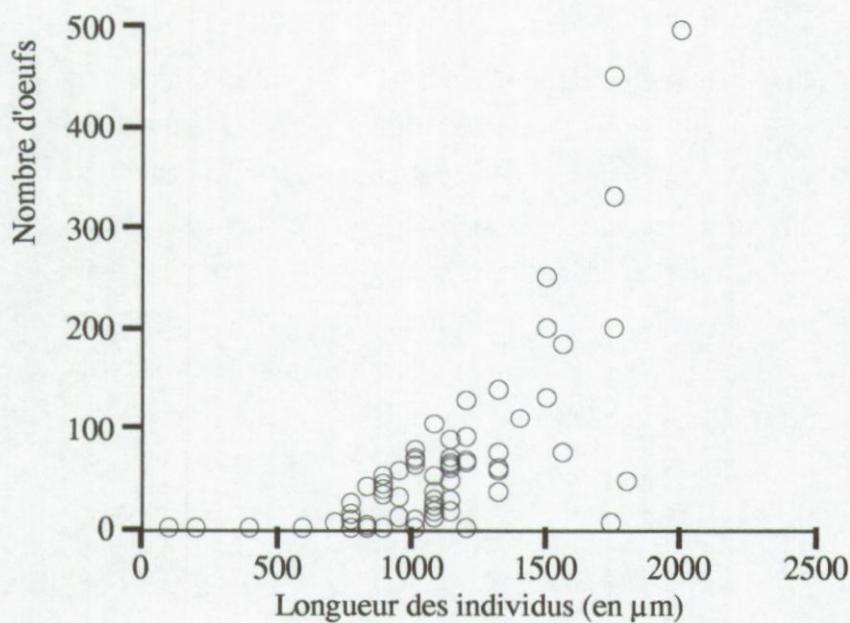


Fig. 69. *Myzostoma cirriferum*. Relation entre le nombre d'oeufs pondus par 24 h et la longueur des individus qui les émettent.

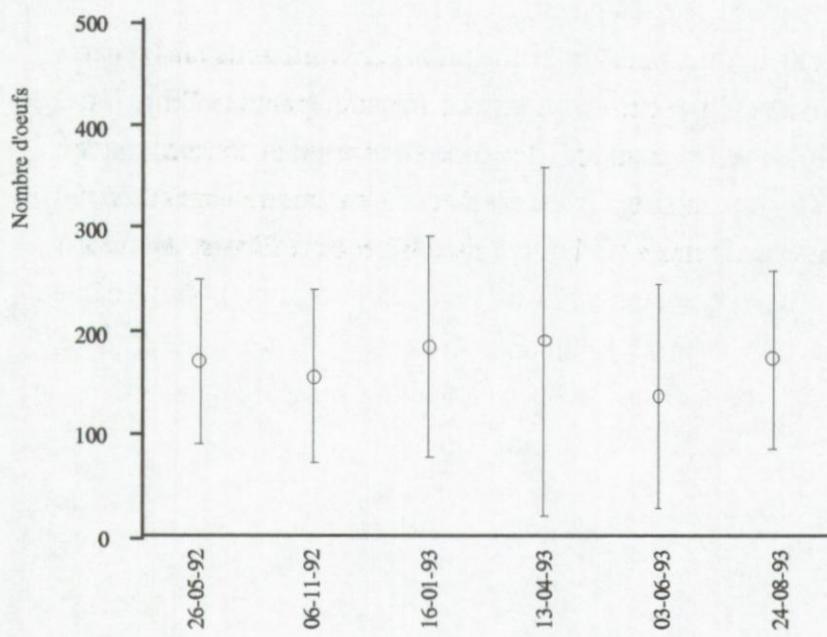


Fig. 70. *Myzostoma cirriferum*. Nombre moyen d'oeufs pondus par des groupes comptant de 5 à 9 individus au cours de 6 périodes d'observation différentes (les barres verticales représentent les intervalles de confiance à 95%).

moins de 0,7 mm de long ne pondent jamais alors qu'une fois passé cette taille les individus pondent quelques oeufs (individus de longueur inférieure au mm) à plusieurs centaines d'oeufs (individus de longueur supérieure au mm).

Le nombre moyen d'oeufs pondus pendant 24h par six échantillons comprenant de 5 à 9 individus adultes et de taille similaire (la longueur moyenne des individus des échantillons peut être considérée comme identique; seuil de signification $p=0,05$; test de Kruskal Wallis) a été recensé au cours de six périodes d'observation entre mai 1992 et août 1993. Les résultats sont illustrés par la figure 70. Le nombre d'oeufs pondus peut être considéré comme identique au cours des six périodes d'observation (seuil de signification $p=0,05$; test de Kruskal Wallis).

6. Discussion

6. 1. *Myzostoma cirriferum*: biologie du symbiose

Au cours de son cycle vital, l'espèce *Myzostoma cirriferum* passe par huit stades différents: un stade embryonnaire, quatre stades larvaires et trois stades postmétamorphiques (Fig. 71). La segmentation est spirale et caractérisée par l'apparition d'un lobe polaire avant chacune des trois premières division du zygote. Un tel type de segmentation avec formation de lobes polaires a déjà été observé chez *Myzostoma parasiticum* (Driesch 1896, Wheeler 1898) et *Myzostoma ambiguum* (Kato 1952); on le connaît aussi chez certains polychètes (Schroeder 1989) et certains gastéropodes (Brahmachary 1989).

Le développement larvaire de *M. cirriferum* est identique à celui observé chez toutes les autres espèces de *Myzostoma* étudiées de ce point de vue (*M. parasiticum*, *M. ambiguum* et *M. alatum*). Chez ces quatre espèces, les larves passent par les stades protrochophore, trophophore et métatrochophore avant de perdre leurs soies et devenir des larves métamorphiques (Jägersten 1939b, Kato 1952, Eeckhaut & Jangoux 1992, présent travail). Deux phases peuvent être reconnues lors de la vie larvaire de *M. cirriferum*: une phase infestante (où la larve développe des soies lui permettant de s'accrocher) précédée d'une phase libre (où la larve nage dans la colonne d'eau). La phase libre dure au moins trois jours (à l'issue de cette phase, les soies apparaissent) ce qui, pour un symbiose obligatoire, apparaît assez paradoxal. En effet, plus

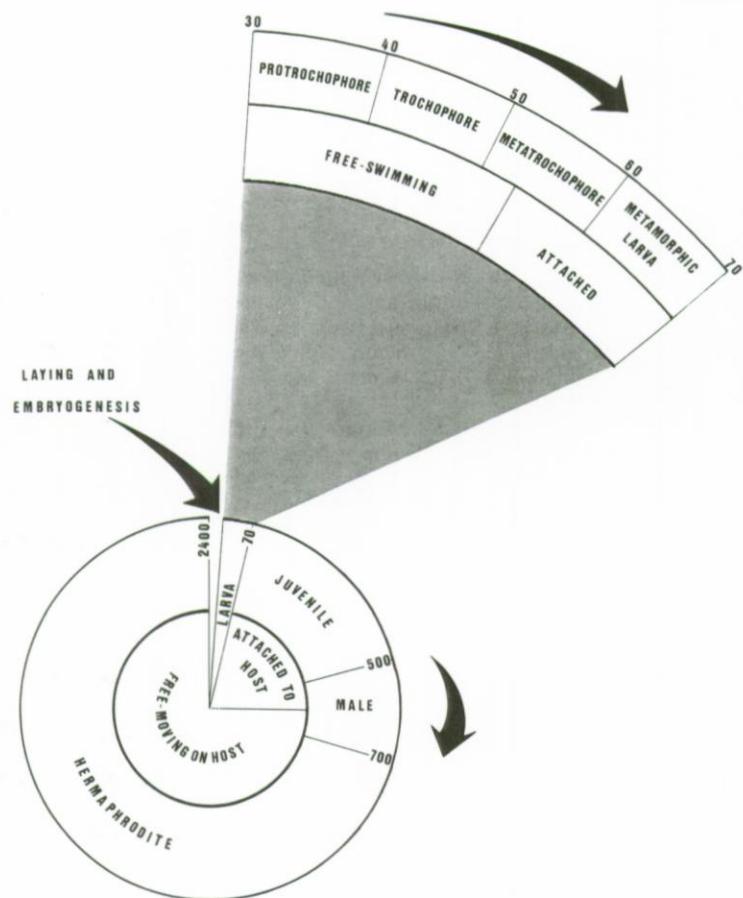


Fig. 71. *Myzostoma cirriferum*. Schéma illustrant le cycle vital (cercle) et le développement larvaire (arc de cercle) de l'espèce. Les parties externe et interne du cercle et de l'arc de cercle indiquent respectivement les stades morphologiques et les stades comportementaux des myzostomes (les nombres correspondent aux tailles des myzostomes en μm).

longue sera la phase libre, plus grande sera la probabilité pour les larves d'être emportées au loin par les courants marins. Ce risque se voit cependant réduit par la densité importante des populations d'*A. bifida*, notamment la population de Morgat qui compte jusqu'à 1000 individus par m⁻² (Lahaye 1987). Celle-ci forme une véritable strate épibenthique de quelques centimètres d'épaisseur sur plusieurs dizaines de mètres carrés (Lahaye 1987). Une telle population doit sensément générer des conditions hydrodynamiques locales telles que les petites particules (les larves de *M. cirriferum* par exemple) restent "piégées" dans les espaces étroits aménagés au sein de la strate épibenthique. Durant les trois premiers jours de leur vie, les larves seront confrontées à un deuxième problème: elles seront considérées par les comatules comme n'importe quelle particule de petite taille et donc attrapées par leurs podia de la même façon que les particules alimentaires. Rappelons cependant que les larves capturées sont fréquemment rejetées hors des sillons ambulacrariaux par l'action des podia secondaires et des languettes des pinnules, ce qui évite probablement à bon nombre de celles-ci d'être avalées par les comatules.

Si les larves de certains invertébrés marins et dulçaquicoles (Castro 1978, Cheng 1967, respectivement) sont attirées par leurs hôtes et se dirigent activement vers eux, il n'en va pas de même des larves de *M. cirriferum*. On doit donc supposer qu'*in situ*, elles contactent leurs hôtes de façon aléatoire, conséquence à la fois de l'action des courants locaux et du fait qu'elles nagent continuellement. Avec l'apparition des soies, les larves (*i. e.*, les métatrochophores), dès lors qu'elles seraient filtrées par une comatule peuvent s'y attacher passivement en plantant leurs soies dans un des sillons ambulacrariaux de l'hôte potentiel. La suite des événements implique qu'une fois dans un sillon, la métatrochophore entre aussitôt en métamorphose: elle perd donc sa ciliature et ses soies mais doit acquérir rapidement une première paire de parapodes (à défaut de celle-ci, le postmétamorphique ne pourrait se fixer dans le sillon). Si la perte des soies a bien pu être observée *in vitro*, les larves ainsi produites n'ont jamais achevé leur métamorphose et n'ont donc jamais développé de parapodes. Tout suggère que *M. cirriferum*, comme bon nombre d'espèces d'invertébrés symbiotiques (voir Chia 1978), a besoin d'être adéquatement stimulé pour que sa métamorphose aboutisse. Tout suggère également que le ou les stimuli chimiques et/ou mécaniques requis nécessitent pour marquer leurs effets qu'il y ait un contact d'une durée suffisante entre la métatrochophore et la paroi d'un sillon pinnulaire de l'hôte. Chez *M. cirriferum*, le stade métatrochophore est donc à la fois infestant et compétent, l'infestation de la comatule ne pouvant se faire que si la larve est apte à se métamorphoser. Les résultats obtenus en laboratoire montrent que les larves compétentes (elles le sont dès le cinquième jour c'est-à-dire lorsqu'elles sont pourvues d'un tube digestif et d'un pygydium) sont capables de retarder leur entrée en métamorphose pendant quelques jours (elles perdent leur ciliature et leurs soies du cinquième au dixième jours de vie larvaire), une

propriété qu'elles partagent avec bon nombre de larves méroplanctoniques (Strathmann 1978, Eckelbarger 1978).

Les *M. cirriferum* sont obligatoirement intimement associés à une comatule durant toute la durée de leur vie postmétamorphique. En laboratoire, les individus postmétamorphiques meurent dans les quinze jours qui suivent la séparation avec leurs hôtes, vraisemblablement suite à la suppression de l'apport alimentaire que fournissaient les hôtes. Parmi les individus postmétamorphiques, ceux de petite taille (les myzostomes pinnulaires: les juvéniles et les jeunes mâles) sont attachés dans les sillons ambulacrariaires des pinnules alors que ceux de grande taille (les myzostomes vagiles: les mâles âgés et les hermaphrodites) se déplacent à la surface de leurs hôtes sans jamais pénétrer dans un sillon ambulacraire. Les premiers profitent de l'alimentation de leur hôte et provoquent en outre de légères déformations à la surface des pinnules; ils doivent être considérés comme ectoparasites *sensu* Kinne (1980). Les seconds ne modifient aucunement la structure de leur hôte mais continuent à profiter de son alimentation; ils doivent être considérés comme ectocommensaux *sensu* Kinne (1980). Les myzostomes pinnulaires se situent préférentiellement dans les sillons des pinnules proches du calice, localisation qui est la conséquence du comportement alimentaire des hôtes. En effet, lorsqu'ils s'alimentent, les *A. bifida* disposent leur bras en entonnoir; les pinnules à proximité du calice sont très proches les unes des autres et forment un fillet à mailles très serrées alors que les pinnules distales sont nettement plus distantes les unes des autres. Ainsi, une larve aura moins de chance de passer à hauteur des pinnules proximales sans se faire capturer qu'une autre arrivant dans les parages des pinnules distales. A l'inverse des myzostomes pinnulaires, les myzostomes vagiles ne s'aventurent jamais dans les sillons ambulacrariaires. Une telle ségrégation dans la localisation des petits et des grands myzostomes présente deux avantages pour le symbiose. Premièrement, les petits individus, qui sont jeunes et en pleine croissance, se trouvent situés là où passent les particules alimentaires filtrées par l'hôte, donc à un endroit où ils peuvent s'alimenter aisément. Deuxièmement, le fait que les myzostomes vagiles ne pénètrent jamais les sillons empêche les jeunes individus immatures d'être partie prenante dans le processus de transfert spermatophoral. En effet, comme tous les émetteurs sont nécessairement des myzostomes vagiles, ils ne contactent par conséquent jamais les myzostomes pinnulaires et ces derniers ne peuvent donc pas servir d'individus receveurs. Plus un myzostome vagile grandit, moins il se déplace et les plus grands individus se retrouvent concentrés sur le calice des hôtes. Par conséquent, la reproduction en est d'autant plus efficace: les grands individus émetteurs transfèrent leurs spermatophores à de grands individus receveurs possédant de nombreux ovocytes matures.

Un myzostome vagile ne présente pas une grande fidélité à son hôte comatuléen originel (*i. e.*, l'*A. bifida* sur lequel il a été observé). En effet, si on l'en sépare, il réinfestera aussi bien n'importe quel autre *A. bifida* vivant. *In situ*, un myzostome devrait donc pouvoir passer d'une comatule à une autre si, comme c'est le cas dans la population de Morgat, celles-ci sont en permanence en contact physique les unes avec les autres. La forme générale du substrat semble primordiale pour que le myzostome puisse s'y agripper et s'y déplacer: les individus testés se déplacent sur des substrats abiotiques de forme courbe (tels que certaines pâtes alimentaires dont le diamètre est similaire à celui des bras d'*A. bifida*) alors qu'ils sont incapables de se déplacer sur des substrats abiotiques plans (tels que les filtres Whatman ou d'autres pâtes de forme ou de diamètre différents de ceux des bras d'*A. bifida*). La forme des individus vagiles les prédispose à vivre sur un crinoïde: leur face ventrale est concave et leur face dorsale est convexe. Une telle morphologie permet aux *M. cirriferum* d'épouser parfaitement le contour des diverses parties d'une comatule (*viz.*, le calice, les cirres, les bras ou les pinnules). La nature (chimique et/ou physique) du substrat est sûrement importante pour qu'un myzostome accepte de s'y agripper et de s'y déplacer: les myzostomes testés se déplacent aussi bien sur des *A. bifida* vivants ou tués dans un tampon d'osmolalité identique à celle de l'eau de mer; par contre ils ne se déplacent pas sur des *A. bifida* tué à l'eau distillée (le choc osmotique généré a probablement changé la texture de l'hôte qui n'est plus reconnue par les myzostomes). Lorsque la forme générale et la texture du substrat sont similaires à celles d'*A. bifida*, *M. cirriferum* ne fait alors aucune distinction entre ce substrat et son hôte naturel: les individus testés se déplacent aussi bien sur *Leptometra phalangium*, une espèce de crinoïde qui n'a jamais été observé comme hôte de *M. cirriferum*, que sur *A. bifida*. Même si la texture du substrat est proche de celle d'*A. bifida*, dès que sa forme générale est différente, *M. cirriferum* éprouve des difficultés à s'y agripper et à s'y déplacer (les individus testés s'agrippent difficilement aux échinodermes non crinoïdiens); lorsque la forme générale et la texture du substrat sont différentes de celles d'*A. bifida*, le *M. cirriferum* ne s'y agrippe jamais (les individus testés ne s'agrippent pas aux hôtes non échinodermiques testés). Il est donc hautement probable que *in situ*, les *M. cirriferum* postmétamorphiques ne se déplacent jamais sur les substrats environnant leurs hôtes mais restent jusqu'à la fin de leur vie inféodés à ceux-ci.

6. 2. *Myzostoma cirriferum*: biologie de la population de symbiotes

Dans la population d'*Antedon bifida* de Morgat, l'infestation par *Myzostoma cirriferum* est homogène: pour une période donnée, la fréquence et le taux d'infestation ainsi que la structure

de la population de *M. cirriferum* sont similaires en tout endroit de la population de comatules. *M. cirriferum* n'infeste que les individus postpentacrinoïdiens d'*A. bifida* et le taux d'infestation varie avec la taille des hôtes: plus les comatules sont grandes, plus elles sont infestées, ce qui est à mettre en relation avec le développement de plus en plus important du système de capture des aliments de l'hôte (en une année, le nombre de pinnules par bras passe de trois à plus de soixante; Lahaye 1987). En revanche, la structure de la population de *M. cirriferum* reste identique quelle que soit la taille de l'hôte infesté: les larves de myzostomes infestent donc les comatules postmétamorphiques quelle que soit leur taille.

L'infestation d'*A. bifida* par *M. cirriferum* varie en fonction de la période de l'année: elle augmente fortement entre la mi-janvier et le début du mois de mars et diminue ensuite sensiblement pour se stabiliser de l'été au début de l'hiver suivant. Durant les périodes d'infestation forte, le nombre de myzostomes pinnulaires est très élevé indiquant qu'il y a eu recrutement dans la population de symbiotes (un recrutement hivernal similaire avait déjà été observé dans une population de *M. cirriferum* du Loch Creran en Ecosse en février 1980; Whoodam 1992). L'apparition massive d'individus pinnulaires entre la mi-janvier et le début mars ne peut s'expliquer que par une infestation massive qui a du nécessairement avoir lieu entre la période où elle s'observe et la période de recensement précédente (*i. e.*, la fin de l'automne ou le début de l'hiver selon les années). Cette infestation massive pourrait être due soit à la présence dans le milieu et en hiver d'un nombre plus élevé de larves, ce qui impliquerait alors que la reproduction des myzostomes serait plus efficace, soit à des conditions du milieu - notamment hydrodynamiques - qui favoriseraient l'infestation. Cette dernière hypothèse semble peu probable: c'est en effet durant l'hiver que la houle est la plus forte et que le site de récolte à Morgat est le plus battu. Quant à savoir si la reproduction des myzostomes est plus efficace en hiver, il convient de rappeler que le transfert spermatophoral s'observe toute l'année et que, si on considère des myzostomes de même taille, les nombres d'ovocytes prévitellogéniques et vitellogéniques qu'ils renferment ainsi que le nombre d'oeufs fécondés qu'ils pondent sont semblables d'une saison à l'autre. Ceci montre non seulement que la reproduction chez *M. cirriferum* est continue mais aussi qu'elle se réalise toujours avec la même intensité. Comme par ailleurs le nombre d'individus vagiles n'évolue guère de l'été à l'hiver, le recrutement observé à la fin de l'hiver n'est vraisemblablement pas lié à une augmentation du nombre de myzostomes aptes à se reproduire.

Dès lors que le pic hivernal de recrutement de *M. cirriferum* n'apparaît pas lié à la biologie propre de l'espèce, la question se pose de savoir si la biologie de l'hôte ne pourrait pas

être ici prépondérante. On sait par les recherches de Lahaye *et al.* (1990) faites sur la population d'*A. bifida* de Morgat que cette comatule peut vivre jusqu'à trente mois mais que la longévité de la grande majorité des individus est comprise entre douze et dix-huit mois: ces individus ne se reproduisent qu'une seule fois (entre mai et juin) et meurent dans les six mois qui suivent. En conséquence, lorsque s'observe le pic hivernal de recrutement de *M. cirriferum*, la population hôte est formée dans sa plus grande partie de jeunes comatules en croissance et de quelques individus âgés présents en proportions variables selon les années (ainsi en 1992-1993 ces individus âgés étaient totalement absents et la population n'était constituée que de jeunes comatules). Il apparaît donc que le pic du recrutement myzostoméen s'observe au moment où non seulement la croissance des comatules est maximale (Lahaye *et al.* 1990; présent travail) mais aussi où elles sont en plein effort reproducteur (gamétogénèse; Nichols 1994). Ceci suggère qu'il est hautement probable que, pendant cette période, l'activité alimentaire des comatules atteigne une intensité maximale, ce qui se traduirait par un accroissement de la capture des larves de *M. cirriferum* et par là, de l'infestation par ce symbiose. Ces considérations sont malheureusement purement spéculatives dès lors qu'aucun travail sur la variation de l'intensité d'alimentation chez les comatules ne vient les supporter. Des variations saisonnières dans l'activité alimentaire d'échinodermes non-crinoïdiens ont toutefois été mises en évidence chez certains oursins (Chiu 1984) et certaines ophiures (Thorson 1955, Taylor in Helder 1982). Chez les holothuries, l'activité alimentaire peut varier du simple au décuple suivant la période de l'année (Coulon & Jangoux 1993); elle peut même chez certaines espèces s'interrompre durant plusieurs mois de l'année (Fish 1967, Haukson 1979).

Les diverses observations effectuées en automne et en hiver (avant et après qu'il y ait eu le recrutement myzostoméen massif) permettent d'estimer que la durée de la phase pinnulaire de *M. cirriferum* est de cinquante-six jours au plus (ceci correspondant à la durée minimale écoulée entre une période caractérisée par l'apparition massive d'individus pinnulaires - mars 1990 - et la période précédente - janvier 1990 -). D'autre part, des suivis de l'accroissement de la taille moyenne de myzostomes élevés en aquariums ont établi que la vitesse de croissance des *M. cirriferum* vagiles est de l'ordre de $7 \mu\text{m j}^{-1}$. Comme 90% des symbiotes ne dépassent pas la taille de 1,6 mm, on peut estimer grossièrement que la phase vagile de la majorité des individus ne dépasse pas 137 jours, la longévité de *M. cirriferum* étant ainsi de *ca* 190 jours. Cela signifie qu'un myzostome qui, le 1er mars, est en fin de stade pinnulaire atteindrait une taille de 1,6 mm vers le 15 juillet qui suit. Autrement dit, *M. cirriferum* est certainement une espèce saisonnière et la durée de vie de la majorité des individus n'atteint jamais une année.

Après chaque pic de recrutement hivernal, le taux d'infestation chute drastiquement au printemps indiquant qu'une mortalité importante a lieu dans la population de *M. cirriferum*. Cette mortalité printanière brutale peut être due à l'apparition d'une maladie (mais il serait étonnant qu'elle soit annuelle), à une prédation et/ou à la mort naturelle des individus. Si plusieurs parasitoses ont déjà été recensées chez d'autres espèces de myzostome (Nansen 1885, Wheeler 1898, Jägersten 1940e), nous n'en avons observé aucune chez *M. cirriferum*. Par contre, certains des épibiontes d'*A. bifida* (*i. e.*, les isopodes *Caprella linearis* et *Corophium volutator*) observés de mai à juin et connus comme étant des prédateurs d'hydriades et de polychètes, pourraient être des prédateurs de myzostomes, ce qui expliquerait l'importante diminution de l'effectif de la population de symbiotes au cours du printemps. De l'été au début de l'hiver, l'effectif de la population de *M. cirriferum* reste stable: il se maintient jusqu'au recrutement hivernal suivant. Ceci suggère qu'en l'absence de prédateurs (ceux-ci disparaissent de la population d'hôtes dès la fin du mois de juin), la mortalité naturelle dans la population de *M. cirriferum* s'équilibre avec le recrutement dû à la reproduction continue des myzostomes. Cette situation se poursuit jusque dans le courant de l'hiver, au moment où l'intensification de l'activité alimentaire des comatules redynamiserait le recrutement des myzostomes.

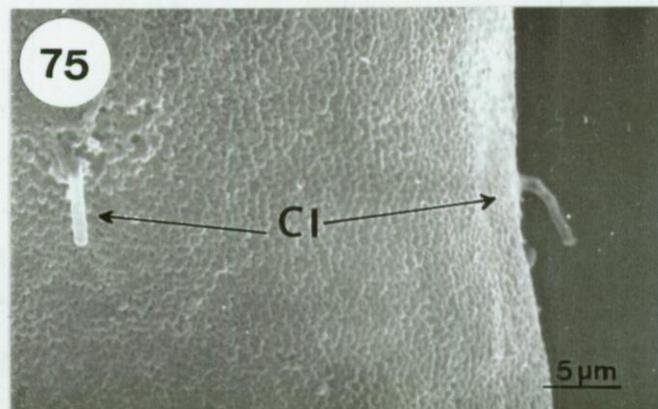
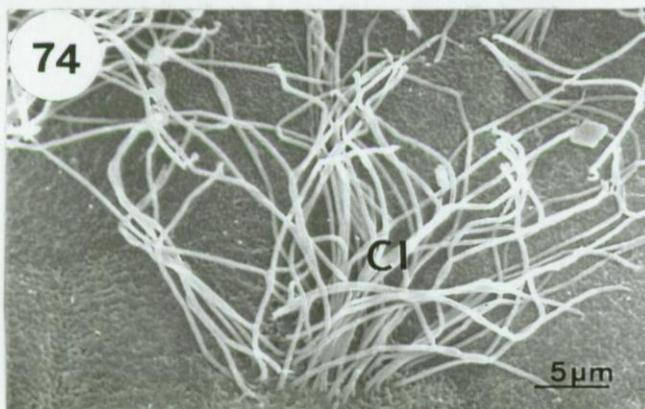
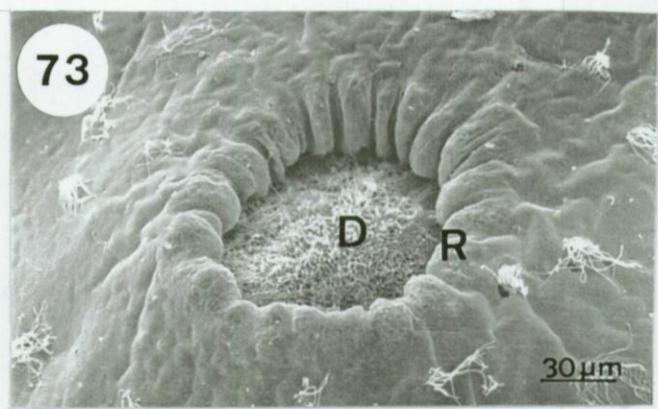
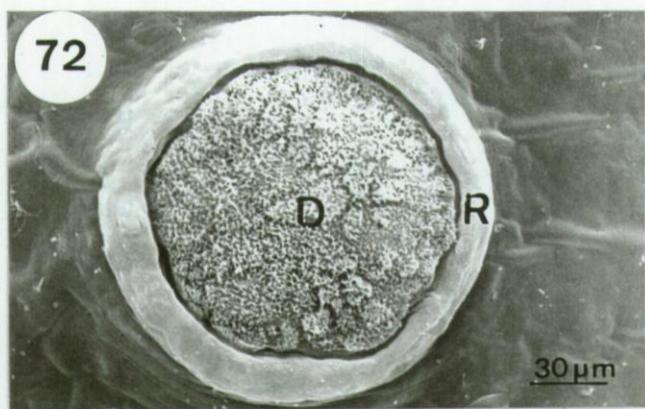
**E. LE TEGUMENT
ET
LES ZONES EPIDERMIIQUES
SENSORIELLES**

E. LE TEGUMENT ET LES ZONES EPIDERMIIQUES SENSORIELLES

1. Morphologie externe de *Myzostoma cirriferum*

Pour rappel, le corps de *Myzostoma cirriferum* est formé de deux parties: un court introvert antérieur à l'apex duquel s'ouvre la bouche entourée d'une lèvre et de quatre paires de papilles buccales; un large tronc postérieur où s'ouvrent l'anus et le pore génital femelle, et qui porte dix paires de cirres, cinq paires de parapodes, quatre paires d'organes latéraux et une paire de pénis (les éléments d'une même paire sont chaque fois situés de part et d'autre du plan sagittal) (Fig. 14). Les parapodes sont des cônes tégumentaires relativement effilés et entourés à leur base d'un repli tégumentaire annulaire; ils présentent une soie apicale en forme de crochet (Figs 17, 18). Des organes dits latéraux alternent avec les parapodes. Ils sont formés d'un dôme microvilleux et cilié entouré d'un repli tégumentaire (Fig. 14) et ont une forme générale en cône ou en étoile (selon que les individus ont été ou non anesthésiés - par immersion dans de l'éthanol 5% dans de l'eau de mer - avant d'être fixés) (Figs 72, 73). Les pénis, situés à hauteur des parapodes de la troisième paire, sont des organes cylindriques à l'apex desquels s'ouvrent les pores génitaux mâles (Fig. 19). Les cirres, situés en marge du tronc, sont des appendices en forme d'aiguille parcourus ventralement d'un étroit sillon (Fig. 20).

La surface du tégument de *M. cirriferum* est constituée de renflements hémisphériques juxtaposés de quelque 200 nm de diamètre. Deux types de cils s'y observent: des cils longs de 20 µm disposés en touffes et des cils courts de 4 à 10 µm souvent isolés mais parfois disposés par petits groupes de deux à six (Figs 74, 75). Les cils longs se remarquent sur toute la surface du tronc. Les cils courts se notent exclusivement sur le dôme des organes latéraux, les cirres, les papilles buccales, les parapodes, les replis parapodiaux et sur une étroite bande de 50 µm de large en marge du tronc (aussi bien ventralement que dorsalement).



Figs 72 à 75. *Myzostoma cirriferum*. Les organes latéraux et le tégument (MEB).

Figs 72, 73. Vue d'un organe latéral étendu (72) et rétracté (73), respectivement.

Figs 74, 75. Cils longs situés au centre du tronc (74) et cils courts situés sur une cirre (75).

Abréviations. CI: cil; D: dôme; R: repli.

2. Comportement des appendices tégumentaires

Les parapodes interviennent dans la fixation des myzostomes pinnulaires (les soies sont dans ce cas fermement ancrées dans le tégument de l'hôte) et dans la locomotion des myzostomes vagiles (les soies sont alors légèrement accrochées à la surface de l'hôte). Par leurs mouvements, les parapodes permettent aux myzostomes de se déplacer vers l'avant, ou vers l'arrière, ou encore de faire un tour complet sur eux-mêmes. La plupart du temps, l'introvert est rétracté dans une poche antéro-ventrale du tronc. Lorsqu'il est étendu, la lèvre et les papilles buccales paraissent toujours appliquées à la surface de l'hôte (le plus souvent dans un sillon ambulacraire). Les organes latéraux sont extensibles et très actifs: lorsqu'ils sont rétractés, leur dôme est recouvert par le repli tégumentaire; lorsqu'ils sont étendus, leur dôme, entouré par le repli, fait saillie et contacte la surface de l'hôte (Figs 72, 73). Un ou plusieurs organes latéraux (situés soit du même côté soit des deux côtés du plan sagittal) peuvent s'étendre et contacter ainsi la surface de l'hôte en même temps. Les pénis et les cirres sont peu mobiles, tout au plus peuvent-ils se contracter légèrement. Il arrive que les pénis entrent en contact avec le tégument d'un autre myzostome. Quant aux cirres, ils peuvent être appliqués à la surface de l'hôte ou sur un autre myzostome.

3. Structure fine du tégument et des zones épidermiques sensorielles

Le tégument de *M. cirriferum* consiste en une assise myoépithéliale (l'épiderme) recouverte d'une cuticule et reposant sur une couche parenchymo-musculaire (le derme). On distinguera l'épiderme standard qui est peu ou pas innervé de l'épiderme sensoriel qui est lui pénétré par de nombreux processus nerveux. Un épiderme sensoriel s'observe sur les papilles buccales, les cirres, les parapodes et leurs replis, le dôme des organes latéraux et sur une étroite bande de 50 µm de large à la marge du tronc. L'épiderme standard recouvre toutes les autres régions du tronc et de l'introvert. Le derme est fait de deux parties, l'une musculaire et périphérique (sous-épidermique), l'autre parenchymateuse et profonde (elle s'insinue entre les gonades).

76

orientation

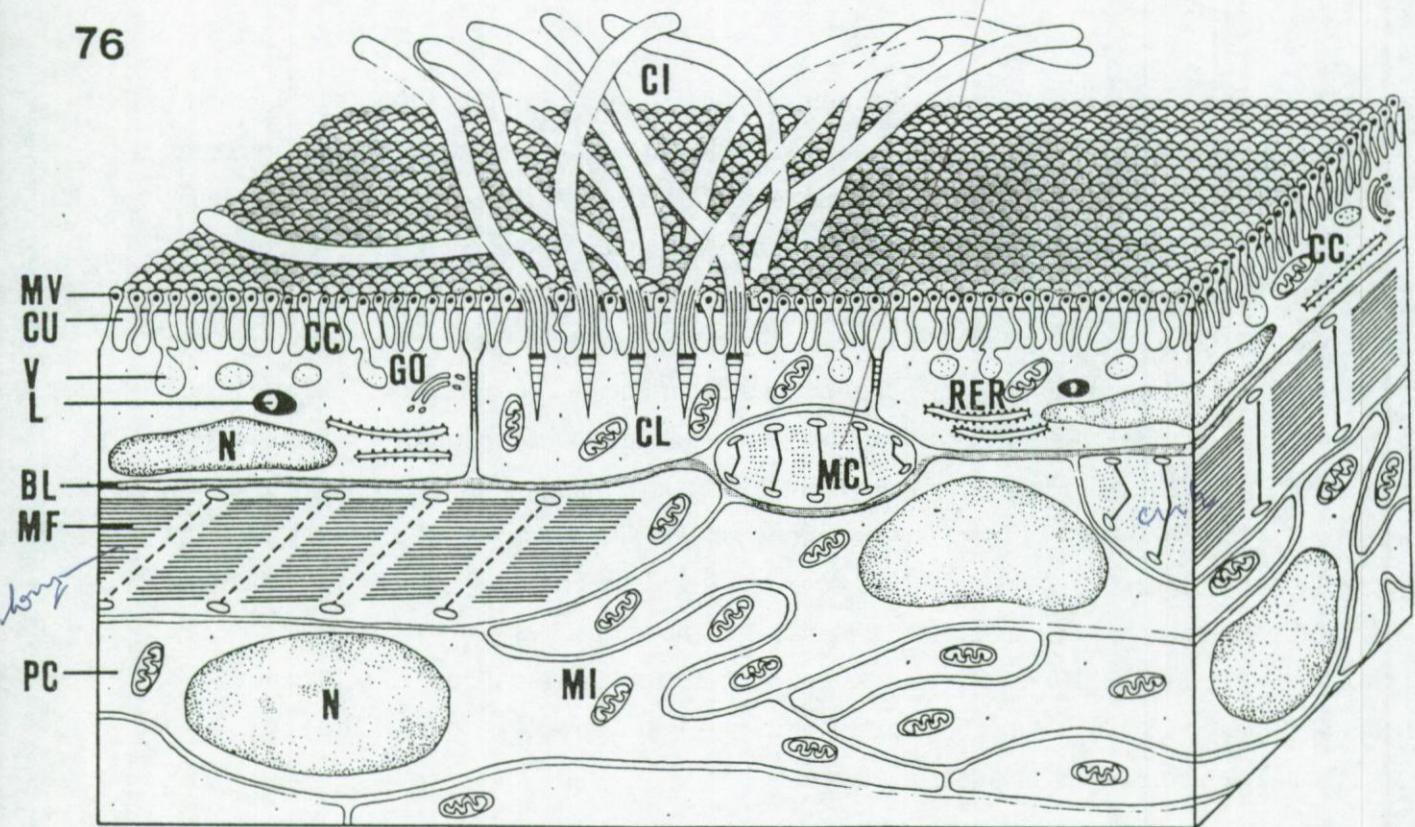
enveloppe
cuticulaire (P. 52)

Fig. 76. *Myzostoma cirriferum*. Représentation schématique du tégument dans une région non sensorielle.

Abréviations: BL: lame basale; CC: cellule de recouvrement; CI: cil; CL: cellule ciliée; CU: cuticule; GO: appareil de Golgi; L: lysosome; MC: cellule myoépithéliale. MI: mitochondrie; MF: fibre musculaire du derme; MV: microvillosité; N: noyau; PC: cellule parenchymateuse; RER: réticulum endoplasmique rugueux; V: vésicule.

lame air
en quelle hor?

A. Epiderme.

Fig. 76. Négligation de l'orientation aurait été utile. C'est par déduction (c.a.d. l'orientation des muscles spago-sphinctériens à la p. 52) que je suis arrivé à cette conclusion. S'agit-il de la face ventr. ou dorsale (différente : p. 55) ? Les muscles demeurent long. et. courts... : dans le même casque ?

3. 1. La cuticule

La cuticule mesure *ca* 1 μm d'épaisseur et réagit positivement aux colorations du bleu alcian, de l'APS* et à la technique de Van Gieson. Elle consiste en quatre couches superposées (Figs 76, 77). La couche interne, la plus épaisse (*ca* 750 nm d'épaisseur), est formée d'un matériel fibrillaire (Figs 77, 79). Elle est recouverte d'une couche très fine (de *ca* 30 nm d'épaisseur) dense aux électrons (Fig. 77). Ces deux couches sont traversées par de nombreuses microvillosités qui se terminent chacune par un renflement sphérique de 200 nm de diamètre tout à fait inclu dans la troisième couche cuticulaire. Celle-ci mesure *ca* 200 nm d'épaisseur et est pratiquement amorphe (Figs 77, 79). La couche la plus externe est aussi la plus fine (*ca* 20 nm); elle est dense aux électrons et recouvre les renflements microvillaires (Figs 77, 79). ?

Gouache
77
30
200
20

3. 2. L'épiderme standard

L'épiderme standard est formé de cellules de recouvrement, de cellules ciliées et de cellules myoépithéliales. Toutes reposent sur la lame basale épidermique sous-jacente (50 nm d'épaisseur) mais seules les cellules de recouvrement et les cellules ciliées participent à l'apex de l'épiderme: leurs microvillosités contactent la cuticule et la traversent sur l'essentiel de son épaisseur. Les cellules de recouvrement et les cellules ciliées sont unies par des complexes apicaux formés d'une zonula adhaerens distale et d'un desmosome septé proximal (Fig. 78).

Les cellules de recouvrement. Aplaties et mesurant de 1 à 3 μm d'épaisseur pour environ 15 μm de long, les cellules de recouvrement ont un noyau ovoïde qui occupe une grande partie de la cellule (Figs 77, 79). Le cytoplasme renferme quelques mitochondries, des citernes golgiennes, du réticulum endoplasmique rugueux (RER), des lysosomes et de nombreuses vésicules, ces dernières étant situées exclusivement dans la partie apicale des cellules (Figs 76, 77). Ces vésicules soit contiennent un matériel granulaire peu dense aux électrons, soit

*APS: abréviation pour la coloration histochimique utilisant l'acide per-iodique de Schiff.

Figs 77 à 82. *Myzostoma cirriferum*. Le tégument non sensoriel (MET).

Fig. 77. Section sagittale au travers la région dorsale d'un individu (les flèches indiquent la lame basale; les numéros de 1 à 4 indiquent les couches cuticulaires respectives).

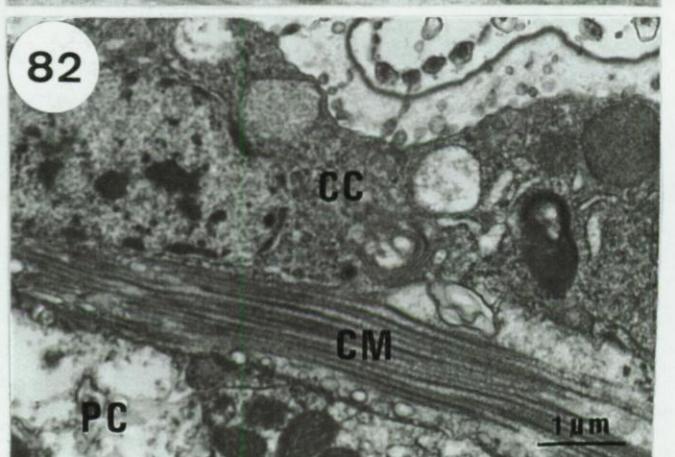
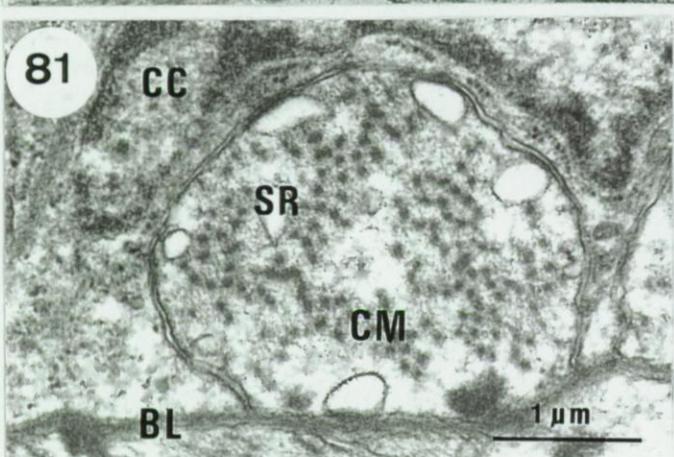
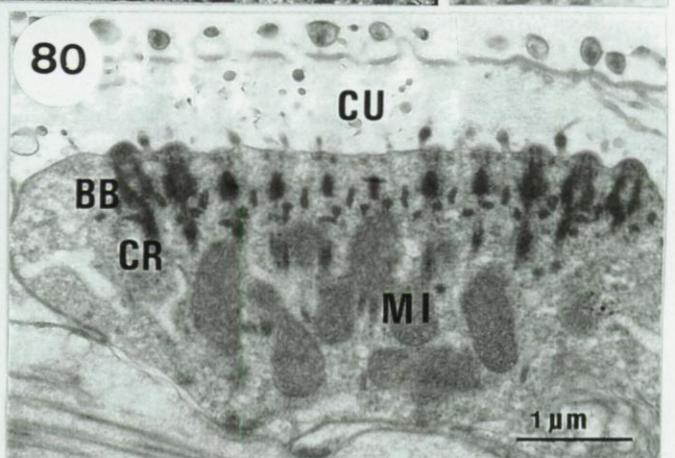
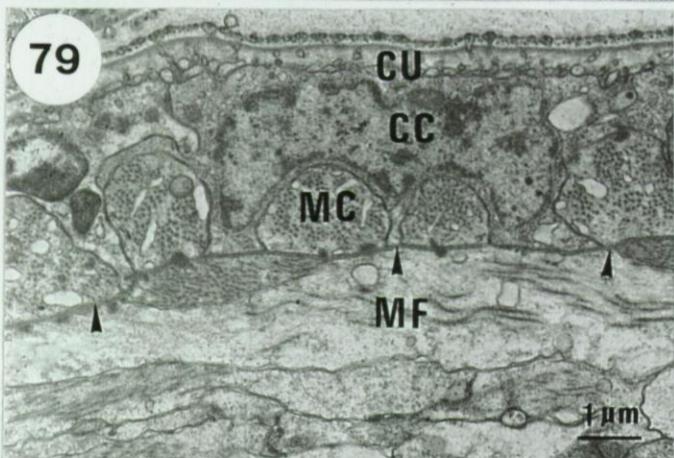
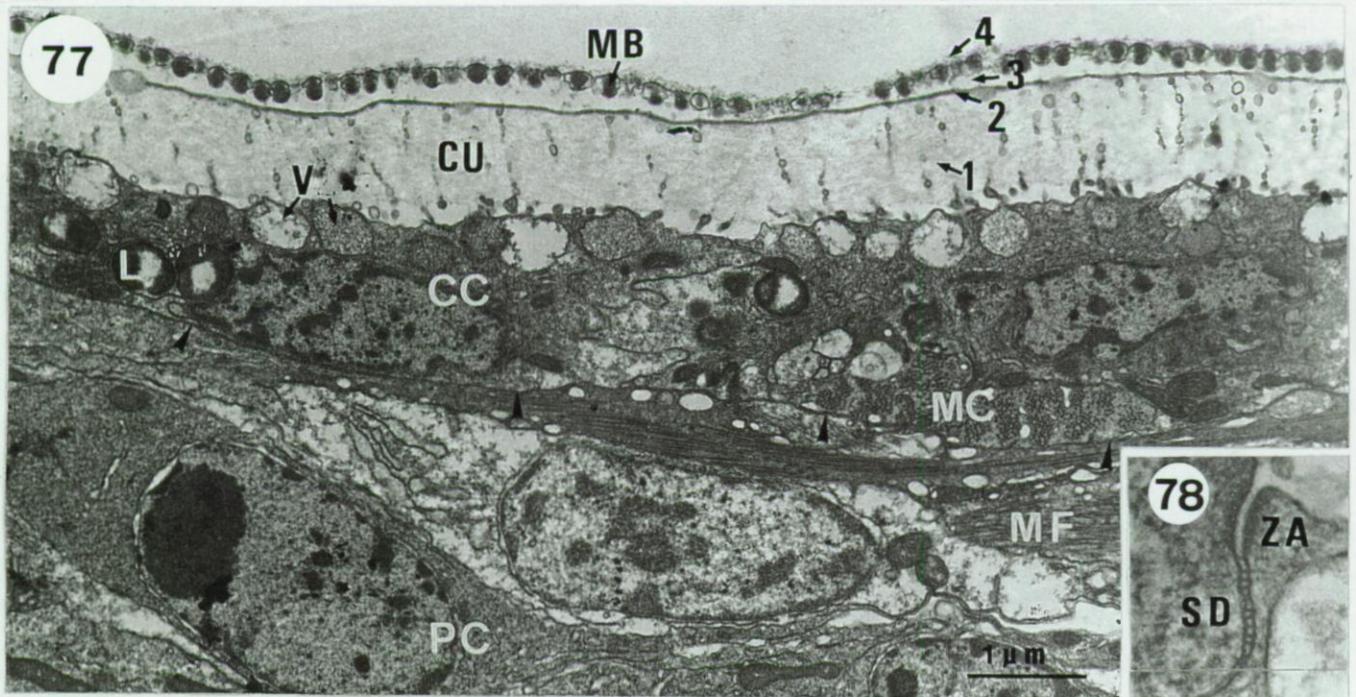
Fig. 78. Détail d'un complexe jonctionnel apical.

Fig. 79. Section sagittale au travers la poche de l'introvert montrant l'abondance des cellules myoépithéliales (les flèches indiquent la lame basale).

Fig. 80. Détail d'une cellule ciliée.

Figs 81, 82. Sections transversale (81) et longitudinale (82) dans une cellule myoépithéliale.

Abréviations. BB: corpuscule basal; BL: lame basale; CC: cellule de recouvrement; CM: myofilaments; CR: racine ciliale; CU: cuticule; L: lysosome; MB: apex d'une microvillosité; MC: cellule myoépithéliale; MF: fibre musculaire; MI: mitochondrie; PC: cellule parenchymateuse; SD: desmosome septé; SR: réticulum sarcoplasmique; V: vésicule; ZA: zonula adhaerens.



2. Définition de velvete
myoépithélial ?

- peut exister chez des
Trichomaniés !

sont vides auquel cas leur membrane est localement fusionnée avec la membrane cellulaire (Figs 76, 77).

Les cellules ciliées. De même dimensions que les cellules de recouvrement, ces cellules portent de 20 à 50 cils, chacun mesurant 20 µm de long et comprenant un axonème formé de 9X2+2 microtubules (Figs 76, 80). Un corpuscule basal est situé à la base du cil et se prolonge par une racine ciliaire entourée de mitochondries (Figs 76, 80). Les autres organites et le noyau sont similaires à ceux des cellules de recouvrement.

Les cellules myoépithéliales. Cylindriques et mesurant de 0,5 à 3 µm de diamètre pour plusieurs dizaines de micromètres de long, les cellules myoépithéliales se situent sous les cellules précitées et de telle sorte que leur axe longitudinal est toujours perpendiculaire à l'axe antéro-postérieur du myzostome (Figs 76, 77, 81, 82). Elles sont particulièrement nombreuses sur l'introvert et sur la paroi de la poche dans laquelle il se rétracte (Fig 79). En section transversale, elles montrent de nombreux myofilaments épais (filaments de myosine) entourés de myofilaments fins (filaments d'actine) ainsi que quelques citernes du réticulum sarcoplasmique situés en périphérie du cytoplasme (Fig. 81). En section longitudinale, le centre de la cellule apparaît rempli de myofilaments et sa périphérie renferme des citernes du réticulum ainsi que quelques mitochondries (Fig 82). Le noyau n'a jamais été observé.

) régulière /
shiny /
dome ??
spinal ??

3. 3. L'épiderme sensoriel

L'innervation de l'épiderme sensoriel s'effectue par de fins processus nerveux qui s'insinuent entre les parties basales des cellules constitutives. Des processus basiépidermiques de ce type ont été observés en de nombreuses parties du corps des myzostomes: sur les papilles buccales, les cirres, les parapodes et leurs replis, le dôme des organes latéraux et la marge du tronc. Ces processus ne sont jamais nucléés, des noyaux de cellules nerveuses ne s'observant qu'au sein de la chaîne nerveuse ventrale d'où sont issus tous les processus observés.

a) **Les organes latéraux.** Chaque organe latéral consiste en un dôme microvillos et cilié entouré ou recouvert - selon que le dôme est étendu ou rétracté - par un repli tégumentaire. L'épiderme de la partie interne de ce repli (*viz.*, la partie faisant face au dôme) comprend un

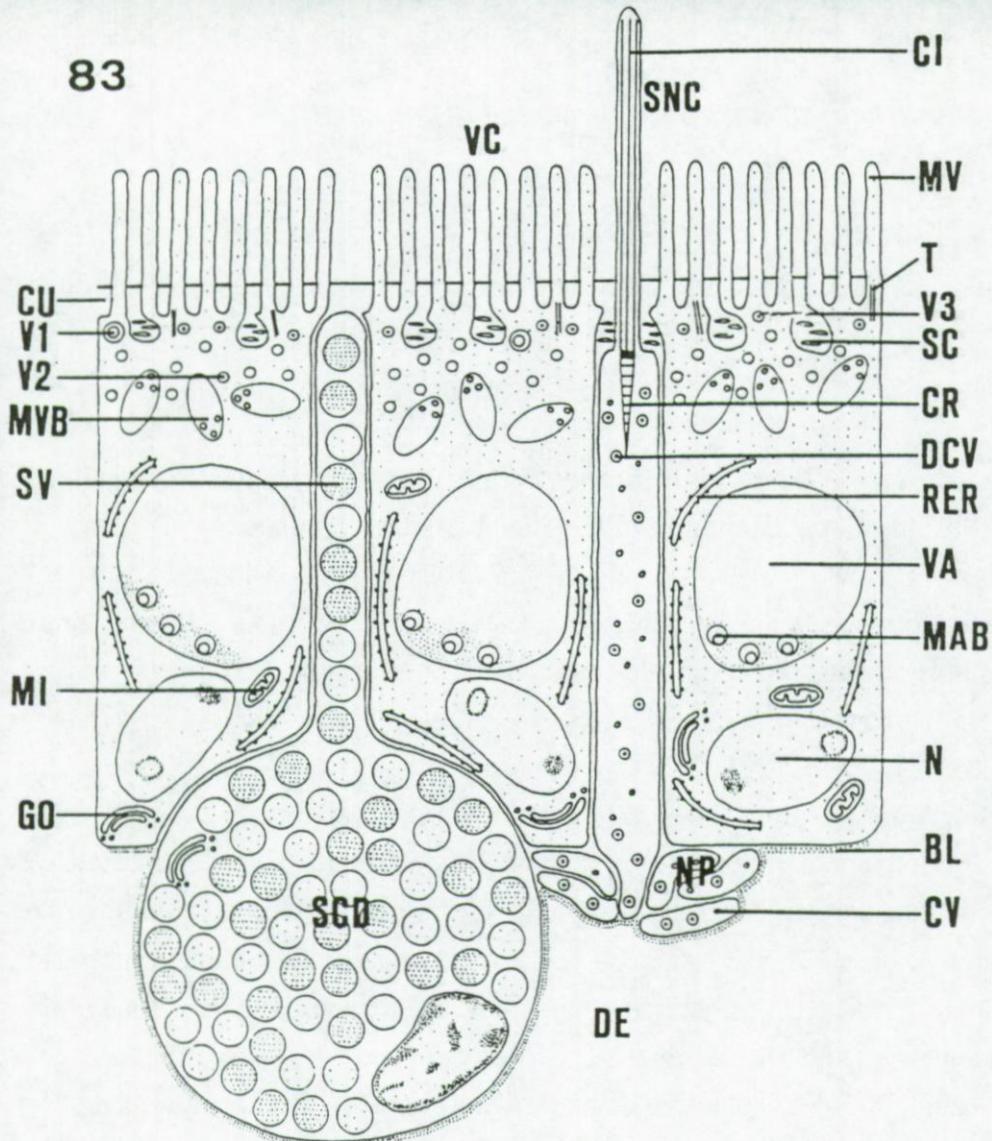


Fig. 83. *Myzostoma cirriferum*. Représentation schématique de l'épiderme du dôme d'un organe latéral (pas à l'échelle).

Abbreviations. BL: lame basale; CI: cil; CR: racine ciliaire; CU: cuticule; CV: vésicule claire; DCV: vésicule dense; DE: derme; GO: appareil de Golgi; MAB: matériel granulaire; MI: mitochondrie; MV: microvillosité; MVB: corps mutivésiculaires; N: noyau; NP: processus nerveux; RER: réticulum endoplasmique rugueux; SC: chambre sous-cuticulaire; SCD: cellule glandulaire; SNC: cellule sensorielle; SV: vésicule; T: microfilaments; V1, V2, V3: vésicules du premier, second et troisième type; VA: vacuole; VC: cellule vacuolaire.

seul type cellulaire qui est glandulaire alors que celui de sa partie externe a une structure similaire à celle de l'épiderme standard. L'épiderme du dôme est, lui, très particulier et comprend trois types cellulaires: des cellules vacuolaires, des cellules sensorielles et des cellules glandulaires (autres que celles du repli). Toutes ces cellules sont unies par des complexes jonctionnels apicaux qui consistent chacun en une zonula adhaerens distale et un desmosome septé proximal.

Les cellules vacuolaires. Mesurant 40 µm de haut pour 5 à 20 µm de large, les cellules vacuolaires portent de nombreuses longues microvillosités (*ca* 6 µm de long) qui sous-tendent par leur base une fine cuticule. Cette cuticule de 100 nm d'épaisseur est très fortement APS-positive et consiste en une couche interne fibrillaire (de 70 nm d'épaisseur) et une couche externe dense (de 30 nm d'épaisseur) (Figs 83, 85). Entre les microvillosités, la membrane cellulaire est souvent indentée formant ainsi de place en place des chambres sous cuticulaires extracellulaires (Figs 83, 85). Ces chambres sont ovoïdes; elles mesurent de 300 nm à 2 µm de diamètre et renferment de fins processus cylindriques de 50 nm de diamètre (Figs 83, 85, 93).

On peut distinguer quatre régions de l'apex à la base d'une cellule vacuolaire, régions qui se caractérisent par leurs contenus cytoplasmiques respectifs. La première, la plus apicale, mesure quelque 5 µm de haut et comprend de nombreux microfilaments et trois types de vésicules: des vésicules de 300 nm de diamètre au centre et à la périphérie dense et séparés l'un de l'autre par une partie annulaire claire, des vésicules de 70 à 160 nm de diamètre comprenant un matériel finement granulaire et des vésicules de 200 nm de diamètre au centre dense et à la périphérie claire (Figs 83, 89, 90, 91, 92). La seconde région mesure 10 à 12 µm de haut et comprend de nombreux corps multivésiculaires de 0,5 à 1,8 µm de diamètre (Figs 83, 86, 95). La troisième région, de l'ordre de 15 µm de haut, renferme une énorme vacuole de 10 à 13 µm de diamètre qui inclut un matériel granulaire (Figs 83, 87, 94). La vacuole est entourée par un réticulum endoplasmique rugueux très développé ainsi que par de nombreuses mitochondries (Fig. 87). La quatrième région, la plus basale, mesure environ 8 µm de haut et comprend un noyau entouré par un réticulum endoplasmique rugueux très développé, de nombreuses mitochondries et de nombreux appareils de Golgi (jusque 15 appareils de Golgi ont été observés autour du noyau) (Figs 83, 88, 96). Le noyau est totalement euchromatique et comprend 2 nucléoles: le premier, circulaire à réniforme, est uniformément dense et mesure 2 µm de diamètre; le second, parfaitement circulaire, est dense uniquement à sa périphérie et mesure 3 µm de diamètre (Fig. 88).

Figs 84 à 96. *Myzostoma cirriferum*. Les organes latéraux (MET).

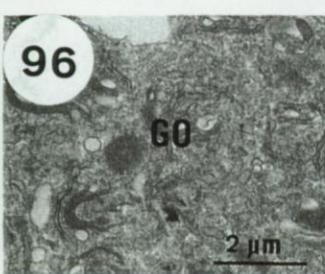
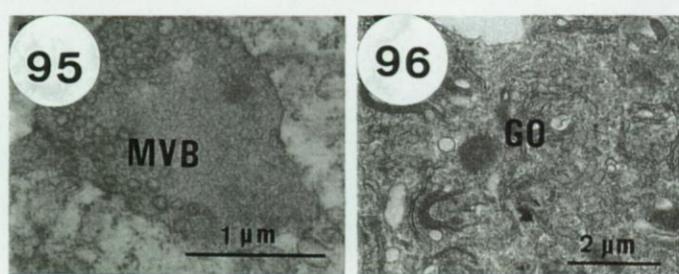
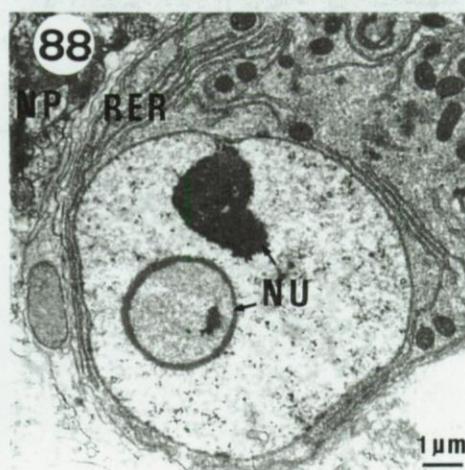
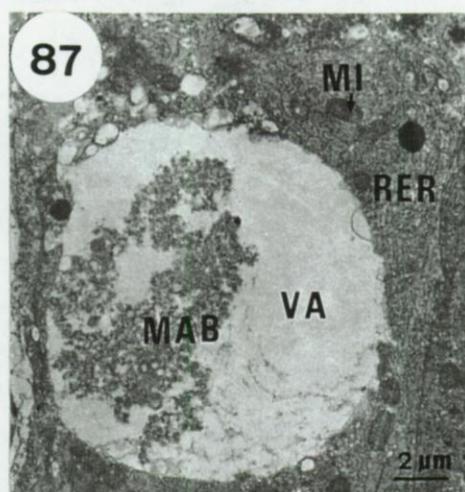
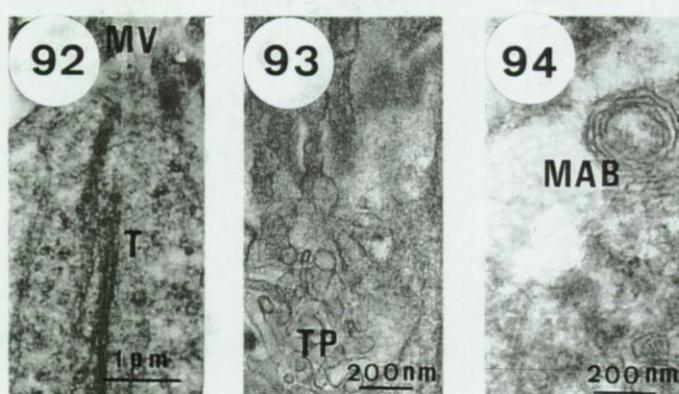
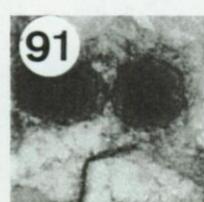
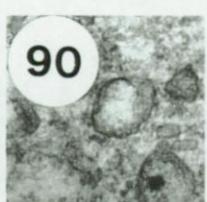
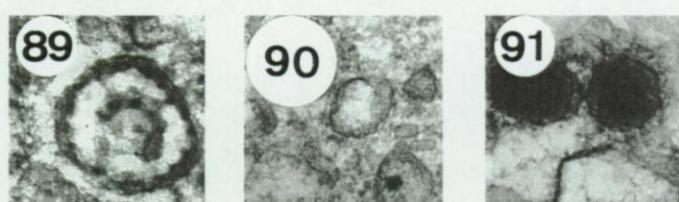
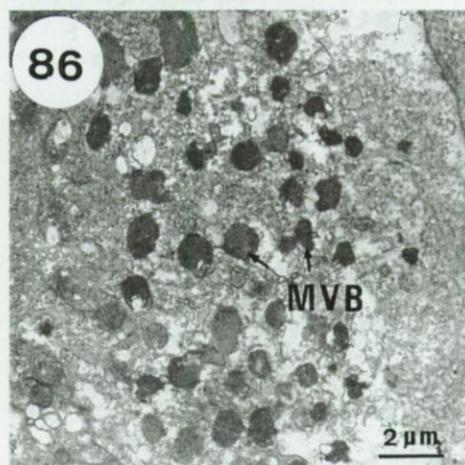
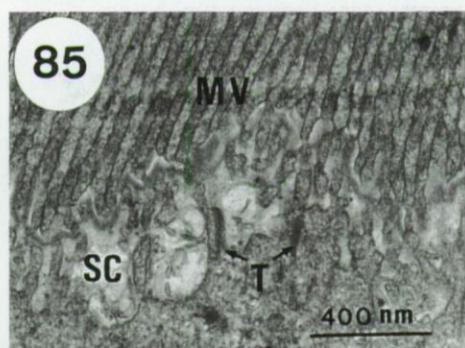
Fig. 84. Section au travers du repli d'un organe latéral.

Figs 85 à 88. Vues générales des première (85), seconde (86), troisième (87) et quatrième (88) régions d'une cellule vacuolaire.

Figs 89 à 96. Détails du contenu des différentes régions d'une cellule vacuolaire.

Vésicules du premier (89), second (90) et troisième type (91) et microfilaments (92) de la première région; processus des chambres sous cuticulaire (93); matériel contenu dans une vacuole de la troisième région (94); corps multivésiculaire de la seconde région (95); appareils de Golgi de la quatrième région (96).

Abréviations. CC: cellule de recouvrement; DE: derme; GO: appareil de Golgi; MAB: matériel granulaire; MI: mitochondrie; MV: microvillosité; MVB: corps multivésiculaire; N: noyau; NP: processus nerveux; NU: nucléole; RER: réticulum endoplasmique rugueux; SC: chambre sous cuticulaire; SCF: cellule glandulaire; T: microfilament; TP: processus d'une chambre sous cuticulaire VA: vacuole.



Les cellules sensorielles. Les cellules sensorielles qui s'observent ici ne sont en fait que des neurites dont le corps cellulaire (et donc le noyau) est localisé dans la chaîne nerveuse ventrale du myzostome. Chaque "cellule sensorielle" naît généralement seule (parfois par paire) d'un paquet de neurites basiépidermiques et atteint l'apex de l'épiderme (Fig. 83). De sa partie apicale s'individualise un cil transcuticulaire de *ca* 10 µm de long qui comprend un axonème de 9X2+2 microtubules (Figs 83, 98). A la base du cil se situe un corpuscule basal qui se prolonge par une racine ciliaire (Figs 83, 98). Les cellules sensorielles renferment deux types de vésicules *viz.*, des vésicules denses de 70 à 140 nm de diamètre et d'autres claires de 30 nm de diamètre (Figs 99, 100).

Arcosilva? zie fig 98.

Les cellules glandulaires. Deux types de cellules glandulaires sont présentes dans les organes latéraux, les unes associées au dôme et les autres au repli. *Les cellules glandulaires du dôme* sont formées d'une région basale ovoïde (*ca* 20 µm de diamètre) qui se prolonge par un long processus apical s'insinuant entre les cellules vacuolaires pour atteindre l'apex de l'épiderme (Fig. 83). Le cytoplasme renferme des citerne golgiennes et de nombreuses vésicules sphériques ou ovales d'environ 900 nm de diamètre comprenant un matériel granulaire homogène réagissant positivement au bleu alcian (Figs 83, 97). Le noyau est localisé dans la partie basale du corps cellulaire. *Les cellules glandulaires du repli* mesurent de l'ordre de 15 µm de haut pour 5 µm de large (Fig. 84). Le noyau, en position basale, est entouré par un réticulum endoplasmique rugueux bien développé, des mitochondries et des citerne golgiennes (Fig. 84). La majorité du cytoplasme renferme des vésicules de 0,5 à 2,5 µm de diamètre comprenant un matériel finement granulaire réparti de manière homogène ou concentré en leur périphérie et réagissant positivement au bleu alcian (Fig. 84).

shewili?

b) **Les autres zones épidermiques sensorielles.** Celles-ci s'observent sur les papilles buccales, les cirres, les parapodes et leurs replis et à la marge du tronc. Leur épiderme est semblable à l'épiderme standard sauf qu'il est innervé par des paquets de neurites basiépidermiques d'où s'individualisent des cellules sensorielles semblables à celles observées dans le dôme des organes latéraux. Des cellules glandulaires y ont également été observées mais toujours en petit nombre et très localement: dans les cirres (où elles sont semblables à celles du dôme des organes latéraux) et dans les parapodes (où elles sont semblables à celles du repli des organes latéraux).

Vof Fig. 98 Ø Fig. 83
 cilis | cilia | remise ???

Figs 97 à 103. *Myzostoma cirriferum*. Les organes latéraux (97 à 100) et le derme (101 à 103).

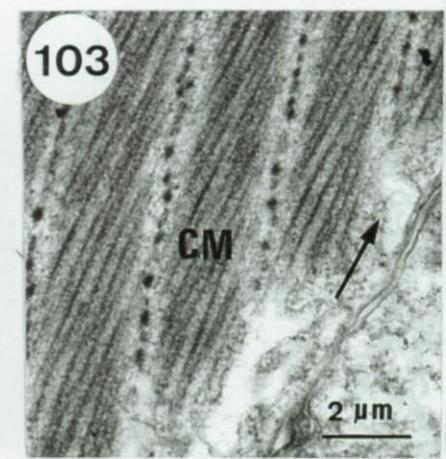
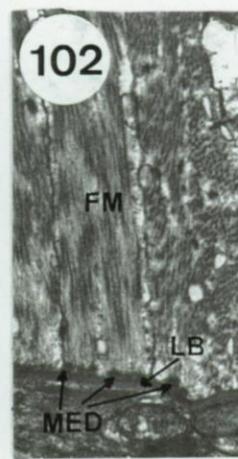
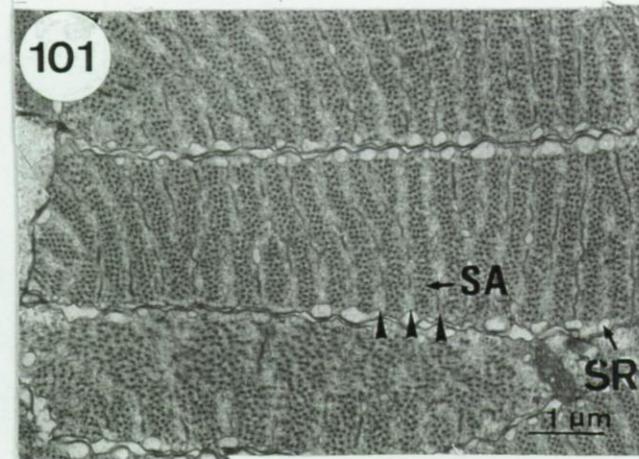
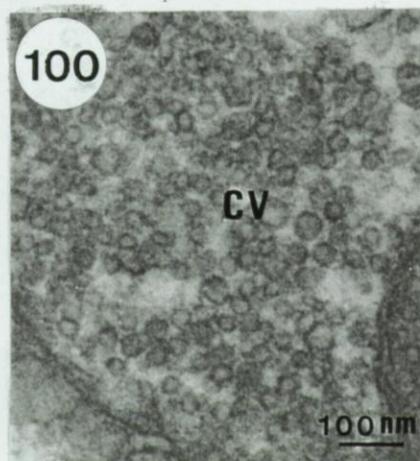
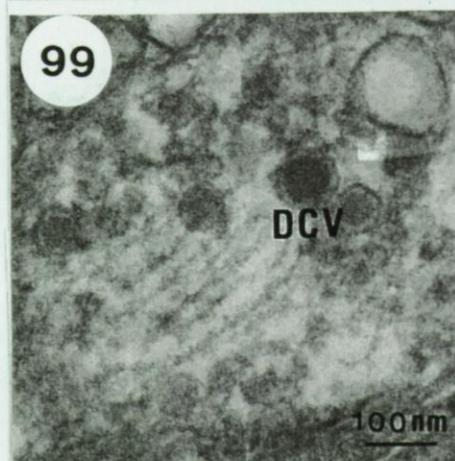
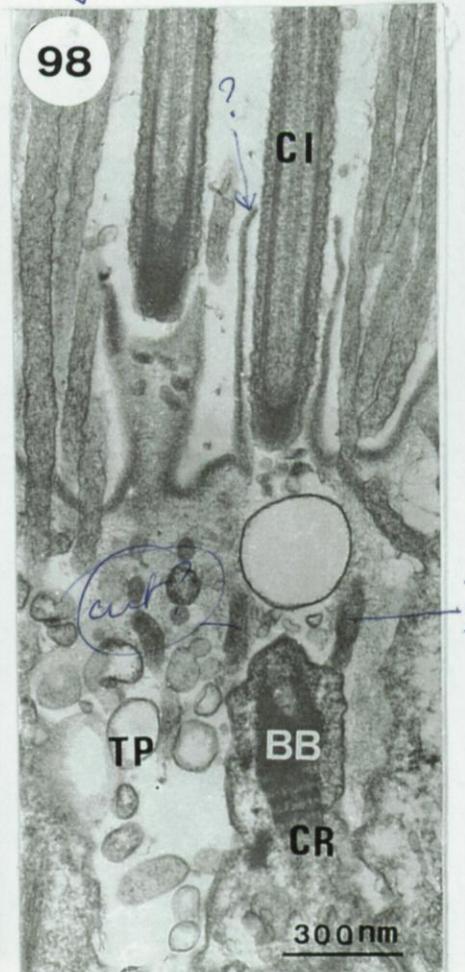
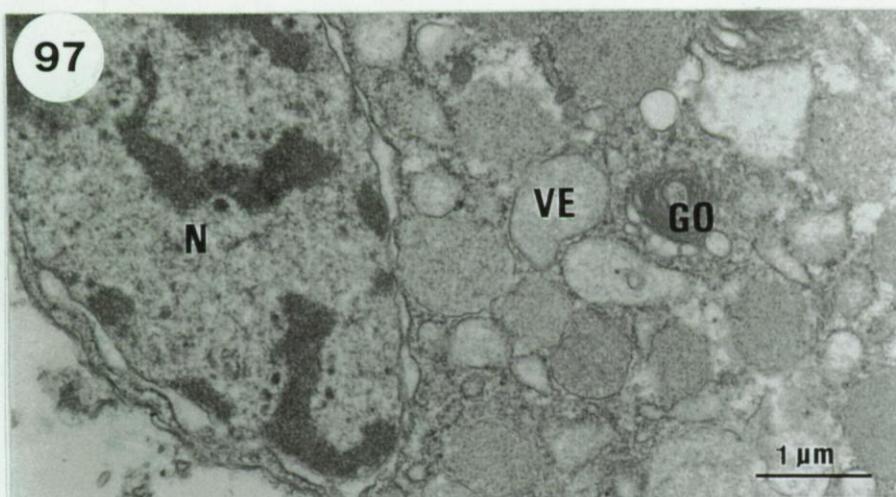
Fig. 97. Détail d'une cellule glandulaire du dôme.

Fig. 98. Détail de la partie apicale d'une cellule sensorielle.

Figs 99, 100. Détails des processus nerveux basiépidermiques montrant les vésicules denses (99) et les vésicules claires (100).

Figs 101, 102, 103. Sections transversale (101) et longitudinale (103; la flèche indique l'axe longitudinal de la fibre musculaire) dans une fibre musculaire du derme; jonction d'une fibre musculaire sur la lame basale de l'épiderme (102).

Abréviations. BB: corpuscule basal; CI: cil; CM: myofilaments; CR: racine ciliaire; CV: vésicule claire; DCV: vésicule dense; FM: fibre musculaire; GO: appareil de Golgi; LB: lame basale; MED: matériel extracellulaire dense N: noyau; SA: sarcomères (les flèches indiquent les limites des sarcomères); SR: réticulum sarcoplasmique; TP: processus d'une chambre sous cuticulaire; VE: vésicule de sécrétion.



3. Cellules ~~pan~~chymatiques
→ régénération ??
Mitoses somatiques ?

3. 4. Le derme

Le derme est de nature parenchymo-musculaire. Il est fait de deux parties quelque peu imbriquées, l'une musculaire (*viz.*, la musculature dermique) et localisée sous l'épiderme (elle réagit positivement avec l'orange G et le bleu de bromophénol mercurique), l'autre plus interne et parenchymateuse (elle ne réagit à aucun des tests histochimiques effectués) qui s'insinue entre les gonades (Fig. 76). La matrice extracellulaire dermique est très peu développée et se résume à une fine granulation observable entre les cellules.

a) **La musculature dermique.** Bien développée ventralement ainsi qu'au sein des parapodes et dans l'introvert, la musculature dermique est peu développée dans la partie dorsale du myzostome. Elle consiste en de nombreuses fibres musculaires dont les orientations sont transversales (circulaires) ou longitudinales par rapport à l'axe antéro-postérieur du myzostome; d'autres fibres musculaires sont dorso-ventrales et traversent le tronc des organismes. Toutes ces fibres sont du type hélicoïdal: en section transversale, les myofilaments sont arrangés en pseudo-sarcomères; en section longitudinale, les sarcomères sont obliques par rapport à l'axe longitudinal de la fibre (Figs 101, 103). Le noyau est toujours situé en dehors des sarcomères. Des mitochondries et quelques citernes du réticulum sarcoplasmiques sont présentes autour des sarcomères (Figs 76, 101). Les fibres musculaires s'attachent sur la lame basale de l'épiderme; ces zones d'attache se caractérisent par la présence d'un matériel extracellulaire dense (Fig. 102)

b) **Le parenchyme.** Bien développé dans la région dorsale du myzostome, le parenchyme l'est moins dans la région ventrale. Il comprend un seul type de cellule, les cellules parenchymateuses, dont la taille et la forme varient fortement: elles peuvent mesurer de 20 μm de long sur 5 μm d'épaisseur (lorsque les gonades sont peu développées) à jusqu'à 50 μm de long et moins de 1 μm d'épaisseur (lorsque les gonades sont à maturité) (Figs 76, 77). Le noyau est entouré par quelques mitochondries; aucun autre organite n'a été observé dans le cytoplasme des cellules parenchymateuses (Figs 76, 77).

L ribosoma?
est. dense
→ muscle?

4. Discussion

4. 1. L'épiderme sensoriel

Durant toute leur vie, les individus postmétamorphiques de *Myzostoma cirriferum* sont nécessairement associés à une comatule sur laquelle ils se déplacent, mangent et se reproduisent. Ils peuvent passer d'une comatule à l'autre mais ne les quittent jamais pour se déplacer sur les substrats environnants (voir chapitre D). Les zones sensorielles de *M. cirriferum* sont toutes situées sur des structures qui contactent la surface de l'hôte comatuléen; leur fonction est, selon toute vraisemblance, de permettre la reconnaissance de l'hôte, *i. e.* des propriétés de sa surface.

a) **Les organes latéraux.** De toutes les structures tégumentaires étudiées, les organes latéraux sont les plus particulières. On leur a d'abord attribué un rôle de ventouses permettant aux myzostomes de s'attacher à leurs hôtes (von Graff 1884, 1887; Boulenger 1911), hypothèse infirmée par les auteurs ultérieurs: les organes latéraux en effet n'adhèrent pas à la surface des comatules, la fixation et l'attachement des myzostomes à leur substrat se faisant par les soies parapodiales. En conclusion d'une étude anatomique de ces organes chez deux espèces (*viz.*, *Asteriomyzostomum asteriae* et *Protomyzostomum polynephris*), von Stummer-Traunfels (1926) leur a attribué un rôle sensoriel (chez ces deux espèces, chaque organe latéral est formé d'un repli périphérique et d'une partie centrale, cette dernière étant la zone supposée sensorielle). Selon Clark (1978), la structure des organes latéraux des myzostomes serait pratiquement identique à celle des organes du même nom que portent certains polychètes sédentaires. Chez ces derniers, ce sont des organes pairs localisés sur chaque segment entre les neuropodes et notopodes (Rullier 1951). La structure fine des organes latéraux de neuf polychètes du genre *Protodrilus*, récemment étudiée par von Nordheim (1991), s'avère cependant être totalement différente de celle des organes latéraux de *M. cirriferum* observée dans ce travail (les organes latéraux des *Protodrilus* seraient en réalité impliqués dans la formation de spermatophores).

C'est indubitablement avec les organes nuchaux des polychètes (Figs 104 A, B) que les organes latéraux des myzostomes présentent le plus de ressemblance. Pour rappel, les organes nuchaux sont pairs et localisés dans la partie dorsale du prostomium ou du

104

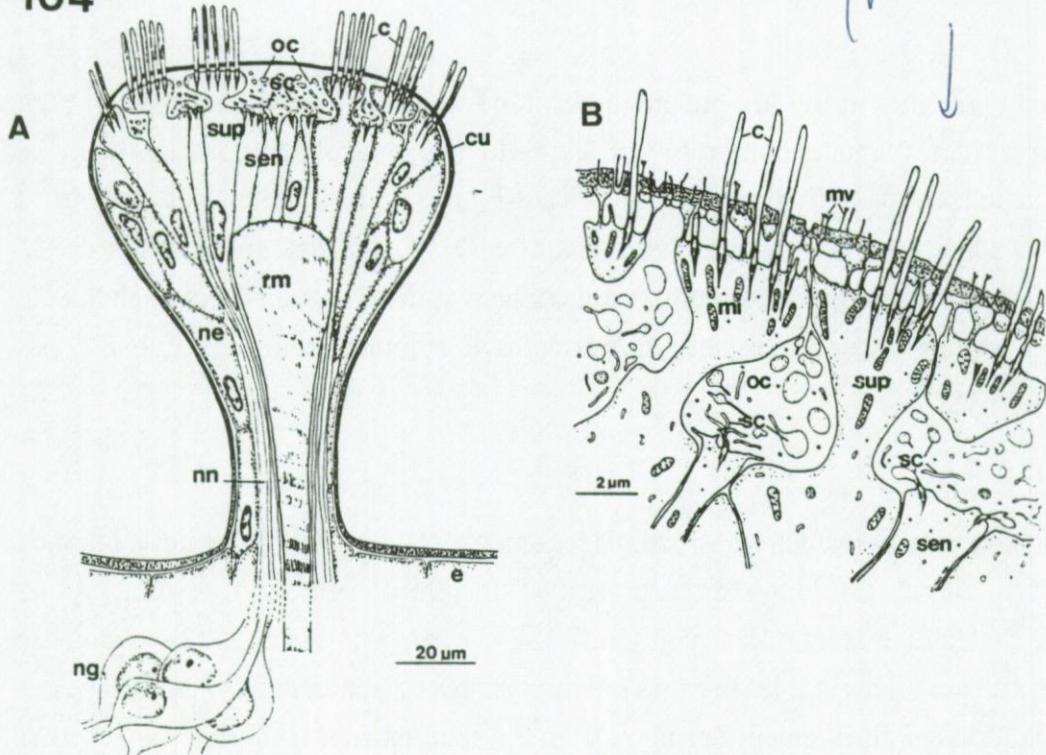


Fig. 104. Vues générale (A) d'un organe nuchal chez *Anaitides mucosa* (Polychaeta) et de détail de sa région apicale (B) (Rhode 1990).

Abréviations. c: cil; cu: cuticule; e: cellule épidermique; ne: cellule épidermique de l'organe nuchal; ng: péricaryon des cellules sensorielles; mi: mitochondrie; mv: microvillosité; nn: nerf nuchal; oc: chambre olfactive; rm: muscle rétracteur; sc: cil sensoriel; sen: cellule sensorielle; sup: cellule de support.

péristomium de l'animal (Rullier 1950, 1951). Des comparaisons faites avec les organes olfactifs des vertébrés et d'autres invertébrés supportent l'hypothèse qu'ils sont des chémorécepteurs (Rhode 1990). Leur structure fine a été étudiée chez une vingtaine d'espèces (Storch & Schlötzer-Scherhardt 1988, Rhode 1990), travaux qui montrent qu'ils partagent plusieurs caractéristiques avec les organes latéraux de *M. cirriferum*: tous deux sont recouverts d'une cuticule très réduite et leur épithélium renferme deux même types cellulaires dont l'un est sensoriel et l'autre microvilleux et métaboliquement très actif (les cellules microvilleuses sont appelées cellules de support dans les organes nuchaux et cellules vacuolaires dans les organes latéraux). Une caractéristique commune à tous les organes nuchaux est la présence d'espaces sous-cuticulaires, appelés chambres olfactives, au sein desquels s'observent des processus cylindriques et des cils émanant des cellules sensorielles (Storch and Schlötzer-Schrehardt 1988). Des chambres sous cuticulaires semblables aux chambres olfactives des organes nuchaux s'observent au sein des organes latéraux de *M. cirriferum*; ces chambres, associées à des cellules sensorielles et à des cellules vacuolaires, renferment des processus cylindriques qui émanent vraisemblablement des cellules sensorielles. Ces grandes similitudes avec les organes nuchaux suggèrent que les organes latéraux sont eux aussi des organes sensoriels. En outre, les organes latéraux sont très actifs - leur dôme est fréquemment et de façon répétée appliqués à la surface du tégument de l'hôte - ce qui montre que leur fonctionnement nécessite un contact. On peut en toute logique supposer que les organes latéraux ont pour fonction "d'identifier" la surface qu'ils touchent et de maintenir ainsi les myzostomes sur leurs hôtes en les empêchant de s'aventurer sur des substrats inhospitaliers.

Comment fonctionnent les organes nuchaux des polychètes? Selon Whittle et Zahid (1974), des molécules odorantes sont envoyées vers leurs chambres olfactives grâce au courant généré par le battement des cils des cellules de support. Là, les molécules contactent les processus nerveux responsables de la transduction du stimulus. Chez *M. cirriferum*, les organes latéraux sont majoritairement microvilleux et les cils qui y ont été observés ne sont pas vibratiles mais sensoriels (l'absence de cils vibratiles s'explique par le fait que leur sensorialité s'exercerait par le biais d'un contact). Deux types de cellules pourraient être responsables de la transduction: les cellules sensorielles et les cellules vacuolaires. Il paraît certain que les cellules sensorielles transmettent au myzostome un premier type d'information: leurs cils sont en effet les premières structures épidermiques qui contactent le substrat lorsque les dômes sont en extension (les cellules sensorielles possèdent en outre des vésicules qui ressemblent en tout point aux vésicules neurosécrétrices rencontrées dans les neurites de bons nombres de polychètes et d'autres invertébrés; e. g., D'Hainaut-Courtois &

Golding 1988). Quant aux cellules vacuolaires, elles sont le type cellulaire le plus abondant de l'épiderme des organes latéraux. Leurs caractéristiques cytoplasmiques les font fortement ressembler aux cellules de support des organes nuchaux des polychètes, cellules dont on suppose qu'elles sécrèteraient le matériel contenu dans leurs vésicules au sein des chambres olfactives (Rhode 1990). Le rôle de cette sécrétion n'est cependant pas connu chez les polychètes ni chez aucun autre invertébré marin et il faut s'intéresser aux insectes pour avoir une idée de la fonction que pourrait avoir un tel matériel. Dans les sensilles des insectes, en effet, le matériel sécrété par les cellules entourant les cellules sensorielles joueraient un rôle actif dans la transduction de stimuli en générant un potentiel transépithélial (ce potentiel serait modifié suite à une stimulation; Altner & Prillinger 1980). Un rôle identique pourrait être attribué aux cellules vacuolaires chez *M. cirriferum*. Les organes latéraux renseigneraient ainsi le myzostome sur les propriétés de la surface qu'il contacte en ayant une double action: un premier type d'information (probablement mécanique) serait fourni lorsque les cils contactent le substrat, un second type (probablement chimique) serait fourni par l'intermédiaire des processus sensoriels des chambres sous-cuticulaires dès lors que les cellules vacuolaires (stimulées par le contact) y auraient sécrété le contenu de leurs vésicules. Le troisième type de cellules observées dans les organes latéraux sont des cellules sécrétrices également présentes en d'autres endroits que les organes latéraux. Tous ces endroits sont des zones de contact avec l'hôte et le rôle des sécrétions de ces cellules est vraisemblablement de protéger le tégument des frictions qui doivent y exister.

b) **Les autres zones sensorielles.** Ces autres zones sont essentiellement caractérisées par la présence de cellules sensorielles identiques à celles des organes latéraux. De telles cellules ont été signalées dans l'épiderme de nombreux groupes d'invertébrés où on les considère tantôt comme chémoréceptrices tantôt comme méchanoréceptrices (Altner & Prillinger 1980). Chez *M. cirriferum*, les cirres et la marge du tronc sont probablement des régions tactiles: ils sont appliquées à la surface de l'hôte ou sur un autre myzostome et indiquerait à l'individu qu'il touche effectivement un substrat. Les papilles buccales, par le biais de leurs cellules sensorielles, seraient également tactiles; elles sont très bien placées pour détecter le courant ciliaire des sillons (ou les particules charriées dans ceux-ci) et pourraient ainsi indiquer au myzostome qu'il se situe à une place où il peut s'alimenter.

Les fibres musculaires dermiques de *M. cirriferum* sont du type hélicoïdes ou enroulées en nombre d'animaux à corps mou (Lanzavecchia et al. 1988). A côté des fibres musculaires, le derme est formé d'un paranchyme composé majoritairement de collagène, la matrice extracellulaire dermique étant très peu développée. Selon Rao et Sowbhagyan (1972), le derme de *Myzostoma goswami* Sutramaniam et *Myzostoma striata* George est formé dans la région dorsale des individus, d'une épaisse couche de fibres collagéniques, ce

qui n'est pas observé chez *M. cirriferum*. Un parenchyme[?] est un tissu commun chez les plathelminthes (Rieger *et al.* 1991); un tissu de structure et de fonction supposées similaires, le coelenchyme, se rencontre également chez certains polychètes interstitiaux (Fransen 1980).

**F. L'INTROVERT
ET
L'APPAREIL DIGESTIF**

F. L'INTROVERT ET L'APPAREIL DIGESTIF

1. Anatomie digestive et comportement alimentaire de *Myzostoma cirriferum*

L'appareil digestif de *Myzostoma cirriferum* est formé d'un pharynx, d'un estomac où aboutissent plusieurs paires de caecums digestifs et d'un intestin (Figs 104bis, 105, 106). L'essentiel du pharynx est inclu dans l'introvert alors que les autres organes sont situés dans le tronc du myzostome (Figs 105, 106). Pour rappel, l'introvert est un organe extensible; à son apex s'ouvre la bouche entourée d'une lèvre et de quatre paires de papilles buccales. De nombreux cils (*ca* 6 µm de long) s'observent à la surface de la lèvre (où ils se disposent par touffes de deux à dix cils) et des papilles (où ils sont généralement isolés). Lorsqu'un myzostome veut s'alimenter, il étend son introvert de telle manière que la lèvre et les papilles testent la surface de l'hôte. Si cette surface n'est pas celle d'un sillon ambulacraire, l'introvert se rétracte et le myzostome se déplace pour tester un autre endroit. Cette opération se répète jusqu'à ce que l'introvert pénètre un sillon ambulacraire.

Le pharynx est un organe de 600 µm de long (pour un individu de 1,8 mm de long). Sa lumière a, en coupe transversale, une forme de fente verticale de 90 µm de haut pour 5 µm de large (Fig. 107). Le pharynx est complètement inclus dans l'introvert lorsque celui-ci est étendu mais ne l'est que partiellement lorsqu'il est rétracté, sa partie postérieure se retrouvant alors dans le tronc du myzostome. Les autres organes digestifs, tous situés dans le tronc, consistent en deux tubes successifs, l'estomac et l'intestin (de 600 µm de long chacun) et une série de caecums pairs (Figs 105, 106). Le diamètre de la lumière digestive est de *ca* 300 µm à hauteur de l'estomac et va, à partir du début de l'intestin, en diminuant jusqu'à l'anus qui est postéro-ventral. De chaque côté, l'estomac reçoit les extrémités de trois caecums digestifs fortement ramifiés (on note la présence de branches secondaires et tertiaires qui envahissent tout le tronc du myzostome et s'infiltrent entre les appareils génitaux mâle et femelle).

104bis

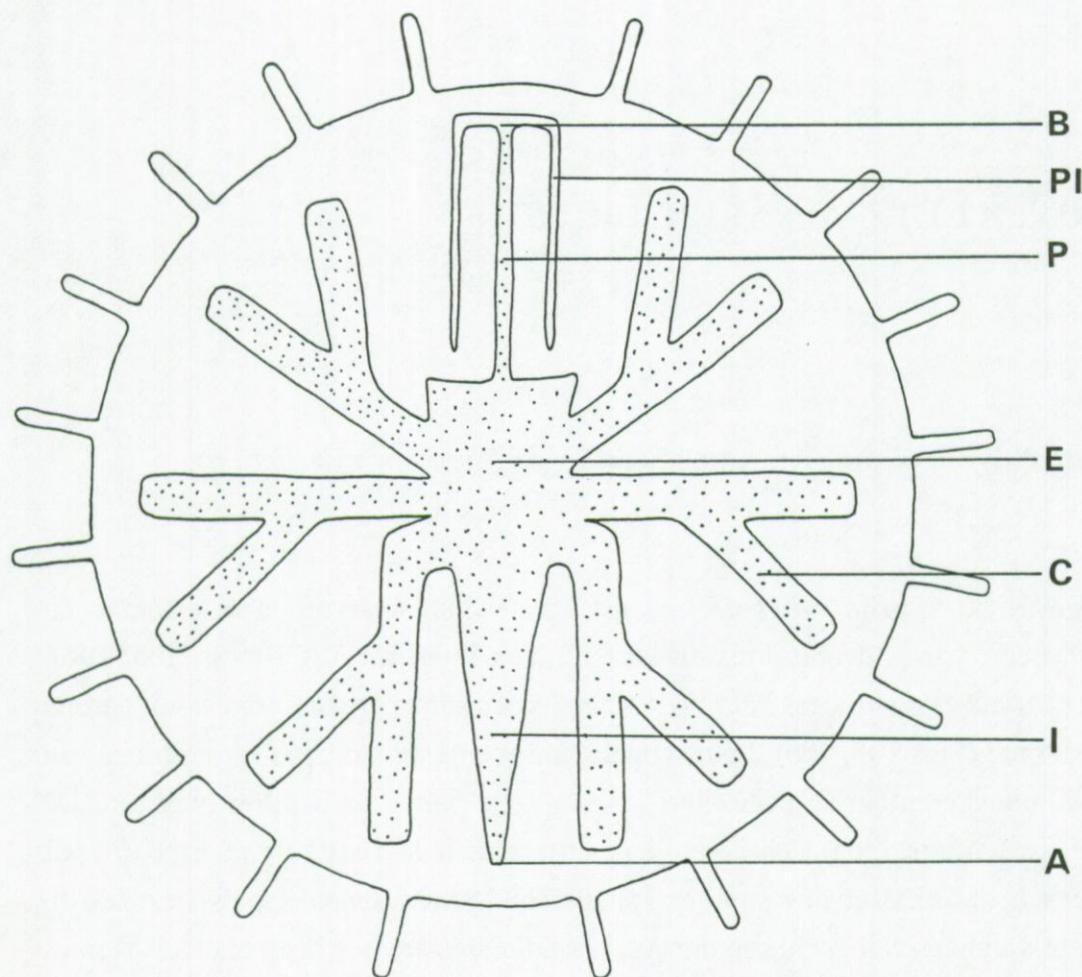
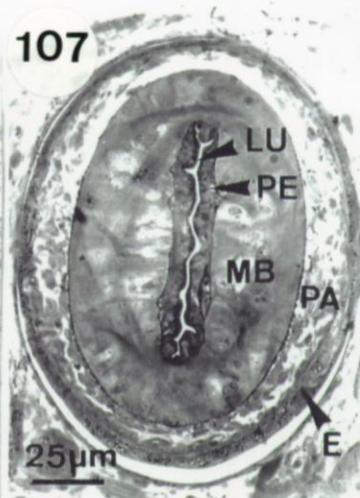
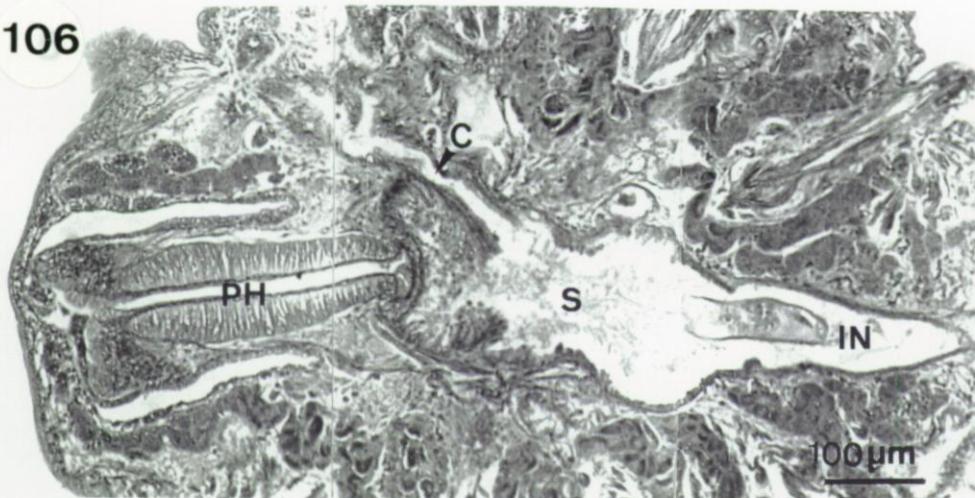
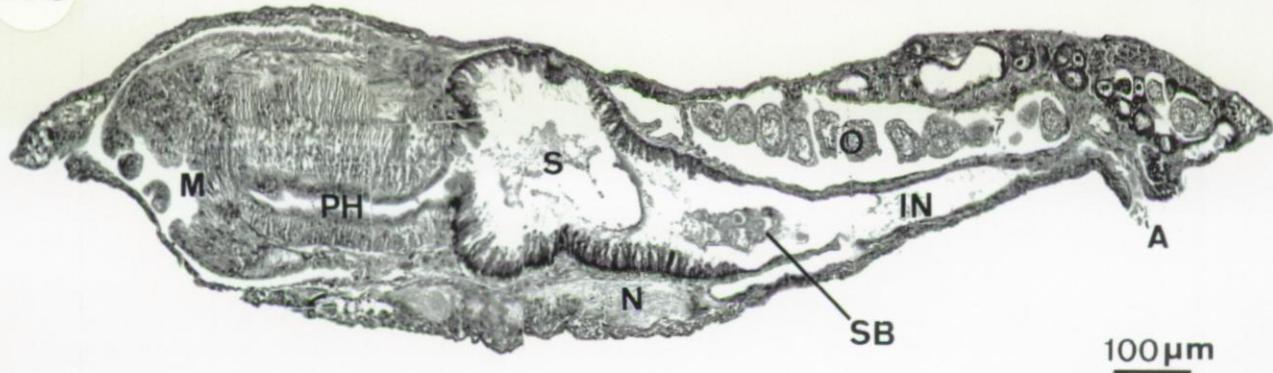


Fig. 104bis. *Myzostoma cirriferum*. Schéma de l'appareil digestif (tramé). Seules les branches primaires et quelques unes des branches secondaires des caecums sont illustrées.

Abréviations. A: anus; B: bouche; C: caecum; E: estomac; I: intestin; P: pharynx; PI: poche de l'introvert;



Figs 105 à 107. *Myzostoma cirriferum*. L'introvert et l'appareil digestif (MO).

Figs 105 et 106. Coupes sagittale (105) et frontale (106) dans un individu adulte.

Fig. 107. Coupe transversale au travers un introvert.

Abréviations. A: anus; C: caecum; E: épiderme de l'introvert; IN: intestin; LU: lumière; M: bouche; MB: manchon musculaire péripharyngien; N: chaîne nerveuse ventrale; O: utérus; PA: derme; PE: épithélium pharyngien; PH: pharynx; S: estomac; SB: masse fécale (corps en fuseau).

La transparence du corps de *M. cirriferum* permet de suivre la progression du bol alimentaire au travers du tube digestif. L'ingestion de particules est due à une aspiration exercée par le pharynx, aspiration résultant d'une vague péristaltique qui se propage de la bouche vers la jonction pharyngo-stomacale en élargissant la lumière pharyngienne. Une fois dans l'estomac, les particules sont dirigées vers les caecums digestifs grâce aux battements de la ciliature de l'épithélium stomacal. Des contractions péristaltiques s'observent également au niveau des organes digestifs du tronc, contractions qui sont responsables de l'expulsion de masses fécales en forme de fuseau (*i. e.*, appelées corps en fuseau par Jägersten 1940c et Platel 1962). Dans les caecums, le péristaltisme chasse le contenu digestif vers l'estomac; dans l'estomac et l'intestin, il le chasse vers l'anus.

2. Ultrastructure de l'introvert et de l'appareil digestif

2. 1. L'introvert et le pharynx

L'introvert se compose, de l'extérieur vers la lumière pharyngienne, d'un épiderme, d'une assise parenchymo-musculaire (derme) et d'un épithélium pharyngien (ce dernier, comme l'épiderme, dérive de l'ectoderme). Une paire de ganglions cérébroïdes et des glandes salivaires sont incluses dans le derme de l'introvert; elles se situent à hauteur de la jonction entre le pharynx et l'estomac.

L'épiderme de l'introvert peut varier fortement d'aspect étant très plissé (introvert rétracté) ou très étiré (introvert en extension). Comme dans les autres régions du corps (voir chapitre E), il est formé de cellules de recouvrement, de cellules myoépithéliales et de cellules sensorielles, ces dernières s'observant uniquement sur les papilles buccales. La taille des cellules de recouvrement varie elle aussi fortement: elles sont cylindriques ou aplatis selon l'état d'extension de l'introvert.

Des deux types de fibres musculaires observées, les unes sont intraparenchymateuses (Fig. 109), les autres sont séparées du parenchyme par une lame épaisse (*ca* 200 nm d'épaisseur) et se disposent en un manchon autour de l'épithélium pharyngien (Figs 105, 106, 113). Le manchon musculaire péripharyngien est formé de fibres circulaires et radiales

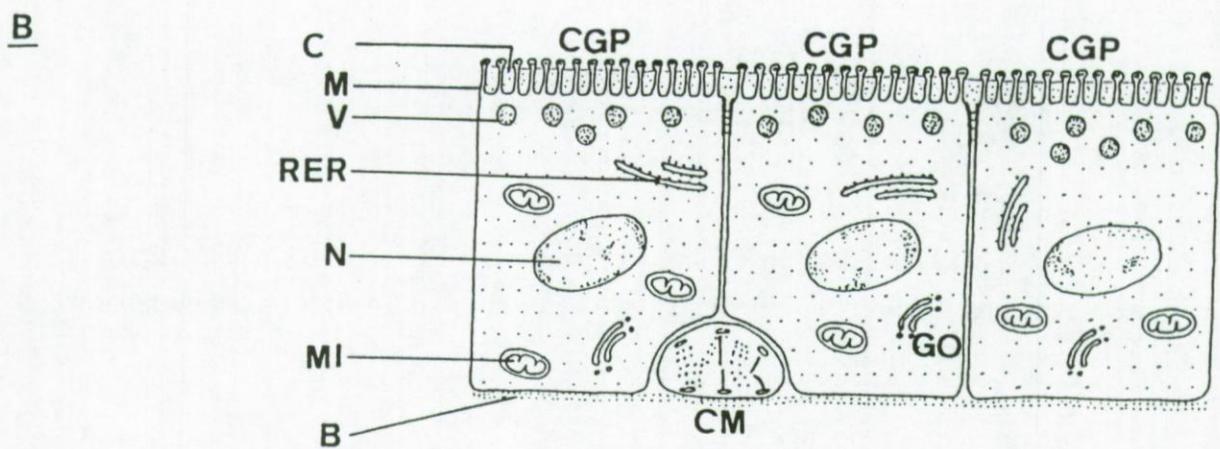
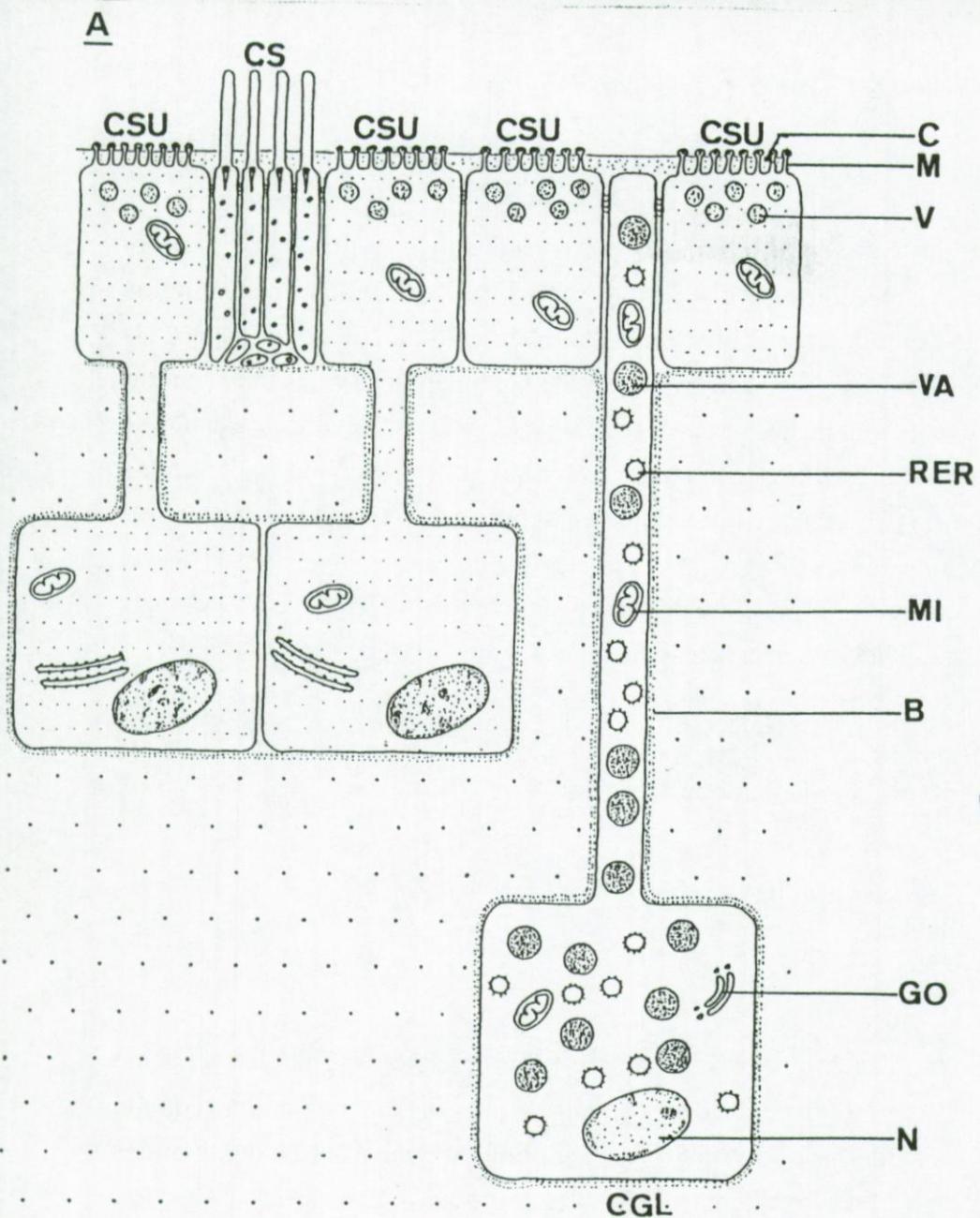
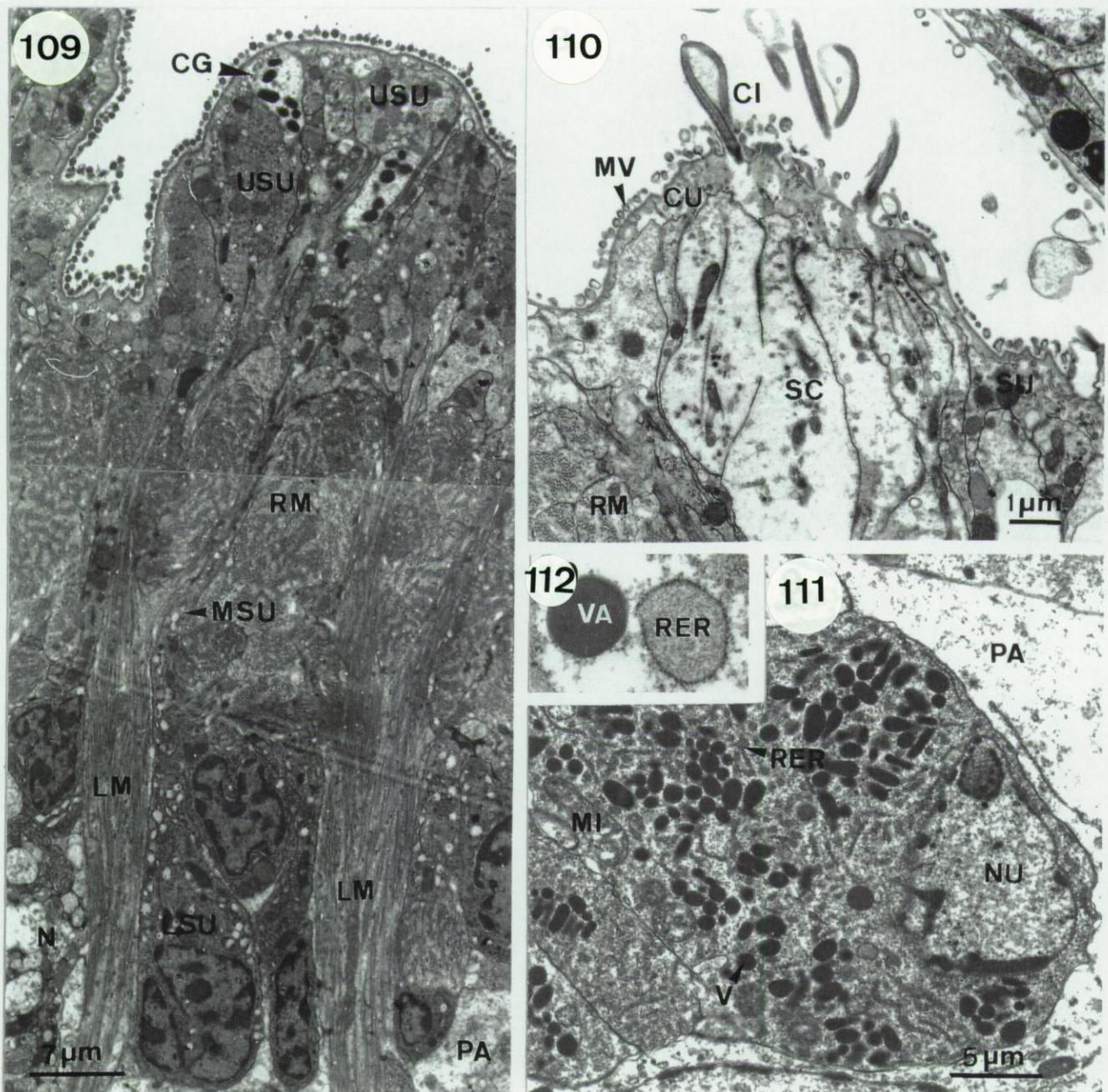


Fig. 108. *Myzostoma cirriferum*. Représentations schématiques des épithéliums de la lèvre (A) et du pharynx (B).

Abbreviations. B: lame basale; C: cuticule; CGL: cellule glandulaire de la lèvre; CGP: cellule glandulaire du pharynx; CM: cellule myoépithéliale; CS: cellule sensorielle; CSU: cellule de support; GO: appareil de Golgi; M: microvillosité; MI: mitochondrie; N: noyau; RER: réticulum endoplasmique rugueux; V: vésicule; VA: vacuole.



Figs 109 à 112. *Myzostoma cirriferum*. La lèvre (MET).

Fig. 109. Cellules de support, cellules glandulaires et fibres musculaires intraparenchymateuses (coupe longitudinale dans l'introvert).

Fig. 110. Aspect des cellules sensorielles.

Figs 111, 112. Partie basale d'une cellule glandulaire (111) et détail de son contenu cytoplasmique (112).

Abréviations. CG: cellule glandulaire; CI: cil; CU: cuticule; LM: fibre musculaire longitudinale; LSU: partie inférieure d'une cellule de support; MI: mitochondrie; MSU partie médiane d'une cellule de support; MV: microvillosité; N: processus nerveux; NU: noyau; PA: parenchyme; RER: réticulum endoplasmique rugueux; RM: fibre musculaire radiale; SC: cellule sensorielle; SU: cellule de support; USU: partie supérieure d'une cellule de support; VA: vacuole.

disposées de façon alterne (observées en coupes sagittales de l'introvert, une fibre musculaire circulaire suit ou précède une fibre musculaire radiale et *vice versa*) (Fig. 113). Quant aux fibres musculaires intraparenchymateuses, elles sont soit longitudinales et s'étendent sur toute la longueur de l'introvert, soit radiales et irradient autour de la bouche à l'apex de l'introvert (Figs 106, 109).

L'épithélium pharyngien est recouvert d'une cuticule (*ca* 500 nm d'épaisseur) traversée par de nombreuses microvillosités. Il diffère selon que l'on considère la lèvre ou le tube pharyngien *sensu stricto*. A hauteur de la lèvre, il comprend trois types cellulaires: des cellules sensorielles, des cellules de support et des cellules glandulaires (Figs 108A). L'épithélium du tube pharyngien, entouré du manchon musculaire, comprend deux types cellulaires: des cellules glandulaires (différentes de celles rencontrées dans la lèvre) et des cellules myoépithéliales (Fig. 108B). A l'exception des cellules myoépithéliales, qui ne contactent jamais l'apex de l'épiderme, toutes les autres cellules sont unies entre elles par des complexes jonctionnels formés d'une zonula adhaerens distale et d'un desmosome septé proximal.

Les cellules sensorielles. Formant des groupes de deux à dix cellules, les cellules sensorielles sont morphologiquement conforme à celles des papilles buccales (Fig. 110) (voir chapitre E, p. 54).

Les cellules de support. Mesurant environ 60 µm de haut, les cellules de support sont formées de trois parties superposées (Figs 108A, 109). La partie supérieure mesure 15 µm de haut pour 7 µm de large et donne naissance à de nombreuses microvillosités de *ca* 700 nm de long; le cytoplasme renferme des mitochondries et des vésicules de 300 à 800 nm de diamètre rempli d'un matériel granulaire dense et réagissant positivement au bleu alcian (Figs 108A, 109). La partie médiane mesure 30 µm de haut pour 500 nm de large; elle se résume à un processus cellulaire qui connecte la partie supérieure à la partie inférieure de la cellule (Figs 108A, 109). La partie inférieure mesure 15 µm de haut pour 10 µm de large; elle renferme le noyau, des mitochondries et quelques citernes du réticulum endoplasmique rugueux (Figs 108A, 109).

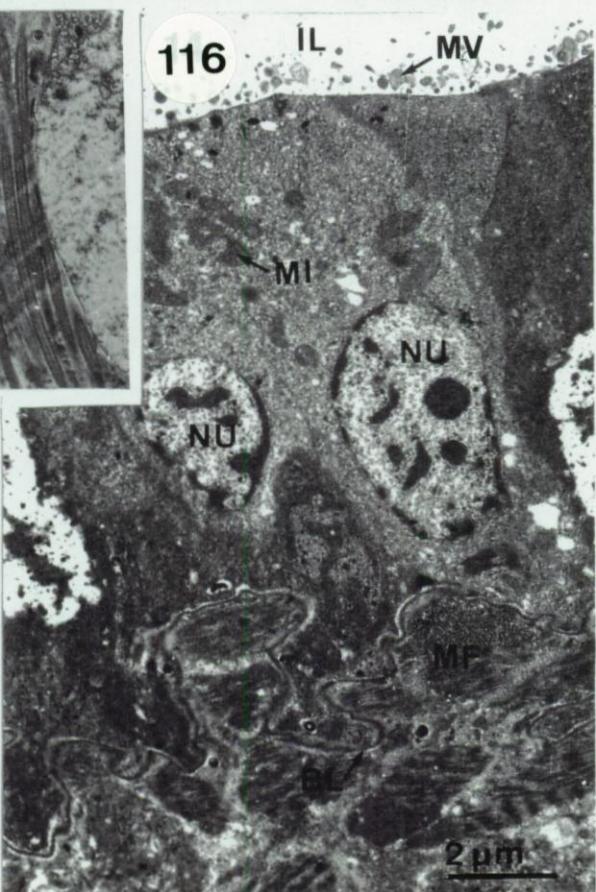
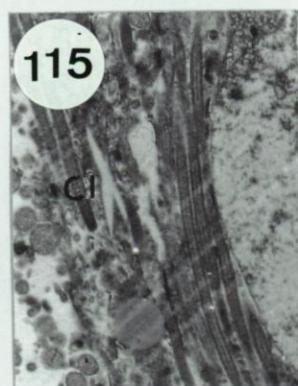
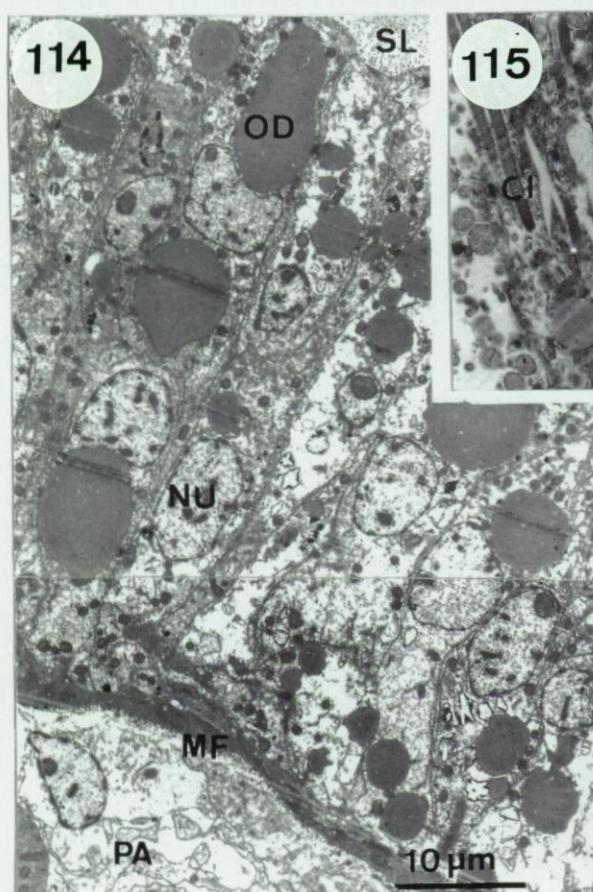
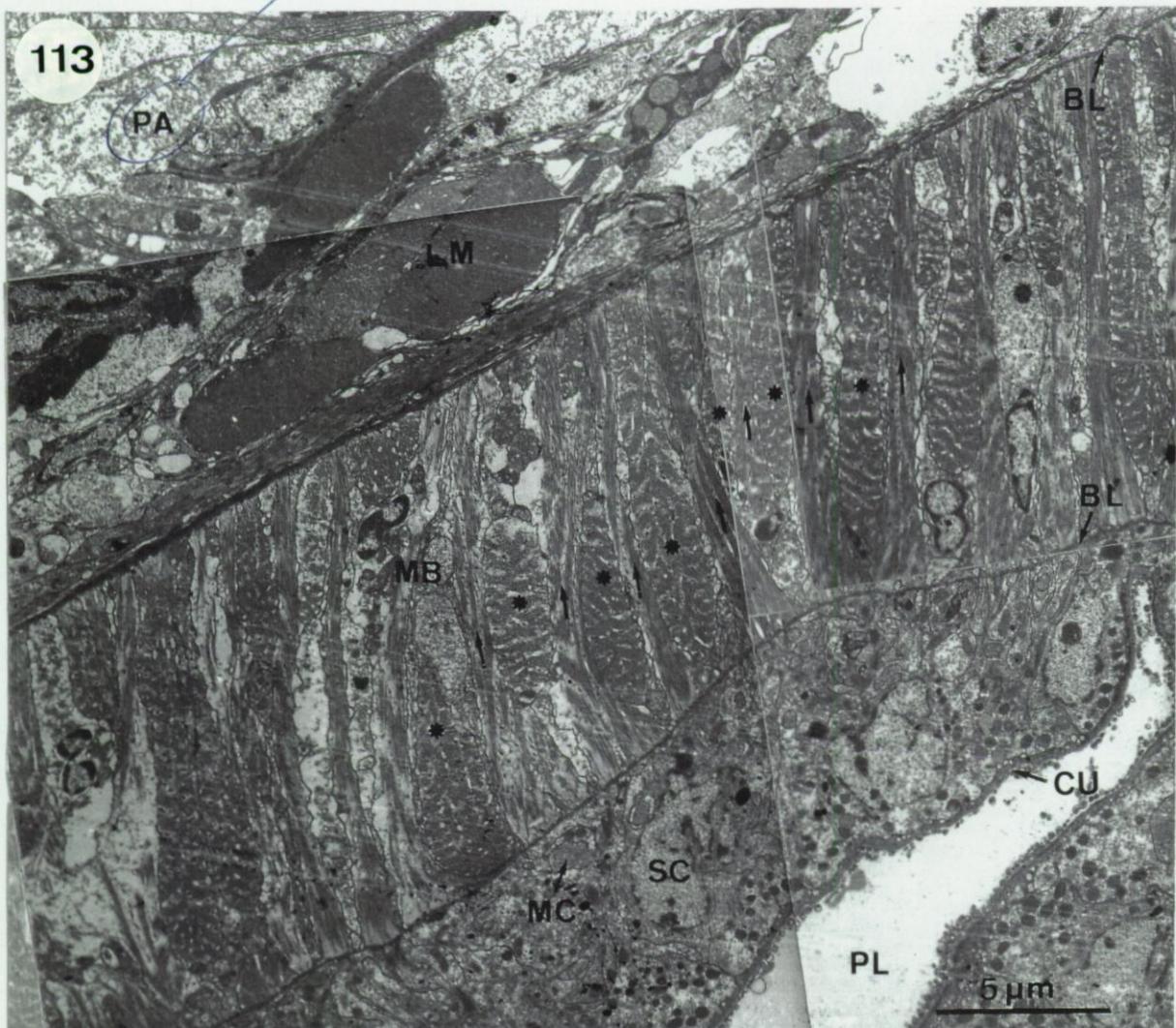
Figs 113 à 116. *Myzostoma cirriferum*. Le pharynx, l'estomac et l'intestin (MET).

Fig. 113. Détails de l'épithélium et de la musculature du pharynx (les astérisques et les flèches désignent respectivement les fibres musculaires circulaires et radiales du manchon musculaire péripharyngien).

Figs 114, 115. L'épithélium stomacal et la musculature qui l'entoure (114); vue de la ciliature stomacale (115).

Fig. 116. L'épithélium intestinal et la musculature qui l'entoure.

Abréviations. BL: lame basale; CI: cil; CU: cuticule; IL: lumière intestinale; LM: fibre musculaire longitudinale; MB: manchon musculaire péripharyngien; MC: cellule myoépithéliale; MF: fibre musculaire; MI: mitochondrie; MV: microvillosité; NU: noyau; OD: gouttelette dense; PA: parenchyme; PL: lumière pharyngienne; SC: cellule glandulaire; SL: lumière stomacale.



Les cellules glandulaires de la lèvre. Observées pour la première fois par Nansen (1885), ces cellules ont été qualifiées de glandes salivaires par von Stummer-Traunfels (1926). Elles sont au nombre d'une vingtaine et chacune d'elles est formée d'un large corps cellulaire ovoïde de 20 µm de diamètre (situé dans le derme à la jonction entre le pharynx et l'estomac) d'où part un long et étroit processus cellulaire de 400 à 600 µm de long qui se termine entre les cellules de support sous la cuticule (Figs 108A, 109, 111). Le noyau est basal et le cytoplasme renferme quelques mitochondries, des zones golgiennes, un réticulum endoplasmique rugueux très développé et de nombreuses vacuoles de 500 nm de diamètre remplie d'un matériel granulaire dense (Figs 108A, 111, 112).

Les cellules glandulaires du pharynx. Mesurant 8 µm de haut pour 5 µm de large, ces cellules portent de nombreuses microvillosités de ca 700 nm de long et renferment dans leur cytoplasme des vésicules de 300 à 800 nm de diamètre comprenant un matériel dense réagissant positivement au bleu alcian (Figs 108B, 113). Le noyau est situé dans la partie médiane de la cellule et est entouré par des mitochondries, du réticulum endoplasmique rugueux et quelques zones golgiennes.

Les cellules myoépithéliales. Situées sous les cellules glandulaires du pharynx, les cellules myoépithéliales sont semblables à celles rencontrées dans l'épiderme (Figs 108B, 113) (voir chapitre E, p. 52).

2. 2. Les organes digestifs du tronc.

Les épithéliums de l'estomac, de l'intestin et des caecums digestifs sont formés chacun d'un seul type cellulaire. Ils sont tous entourés de fibres musculaires circulaires intraparenchymateuses; ces dernières forment une couche de quelque 3 µm d'épaisseur et sont séparées de l'épithélium par une lame basale d'environ 50 nm d'épaisseur (Figs 114, 116, 119). Toutes les cellules épithéliales sont unies entre elles par des complexes jonctionnels formés d'une zonula adhaerens distale et d'un desmosome septé proximal.

Les cellules stomacales. Mesurant 20 à 30 µm de haut pour 10 µm de large, ces cellules sont microvilliuses et ciliées (Figs 114, 117A). De leur partie apicale partent plusieurs cils de 15

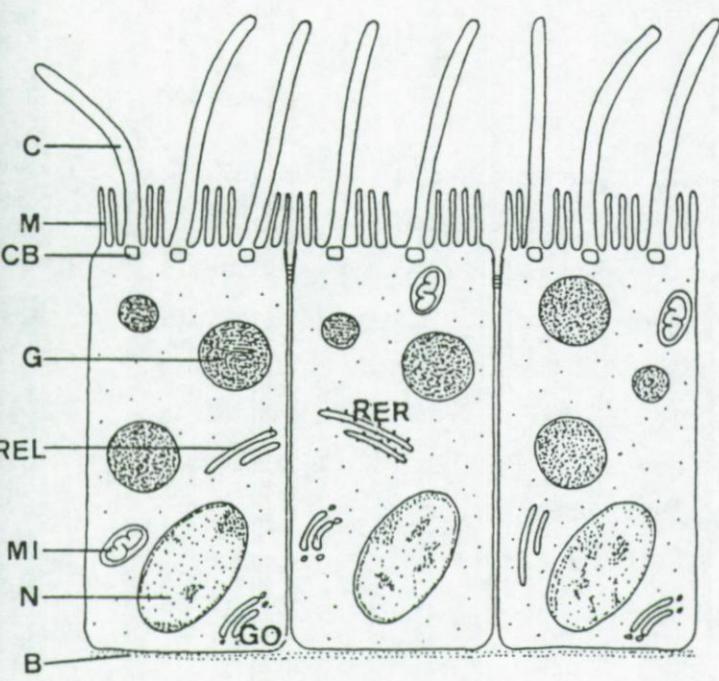
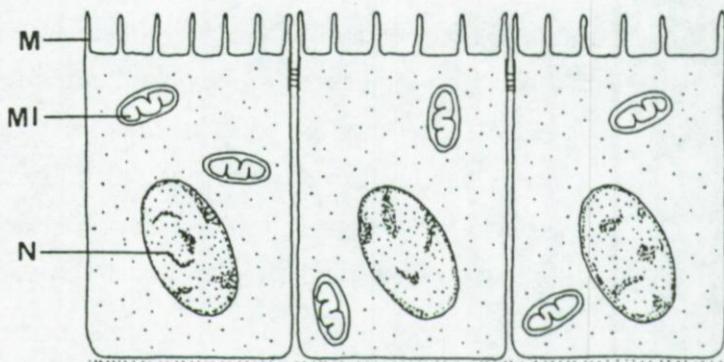
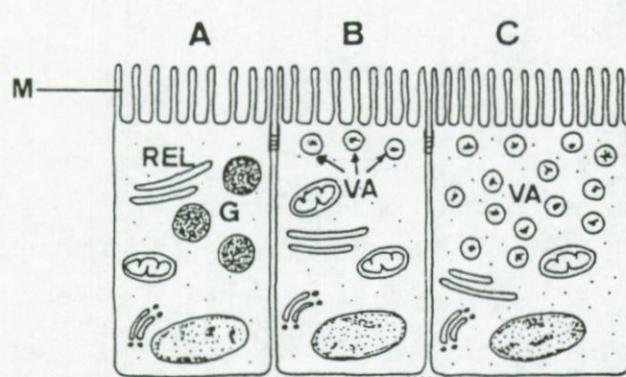
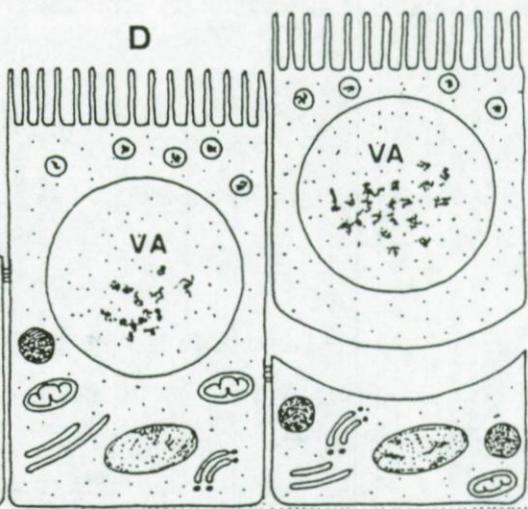
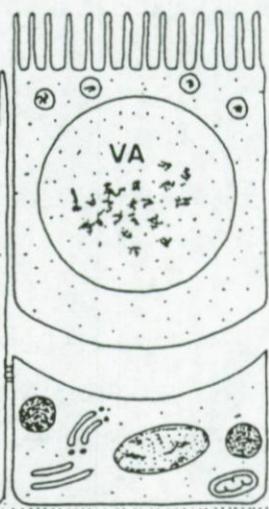
A**B****C****D****E**

Fig. 117. *Myzostoma cirriferum*. Représentations schématiques des épithéliums de l'estomac (A) de l'intestin (B) et des caecums stomachaux (A, B, C, D et E désigne le stade métabolique de la cellule caecale; cf. texte) (C).

Abbreviations. B: lame basale; C: cil; CB: corpuscule basal; G: gouttelette; GO: appareil de Golgi; M: microvillosité; MI: mitochondrie; N: noyau; REL: réticulum endoplasmique lisse; RER: réticulum endoplasmique rugueux; VA: vacuole.

μm de long comprenant un axonème formé de $9 \times 2 + 2$ microtubules à la base duquel se situe un corpuscule basal (aucune racine ciliaire ne semble lui être associée) (Figs 114, 115, 117A). Le cytoplasme renferme des mitochondries, des citernes du réticulum endoplasmique rugueux et lisse, des zones golgiennes et de nombreuses gouttelettes denses réagissant positivement au noir Soudan (Figs 114, 117A). Les noyaux des cellules adjacentes se disposent successivement dans les parties hautes et basses des cellules, ce qui confère à l'épithélium stomacal un aspect pseudo-stratifié (Fig. 114).

net?

Les cellules intestinales. Mesurant 9 μm de haut pour 6 μm de large, ces cellules portent des microvillosités mais sont dépourvues de cils. Leur noyau est basal et leur cytoplasme renferme quelques mitochondries (Figs 116, 117B). Aucun autre organite n'y a été observé.

Les cellules caecales. Très polymorphes, ces cellules ont été répertoriées sous cinq stades différents. Quel que soit le stade, les cellules caecales comportent toujours de nombreuses microvillosités, un noyau euchromatique, de nombreuses mitochondries, un réticulum endoplasmique lisse bien développé et des zones golgiennes (Fig. 117C). La cellule au stade A mesure 10 μm de haut pour 5 μm de large et son cytoplasme renferme de nombreuses gouttelettes qui réagissent positivement au noir Soudan (Figs 117C, 118). La cellule au stade B, de même taille, ne possède pratiquement pas de gouttelettes mais présente, dans sa partie apicale, des vacuoles de petite taille remplies d'un matériel réagissant positivement au bleu alcian (Figs 117C, 119). La cellule au stade C est plus large (*ca* 8 μm en largeur), dépourvue de gouttelettes et remplie de petites vacuoles (Figs 117C, 120). La cellule au stade D mesure 15 μm de haut pour 10 μm de large; elle possède, outre quelques petites vacuoles apicales, une grande vacuole de *ca* 10 μm de diamètre qui occupe pratiquement les 2/3 supérieur du volume de la cellule (Figs 117C, 121). Toutes les vacuoles (les petites et la grande) sont remplies d'un matériel réagissant positivement au bleu alcian. La cellule au stade D peut aussi renfermer quelques gouttelettes réagissant positivement au noir Soudan. La cellule au stade E est nettement moins haute et ne renferme pas de vacuoles (Figs 117C, 122). Une grande partie de son cytoplasme (*i. e.*, la partie qui, au stade précédent, incluait les petites et la grande vacuoles) s'est détachée de la base de la cellule, cette dernière renferme le noyau et de nombreuses gouttelettes (Fig 117C, 122).

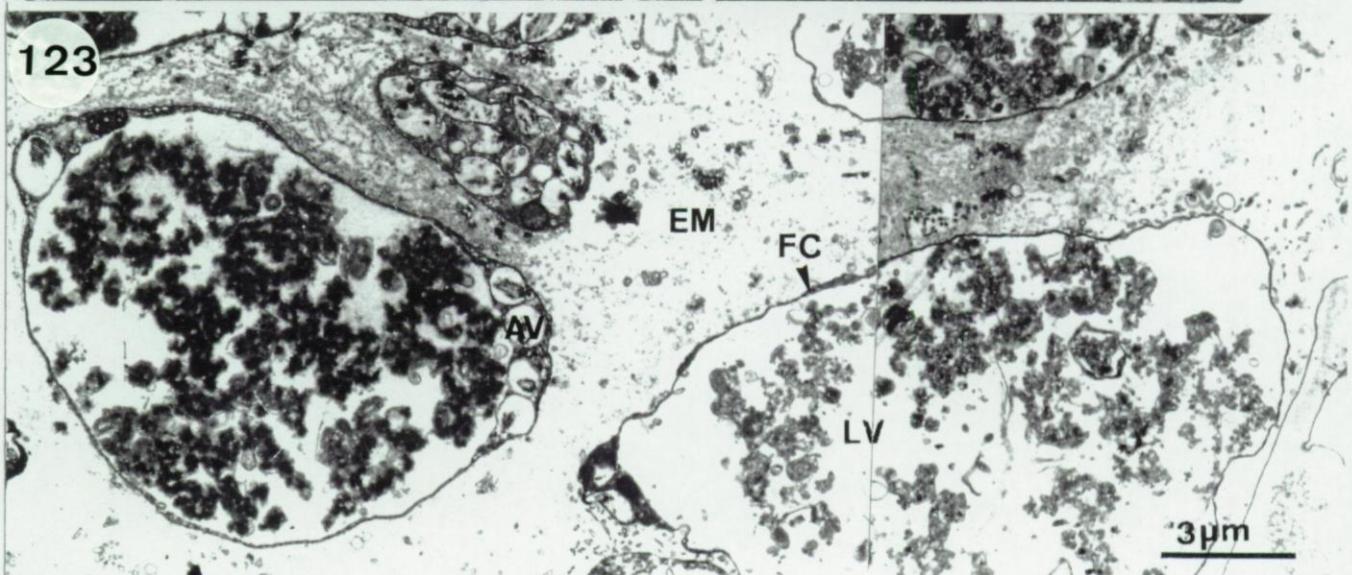
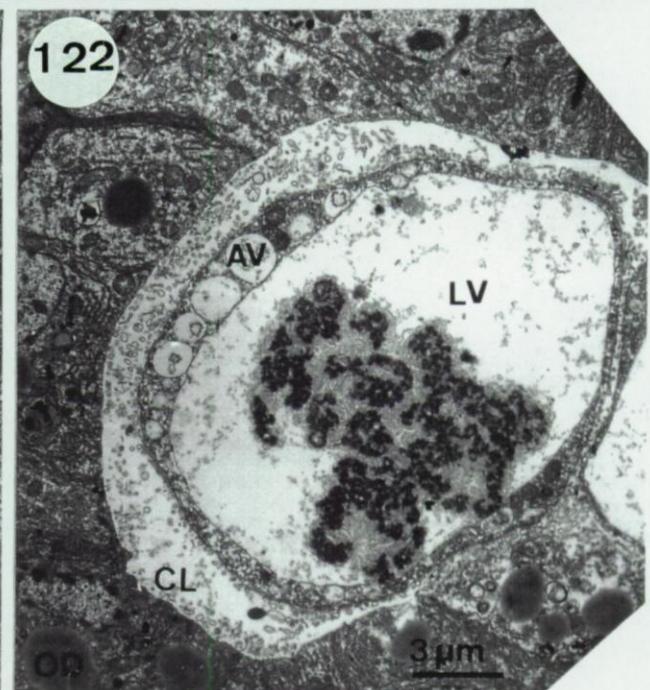
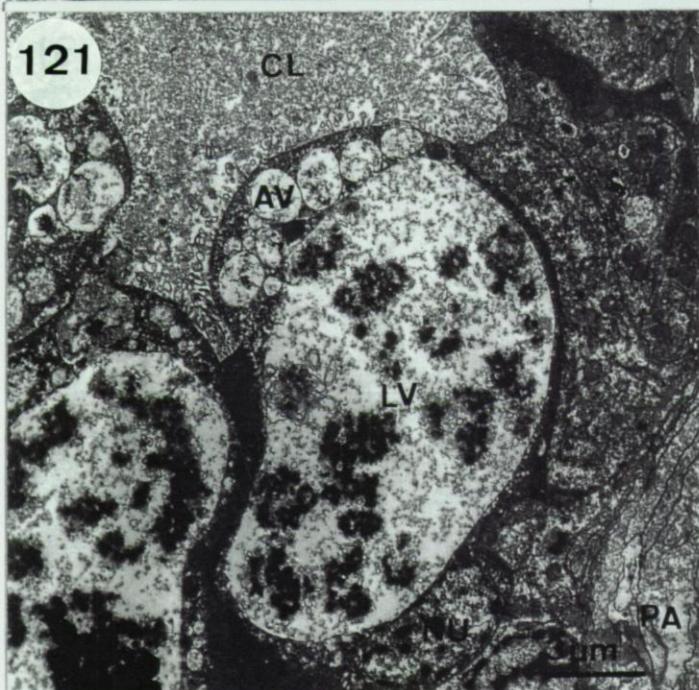
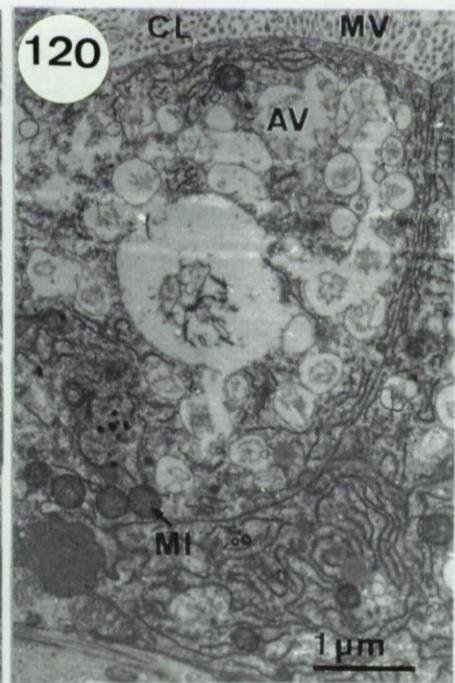
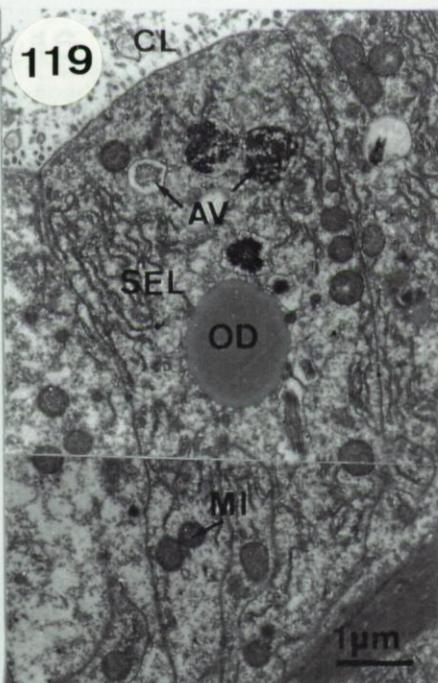
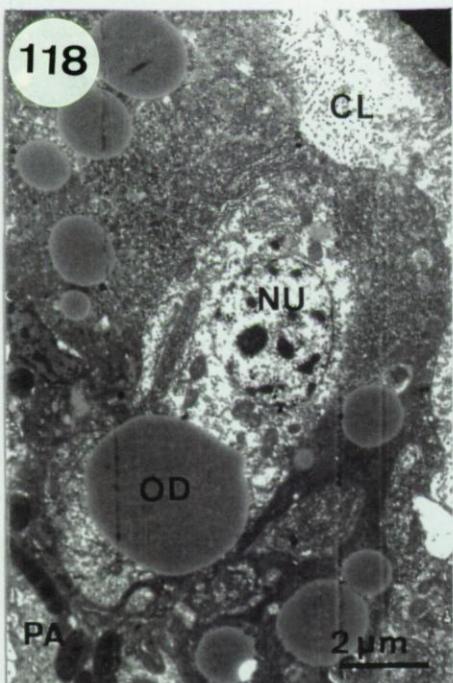
Les zones digestives absorbantes ont été mises en évidence sur des individus fixés au liquide de Bouin. Ces individus avaient été amenés à ingérer une solution de ferritine 0,5%

Figs 118 à 123. *Myzostoma cirriferum*. Les caecums digestifs et le corps en fuseau (MET).

Figs 118 à 122. Détail des cellules caecaes au stade A (118), B (119), C (120), D (121) et E (122).

Fig. 123. Détails du contenu d'un corps en fuseau.

Abréviations. AV: vacuole apicale; CL: lumière caeca; FC: frange cytoplasmique; EM: matrice extracellulaire; LV: grande vacuole; MI: mitochondrie; MV: microvillosité; NU: noyau; OD: gouttelette dense; PA: parenchyme; SEL: réticulum endoplasmique lisse.



dans de l'eau de mer, la mise en évidence du fer sur coupes histologiques (révélé par la technique de Perls) permettant celle des sites absorbants. Peu après l'ingestion, des particules de ferritine s'observent dans les lumières stomachale et caecale. Du fer n'a jamais été détecté dans les cellules épithéliales du pharynx, ni dans celles de l'estomac ou de l'intestin. Par contre, 40 min après l'ingestion, on en observe très nettement dans les larges vacuoles des cellules caeca (cellules au stade D)

3. Le contenu digestif

Dans la lumière de l'estomac ou de l'intestin, on note parfois la présence d'une masse structurée qualifiée "corps en fuseau" (Jägersten 1940c). Ce corps mesure de 100 à 500 µm de long pour 20 à 100 µm de diamètre (Figs 105, 123). Il est fait d'une matrice extracellulaire (qui réagit positivement au bleu alcian) qui entoure les parties détachées des cellules caeca (i. e., les parties comprenant les larges vacuoles) (Fig. 123). Trois heures après l'ingestion de ferritine, la plupart des vacuoles se situant dans les corps en fuseau contiennent un matériel réagissant positivement à la technique de Perls.

4. Discussion

L'introvert de *Myzostoma cirriferum* remplit deux fonctions majeures qui sont la perception sensorielle et la capture de particules alimentaires. La perception sensorielle est due de toute évidence aux cellules sensorielles ciliées qui se situent au niveau de la lèvre et des papilles buccales. Ces cellules indiqueraient au myzostome cherchant à s'alimenter si son introvert est appliqué au niveau d'un sillon ambulacraire ou pas. Elles seraient donc capable de détecter la présence d'un courant (i. e., le courant créé par la ciliature du fond du sillon ambulacraire) ou des particules alimentaires charriées par celui-ci.

Lorsqu'un myzostome cherche à se nourrir, son introvert se rétracte et s'étend constamment jusqu'à ce qu'il finisse par s'appliquer dans un sillon ambulacraire. La rétraction de l'introvert résulte sans aucun doute de la contraction des fibres musculaires longitudinales qui parcourent son derme. L'extension de l'introvert paraît avoir une cause plus indirecte dès lors qu'aucun système antagoniste aux fibres longitudinales, qu'il soit musculaire ou autre (e.

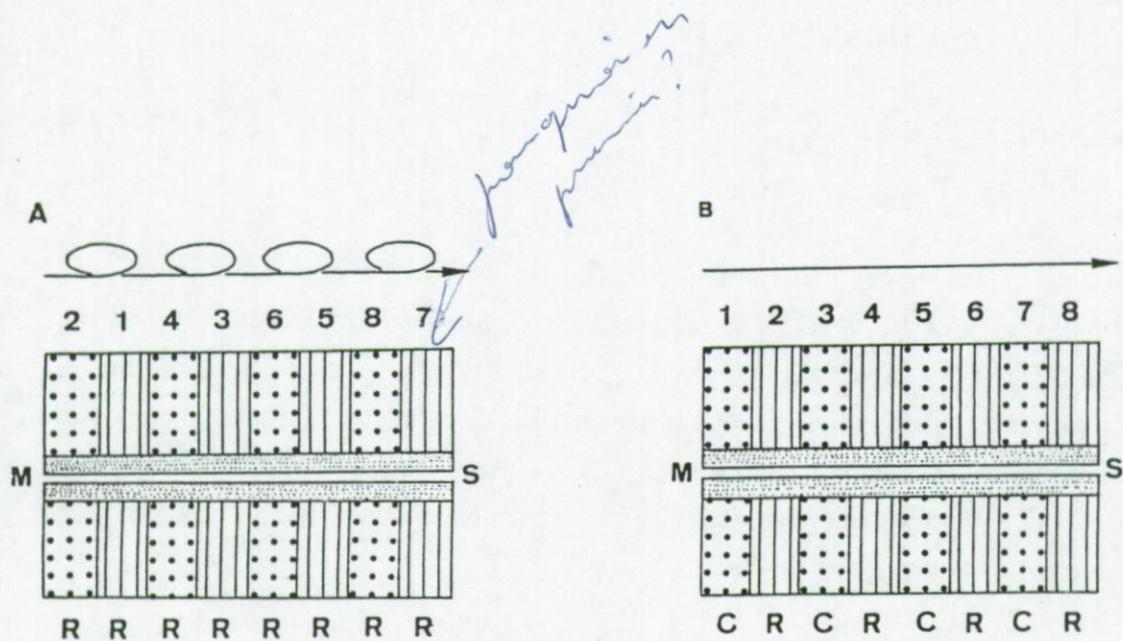


Fig. 124. *Myzostoma cirriferum*. Représentation schématique illustrant les deux mécanismes hypothétiques du péristaltisme pharyngien. Le premier suggère que toutes les fibres musculaires du manchon péripharyngien sont au repos lorsque le myzostome ne s'alimente pas (A). Lorsque des particules alimentaires pénètrent dans la bouche, les paires de fibres musculaires sont progressivement stimulées de telle sorte que la fibre radiale (postérieure) se contracte en premier et que la fibre circulaire (antérieure) se contracte en second. Le second mécanisme suggère que, lorsque le myzostome ne s'alimente pas, les fibres musculaires circulaires sont dans un état tonique - *i. e.*, contractées - et les fibres musculaires radiales au repos (B). Lorsque des particules alimentaires pénètrent dans la bouche, les paires de fibres musculaires sont progressivement stimulées de telle sorte que la fibre musculaire circulaire (antérieure) se relaxe en premier, la fibre musculaire radiale (postérieure) se contracte en second. Les aires lignées et en pointillés désignent respectivement les fibres radiales et circulaires; les flèches indiquent la succession des stimulations.

Abréviations: C: fibre musculaire contractée; M: bouche; R: fibre musculaire relaxée; S: estomac.

B peu plausible
J relaxe & stretch?

g., des fibres de collagène), n'existe au sein de l'organe. Contrairement au proboscis des polychètes (Dales 1962), l'introvert de *M. cirriferum* ne présente pas de cavité interne et ses changements de volume (*i. e.*, rétracté *versus* étendu) sont dus au fait que le manchon musculaire péripharyngien, accompagné de cellules parenchymateuses, pénètrent dans l'introvert ou en sont chassés. Le moteur de l'extension peut donc se trouver à l'extérieur de l'introvert, et ce serait selon toute vraisemblance certaines fibres musculaires dorso-ventrale du tronc qui permettraient le mouvement d'extension de l'introvert: ces fibres musculaires en se contractant, forceraient le manchon musculaire péripharyngien et les cellules parenchymateuses à pénétrer dans l'introvert rétracté et à le rendre ainsi saillant.

Les particules alimentaires charriées dans les sillons ambulacrariaux des comatules sont avalées par les myzostomes grâce à l'action de la musculature de la lèvre et du pharynx. Lorsqu'elles se contractent, les fibres musculaires de la lèvre, toutes d'orientation radiale, augmentent le diamètre de la bouche ce qui permet l'entrée de particules. Le manchon musculaire péripharyngien formé, rappelons-le, de fibres musculaires alternativement radiales et circulaires, entre ensuite en action. Il s'ensuit la formation d'une onde péristaltique qui à la fois aspire (contraction de fibres radiales) et chasse vers l'aval (contraction de fibres circulaires) les particules alimentaires. L'onde péristaltique a ceci de particulier qu'elle doit résulter de la stimulation successive des paires de fibres constituées chacune d'une fibre radiale et d'une fibre circulaire, ce qui suggère deux modes de fonctionnement possibles. Le premier implique que toutes les fibres musculaires du manchon sont relâchées lorsque le myzostome est au repos (Fig. 124A). Dès lors, lorsque des particules entrent dans la bouche, les paires de fibres sont progressivement stimulées de la bouche vers la jonction pharyngostomachale de telle sorte que, dans chaque paire, la fibre radiale (postérieure) se contracte en premier, la fibre circulaire (antérieure) en second. Le second considère que, lorsque le myzostome est au repos, les fibres radiales sont au repos alors que les fibres circulaires sont dans un état tonique, *i. e.*, contractées, (Fig. 124B). Dès lors, lorsque des particules entrent dans la bouche, les paires de fibres musculaires sont progressivement stimulées de la bouche vers l'estomac de telle sorte que, dans chaque paire, la fibre circulaire (antérieure) se relaxe d'abord et la fibre radiale (postérieure) se contracte ensuite.

Lorsqu'elles arrivent dans l'estomac, les particules alimentaires doivent avoir reçu les sécrétions des cellules glandulaires de la lèvre (*i. e.*, les cellules salivaires de von Stummer-Traunfels 1926 et Platel 1962). Si aucune de nos observations ne supporte l'hypothèse qu'une digestion extracellulaire ait lieu dans le tube digestif de *M. cirriferum*, rien ne l'infirme non

plus et on ne peut exclure la possibilité que les cellules glandulaires de la lèvre soient responsables de la sécretion d'enzymes digestives (des cellules de morphologie similaire aux cellules glandulaires de la lèvre et dont la fonction est l'élaboration et la sécrétion d'enzymes digestives ont été décrite chez certains turbellariés; Rieger *et al* 1991).

Chaque organe digestif troncal ne dispose que d'un seul type de cellule épithéliale, type qui n'est jamais glandulaire. Quel que soit l'organe envisagé, les cellules épithéliales portent de nombreuses microvillosités suggérant leur rôle absorbant. Toutefois, seules les cellules caecales sont capables d'endocyter des particules alimentaires de petite taille telles, *e.g.*, de la ferritine. Les cellules stomacales partagent avec les cellules caecales le fait de présenter des gouttelettes lipidiques (gouttelettes noir Soudan positives) dans leur cytoplasme; elles peuvent être considérées comme des cellules de stockage. Rappelons ici que les seules cellules ciliées de tout le tube digestif sont les cellules stomacales.

Amenées dans la lumière stomachale par le péristaltisme pharyngien, les particules sont dirigées vers les caecums digestifs sous l'action de la ciliature de l'épithélium stomachal. L'étude ultrastructurale de la paroi des caecums suggère qu'elles sont alors endocytées par les cellules caecales et transférées dans une large vacuole, vraisemblablement un phagolysosome, dans laquelle elles sont digérées. Le volume de cette vacuole augmente régulièrement (par fusion successives avec d'autres phagosomes) jusqu'à atteindre environ les deux-tiers du volume de la cellule. La vacuole est alors éliminée dans la lumière caecale par un processus d'apocrinie. Les fragments cellulaires ainsi éliminés sont ensuite chassés des caecums (par les contractions péristaltiques de leur musculature) vers l'estomac où ils sont rassemblés au sein d'une matrice extracellulaire de nature mucopolysaccharidique (cette matrice pourrait être constituée par les sécrétions des cellules glandulaires pharyngiennes) formant une masse fécale appelée corps en fuseau (spindelförmigen Excretkörper; Jägersten 1940c). Cette masse fécale est ensuite expulsée par l'anus sous l'action du péristaltisme stomaco-intestinal. L'observation cinétique (histologie) du tube digestif d'individus ayant ingéré de la ferritine montre que le temps mis pour former un tel corps en fuseau est de l'ordre de trois heures, temps qui correspond vraisemblablement à la durée du processus digestif chez *M. cirriferum*.

Les données anatomiques existant sur le tube digestif d'autres espèces de myzostomes (von Graff 1877, 1884, 1887; Jägersten 1940c) et certaines observations personnelles

J'ai lu votre ouvrage avec
beaucoup d'intérêt. Il est
écrit de façon que la lecture
en est agréable et plusieurs
parties - surtout à propos de
la reproduction - sont
vraiment passionnées.

Je vous félicite surtout pour
votre patience alors témoignant
vos observations. Ça ne doit
pas toujours être facile
avec des petites bestioles
comme les Mygastromides.

J'ai toutefois regretté,
parfois que la qualité de
la reproduction et l'
agrandissement des photos
E.OI. n'est pas toujours
tel que l'on peut trouver
la réponse aux questions
qui on se pose lors de la
lecture des descriptions.

Il me restent donc une
seconde série de questions
à ce niveau là.

- L'introvert et l'appareil digestif -

effectuées sur le tube digestif d'espèces de Méditerranée et du sud-ouest du Pacifique suggèrent fortement que le fonctionnement de l'appareil digestif est au moins très semblable chez les divers représentants du genre *Myzostoma*.

**G. LES APPAREILS GENITAUX,
LES SPERMATOPHORES
ET
LA REPRODUCTION**

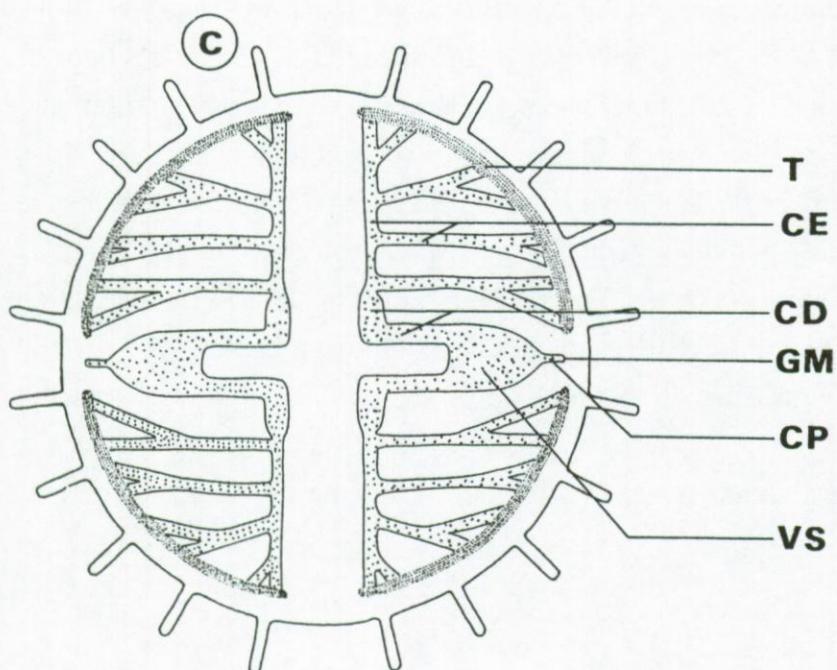
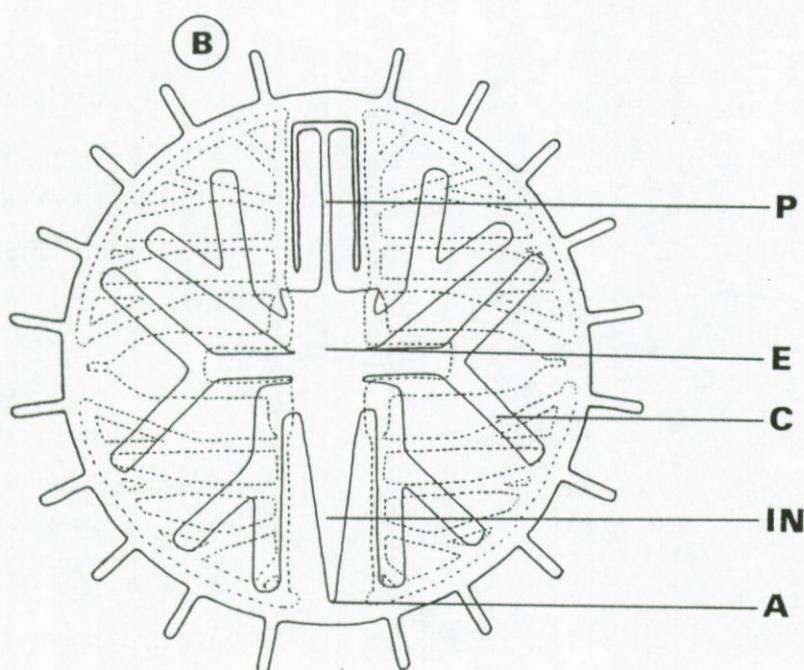
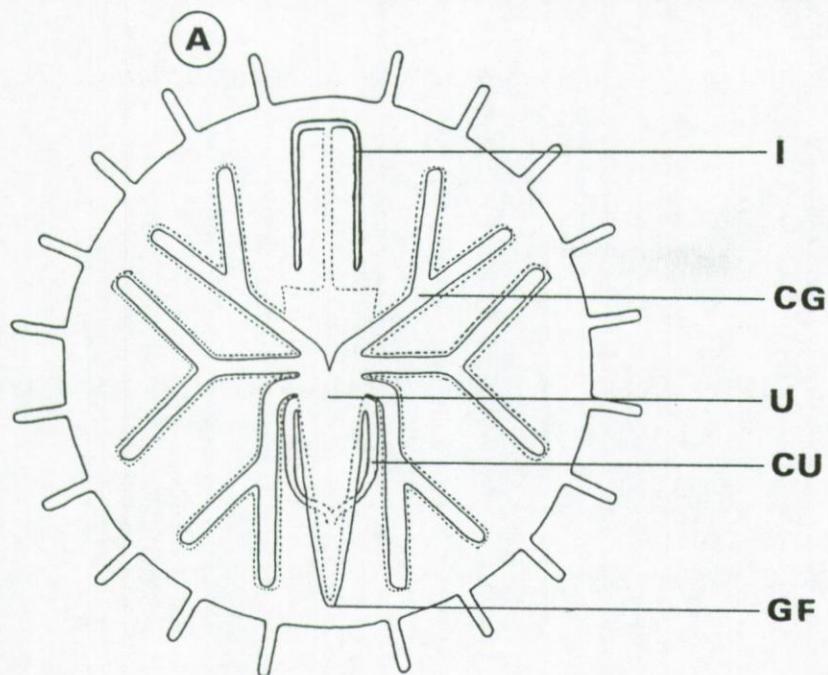
G. LES APPAREILS GENITAUX, LES SPERMATOPHORES ET LA REPRODUCTION

1. Les appareils génitaux

L'appareil génital femelle de *Myzostoma cirriferum* est impair; il se localise dans la partie dorsale du tronc; il se compose d'un ovaire unique et d'un tractus génital très ramifié s'ouvrant à l'extérieur par un gonopore postéro-ventral (Fig. 125A). L'appareil génital mâle est pair; il se dispose ventralement de part et d'autre de la chaîne nerveuse; il se compose, tant à gauche qu'à droite, d'une paire de testicules et d'un tractus génital fortement ramifié s'ouvrant par un gonopore à hauteur d'un des parapodes de la troisième paire (Fig. 125B-C).

1. 1. Le tractus génital femelle

Le tractus femelle est formé d'un espace central (l'utérus) qui s'ouvre postérieurement à l'extérieur et reçoit antérieurement les extrémités de plusieurs canaux ramifiés gauches ou droits (les canaux génitaux) (Fig. 125A). Le trajet de ce tractus correspond dans ses grandes lignes à celui de la partie troncale du tube digestif du myzostome: l'utérus recouvre la partie postérieure de l'estomac et tout l'intestin et les canaux génitaux se superposent aux ramifications des caecums digestifs (Fig. 125A). Il existe en outre un contact direct entre le tractus femelle et le tube digestif, contact qui se réalise par l'intermédiaire d'une paire de courts conduits - qualifiés de néphridies par les auteurs antérieurs (*e. g.*, Jägersten 1934, Prenant 1959) - qui partent de l'utérus, longent les côtés de l'estomac et débouchent dans l'intestin à hauteur de sa partie ventrale (Figs 105, 125A). Selon l'état de maturité du myzostome, l'utérus et les canaux génitaux seront étroits et vides (ce qui est rare) ou dilatés car contenant des oeufs fécondés; quant aux conduits utéro-intestinaux, ils gardent toujours le même développement (leur diamètre est de *ca* 20 µm).



Le tractus femelle est partout bordé par un épithélium souligné par une lame basale d'environ 50 nm d'épaisseur; seul l'utérus est entouré d'un manchon discontinu de fibres musculaires d'orientation circulaire (*ca* 3 µm d'épaisseur). L'épithélium comprend deux types cellulaires: des cellules ciliées et des cellules de recouvrement unies entre elles par des complexes apicaux formés d'une zonula adhaerens distale et d'un desmosome septé proximal

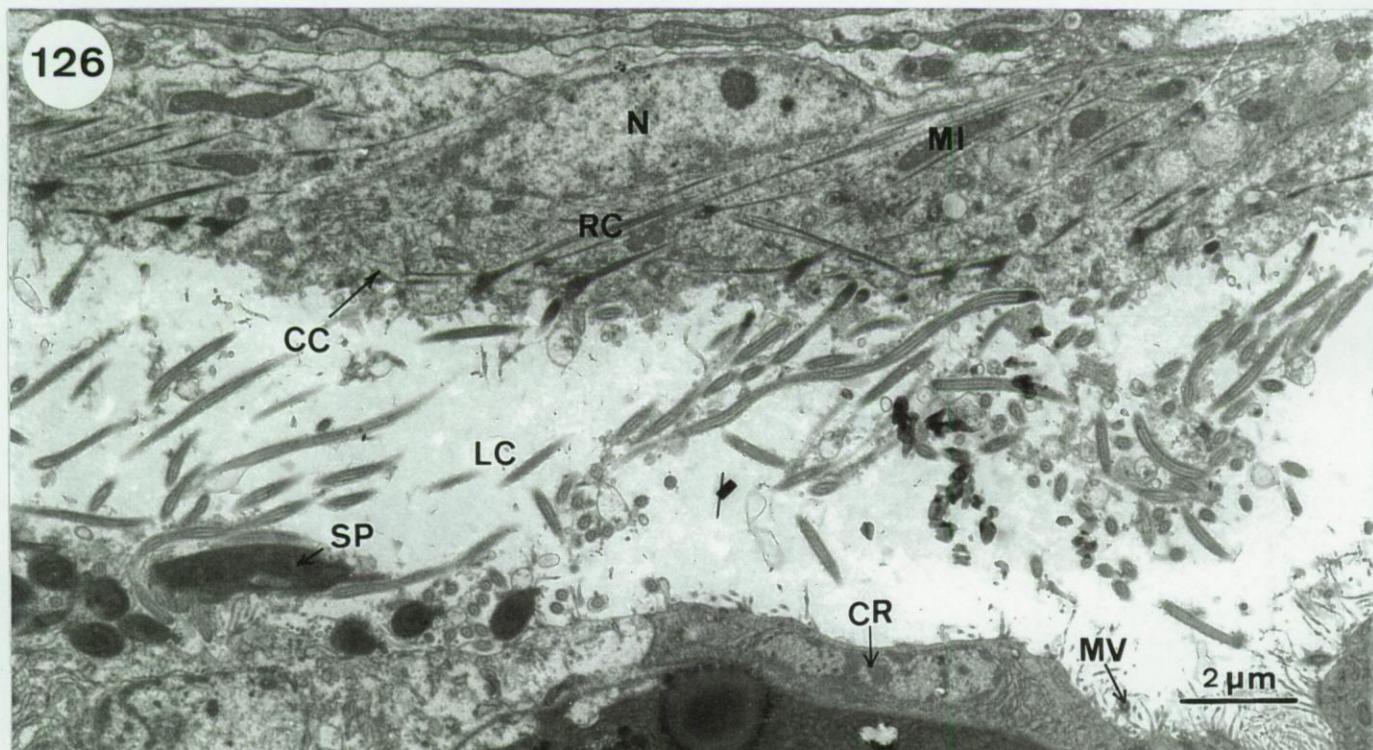
Les cellules ciliées. Formant l'épithélium dorsal des canaux génitaux (*i. e.*, de la partie des canaux opposée aux caecums digestifs) et celui bordant la lumière des conduits utéro-intestinaux, les cellules ciliées sont très aplatis et mesurent généralement 10 µm de long pour un maximum de 3 µm d'épaisseur (leur périphérie se résume souvent à une fine frange cytoplasmique de *ca* 100 nm d'épaisseur) (Figs 126, 129). Ces cellules sont pluriciliées. Les cils mesurent de l'ordre de 20 µm de long et renferment un axonème formé de 9X2+2 microtubules. Sous chaque cil se situe un corpuscule basal qui se poursuit par une racine double dont les branches forment entre elles un angle de 150° (Fig. 126). Le cytoplasme renferme au plus quelques mitochondries.

Les cellules de recouvrement. Formant l'épithélium ventral des canaux génitaux (*i. e.*, de la partie des canaux la plus proche des caecums digestifs) et celui de l'utérus, les cellules de recouvrement mesurent 5 à 10 µm de large pour *ca* 3 µm de haut (comme pour les cellules ciliées, leur périphérie se résume souvent à une fine frange cytoplasmique de *ca* 100 nm d'épaisseur) (Figs 126, 128, 129). Ces cellules ne sont pas ciliées mais portent des

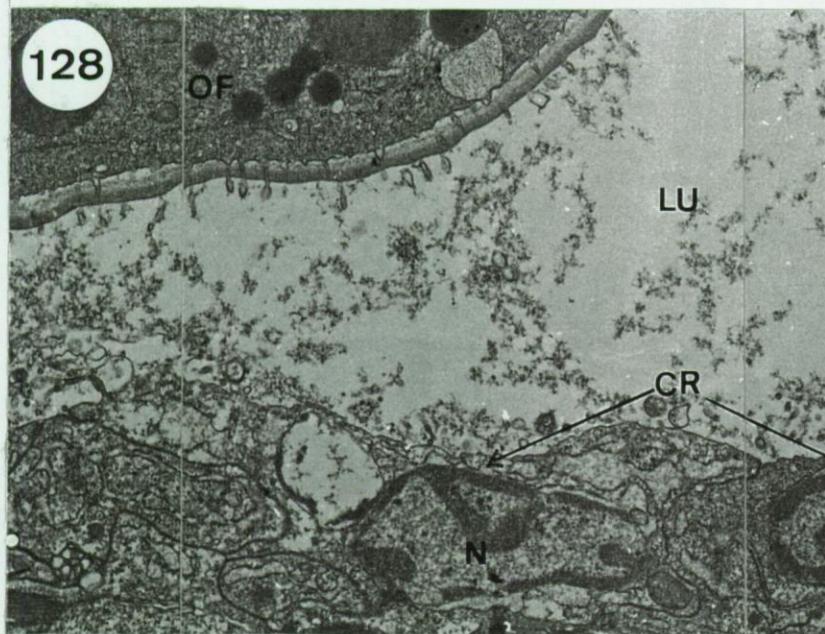
Fig. 125. *Myzostoma cirriferum*. Représentations schématiques des appareils génitaux et digestif. Les schémas représentent trois coupes frontales idéalisées dans les parties dorsale (A), médiane (B) et ventrale (C) d'un individu adulte (introvert rétracté dans le tronc). Les traits épais représentent les contours de l'individu; les traits fins ceux de l'appareil génital femelle (A), du tube digestif (B) ou de l'appareil génital mâle (C); les traits pointillés ceux de l'appareil situé immédiatement sous celui envisagé. Seules les branches primaires et quelques unes des branches secondaires des canaux génitaux femelles (A) et des caecums digestifs (B) sont illustrées. Une trame pointillée recouvre les tractus génitaux mâles.

Abréviations. A: anus; C: caecum digestif; CD: canal déférent; CE: canal efférent; CG: canal génital; CP: canal pénien; CU: canal utéro-intestinal; E: estomac; GF: gonopore femelle; GM: gonopore mâle; I: introvert; IN: intestin; P: pharynx; T: testicule; U: utérus; VS: vésicule séminale.

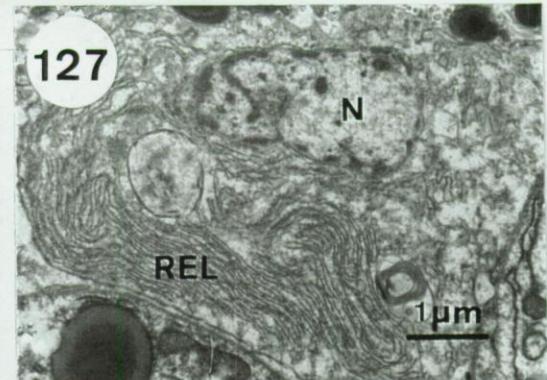
126



128



127



Figs 126 à 128. *Myzostoma cirriferum*. Le tractus génital femelle (MET).

Fig. 126. Coupe transversale dans un canal génital illustrant les cellules ciliées et les cellules de recouvrement (remarquez la présence de spermatozoïdes dans la lumière du canal).

Fig. 127. Détail du contenu cytoplasmique d'une cellule de recouvrement.

Fig. 128. Coupe sagittale dans l'utérus montrant des cellules de recouvrement et passant par la périphérie d'un oeuf fécondé.

Abréviations. CC: cellule ciliée; CR: cellule de recouvrement; LC: lumière du canal génital; LU: lumière de l'utérus; MI: mitochondrie; MV: microvillosité; N: noyau; OF: oeuf fécondé; RC: racine ciliaire; REL: réticulum endoplasmique lisse; SP: spermatozoïde.

microvillosités apicales (Figs 126, 128). Outre le noyau, leur cytoplasme renferme quelques mitochondries et présente parfois (particulièrement à hauteur des canaux génitaux) un réticulum endoplasmique lisse bien développé et quelques zones golgiennes (Figs 126, 127).

1. 2. L'ovaire.

L'ovaire est diffus. Il est formé d'un ensemble de cellules germinales à différents stades de la gamétogénèse. Ces cellules infiltrent le parenchyme et ne sont d'aucune façon séparées des cellules parenchymateuses environnantes (Fig. 129). L'aspect de l'ovaire varie fortement suivant l'état de maturité du myzostome: chez un individu jeune, les cellules germinales longent dorsalement les canaux génitaux de telle manière que chaque canal paraît comme recouvert d'un cordon ovarien; chez un individu âgé, ces cellules infiltrent toute la région dorsale du myzostome.

Des cellules germinales à trois stades différents se rencontrent dans le parenchyme des individus adultes: des ovogonies, des ovocytes prévitellogéniques* et des ovocytes vitellogéniques*. Des oeufs fécondés s'observent également mais exclusivement dans les lumières des canaux génitaux et de l'utérus. Les cellules germinales intraparenchymateuses soit se disposent en petits amas serrés (c'est le cas de certaines ovogonies), soit sont isolées les unes des autres et entourées par une ou plusieurs assises de cellules parenchymateuses très amincies desquelles elles sont séparées par un espace extracellulaire amorphe de 0,1 à 1 μm de large (c'est le cas d'autres ovogonies, des ovocytes prévitellogéniques et vitellogéniques) (Figs 129, 130 à 132). Les cellules germinales intraparenchymateuses se disposent de façon polarisée: ce sont les cellules les plus âgées (*i. e.*, les plus avancées dans leur gamétogénèse) qui sont les plus proches des canaux génitaux (Fig. 129). C'est donc au stade d'ovocyte vitellogénique que les cellules germinales quittent le parenchyme pour rejoindre la lumière des canaux génitaux.

Les ovogonies. Mesurant de 5 à 10 μm de diamètre, les ovogonies sont pourvues d'un volumineux noyau ovale de 4 à 8 μm de diamètre (Figs 129, 130). Celui-ci comprend toujours de l'hétérochromatine condensée en chromosomes et parfois un nucléole de l'ordre de 1 μm de

* de l'anglais "previtellogenic oocytes" et "vitellogenic oocytes" désignant respectivement des ovocytes en phase de prévitellogénèse ou de vitellogénèse.

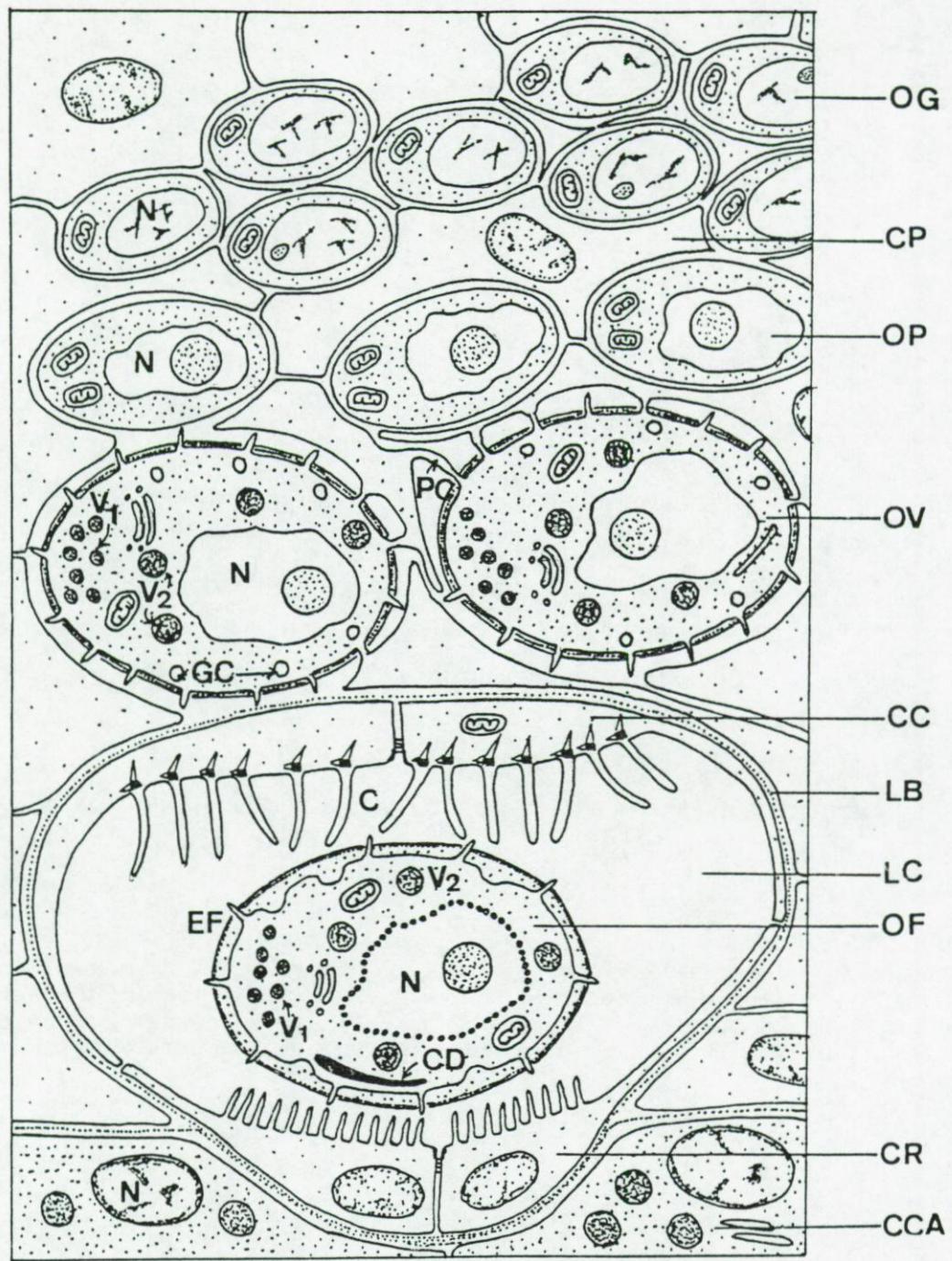


Fig. 129. *Myzostoma cirriferum*. Représentation schématique d'une partie de l'ovaire et d'un canal génital (en coupe transversale).

Abbreviations. C: cil; CC: cellule ciliée; CCA: cellule caecale; CD: corps dense; CP: cellule parenchymateuse; CR: cellule de recouvrement; EF: membrane de fécondation; GC: granule cortical; G: gouttelette dense; LB: lame basale; LC: lumière d'un canal génital; N: noyau; OF: oeuf fécondé; OG: ovogonie; OP: ovocyte prévitellogénique; OV: ovocyte vitellogénique; PC: processus cytoplasmique; V₁, 2: gouttelettes vitellines du premier et du second type.

Figs 130 à 144. *Myzostoma cirriferum*. Ovogénèse et oeuf fécondé (MET).

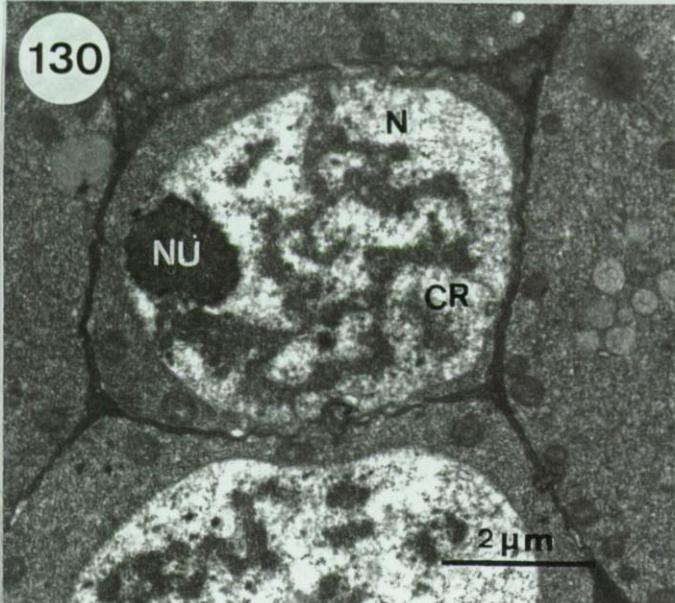
Figs 130 à 133. Vue générale d'une ovogonie (130), d'un ovocyte prévitellogénique (131), d'un ovocyte vitellogénique (132) et d'un oeuf fécondé (133).

Figs 134 à 139. Détails d'un ovocyte vitellogénique. Réticulum endoplasmique rugueux (134), gouttelettes vitellines du premier (135) et du second (136) type, granule cortical (137), enveloppe vitelline et microvillosité (138) et contact entre ovocyte et cellule parenchymateuse (139).

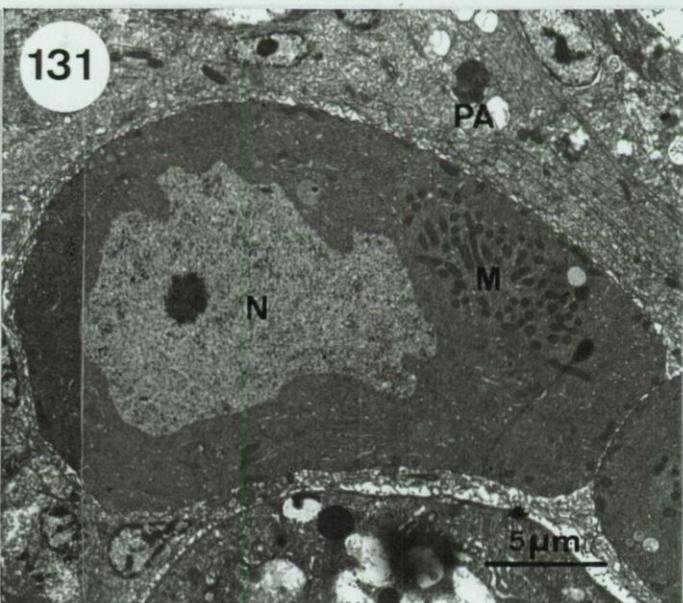
Figs 140 à 144. Détails d'un oeuf fécondé. Granule cortical (141), enveloppe de fécondation et microvillosité (142), corps dense intracytoplasmique (143) et vésiculisation de la membrane nucléaire (début de la vésiculisation, 140; stade avancé de la vésiculisation, 144).

Abréviations. C: cytoplasme; CD: corps dense; CP: cellule parenchymateuse; CR: chromatine; EF: enveloppe de fécondation; EV: enveloppe vitelline; GC: granule cortical; LU: lumière de l'utérus; M: mitochondrie; MI: microvillosité; MN: membrane nucléaire; N: noyau; NU: nucléole; O: ovocyte; PA: parenchyme; PC: processus cytoplasmique; RER: réticulum endoplasmique rugueux; V₁, 2: gouttelette vitelline du premier et du second type.

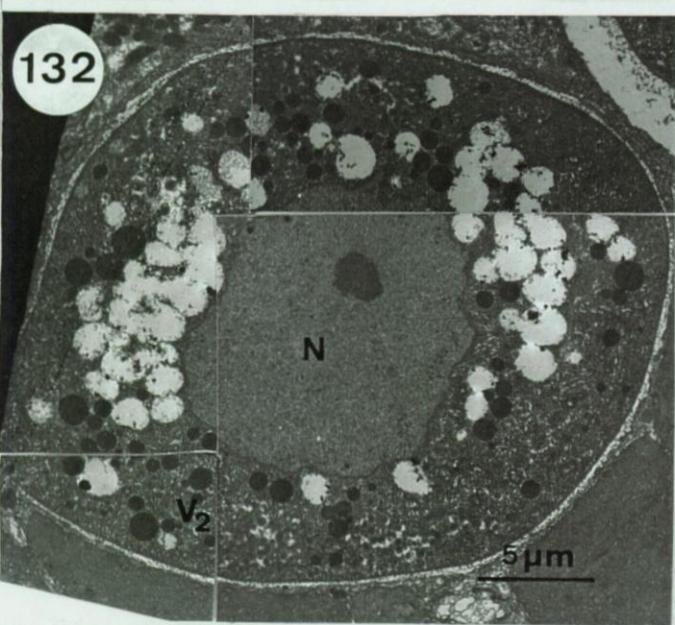
130



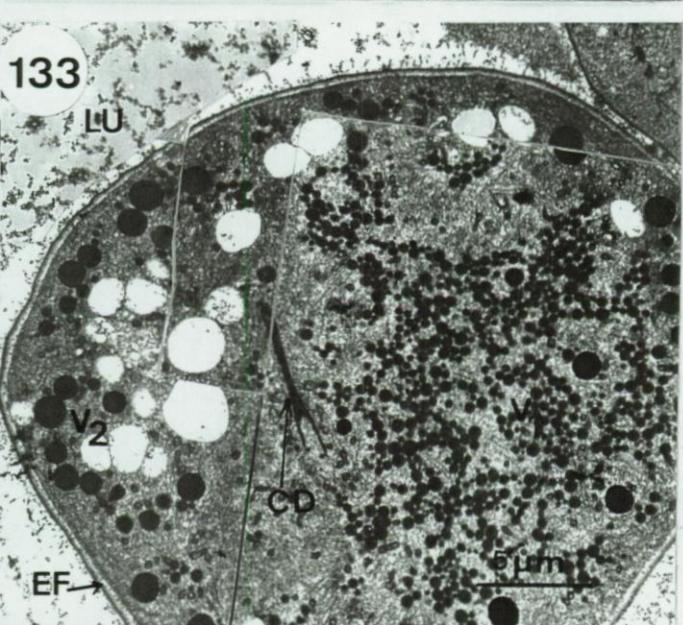
131



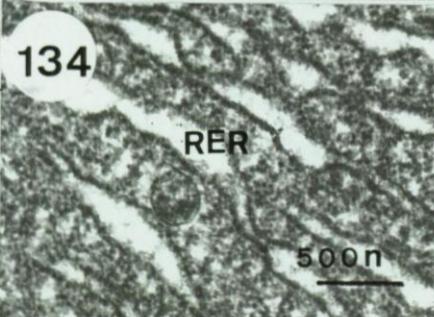
132



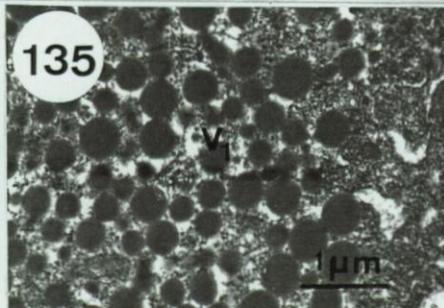
133



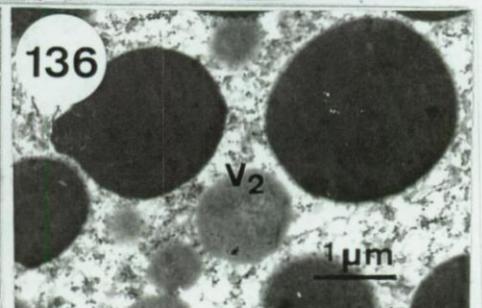
134



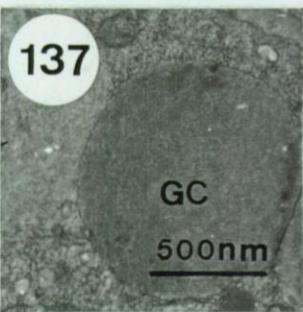
135



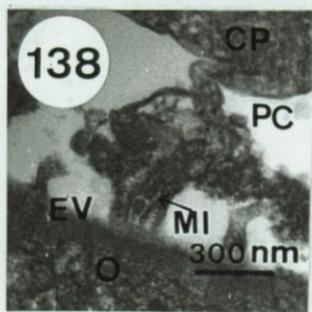
136



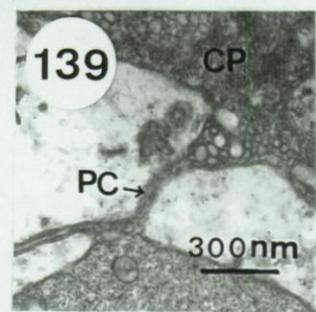
137



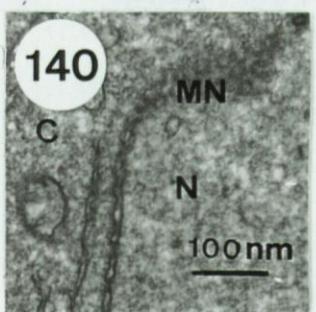
138



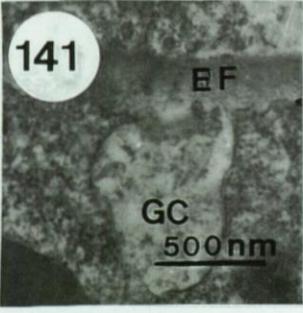
139



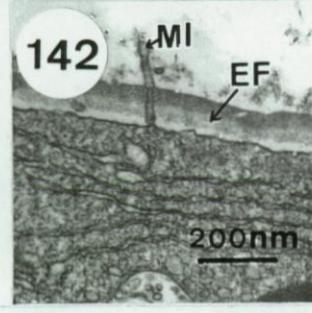
140



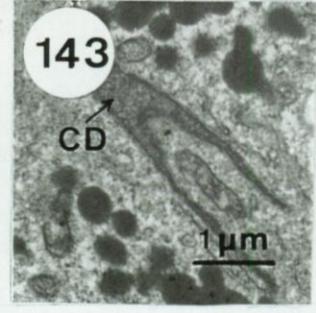
141



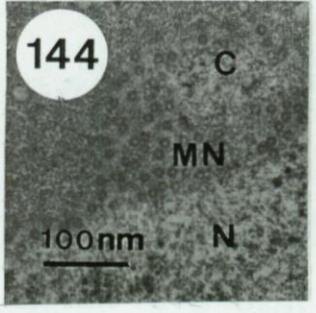
142



143



144



genito-vitellinale
reproduction ??

diamètre. Le cytoplasme renferme uniquement quelques mitochondries. La membrane cellulaire est lisse, dépourvue de microvillosités.

Les ovocytes prévitellogéniques. Mesurant de 10 à 20 µm de diamètre, les ovocytes prévitellogéniques renferment un noyau de 8 à 15 µm de diamètre, grossièrement ovoïde et au contour assez irrégulier (Figs 129, 131). Celui-ci renferme toujours un nucléole (5 µm de diamètre) mais ne présente pas d'hétérochromatine condensée en chromosomes. Le cytoplasme renferme de nombreuses mitochondries rassemblées à un des pôles de la cellule, du réticulum endoplasmique rugueux et quelques zones golgiennes (Figs 129, 131). La membrane cellulaire est lisse et dépourvue de microvillosité.

Les ovocytes vitellogéniques. Mesurant de 20 à 30 µm de diamètre, les ovocytes vitellogéniques ont un noyau semblable à celui des ovocytes prévitellogéniques (Figs 129, 132). Leur cytoplasme renferme de nombreuses mitochondries (dispersées), un réticulum endoplasmique rugueux très développé (Fig. 134), de nombreuses zones golgiennes, des granules corticaux de 500 nm à 1 µm de diamètre comprenant un matériel granulaire (Fig. 137) et deux types de matériel vitellin (Figs 135, 136). Celui du premier type est rassemblés en fines gouttelettes denses de 100 à 500 nm de diamètre, réagissant positivement au noir Soudan et concentrées à un pôle de la cellule (le pôle végétal) (Figs 129, 135); celui du second type est rassemblé en grosses gouttelettes denses de 1 à 3 µm de diamètre, réagissant positivement au noir Soudan et dispersées dans tout le cytoplasme (une partie de ce matériel s'est dissout au cours de la préparation des pièces laissant de place en place des alvéoles vides) (Figs 132, 136). La membrane cellulaire porte des microvillosités de 300 nm de long qui traversent une enveloppe vitelline dense de 100 nm d'épaisseur (Fig. 138). Les cellules parenchymateuses avoisinantes ont d'étroits contacts avec les ovocytes par l'intermédiaire de processus cytoplasmiques qui viennent coiffer les microvillosités ovocytaires, voire fusionner avec ces dernières (Figs 138, 139).

Les oeufs fécondés. Mesurant 30 µm de diamètre, les oeufs fécondés renferment en plus de tous les organites et des gouttelettes vitellines observés dans les ovocytes vitellogéniques, un corps dense de forme irrégulière mesurant *ca* 10 µm de long et qui traduit vraisemblablement la pénétration d'un spermatozoïde (Figs 129, 133, 143). Les granules corticaux sont vidés de leur matériel (Fig. 141). La membrane nucléaire n'est plus continue mais est fragmentée en une multitude de vésicules de 10 nm de diamètre (Fig. 140). Dans certains oeufs où la fragmentation du noyau est avancée, les vésicules sont éparses dans le nucléo-cytoplasme néo-formé (Fig. 144). La membrane cellulaire porte des microvillosités de 300 à 400 nm de long (Fig. 142). L'oeuf est entouré par une enveloppe de fécondation de 200 nm d'épaisseur

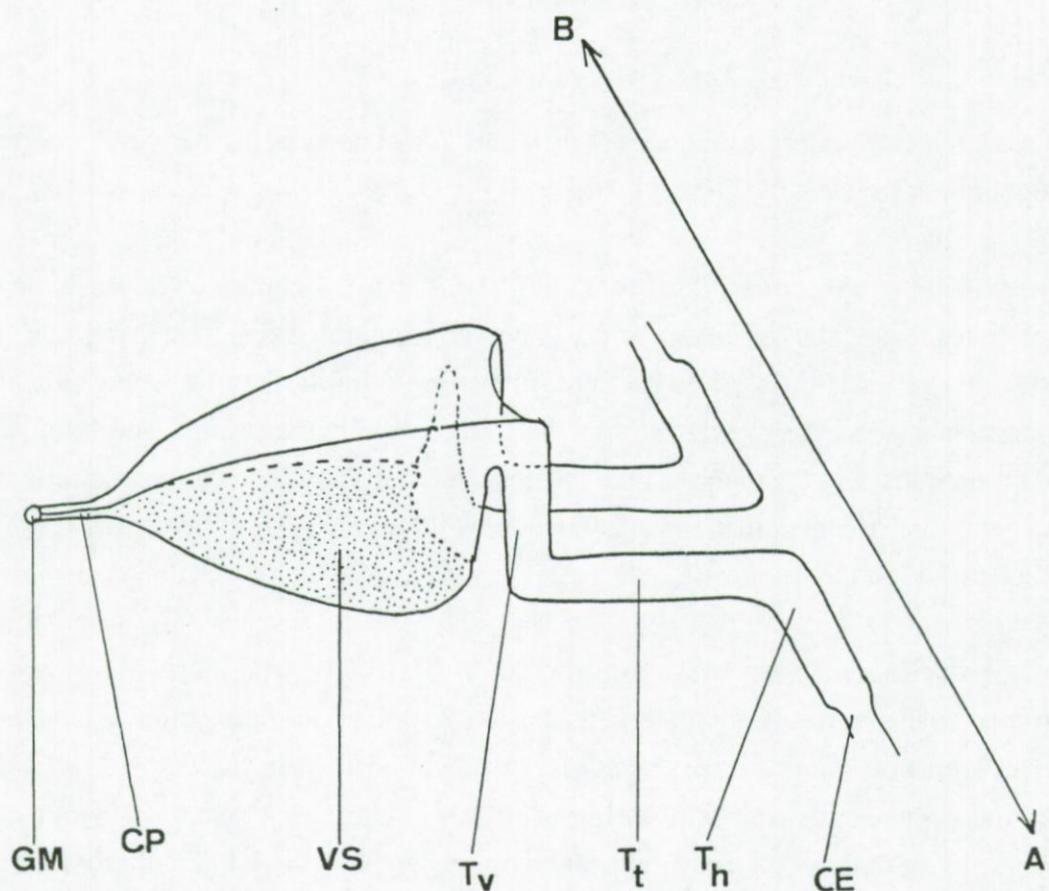


Fig. 145. *Myzostoma cirriferum*. Représentation schématique du tractus génital mâle gauche d'un individu (vue de profil).

Abréviations. A: anus; B: bouche; Th, T_t, T_v: tronçons horizontal, transversal et vertical d'un canal déférent; CE: canal efférent; CP: canal pénien; GM: gonopore mâle; VS: vésicule séminale.

formée d'une couche interne claire et d'une couche externe dense de 100 nm d'épaisseur chacune (Fig. 142).

1. 3. Les tractus génitaux mâles

Pour rappel, l'appareil génital mâle est situé ventralement et est pair: il y a donc, formellement, deux appareils mâles placés de part et d'autre de la chaîne nerveuse et s'ouvrant chacun indépendamment à l'extérieur par un gonopore (orifice pénien) situé à hauteur d'un parapode de la troisième paire. Chaque tractus mâle se compose, du gonopore vers le testicule, d'un canal pénien, d'une vaste vésicule séminale, de deux canaux déférents (un antérieur et un postérieur) et d'un système très ramifié de canaux efférents (Figs 125C, 145, 150, 151). A l'exception des canaux efférents, tous le tractus mâle est épithélialisé et musculeux. Les cellules épithéliales sont unies par des complexes jonctionnels apicaux formés d'une zonula adhaerens distale et d'un desmosome septé proximal (Fig. 146). La musculature consiste en un manchon (*ca* 3 µm d'épaisseur) continu (à hauteur des vésicules séminales) ou discontinu (à hauteur des canaux péniens et des canaux déférents) de fibres musculaires circulaires. La paroi des canaux efférents consiste, elle, en une unique lame basale qui prolonge celle de l'épithélium du tractus tout en étant sensiblement plus épaisse (100 à 300 nm d'épaisseur contre quelque 50 nm pour la basale épithéliale) (Figs 163, 165).

Le canal pénien est court et étroit (100 µm de long pour 10 µm de diamètre*) et l'épithélium qui le borde est formé de *cellules ciliées* et de *cellules de recouvrement* semblables au cellules du même nom qui composent l'épiderme (Figs 146E, 147 à 149) (voir aussi chapitre E, pp 51, 52). Comme elles, elles sont recouvertes d'une fine cuticule (Figs 146, 147, 148). Ces cellules sont fortement plissées, ce qui est à mettre en relation avec le fait que ce canal est très dilatable (il est le passage obligé des spermatophores) (Figs. 147).

La vésicule séminale est une vaste poche conique de 400 µm de long, 200 µm de haut et 40 (à hauteur du canal pénien) à 200 µm (à hauteur des canaux déférents) de large (Figs

*Les mesures correspondent à celles effectuées sur des individus de 1,8 mm de long

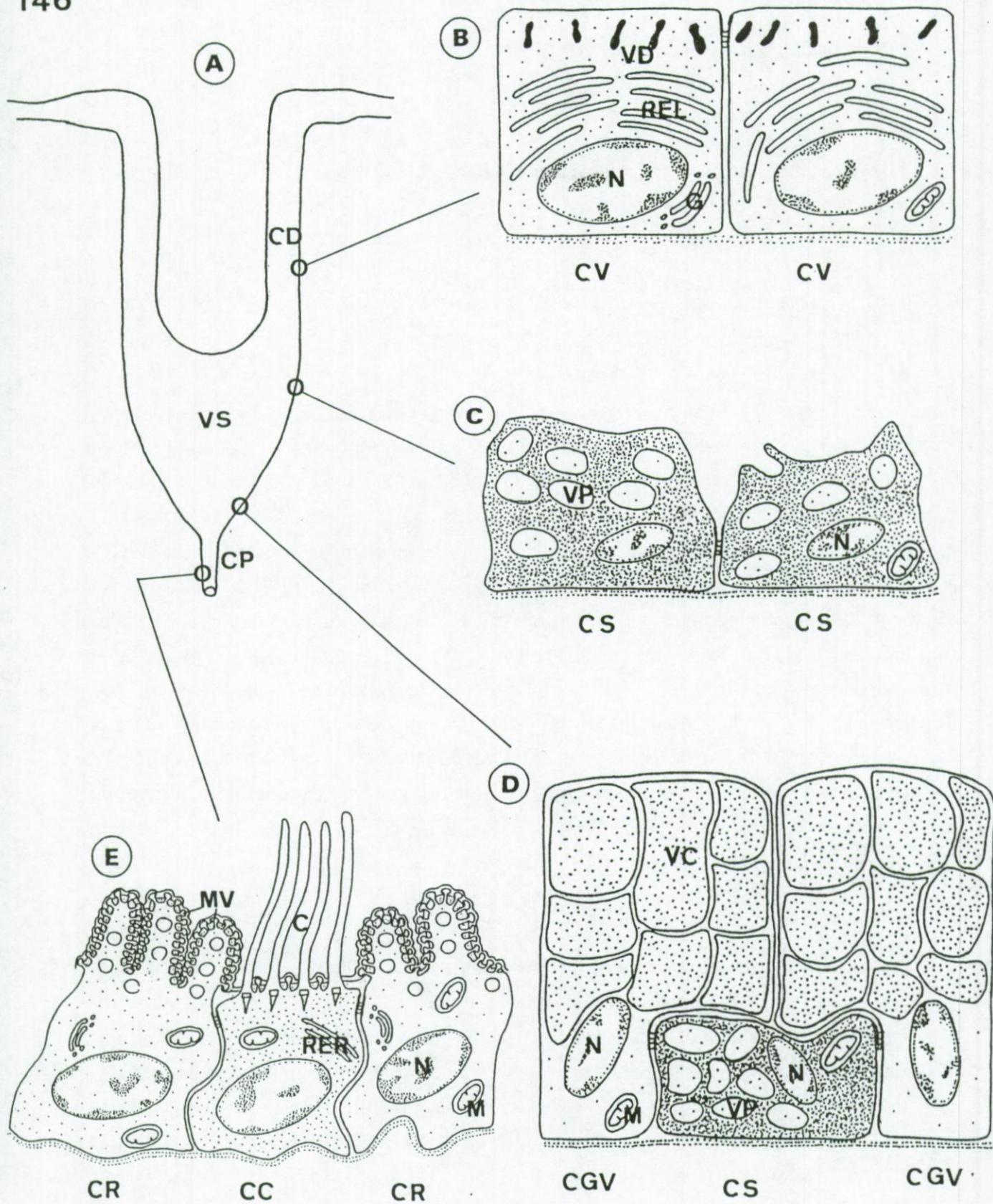


Fig. 146. *Myzostoma cirriferum*. Représentations schématiques du tractus génital mâle (A) et de ses composantes épithéliales: épithéliums des canaux déférents (B), des côtés (C) et de la région basale (D) des vésicules séminales, et des canaux péniens (E).

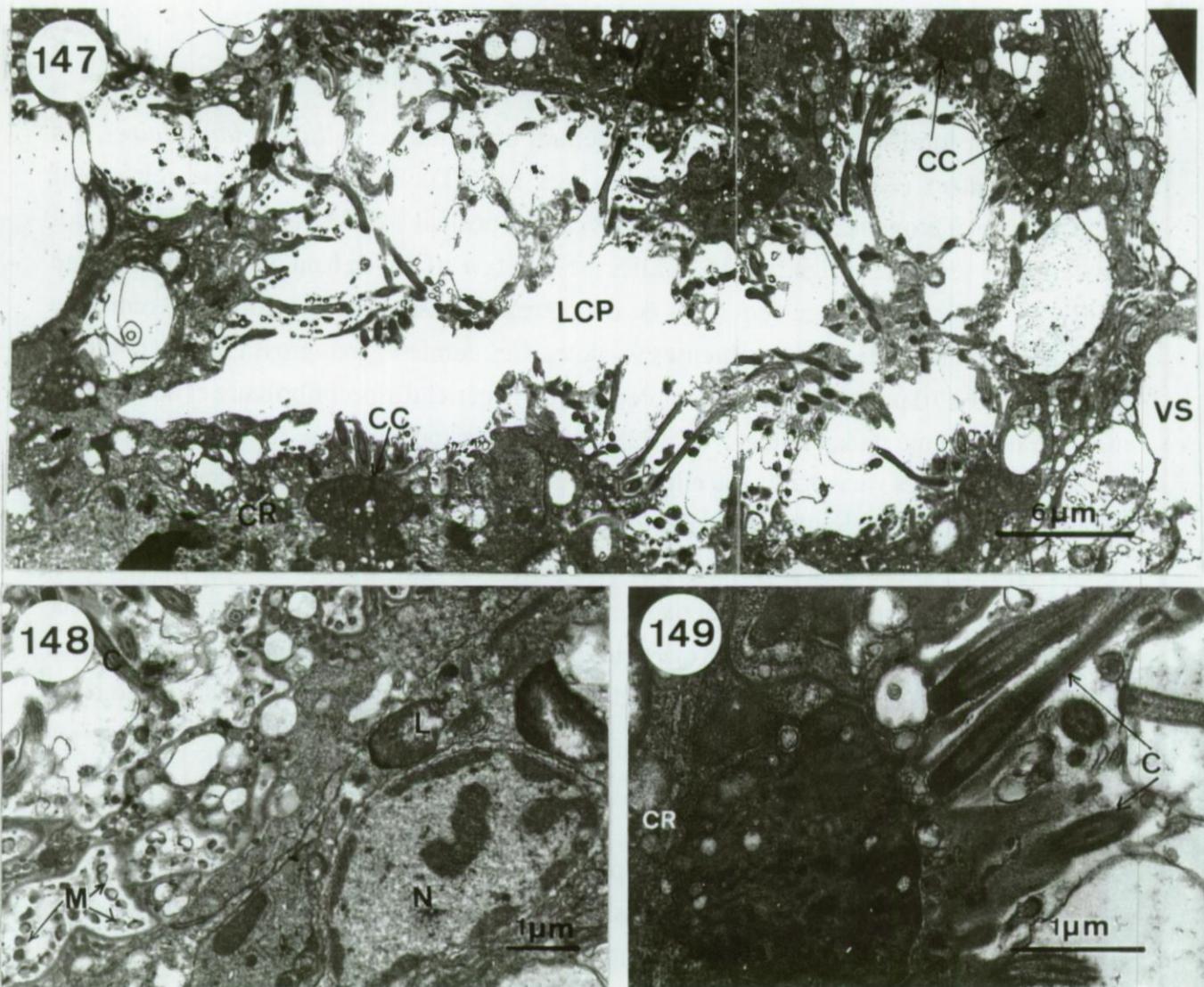
Abréviations. C: cil; CC: cellule ciliée; CD: canal déférent; CGV: cellule glandulaire vacuolaire; CP: canal pénien; CR: cellule de recouvrement; CS: cellule spumeuse; CV: cellule glandulaire vésiculaire; G: appareil de Golgi; M: mitochondrie; MV: microvillosité; N: noyau; REL: réticulum endoplasmique lisse; RER: réticulum endoplasmique rugueux; VC: vacuole à contenu fibrillaire; VD: vésicule dense; VP: vacuole à contenu spumeux; VS: vésicule séminale.

145, 150). Sa lumière est bordée d'un épithélium constitué de *cellules glandulaires*, les unes *vacuolaires* et les autres *spumeuses* (Figs 146C-D). Les premières se retrouvent exclusivement à proximité de l'embouchure des canaux péniens où elles forment 1/5 de la paroi des vésicules séminales (Figs 146, 152). Elles mesurent *ca* 20 µm de haut pour 15 µm de large (Figs 146, 152). Leur noyau (*ca* 7 µm de diamètre) est basal et leur cytoplasme renferme quelques mitochondries et de nombreuses vacuoles. Ces dernières sont grossièrement ovoïdes, mesurent de 5 à 10 µm de diamètre, comprennent un matériel d'aspect fibrillaire et occupent la majorité du volume de la cellule (Fig. 152). Les cellules spumeuses se retrouvent parmi les cellules glandulaires vacuolaires (où elles y sont en petit nombre et isolées) et couvrent les 4/5 restant de la paroi des vésicules séminales (où elles sont là le seul type cellulaire de l'épithélium) (Figs 146, 152). De contour très irrégulier, elles sont grossièrement cubiques et toujours plus petites (*ca* 10 µm de haut et de large) que les cellules vacuolaires. Leur noyau est basal et leur cytoplasme, plus dense aux électrons que celui de ces dernières, renferment des mitochondries et des vacuoles au contenu uniformément clair ou d'aspect spumeux de 1 µm de diamètre au plus (Figs 146, 153).

reaction histochimique?

Les canaux déférents antérieur et postérieur se disposent symétriquement de part et d'autre du plan myzostoméen transversal passant par le grand axe de la vésicule séminale (Figs 125C, 145). Ils sont chacun formés de trois tronçons successifs respectivement vertical, transversal et horizontal, ce dernier recevant l'extrémité unique du système de canaux efférents (Fig. 145). La lumière des canaux déférents est bordée d'un épithélium constitué exclusivement de *cellules glandulaires vésiculaires*. Celles-ci mesurent *ca* 15 µm de haut et de large (Figs 146, 151, 155, 156). Leur noyau est basal et leur cytoplasme renferme quelques mitochondries, plusieurs zones golgiennes et un réticulum endoplasmique lisse développé. Des vésicules denses en forme d'althères ou de bâtonnet de *ca* 1 µm de long sont également observées dans la partie apicale des cellules (Figs 146, 155, 156).

Les canaux efférents consistent en deux ensembles de conduits dichotomisés branchés chacun sur un testicule (Fig. 125C). Chaque testicule est ainsi drainé par des canaux efférents tertiaires qui se jettent dans des canaux secondaires qui eux-même arrivent au niveau d'un unique canal primaire, celui-ci s'abouchant avec l'extrémité d'un canal déférent (Fig. 125C). La paroi des canaux efférents consistent uniquement en une lame basale épaisse qui correspond à ce que Prenant (1959) qualifiait de "tunique résistante" (Figs 165, 166) (voir aussi Introduction; p. 14).



Figs 147 à 156. *Myzostoma cirriferum*. Le tractus génital mâle (MO et MET).

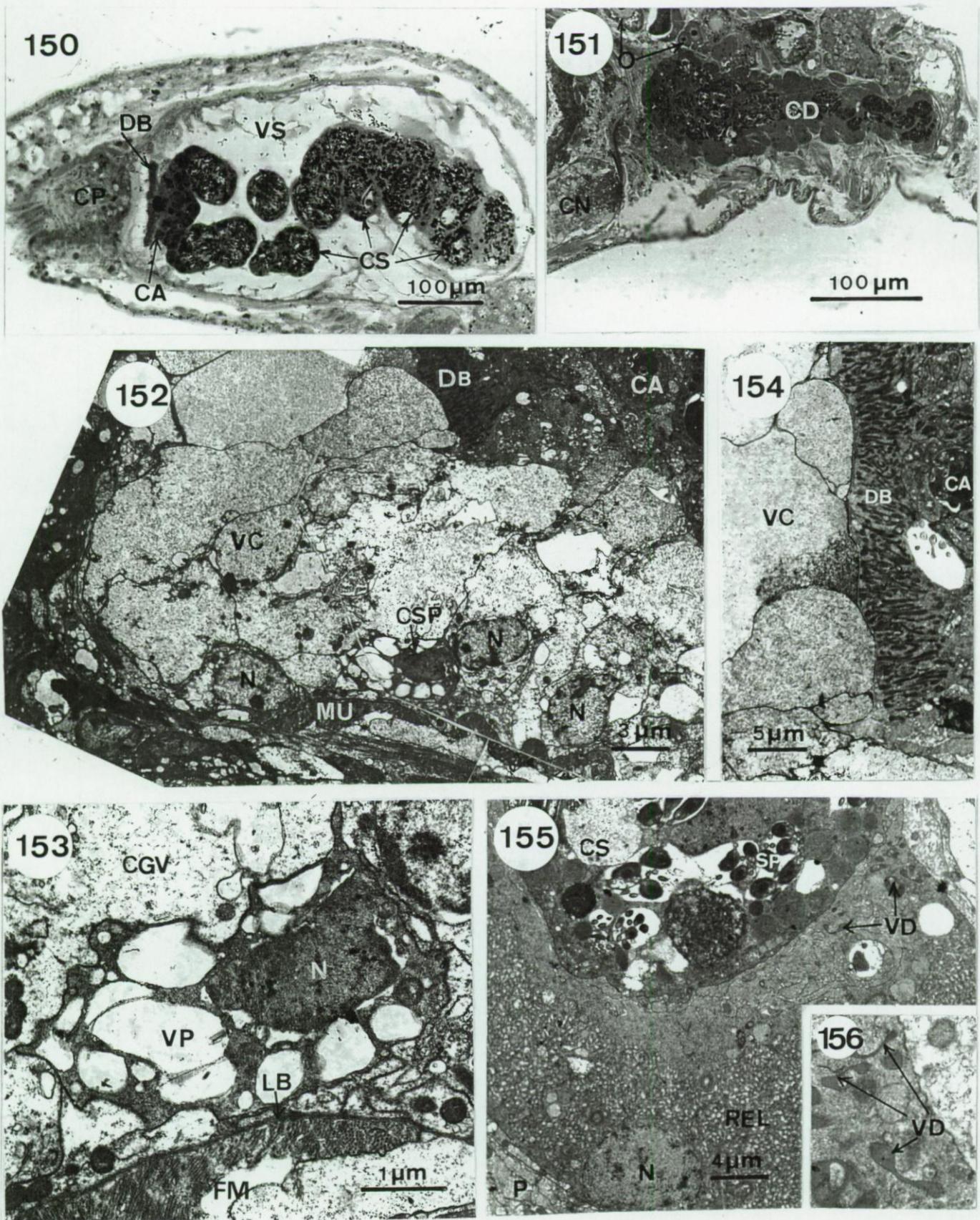
Figs 147 à 149. Aspect de la bordure épithéliale d'un canal pénien (147); détails d'une cellule de recouvrement (148) et de la partie apicale d'une cellule ciliée (149).

Figs 150, 151. Coupe longitudinale au travers d'un pénis et de la vésicule séminale (150) et du tronçon transversal d'un canal déférent (151).

Figs 152 à 154. Aspect de la partie basale de la vésicule séminale (côté du pénis) (152) et détail d'une cellule spumeuse (153); détail du disque de matériel extracellulaire situé entre l'apex des cellules glandulaires vacuolaires et les cystes abortifs (154).

Figs 155, 156. Les canaux déférents. Aspects des cellules glandulaires vésiculaires (155) et de leurs vésicules denses (156).

Abréviations. C: cil; CA: cyste abortif; CC: cellule ciliée; CD: canal déférent; CGV: cellule glandulaire vacuolaire; CN: chaîne nerveuse; CP: canal pénien; CR: cellule de recouvrement; CS: cyste à spermatozoïdes; CSP: cellule spumeuse; DB: disque basal; FM: fibre musculaire; L: lysosome; LB: lame basale; LCP: lumière du canal pénien; M: microvillosité; MU: musculature; N: noyau; O: ovaire; P: parenchyme; REL: réticulum endoplasmique lisse; SP: spermatozoïde; VC: vacuole à contenu fibrillaire; VP: vacuole à contenu spumeux; VD: vésicule dense; VS: vésicule séminale.



1. 4. Les testicules

Au nombre de quatre et disposés à la périphérie du tronc, chaque testicule a une forme en demi-croissant de 100 à 200 µm de large (Fig. 125). Ils consistent en un très grand nombre de cystes intraparenchymateux formés chacun d'une cellule-cyste dont le centre évidé consiste en une cavité extracellulaire renfermant des cellules germinales. Deux types de cyste s'observent dans le parenchyme selon que les cellules germinales qu'ils renferment sont intactes (spermatogonies ou spermatocytes) ou altérées (gonies abortives).

Ovoïdes et mesurant de 20 à 30 µm de diamètre, les cellules-cystes des *cystes à spermatogonies/spermatoctyes* ont un noyau euchromatique (Fig. 157). Leur cytoplasme renferme des mitochondries, un réticulum endoplasmique rugueux très développé et de nombreuses vésicules denses APS-positives de 0,3 à 1 µm de diamètre (Fig. 157). Chaque cellule-cyste englobe 4 à 64 cellules germinales de forme circulaire mesurant environ 5 µm de diamètre (Figs 171A, 157, 158). Le noyau de ces gonies occupe pratiquement tout le volume de la cellule et renferme de l'hétérochromatine condensée en chromosomes; un nucléole y est également parfois visible (Figs 171A, 158). Leur cytoplasme comprend uniquement quelques mitochondries (Figs 171A, 158). Plus petites (de 10 à 20 µm de diamètre), les cellules-cystes des *cystes abortifs* ont un noyau hétérochromatique et leur cytoplasme renferme quelques mitochondries et quelques vésicules denses APS-positives (Fig. 159). Elles englobent de une à trois cellules germinales abortives de forme ovoïde qui mesurent 3 à 5 µm de diamètre (Fig. 160). Le noyau de ces dernières est presque totalement hétérochromatique et leur cytoplasme renferme quelques mitochondries et des vacuoles d'autophagie (Fig. 160).

Les cystes intraparenchymateux sont progressivement dirigés vers la vésicule séminale via les canaux efférents et déférents. Ainsi, la lumière des canaux efférents est totalement oblitérée par des *cystes abortifs* (similaires à ceux décrits précédemment) et par des *cystes à spermatides*. Ces derniers, grossièrement ovoïdes, mesurent *ca* 30 µm de diamètre. Le contenu cytoplasmique de leur cellule-cyste est semblable à celui de leurs homologues des cystes à spermatogonies/spermatoctyes (Figs 161, 163, 166). Chacune d'elles englobe 64 spermatides dont le développement se poursuit en même temps que le cyste qui les contient s'approche de l'embouchure d'un canal déférent. Trois types de spermatides peuvent être distingués (les spermatides sont toujours au même stade dans un même cyste) (Figs 161, 163,

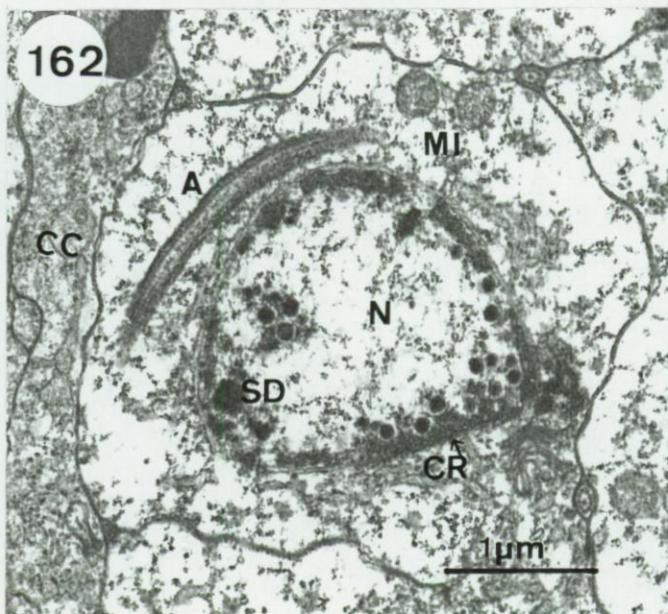
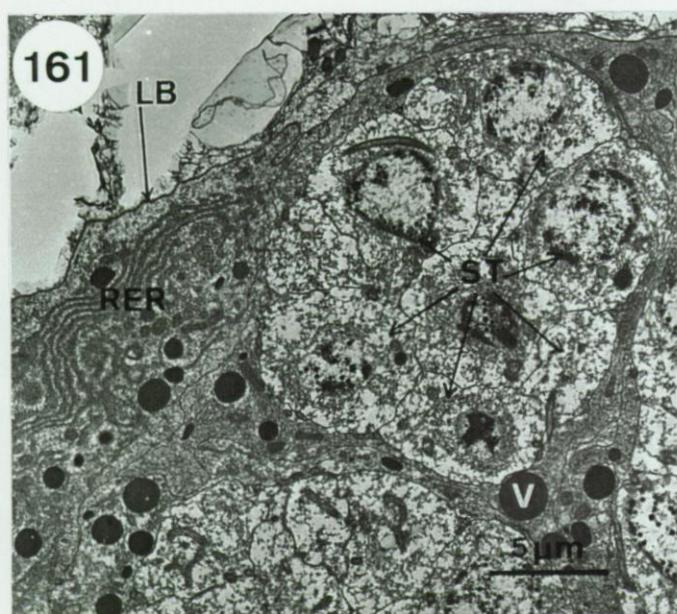
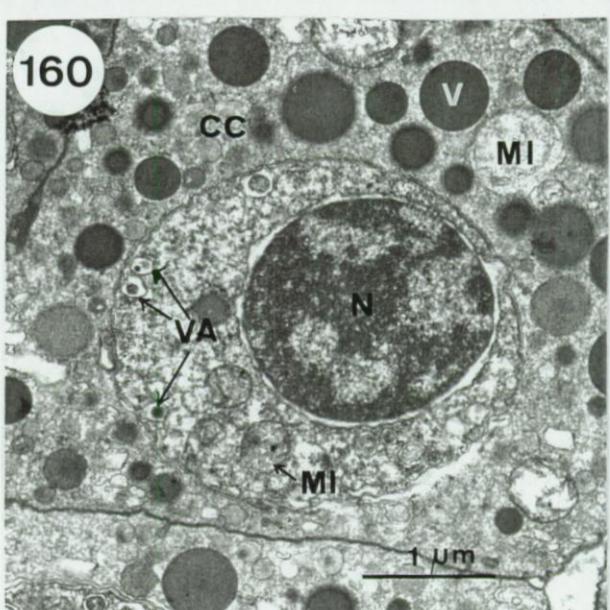
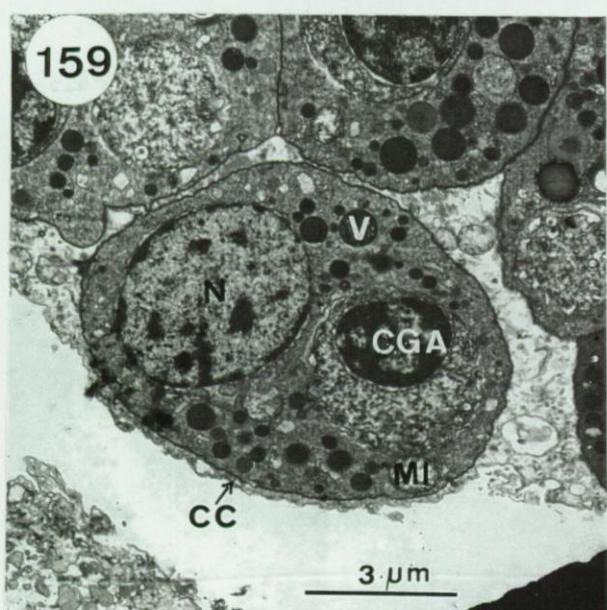
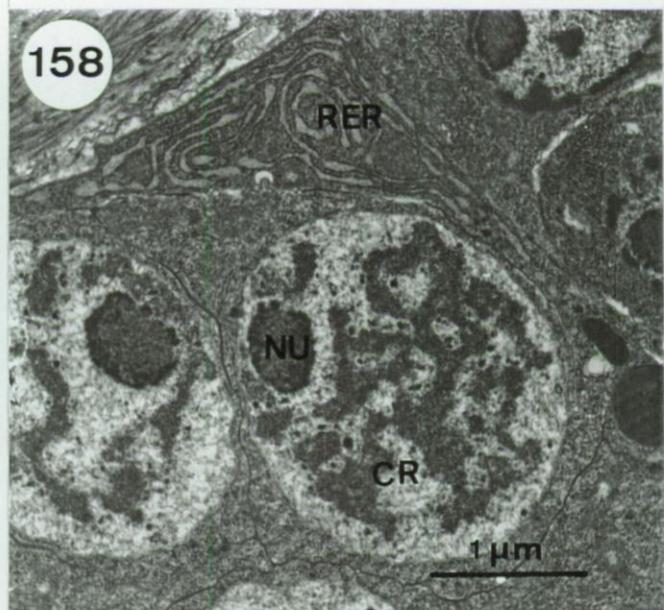
Figs 157 à 162. *Myzostoma cirriferum*. Les cystes gamétiques (MET).

Figs 157, 158. Vue générale d'un cyste à spermatogonies/spermatocytes (157) et d'une des cellules germinales qu'il entoure (158).

Figs 159, 160. Vue générale d'un cyste abortif (159) et d'une cellule germinale abortive (160).

Figs 161, 162. Vue générale d'un cyste à spermatides jeunes (161) et d'une spermatide (162).

Abréviations. A: axonème; CC: cellule-cyste; CG: cellule germinale; CGA: cellule germinale abortive; CR: chromatine; LB: lame basale; MI: mitochondrie; N: noyau; NU: nucléole; PA: parenchyme; RER: réticulum endoplasmique rugueux; SD: sphère dense; ST: spermatide; V: vésicule dense APS-positive; VA: vacuole d'autophagie.



166). Au stade le plus jeune, le spermatide est ovoïde et mesure *ca* 5 µm de diamètre (Figs 171B, 162). Son noyau, volumineux, renferme en périphérie de l'hétérochromatine et au centre, de nombreuses sphères denses Feulgen-positives de 200 nm de diamètre. Son cytoplasme renferme quelques mitochondries, du réticulum endoplasmique rugueux et un axonème de neuf doublets de microtubules (l'axonème d'un futur flagelle) (Figs 171B, 162). Au stade suivant, le spermatide présente un corps grossièrement allongé (*ca* 20 µm de long pour 3 µm de diamètre) et est pourvu d'un flagelle (Figs 171C-C', 164, 165). Le noyau s'est allongé; il renferme de l'hétérochromatine en périphérie et des sphères denses Feulgen-positives dont le nombre et la taille se sont accrus (elles mesurent à présent jusqu'à 500 nm de diamètre) (Figs 171C-C', 164, 165). Du réticulum endoplasmique rugueux et une à deux zones golgiennes s'observent dans le cytoplasme ainsi que de une à trois mitochondries (*ca* 20 µm de long) se disposant en ligne et longeant le noyau (Figs 171C-C', 164, 165). Le flagelle prend naissance à l'une des extrémités du corps du spermatide et renferme un axonème formé de neuf doublets de microtubules périphériques (structure 9X2+0) (Figs 171C-C'). Il a en plus ceci de particulier qu'il forme un angle de 180° à son point d'insertion et longe ainsi le corps du spermatide du côté où se situent les mitochondries en restant attaché à sa membrane cellulaire (Figs 171C-C', 164). Au stade le plus différencié, le spermatide est très allongée (30 µm de long pour 1,5 µm de diamètre) et son flagelle mesure de l'ordre de 50 µm (Figs 171D-D', 167). Trois structures intracytoplasmiques se disposent dans le sens de la longueur de la cellule: des mitochondries (de une à trois), une palissade de 20 à 22 microtubules (qui se situent entre les mitochondries et la membrane cellulaire) et une structure granulaire allongée, dense, située de l'autre côté du noyau (Figs 171D-D', 167). A ce stade, les spermatides se situent en périphérie de la cavité de la cellule-cyste, le centre de la cavité étant occupé par leurs masses cytoplasmiques résiduelles (Fig. 166).

La lumière des canaux déférents est elle aussi totalement oblitérée mais cette fois par des *cystes abortifs* (similaires à ceux décrits précédemment) et des *cystes à spermatozoïdes*. Ces derniers, grossièrement ovoïdes, mesurent *ca* 30 µm de diamètre. Leur cellule-cyste présente un noyau euchromatique nucléolé et un cytoplasme stratifié en une fine zone périphérique de 1 à 2 µm d'épaisseur dépourvue d'organite et une large zone centrale renfermant des mitochondries, du réticulum endoplasmique rugueux, des vésicules denses APS-positives et de nombreuses vacuoles comprenant un matériel granulaire (Figs 168, 170). Au nombre de 64 par cellule-cyste, les spermatozoïdes ont un corps de 30 µm de long et un flagelle de 50 µm de long. Ils diffèrent des spermatides âgés par la présence dans leur noyau d'une seule rangée de sphères denses Feulgen-positives de 1 µm de diamètre (Figs 171E-E', 169, 170).

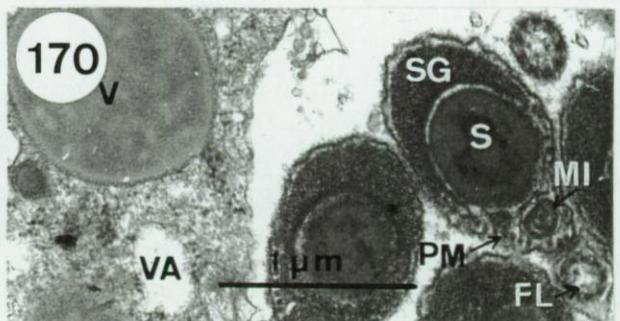
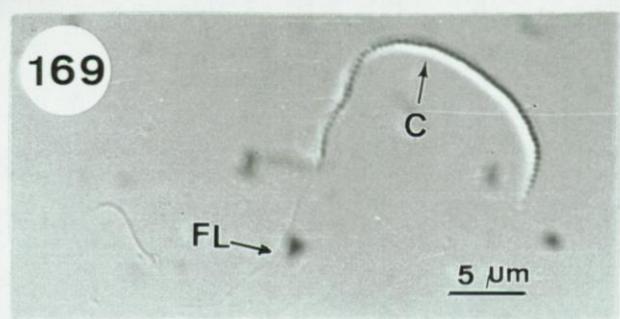
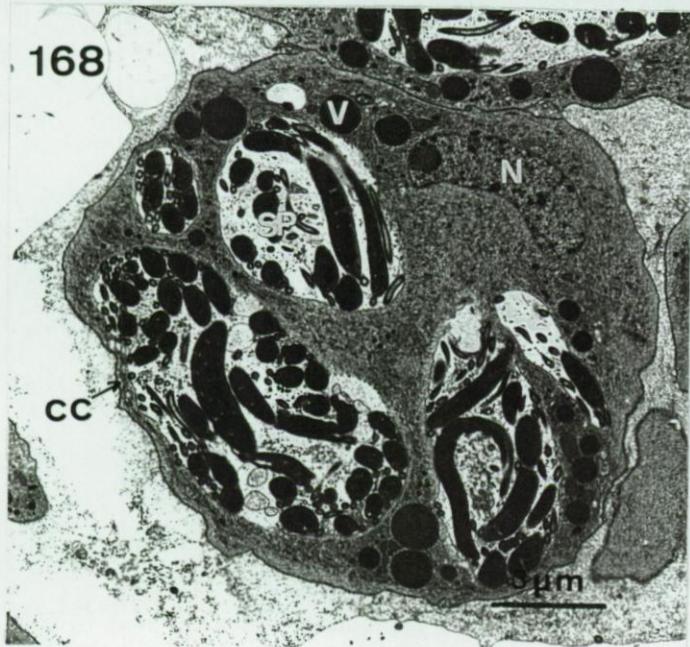
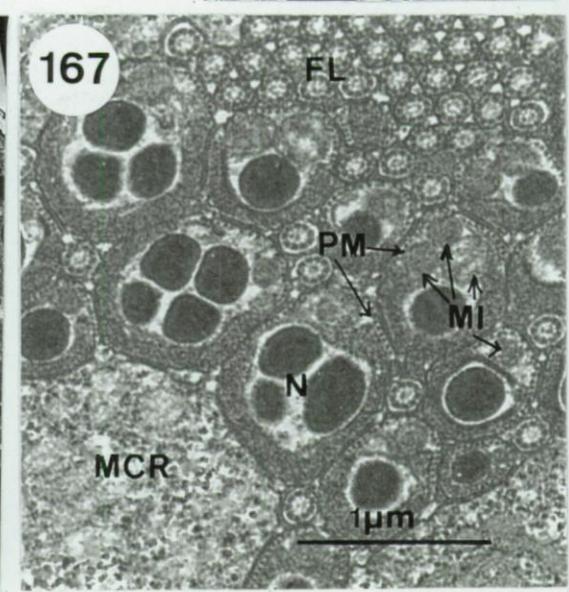
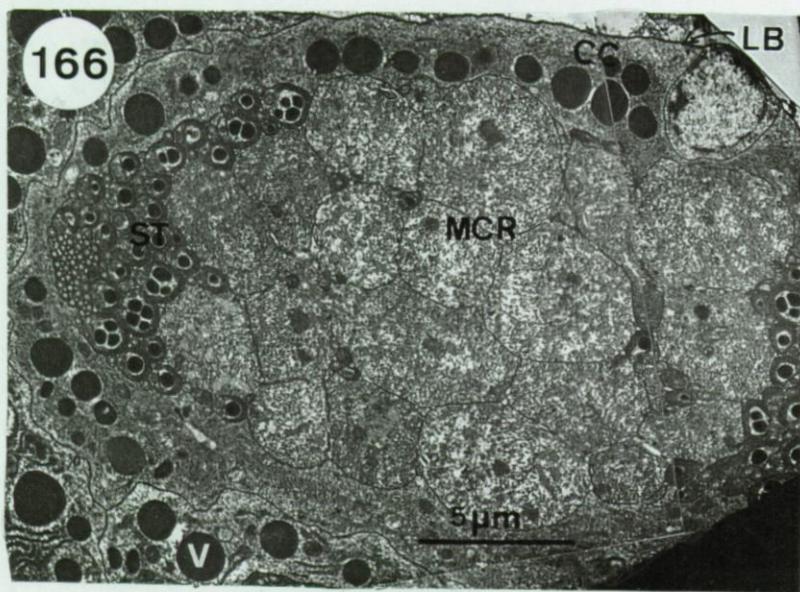
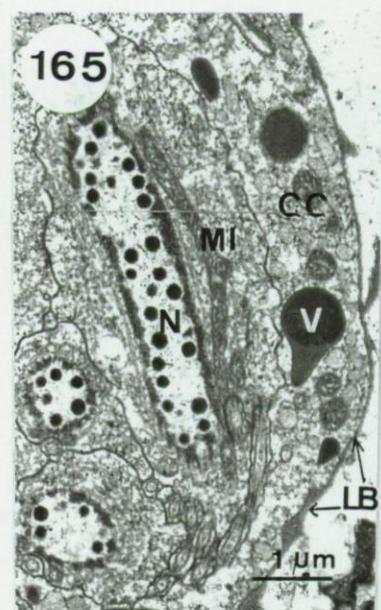
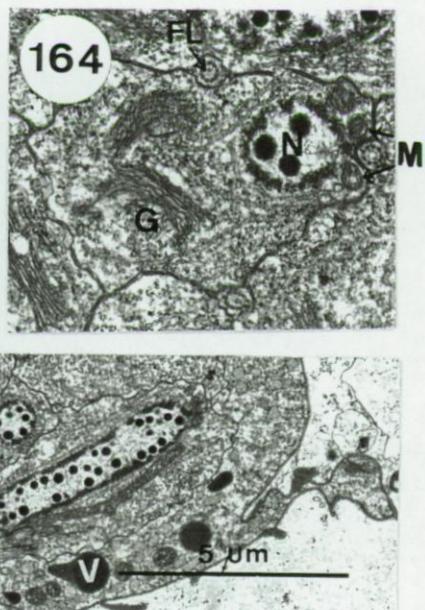
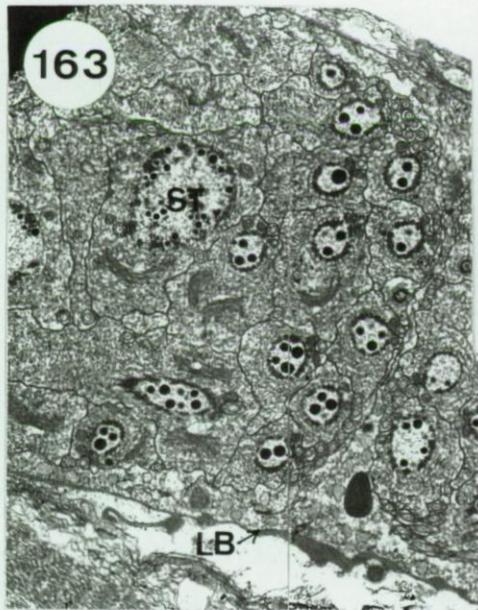
Figs 163 à 170. *Myzostoma cirriferum*. Les cystes gamétiques (MET et microscope à contraste de phase).

Figs 163 à 165. Vue générale d'un cyste à spermatides plus avancées dans la spermogénèse (163) et d'une telle spermatide en coupes transversale (164) et longitudinale (165).

Figs 166, 167. Vue générale d'un cyste à spermatides âgées (166) et de ses spermatides en coupe transversale (167).

Figs 168 à 170. Vue générale d'un cyste à spermatozoïdes (168) et d'un spermatozoïde *in toto* (169) et en coupe transversale (170).

Abréviations. C: corps; CC: cellule-cyste; FL: flagelle; G: appareil de Golgi; LB: lame basale; MCR: masse cytoplasmique résiduelle; MI: mitochondrie; N: noyau; PM: palissade de microtubule; S: sphère nucléaire; SG: structure granulaire; SP: spermatozoïde; ST: spermatide; V: vésicule dense APS-positive.



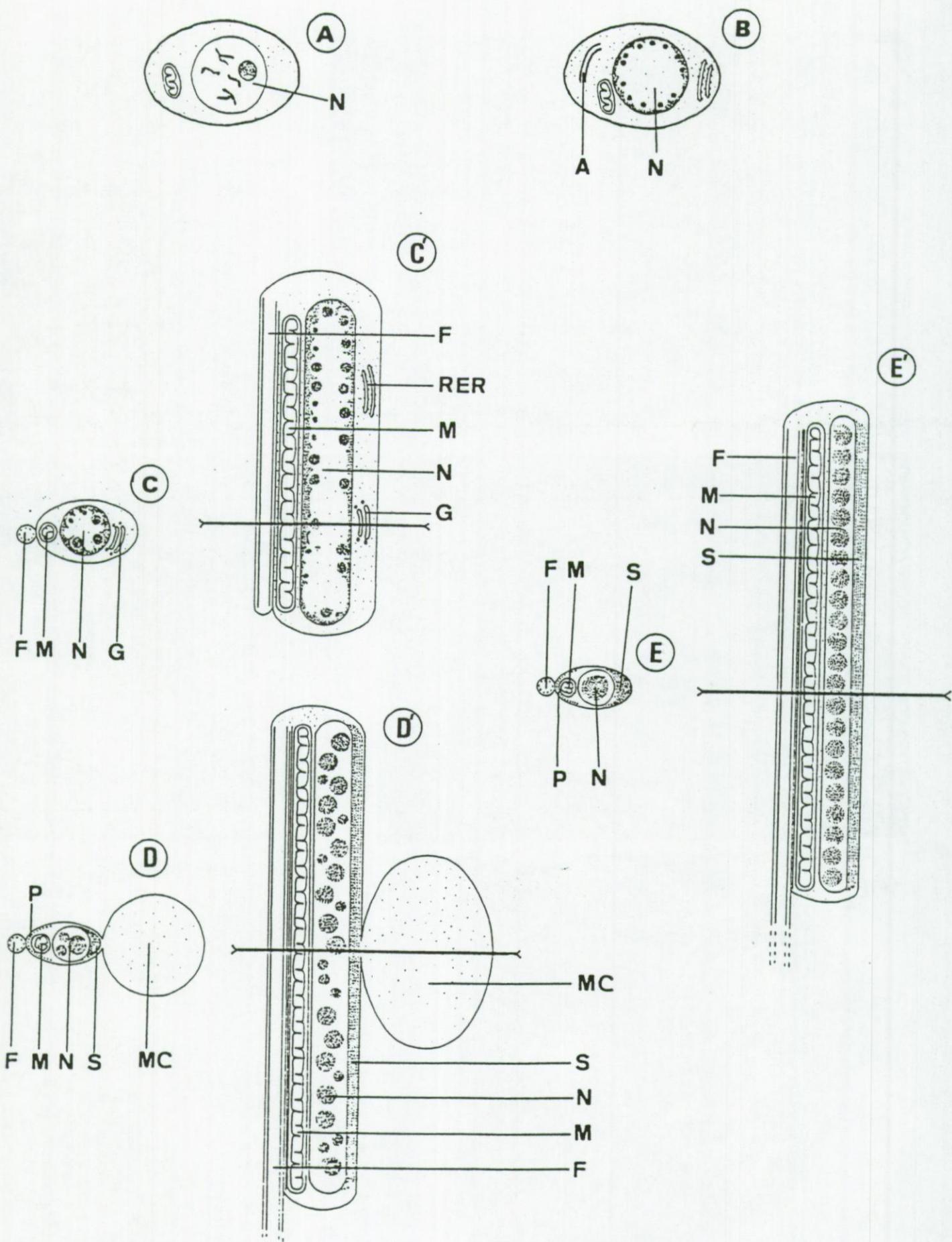


Fig. 171. *Myzostoma cirriferum*. Représentations schématiques des cellules germinales mâles en cours de spermatogénèse. Cellule germinale en cours de division (spermatoïgonie ou spermatoocyte) (A); jeune spermatoïde (B); spermatoïde à un stade plus avancé vu en coupe transversale (C) et longitudinale (C'); spermatoïde âgé en coupe transversale (D) et longitudinale (D'); spermatozoïde en coupe transversale (E) et longitudinale (E').

Abréviations. A: axonème; F: flagelle; G: appareil de Golgi; M: mitochondrie; MC: masse cytoplasmique résiduelle; N: noyau; P: palissade de microtubule; RER: réticulum endoplasmique rugueux; S: structure granulaire dense.

Ce sont exclusivement des *cystes abortifs* et des *cystes à spermatozoïdes* qui se retrouvent dans la lumière des vésicules séminales où ils s'accumulent et sont étroitement accolés les uns aux autres (Fig. 150). On observe, dans les vésicules séminales, une sorte de stratification de leur contenu: des embouchures des canaux déférents à celle du canal pénien s'observent des cystes à spermatozoïdes (qui constituent 80% des cystes accumulés), puis des cystes abortifs, puis enfin un disque basal fait de matériel extracellulaire. Ce disque, coincé entre les cystes abortifs et les cellules glandulaires vacuolaires de la base des vésicules séminales, mesure 40 µm de diamètre pour 5 µm d'épaisseur et est formé d'une matrice claire dans laquelle se trouvent de nombreuses vésicules denses en forme de bâtonnets de 1 µm de long (Figs 150, 152, 154).

2. Structure des spermatophores et reproduction

2. 1. Comportement des myzostomes au cours de la reproduction

Rappelons que la reproduction chez *M. cirriferum* s'effectue tout au long de l'année, que la taille d'un donneur est nécessairement supérieure à 1 mm de long et que le receveur doit être nécessairement vagile (voir chapitre D). Le myzostome donneur présente toujours une ou deux vésicules séminales dilatées et de couleur blanchâtre. Il identifie le futur receveur en le touchant à l'aide de ses cirres et/ou de la marge de son tronc. Il s'oriente alors correctement, retrousse la marge de son tronc et place un de ses pénis de sorte que l'orifice de celui-ci soit appliqué contre le tégument du futur receveur. Le donneur évacue alors son spermatophore grâce à une contraction vigoureuse de la paroi de la vésicule séminale. Le spermatophore peut adhérer sur un endroit quelconque du corps du receveur mais, dans la majorité des cas, il sera transféré sur la partie dorsale du tronc. Le contact entre donneur et receveur est très bref et les individus se séparent dès que le transfert a eu lieu. Le receveur semble souvent importuné par le spermatophore: il utilise son introvert pour tenter de s'en débarasser. Les receveurs que nous avons observés ne portaient généralement qu'un seul spermatophore, exceptionnellement deux.

Peu après qu'il ait adhéré au corps du receveur, le spermatophore en perce le tégument puis y déverse son contenu. La pénétration intradermique s'observe *in vivo* par la présence de

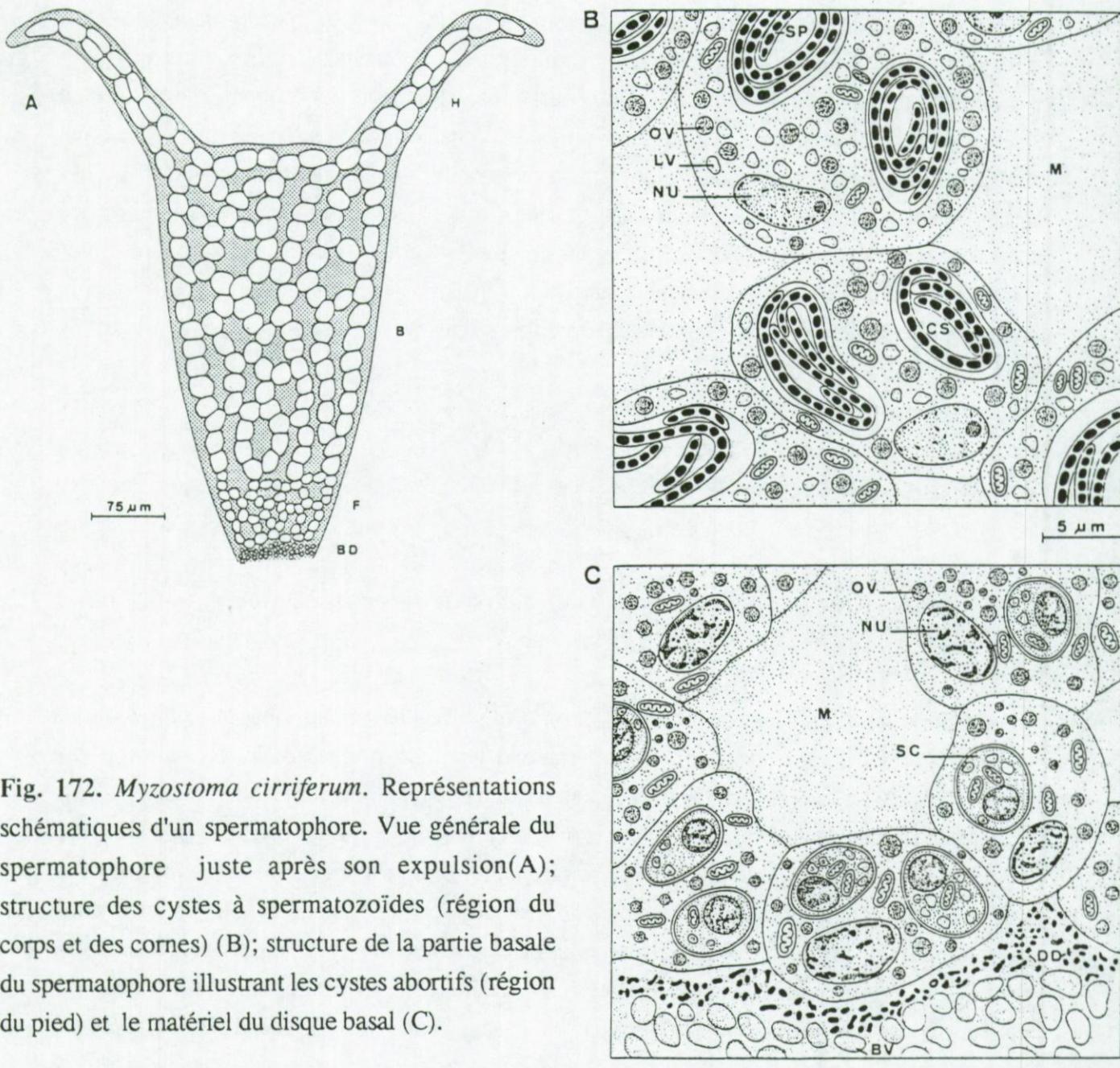


Fig. 172. *Myzostoma cirriferum*. Représentations schématiques d'un spermatophore. Vue générale du spermatophore juste après son expulsion(A); structure des cystes à spermatozoïdes (région du corps et des cornes) (B); structure de la partie basale du spermatophore illustrant les cystes abortifs (région du pied) et le matériel du disque basal (C).

Abréviations. B: corps; BD: disque basal; BV: vacuole au contenu fibrillaire; CS: cavité cystique; DD: vésicule dense; F: pied; H: corne; LV: vacuole; M: matrice; NU: noyau; OV: vésicule dense APS-positive; SC: cellule germinale abortive; SP: spermatozoïde.

trainées blanchâtres qui irradient du point de pénétration et envahissent tout le corps du receveur. Ces trainées apparaissent généralement 5 min après la fixation du spermatophage. La pénétration intradermique peut prendre jusqu'à 5 h mais elle se termine cependant le plus souvent après 45 min à dater du moment de l'attachement du spermatophage. A l'issue de la pénétration, le spermatophage qui s'est vidé de son contenu, s'est sensiblement rapetissé et finit par tomber (seul reste sur le receveur au niveau du point de pénétration une fine couche blanchâtre correspondant à ce qui fut la partie la plus basale du spermatophage).

2. 2. Structure des spermatophores transférés

Lorsqu'il vient d'être transféré, le spermatophage à la forme d'un sac aplati (Figs 172A, 173, 174). Sa taille varie selon celle du donneur (les plus grands spermatophores mesurent jusqu'à 500 µm de long, les plus petits 100 µm seulement). Le spermatophage s'attache au tégument par son extrémité la plus étroite (Figs 172 à 174). Son extrémité libre porte deux processus recourbés, ou cornes, chacun de 150 µm de long pour *ca* 40 µm de diamètre* (Figs 172 à 174). Hormis les cornes, le spermatophage mesure 350 µm de long, 100 µm d'épaisseur et de 150 (à l'apex) à 30 µm de large (à la base). Il est formé d'une matrice extracellulaire faite d'un matériel d'aspect fibrillaire dans lequel des cystes sont disposés en cordons (on compte jusqu'à 200 cystes dans les plus grands spermatophores) (Fig. 172). Bien développée à la base du spermatophage (1 µm d'épaisseur), la matrice extracellulaire s'affine au fur et à mesure que l'on se rapproche des cornes où elle est quasi inexistante.

Trois parties se distinguent dans un spermatophage fraîchement émis en fonction de son contenu: le disque basal, le pied, la région du corps et des cornes (Fig. 172). Corps et cornes forment la partie supérieure du spermatophage et mesurent ensemble 400 µm de long. Ils comprennent majoritairement des cystes à spermatozoïdes et quelques rares cystes abortifs (Fig. 172B). Les spermatozoïdes sont mobiles au sein de leur cyste et y bougent vigoureusement. (Sortis des cellules-cystes, ils se déplacent pendant quelques secondes mais meurent rapidement; leur déplacement résulte du mouvement ondulatoire combiné de leur flagelle et de leur corps). La seconde partie du spermatophage, le pied, mesure quelque 90 µm de long et ne comprend que des cystes abortifs (Fig. 172C). Le disque basal mesure quelque 10 µm

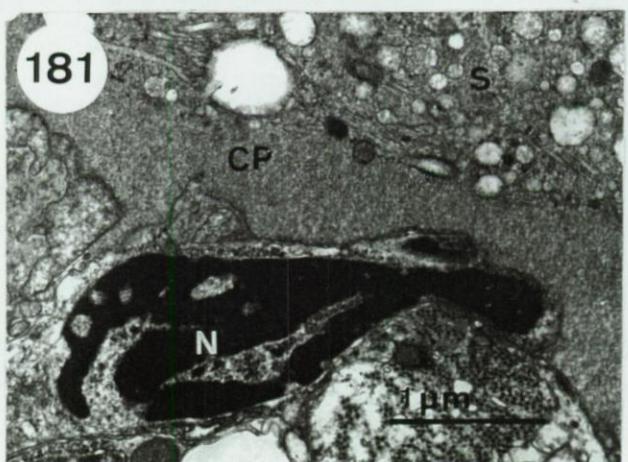
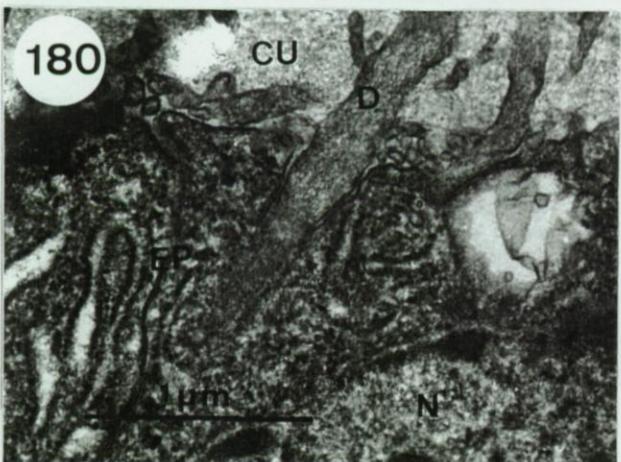
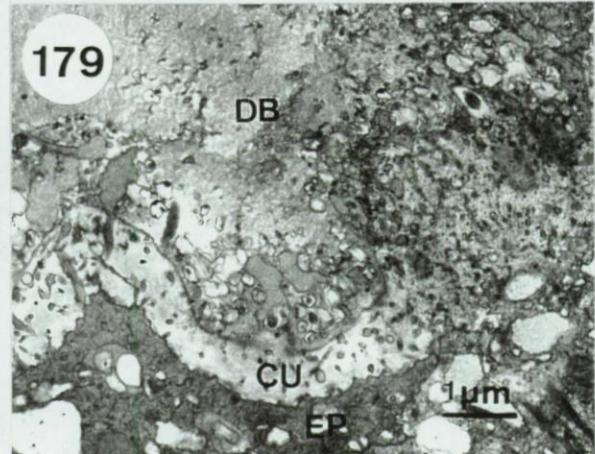
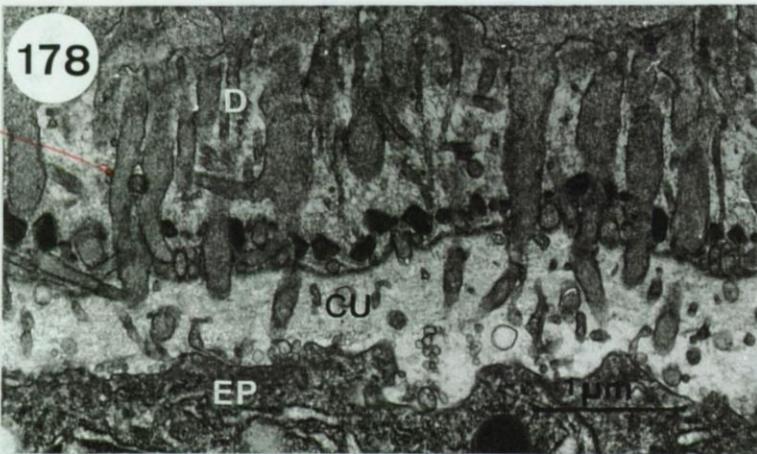
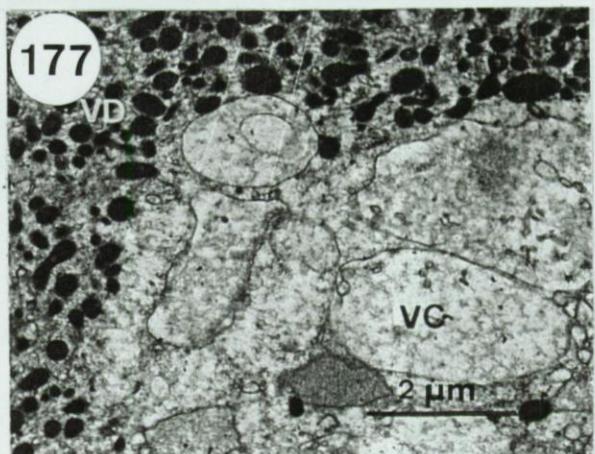
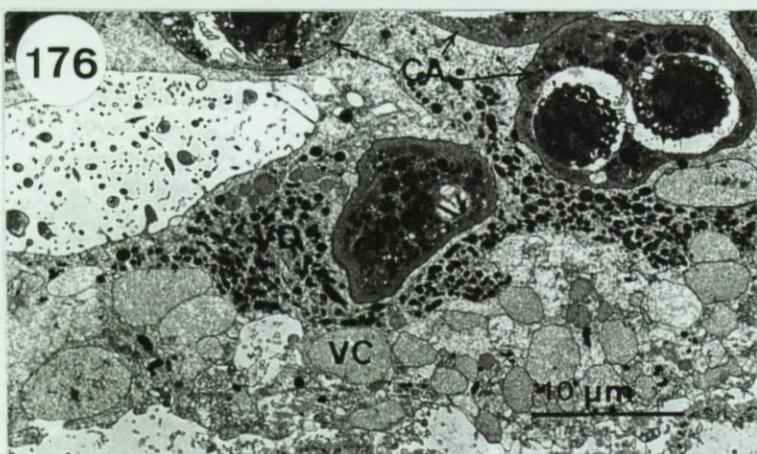
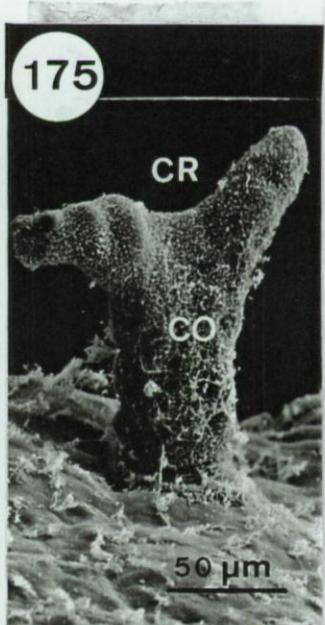
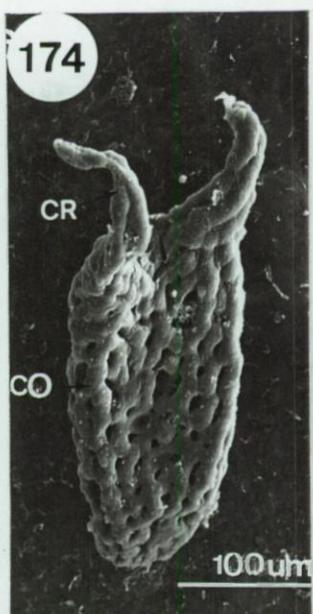
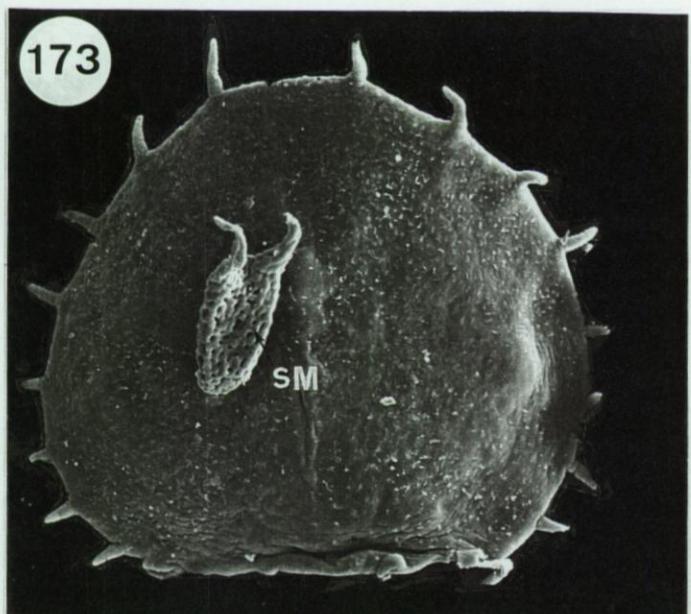
*Les mesures correspondent à celles effectuées sur les plus grands spermatophores.

Figs 173 à 181. *Myzostoma cirriferum*. Pénétration intradermique (phases de fixation et de dégradation) (MEB et MET).

Figs 173 à 177. Structure des spermatophores (phase de fixation). Vue dorsale d'un individu receveur (173); aspects des spermatophores au début (174) et en fin (175) de pénétration spermatique; vue générale du disque basal et d'une partie du pied d'un spermatophage (176) et détails des vésicules denses et des vacuoles claires du disque basal (177).

Figs 178 à 181. Pénétration du tégument du receveur. Infiltration de digitations émanant du disque basal du spermatophage dans la cuticule (178) et dans l'épiderme (180); vue de la cuticule dégradée (179) et aspect d'une cellule épidermique dégradée (181).

Abréviations. CA: cyste abortif; CO: corps; CR: corne; CP: cytoplasme périphérique; CU: cuticule; D: digitation; DB: disque basal; EP: épiderme; N: noyau; S: syncytium spermatique; SM: spermatophage; VC: vacuole au contenu fibrillaire; VD: vésicule dense.



d'épaisseur (Figs 172A, 176). Il est formé d'un matériel extracellulaire similaire à celui entourant les cystes du corps et du pied et qui comprend en outre des vésicules denses et des vacuoles claires organisées en deux assises: l'une supérieure incluant les vésicules denses ovoïdes ou en bâtonnets (1 µm de long), l'autre inférieure comprenant les vacuoles claires grossièrement ovoïdes (5 à 7 µm de diamètre) renfermant un matériel finement granuleux à fibrillaire (Figs 176, 177).

En fin de pénétration intradermique le spermatophore ne mesure plus que 50 à 100 µm de long (Fig. 175). Il est majoritairement formé d'une matrice extracellulaire qui recouvre quelques cystes à spermatozoïdes et quelques cystes abortifs. A la base du spermatophore, on observe toujours les vésicules denses; les vacuoles claires ne sont par contre plus présentes.

2. 3. La pénétration intradermique

Quatre phases peuvent être distinguées durant la pénétration intradermique: la fixation du spermatophore, la dégradation du tégument, la pénétration du contenu spermatophoral et l'envahissement du parenchyme par le contenu spermatophoral.

Chapitre 2.1
C'est par son disque basal que le spermatophore adhère à la cuticule du receveur. Durant cette phase, c'est par sa matrice extracellulaire à hauteur du disque que le spermatophore s'accroche à la cuticule du myzostome. Les vacuoles claires et les vésicules denses enrobées dans la matrice du disque spermatophoral sont ainsi disposées au dessus de la cuticule (Fig. 176).

Lors de la phase de dégradation, les membranes des vacuoles claires contenues dans le disque s'estompent et le matériel finement granulaire à fibrillaire qu'elles contenaient se confond avec celui de la matrice. Ce matériel forme comme des digitations de *ca* 1,5 µm de long qui traversent la cuticule du receveur pour envahir dans un premier temps la zone occupée par les extrémités renflées des microvillosités (Fig. 178). Les digitations pénètrent ensuite les couches cuticulaires plus internes ainsi que l'épiderme lui-même. La cuticule et les microvillosités semblent disparaître (elles se confondent avec la matrice extracellulaire du spermatophore; Fig. 179) et l'épiderme est fortement altéré: la membrane des cellules épidermiques contactées s'invagine en formant une dépression comme obstruée par une digitation; elle finit par se

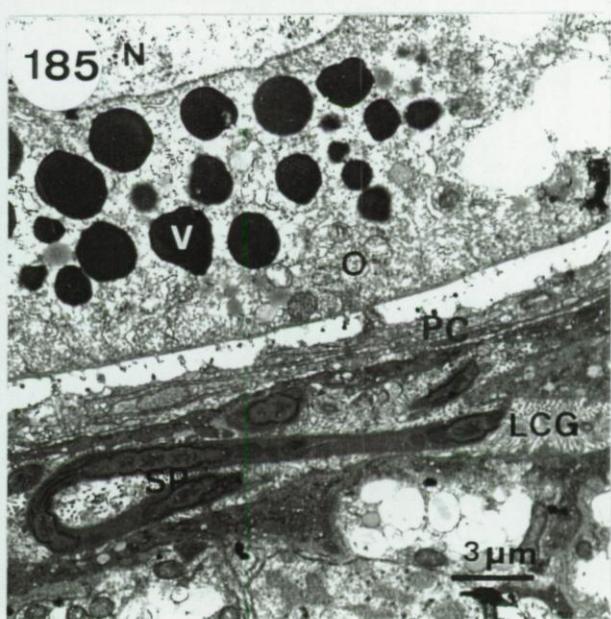
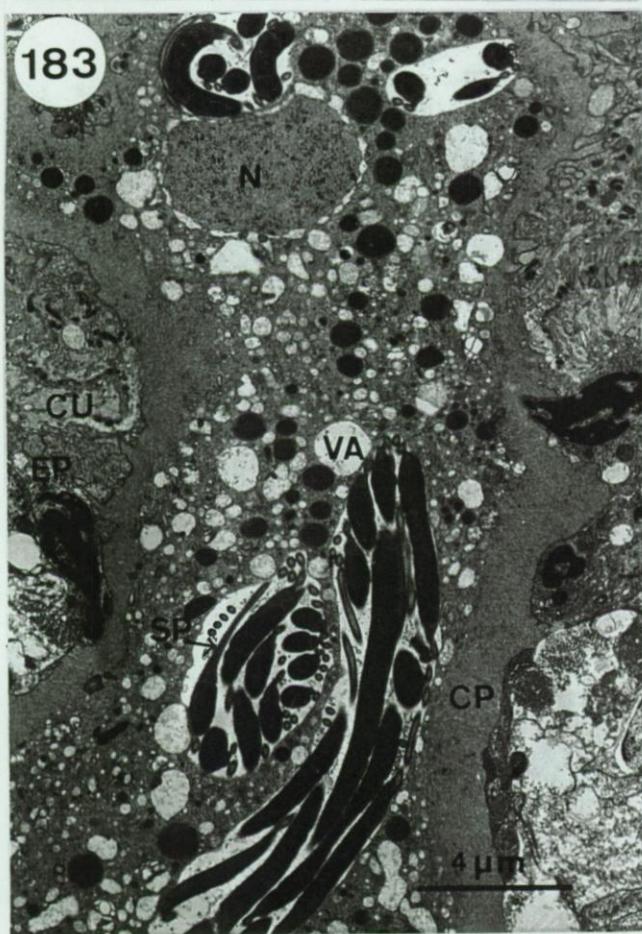
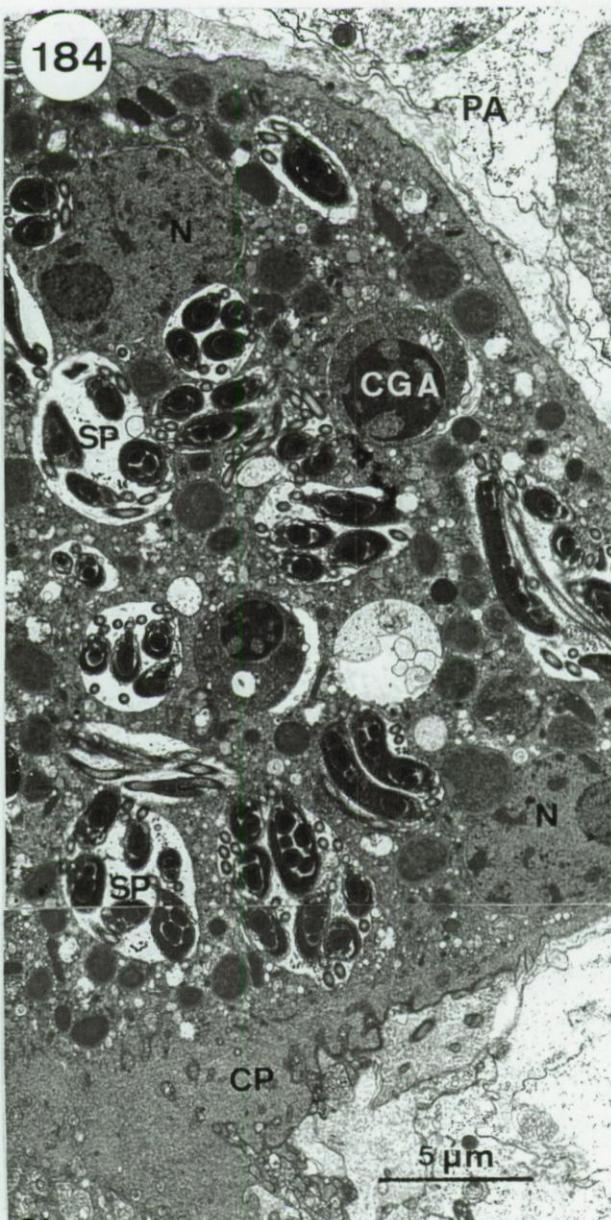
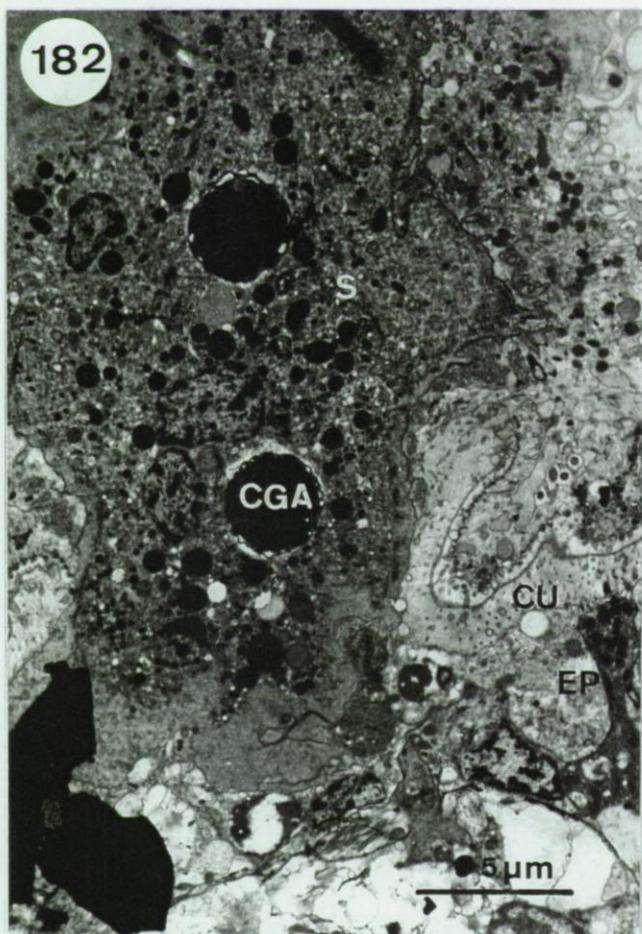
Figs 182 à 185. *Myzostoma cirriferum*. La pénétration intradermique (phases de pénétration et d'envahissement) (MET).

Figs 182, 183. Pénétration du syncytium. Passage des cystes abortifs (182) et des cystes à spermatozoïdes (183) après fusion des cellules-cystes.

Fig. 184. Le syncytium spermatique dans le parenchyme du receveur (phase d'envahissement).

Fig. 185. Spermatozoïdes observés dans un canal génital, à proximité d'un ovocyte vitellogénique intraparenchymateux.

Abréviations. CGA: Cellule germinale abortive; CP: cytoplasme périphérique; CU: cuticule; EP: épiderme; LCG: lumière d'un canal génital; N: noyau; O: ovocyte; PA: parenchyme; PC: processus cytoplasmique d'une cellule ciliée; SP: spermatozoïde; S: syncytium spermatique; V: gouttelette vitelline; VA: vacuole.



rompre à l'endroit le plus profond de cette dépression permettant ainsi la pénétration de la digitation dans la cellule (Fig. 180). Le noyau des cellules épidermiques envahies devient totalement hétérochromatique, leur cytoplasme se réduit et leurs organites disparaissent (Fig. 181). Certaines de ces cellules finissent par se réduire pour l'essentiel à un noyau pycnotique (Figs 181, 183).

Durant la phase de pénétration, les cystes du spermatophore pénètre dans le parenchyme du receveur (Figs 182, 183). Au début de cette phase, les membranes cellulaires de toutes les cellules-cystes fusionnent entre elles formant ainsi un vaste syncytium plurinucléé (Figs 182, 183). Le cytoplasme du syncytium est stratifié en une zone périphérique de 1 µm d'épaisseur dépourvu d'organite et une large zone centrale renfermant mitochondries, vésicules denses APS-positives et nombre de vacuoles à contenu granulaire (Fig. 183). La zone cytoplasmique centrale renferme aussi les noyaux des cellules-cystes et les cavités où se situent les spermatozoïdes et les cellules germinales abortives (Figs 182, 183). Les cellules parenchymateuses en contact avec le syncytium ne sont pas altérées.

Durant la phase d'envahissement, le syncytium s'étend dans tout le parenchyme et finit par approcher les canaux génitaux, sous l'ovaire du receveur. Au fur et à mesure qu'il s'étend, la zone cytoplasmique périphérique du syncytium s'affine (Fig. 184). Les cellules germinales abortives situées dans la zone cytoplasmique centrale se réduisent de plus en plus, se résument parfois à un simple noyau pycnotique. Des spermatozoïdes libres (*i. e.*, non englobés par le syncytium) ont été observés dans les canaux génitaux, à la base de l'ovaire et dans les canaux utéro-intestinaux (Figs 126, 185); ils n'ont jamais été observés dans l'utérus.

3. Discussion

Les observations effectuées sur l'anatomie générale des appareils génitaux mâle et femelle de *Myzostoma cirriferum* confirment celles réalisées par Jägersten (1934): *M. cirriferum* a quatre testicules ventro-latéraux, un ovaire dorsal et des tractus génitaux mâles et femelle s'ouvrant indépendamment à l'extérieur par trois orifices (deux orifices mâles ventro-latéraux et un orifice femelle postéro-ventral).

3. 1. L'appareil génital femelle

L'ovaire du *M. cirriferum* adulte est asaculaire: les cellules germinales femelles se multiplient et réalisent leur vitellogénèse au sein du parenchyme. Un tel type d'ovaire se retrouve chez certains turbellariés (Rieger *et al.* 1991); il n'a par contre jamais été observé chez des polychètes (Eckelbarger 1988). Deux parties peuvent se distinguer dans la région ovarienne d'un myzostome: l'une supérieure tout à fait dorsale et relativement étroite où se situent des ovogonies en cours de division; l'autre inférieure située entre la précédente et les canaux génitaux, qui est plus large et où se situent des ovocytes en cours de maturation. Deux types d'ovocytes s'observent dans la partie inférieure: des ovocytes jeunes dépourvus de matériel vitellin et des ovocytes âgés en phase de vitellogénèse. Il est très vraisemblable que chez *M. cirriferum* la vitellogénèse s'effectue par hétéronomie *sensu* Norrevang 1968. En effet, des connections entre les cytoplasmes des ovocytes et des cellules parenchymateuses avoisinantes suggère que des nutriments ou des précurseurs vitellogéniques sont transférés de ces derniers vers les ovocytes.

Plus les ovocytes sont proches de la maturité, plus ils se situent à proximité de la lumière des canaux génitaux pour finir par contacter la lame basale qui souligne leur épithélium. Toutes les cellules germinales examinées et qui se trouvaient dans la lumière du tractus femelle montraient des traces évidentes de fécondation: la membrane nucléaire est fragmentée, les granules corticaux sont vides, une enveloppe épaisse - la membrane de fécondation - entoure l'oeuf et le cytoplasme renferme un corps dense provenant vraisemblablement du spermatozoïde fécondant. Tout ceci suggère que les ovocytes en fin de vitellogénèse doivent finir par traverser l'épithélium des canaux génitaux et aboutir dans leur lumière et que c'est là qu'a lieu la fécondation (les canaux génitaux sont en effet les seuls endroits où on peut observer côté à côté ovocytes et spermatozoïdes). Le transfert des oeufs fécondés des canaux génitaux vers l'utérus doit s'effectuer sous l'action de la ciliature des premiers. Les oeufs s'accumulent dans l'utérus et sont finalement pondus, conséquence des contractions de la musculature péri-utérine.

Une paire de canalicles ciliés, malencontreusement nommés néphridies ("Nephridium") par Jägersten (1934) et qualifiés ici de conduits utéro-intestinaux, joignent la partie antérieure de l'utérus à la région médiane de l'intestin. Le rôle de ces conduits est incertain mais étant donné leurs relations de voisinage ce ne sont sûrement pas des organes excréteurs. Pour rappel, Pietsch & Westheide (1987) ont rapporté la présence de cinq paires de protonéphridies dans le

benoîtpd?

tronc de *M. cirriferum*. Des spermatozoïdes ont été observés dans la lumière de ces canalicules (Jägersten 1934; présent travail) et le seul rôle qu'on pourraient leur attribuer est l'évacuation des gamètes mâles surnuméraires présents dans les voies génitales femelles: ceux-ci seraient pris en charge d'abord par la ciliature des canaux génitaux, ensuite par celle des conduits utéro-intestinaux pour arriver enfin dans l'intestin où ils seraient finalement éliminés avec les fèces. Les oeufs, trop larges pour passer dans ces canalicules, ne peuvent que rester dans l'utérus.

3. 2. L'appareil génital mâle

Spermatogonies

on dispense!
cf. Tubs!

Les testicules du *M. cirriferum* adulte sont aussi asaculaires. Ils sont "diffus" et situés latéro-ventralement à la périphérie du tronc. Ils sont formés d'une multitude de cystes constitués chacun d'une cellule-cyste évidée en son centre et contenant des cellules germinales. De tels cystes sont communs chez de nombreux invertébrés et vertébrés (e. g., les plathelminthes, les insectes, les poissons, les amphibiens) mais sont par contre absents chez tous les annélides non-myzostoméens (Roosen-Rungen 1977). Deux types de cystes se rencontrent dans les testicules de *M. cirriferum*, les uns renfermant des spermatogonies ou des spermatocytes, les autres des cellules germinales abortives. Les cellules-cystes des premiers paraissent particulièrement actives, avec un noyau totalement euchromatique et nucléolé et un cytoplasme pourvu d'organites très développés et de vésicules fortement APS-positives. Ces dernières vésicules pourraient renfermer, en toute hypothèse, des réserves énergétiques (glucidiques) nécessaires aux gamètes pour leur développement et/ou lors de la pénétration des cystes et de leur contenu dans le derme du receveur. Que les cellules-cystes aient un rôle nutritif a été suggéré précédemment, notamment chez les insectes (Anderson 1950 in Roosen-Rungen 1977). Un autre rôle qui peut leur être attribué est la résorption des résidus cytoplasmiques qui se détachent des spermatides en fin de spermiogénèse. Ces résidus sont en effet présents dans les cystes à spermatides mais pas dans les cystes à spermatozoïdes. Ceci se voit conforter par le fait que les cellules-cystes des cystes à spermatozoïdes présentent dans leur cytoplasme de nombreuses vacuoles au contenu granulaire (correspondant probablement à des résidus cytoplasmiques qui se sont fragmentés et ont été ensuite phagocytés par les cellules-cystes), vacuoles qui ne se remarquent pas dans les cystes plus jeunes.

Les nombres minimum et maximum de cellules germinales au sein d'un cyste sont de un et de soixante-quatre, respectivement. On peut suggérer qu'à l'origine, chaque cellule germinale s'associe à une cellule somatique, la future cellule-cyste, qui finalement l'entoure complètement

et l'isole du parenchyme avoisinant. Chaque cellule germinale ainsi encystée (*i. e.*, spermatogonie) se divise d'abord par mitose quatre fois et donne naissance à seize cellules filles (*i. e.*, les spermatocytes primaires) qui se divisent à leur tour mais par méiose donnant naissance à soixante-quatre cellules (*i. e.*, les spermatides). Le nombre de mitoses qu'effectuent les spermatogonies au cours de la spermatocytogénèse varie d'une espèce à l'autre (Roosen-Rungen 1977). Ainsi, par exemple, les spermatogonies des annélides non-myzostoméens effectuent deux à sept mitoses avant d'entrer en méiose, ceux des plathelminthes en effectuant trois à quatre (Roosen-Rungen 1977).

Plus les gamètes sont nombreux dans un cyste, plus celui-ci est gros; en même temps qu'ils grossissent, les cystes migrent des testicules vers les canaux efférents. C'est dans ces derniers, qui correspondent en quelque sorte à la partie terminale des testicules (ils ne sont limités que par une lame basale épaissie), que s'effectue la spermiogénèse. Les spermatozoïdes qui en résultent présentent certaines caractéristiques uniques au sein du règne animal. D'abord, leur corps est filiforme et renferme une palissade de microtubules qui longe le noyau (Afzelius 1983, 1984; Mattéi & Marchand 1987, 1988; présent travail). Ensuite le noyau, très nettement allongé renferme des sphères denses Feulgen-positives (renfermant donc des acides nucléiques). Enfin, le flagelle est recourbé à sa base et longe le corps du spermatozoïde en étant attaché face à la palissade de microtubules. Ces trois caractéristiques sont probablement très intéressantes pour le spermatozoïde lors du processus de pénétration intradermique. En effet, les actions combinées du flagelle et de la palissade de microtubules permettent sensément aux spermatozoïdes d'avoir des mouvements plus vigoureux que ceux qu'ils auraient sous l'action du seul flagelle et d'être ainsi plus actifs au moment de la pénétration dans le tégument du receveur. En outre, comme le fait remarquer Afzelius (1983), avoir de l'hétérochromatine disposée en sphères rend vraisemblablement le noyau des spermatozoïdes, et à fortiori leur corps, plus flexible lors des mouvements. D'autres caractéristiques propres à ces spermatozoïdes sont la présence d'un axonème de type 9X2+0 et l'absence d'acrosome (Afzelius 1983; Mattéi & Marchand 1987; présent travail). Les spermatozoïdes de *M. cirriferum* diffèrent fortement de ceux de la majorité des invertébrés marins à fécondation externe. Il n'est cependant pas rare d'observer chez des espèces où la fécondation est interne, particulièrement celles pratiquant la pénétration intradermique, des spermatozoïdes étrangement structurés (Westheide 1984; Franzén & Rice 1988). Ainsi, par exemple, des spermatozoïdes extrêmement fins et allongés sont rapportés chez les polychètes interstitiaux (Westheide 1984, 1988), les gnathostomulidés (Sterrer 1974), les plathelminthes (Franzén 1987), les onychophores (Jamieson 1986) et les acanthocéphales (Mattéi & Marchand 1987). Les spermatozoïdes de ces derniers sont ceux qui présentent le plus de ressemblances avec ceux de *M. cirriferum*: ils sont

très allongés, renferment des rangées de sphères denses et ne présentent pas d'acrosome (Mattéi & Marchand 1987).

Seuls les cystes à spermatozoïdes et les cystes abortifs pénètrent dans les canaux déférents; ils sont ensuite progressivement acheminés vers la vésicule séminale, là où s'élaborera le spermatophore.

3. 3. Structure du spermatophore et pénétration intradermique

Les spermatophores sont des structures couramment élaborées dans le règne animal. Ils se rencontrent chez de nombreux invertébrés marins (*e. g.*, certains plathelminthes, phoronidiens, mollusques, polychètes, crustacés, chaetognathes, pogonophores), dulçaquicoles (*e. g.*, certains rotifères, achètes) et terrestres (*e. g.*, certains myriapodes, insectes, oligochètes) ainsi que chez certains vertébrés (*e. g.*, certains poissons, amphibiens) (Mann 1984). Le mode de transfert des spermatophores est varié: ils peuvent être directement amenés dans l'appareil génital femelle ou déposés sur le substrat ou le tégument d'un individu qui le récupère et l'insère lui-même dans son appareil génital ou encore déposés sur le tégument au travers duquel les spermatozoïdes pénètrent (Mann 1984). C'est selon cette dernière façon, appelée pénétration intradermique spermatique ou imprégnation hypodermique, que s'effectue la reproduction chez *M. cirriferum*.

Un myzostome ne pourra évidemment transférer un spermatophore que s'il atteint la maturité mâle. Pour autant qu'on puisse en juger, le transfert nécessite une certaine "reconnaissance" du receveur par le donneur, reconnaissance qui pourrait être le fait des cellules sensorielles portées par l'extrémité du pénis (pour rappel, il y a toujours, avant l'expulsion, contact entre le pénis du donneur et le tégument du receveur). Le donneur n'expulse qu'un seul spermatophore, expulsion qui s'effectue grâce aux contractions de la musculature pariétale de la vésicule séminale et du canal pénien du donneur. Lors de l'expulsion, la lumière du canal pénien, qui à l'origine est très étroite, doit fortement s'élargir ce qui se fait vraisemblablement grâce à l'aplatissement de ses cellules épithéliales (ces cellules nous étaient apparues extrêmement plissées).

Enflement & sécrétion ?
d'où vient tout ça ?

La structure des spermatophores fraîchement émis n'est connue que chez trois espèces de myzostomes: ils sont ovoïdes chez *M. ambiguum* et *M. alatum* et en forme de sac aplati chez *M. cirriferum* (Kato 1952; Eeckhaut & Jangoux 1992; présent travail). Chez ce dernier, le spermatophore est formé d'une matrice extracellulaire fine qui enrobe un type de vacuole (*i. e.*, les vacuoles claires), un type de vésicule (*i. e.*, les vésicules denses) et deux types de cystes (*i. e.*, des cystes à spermatozoïdes et des cystes abortifs). Cette matrice est probablement élaborée par les cellules spumeuses des vésicules séminales: ce sont les seules cellules qui se retrouvent tout le long de la paroi des vésicules séminales. Les cystes à spermatozoïdes sont situés dans les cornes et le corps du spermatophore alors que les cystes abortifs se situent dans son pied (les cystes abortifs avaient été nommés podocystes par Jägersten, 1934). Cette stratification intraspermatorale des cystes est également celle qui s'observe dans les vésicules séminales où les cystes abortifs sont au plus près des canaux pénins, les autres cystes occupant le restant du volume vésiculaire. Dès lors que les cystes abortifs se remarquent aussi dans les testicules et dans la lumière des canaux déférents mais qu'ils y sont mélangés aux cystes à spermatozoïdes, c'est donc dans les vésicules séminales que se réalise, d'une manière encore non élucidée, cette stratification. La présence de cellules germinales abortives dans les appareils génitaux mâles est courante dans le règne animal et elles sont devenues des composants actifs de la reproduction chez certaines espèces (Roosen-Rungen 1977). Ainsi, certaines spermatides du rotifère *Asplanchna brightwelli* qui pratique l'imprégnation hypodermique dégénèrent au cours de leur développement en même temps que leur cytoplasme se remplit de microtubules (Koehler & Birky 1966). Ces spermatides dégénérées se situent à la base des spermatophores; ils contactent en premier le tégument d'un individu receveur et seraient responsables de la création d'une ouverture permettant le passage des spermatozoïdes situés en amont (Koehler & Birky 1966). Jusqu'à présent, aucun rôle particulier n'a été attribué aux cystes dégénérés de *M. cirriferum*: s'ils occupent bien une place précise dans le sac spermatoral, ce ne sont pas eux mais bien le disque basal du spermatophore qui contacte en premier le tégument du myzostome receveur.

Les vacuoles claires du disque basal sont vraisemblablement élaborées par les cellules glandulaires vacuolaires des vésicules séminales: ces cellules, toujours remplies de vacuoles, oblitèrent tout l'espace basal des vésicules séminales. Les membranes limitant les vacuoles étant bien visibles dans un spermatophore fraîchement émis, celles-ci sont vraisemblablement sécrétées par apocrinie. On doit donc penser que, lors de l'émission du spermatophore, les parties apicales des cellules glandulaires vacuolaires se rompent, leurs vacuoles accompagnant ainsi les cystes. C'est peut être leur contenu qui est responsable de la lyse de la cuticule et de l'épiderme du receveur, lyse qui précède la pénétration du contenu du spermatophore. C'est une hypothèse par défaut dès lors que des trois structures présentes à la base d'un spermatophore

fraîchement fixé (*i. e.*, les vacuoles, les vésicules et les cystes abortifs), seules les vacuoles disparaissent lors de la dégradation.

Chez les autres invertébrés pratiquant l'imprégnation hypodermique, la pénétration des spermatozoïdes dans le tégument de receveurs résulte de l'action mécanique d'un pénis ou d'autres organes mâles (c'est le cas chez certains trématodes monogènes, rotifères, polychètes, hémiptères), soit de l'action de cellules phagocytaires propres au receveur (c'est le cas des onychophores) ou de sécrétions en provenance des organes génitaux du donneur (c'est le cas chez certains gnathostomulides, polychètes et achètes) (Sterrer 1974; Mann 1984). Ainsi, des vacuoles semblables à celles observées à la base du spermatophage de *M. cirriferum* ont été décrites à la base de celui d'un achète, *Glossiphonia complanata*, où elles sont supposées être responsables de la lyse du tégument du receveur (ces vacuoles renfermeraient des hyaluronidases et des protéases; Damas 1968). Chez plusieurs espèces de polychètes des genres *Trilobodrilus* et *Dinophilus*, les spermatozoïdes pénètrent le corps de la femelle au travers un orifice généré par des enzymes lytiques sécrétées par des cellules du tractus génital du donneur (Jägersten 1944; Westheide 1984).

Des vésicules semblables aux vésicules denses observées dans le disque basal du spermatophage de *M. cirriferum* s'observent aussi dans la lumière des vésicules séminales où elles sont enrobées dans un matériel extracellulaire et situées à proximité des canaux péniens. Ni les cellules épithéliales des vésicules séminales, ni celles des canaux péniens ne semble être à l'origine de ces vésicules denses ni du matériel les enrobant. En revanche, des formations de ce type ont été observées à l'apex des cellules glandulaires des canaux déférents. Tout semble suggérer que, après l'expulsion d'un spermatophage, la partie apicale de ces cellules seraient sécrétées par apocrinie dans la lumière des canaux déférents et ensuite entraînées, en même temps que les cystes, dans la lumière de la vésicule séminale. Ces vésicules denses n'ont jamais été observées au contact direct de la cuticule ou de l'épiderme du receveur lors de la pénétration intradermique, ce qui fait penser qu'elles ne participent pas à la lyse tégumentaire. D'ailleurs elles se retrouvent dans le reliquat de matrice qui recouvre l'orifice créé pour la pénétration après le passage des cystes dans le tégument du receveur. Peut être que ce restant de matrice et les vésicules denses empêchent d'éventuelles infections durant la cicatrisation de la plaie consécutive à la pénétration spermatique.

Chez *M. cirriferum*, la pénétration intradermique spermatique est probablement réalisée par les actions combinées de la matrice spermatophorale, du matériel lytique des vacuoles claires de la base du spermatophage et des spermatozoïdes. La fixation se ferait grâce à la matrice spermatophorale: c'est elle qui contacte en premier la cuticule du receveur. La dégradation du tégument serait due à l'action du matériel des vacuoles situées dans le disque basal du spermatophage: suite à la rupture de la membrane de ces vacuoles, le matériel qu'elles contenaient dégraderait la cuticule et l'épiderme créant de cette façon un passage pour les cystes situés en amont dans le sac spermatophoral. La pénétration et l'extension intraparenchymateuses seraient réalisée grâce aux mouvements vigoureux des spermatozoïdes: après fusion des cellules-cystes, les spermatozoïdes en mouvement pousseraient d'abord les cellules abortives dans le parenchyme du receveur pour y pénétrer ensuite. Au fur et à mesure que le syncytium spermatique s'étend, la frange de cytoplasme syncytial qui entoure les cavités à spermatozoïdes s'affine de plus en plus et on peut penser qu'une fois arrivé à hauteur des canaux génitaux, le syncytium rompt et libère les spermatozoïdes qui pénètrent ces canaux et peuvent alors féconder les ovocytes matures.

H. DISCUSSION GENERALE

H. DISCUSSION GÉNÉRALE

1. Les myzostomes: actuels pour cause de symbiose

Si, comme on peut raisonnablement le supposer (voir p. 92 et suivantes), les myzostomes sont un phylum à part entière, alors ils forment très certainement le seul phylum animal dont tous les représentants sont obligatoirement des symbiotes infestants. Etant donné leur haut degré de spécificité, les myzostomes constituent véritablement un phylum-symbiote dont la longévité est directement liée à celle des échinodermes, leur phylum-hôte. Certes les échinodermes furent un "bon choix", mais au-delà de cela c'est le fait d'être entré en symbiose à un moment de leur histoire qui a permis aux myzostomes d'assurer leur pérennité. La présence de myzostomes dans la faune actuelle est donc la conséquence directe d'un processus de symbiogénèse.

Faute de document adéquat, il n'est pas possible de retracer les étapes de cette symbiogénèse. Toutefois, le fait que la majorité des hôtes sont des crinoïdes (lys de mer ou comatules; Tableau 20) traduit vraisemblablement la grande ancienneté de l'association entre échinodermes et myzostomes. Aussi, le fait que parmi les autres échinodermes seuls des astérozoaires sont infestés (astéries et ophiures; Tableau 20), les échinozoaires (échinides et holothuries) ne l'étant jamais, conforte l'idée d'une plus grande proximité phylétique entre crinoïdes et astérozoaires qu'entre crinoïdes et échinozoaires (Mooi *et al.* 1994).

Peu de myzostomes sont parasites et la plupart des espèces ont un mode de vie commensal. En cela le couple *Myzostoma cirriferum-Antedon bifida* est bien représentatif de la majorité des symbioses myzostoméennes et permettra peut-être de répondre à la question de savoir ce qui explique le succès de ces associations.

Tableau 20. Les familles d'échinodermes sujettes aux infestations myzostoméennes et les genres de myzostomes infestants.

		Les familles infestés	Les genres infestants (nombre d'espèces)
C O M A T U R L I N O I D E A	LYS DE MER	ANTEDONIDAE	<i>Myzostoma</i> (27 sp) <i>Cystimyzostomum</i> (3 sp)
		CALOMETRIDAE	<i>Myzostoma</i> (2 sp) <i>Cystimyzostomum</i> (1 sp)
		CHARISOMETRIDAE	<i>Myzostoma</i> (3 sp) <i>Cystimyzostomum</i> (2 sp)
		COLOBOMETRIDAE	<i>Myzostoma</i> (11 sp) <i>Cystimyzostomum</i> (1 sp)
		COMASTERIDAE	<i>Myzostoma</i> (47 sp) <i>Cystimyzostomum</i> (2 sp) <i>Mesomyzostoma</i> (1 sp)
		HIMEROMETRIDAE	<i>Myzostoma</i> (11 sp) <i>Mesomyzostoma</i> (1 sp)
		MARIAMETRIDAE	<i>Myzostoma</i> (9 sp)
		TROPIOMETRIDAE	<i>Myzostoma</i> (4 sp)
		ZYGOMETRIDAE	<i>Myzostoma</i> (5 sp)
		BATHYCRINIDAE	<i>Myzostoma</i> (2 sp)
A S T E R O I D E A	AST ER O I D E A	HYOCRINIDAE	<i>Stelechopus</i> (1 sp)
		ISOCRINIDAE	<i>Myzostoma</i> (9 sp) <i>Cystimyzostomum</i> (7 sp)
		ASTERIIDAE	<i>Asteriomyzostomum</i> (2 sp) <i>Asteromyzostomum</i> (1 sp)
		ASTROPECTENIDAE	<i>Asteromyzostomum</i> (1 sp)
O P H I U R O I D E A	EUR Y A L E	GONIASTERIDAE	<i>Asteriomyzostomum</i> (1 sp)
		SOLASTERIDAE	<i>Asteromyzostomum</i> (1 sp)
		ASTERSCHEMATIDAE	<i>Myzostoma</i> (1 sp)
		EURLYALIDAE	<i>Myzostoma</i> (1 sp)
		GORNOCEPHALIDAE	<i>Protomyzostomum</i> (3 sp)

Les myzostomes passent par une phase larvaire libre. Les larves ne s'alimentent pas (elles sont lécitotrophes comme celles de bon nombre de symbiotes) et leur vie libre, bien que relativement brève (environ cinq jours), est d'une durée cependant suffisante pour qu'il y ait une dispersion assez importante et par là une diminution des chances de rencontre avec un hôte. Le mode d'infestation est par contre des plus appropriés: les larves sont filtrées dans la colonne d'eau (les hôtes sont suspensivores) et rabattues dans les sillons ambulacraires des crinoïdes; les myzostomes s'y fixent d'abord par les soies larvaires et ensuite, dès que la métamorphose a lieu, par les soies parapodiales (la métamorphose semble rapide, elle implique pour se réaliser qu'il y ait contact intime entre la larve et son hôte).

Un tel mode d'infestation par filtration de larves compétentes ne sera efficace que si les hôtes potentiels sont à la fois suffisamment nombreux et relativement peu distants les uns des autres, ce qui est fréquemment le cas dans les populations de comatules et de lys de mer (Messing 1994a, 1994b). Les larves ne devenant compétentes (et donc infestantes) qu'après cinq jours, il faut bien sûr qu'elles ne soient pas capturées avant auquel cas elles seraient simplement avalées par les comatules (ce risque paraît cependant limité dès lors que les hôtes rejettent fréquemment dans la colonne d'eau les larves précompétentes qu'ils ont capturées). Le fait que la larve puisse rester compétente pendant plusieurs jours accroît les chances de rencontre d'un hôte dès lors que cette larve resterait dans le périmètre occupé par la population d'hôtes. Dans le cas particulier de la population de *M. cirriferum* étudiée, la population d'hôtes est particulièrement dense (jusqu'à 1000 individus/m²) et suffisamment étendue (plusieurs dizaine de m²) pour que les chances d'infestation par les larves compétentes présentes soient maximales.

Ce qui vient d'être dit pose la question intéressante de la signification du degré de spécificité des symbioses myzostoméennes. Ainsi, *Myzostoma cirriferum* peut vivre en symbiose avec au moins trois espèces de comatule du genre *Antedon*: *A. petasus* dans le nord de l'Europe, *A. bifida* sur la côte atlantique et *A. mediterranea* en Méditerranée (Graff 1877). Les récoltes effectuées en 1991 au large de Banyuls-sur-Mer, là où *A. mediterranea* coexiste intimement avec la comatule *Leptometra phalangium*, montrent que chacune de ces espèces a sa propre faune myzostoméenne. En effet, *Myzostoma alatum* et *Pulvinomyzostomum pulvinar* n'ont été récoltées que sur *L. phalangium* tandis que tous les *M. cirriferum* échantillonnés provenaient des *A. mediterranea*. Le fait que certains myzostomes ont une relation hautement spécifique avec leur hôte a également été rapporté depuis par Fabricius et Dale (1993) dans la région de la Grande Barrière de Corail et confirmé par moi-même lors d'une récente mission (été 1994) dans la baie de Hansa en Papouasie Nouvelle-Guinée. Grygier (1990) par ailleurs a

signalé que certains myzostomes sont très peu spécifiques, au point de pouvoir infester des comatules appartenant à des familles différentes. Ces divers éléments font penser qu'il serait intéressant d'analyser ce phénomène du point de vue de l'habitat des hôtes: les myzostomes à haut degré de spécificité n'auraient-ils pas plus volontiers des hôtes à comportement gréginaire très marqué?

La rencontre entre les symbiotes est donc surtout due à l'action du symbiose-hôte, la structure de sa population et sa méthode de collecte de la nourriture l'y prédisposant. Mais pour qu'il y ait rencontre, il faut bien sûr que les deux partenaires soient présents et là est l'originalité du myzostome adulte qui est capable de pondre de façon quasi ininterrompue quelle que soit la période de l'année assurant ainsi un approvisionnement récurrent en larves. Outre qu'ils pondent toute l'année, les myzostomes ont de très petits œufs (parmi les plus petits si on les compare à ceux des autres Spiralia) et en nombre tel qu'ils produiront plusieurs milliers de larves infestantes au cours de leur existence (pour rappel, on dénombre plus de 4800 cellules germinales femelles dans un myzostome adulte).

Une autre particularité des myzostomes est à mettre en exergue ici: leur mode de reproduction. En effet, tous les myzostomes adultes sont des hermaphrodites simultanés et tous se reproduisent d'une façon permanente (pas de cycle reproducteur). Leur fécondation est interne et s'effectue après pénétration intradermique des spermatozoïdes contenus dans un sac spermatophoral adhérant au tégument de l'individu à féconder. Ces particularités font que, dès lors qu'un spermatophore adhère à un individu, les œufs de ce dernier ont 100% de chance d'être fécondés.

On vient de le voir, le transfert spermatophoral est essentiel lorsqu'on est myzostome: c'est de son efficacité que va dépendre l'efficacité de la reproduction. Le fait que le transfert nécessite en préalable un contact physique entre myzostomes donneur et receveur accroît sensiblement ses chances de réussite (le receveur est présent et tout proche). Les contacts seront d'autant plus fréquents qu'il y a plus de myzostomes sur l'hôte: il est donc impératif, lorsque les hôtes ne sont pas côte-à-côte, que les myzostomes ne les quittent pas pour prospecter le substrat environnant alors qu'ils en ont la possibilité formelle (ce sont en effet des ectocommensaux vagiles, état qui est celui de bon nombre de symbiotes facultatifs). Certes la forme de leur corps (convexe dorsalement et concave ventralement) les prédispose à se déplacer sur des substrats peu ou prou cylindriques, mais c'est surtout aux organes latéraux - sorte de

chémorécepteurs de contact - que revient le rôle d'identifier le substrat comatuléen et de faire en sorte que les individus ne s'en écartent pas.

2. Les myzostomes: rapports, différences, affinités

Symbiotiques de longue date et symbiotes obligatoires, les myzostomes se sont particulièrement bien adaptés à leurs hôtes. Cela s'est traduit notamment par l'acquisition d'une morphologie à ce point particulière que, depuis leur découverte, leur position systématique a été et est encore un sujet de controverses. On peut d'emblée écarter certaines hypothèses anciennes: les myzostomes ne sont ni des crustacés comme l'avait proposé Semper (1858) (*e. g.*, leurs larves ne sont pas naupliennes, leurs appendices locomoteurs ne sont pas articulés) ni des achètes comme l'avait suggéré Diesing (1859) (*e. g.*, ils n'ont pas de clitellum). De même il est peu vraisemblable qu'ils soient voisins des linguatules ou des tardigrades comme l'avaient envisagé Graff (1877) et Nansen (1885) (proches des arthropodes, ces deux taxons ont une croissance par mues successives). Très récemment, Mattéi et Marchand (1987, 1988) ont rassemblé les myzostomes et les acantocéphales en un unique phylum qualifié de Procoelomata en se basant exclusivement sur la ressemblance que présentent leurs spermatozoïdes. Toutefois, si on exclut cette ressemblance, les acantocéphales s'avèrent être remarquablement différents des myzostomes, *e. g.* ils possèdent un proboscis porteur de structures épineuses, leur épiderme est syncytial, ils n'ont pas de tube digestif et s'alimentent par osmotrophie. La ressemblance sur laquelle se basent Mattéi et Marchand est très vraisemblablement de type analogique: on sait en effet que la structure des spermatozoïdes dépend très fortement du mode de fécondation pratiqué (Westheide 1984).

Actuellement, on considère généralement les myzostomes comme un taxon proche des annélides polychètes. Tout comme eux, leur développement passe par un stade trochophore et les individus postmétamorphiques possèdent des soies et des cirres. De même, on note le long de l'axe antéro-postérieur des myzostomes, de part et d'autre de leur plan sagittal, une répétition de certaines structures externes (cirres, parapodes et organes latéraux) et internes (protoéphridies) que d'aucuns disent réminiscente d'une métamérisation. En revanche, un coelome tel qu'il en existe chez les polychètes ne s'observe pas chez les myzostomes et les seuls espaces internes - hormis la cavité digestive - qu'ils présentent sont les lumières de l'utérus, des vésicules séminales et des conduits qui y aboutissent. S'intéressant à l'installation des tractus génitaux des myzostomes, Wheeler (1894) et Maidl (1910) rapportent

Tableau 21. Comparaison de certains caractères majeurs des myzostomes, des turbellariés et des polychètes. + : caractère présent chez la majorité des représentants du taxon; - : caractère absent chez la majorité des représentants du taxon.

TAXONS	Myzostomes (1)	Turbellariés (2)	Polychètes (3)
DEVELOPPEMENT	Segmentation spirale	+	+
	Larve trochophore	-	+
STRUCTURE EXTERNE	Corps aplati dorso-ventralement	+	-
	Pseudométamérie	-	-
	Cirres	-	+
	Soies	-	+
TEGUMENT	Organes sensoriels dits latéraux	-	-
	Cuticule	-	+
	Myoépiderme	○	-
APPAREIL DIGESTIF	Parenchyme	+	-
	Tube digestif complet (anus présent)	-	+
APPAREIL EXCRÉTEUR	Caecums digestifs	○	-
	Protonéphridies	+	-
APPAREILS GENITAUX	Hermaphrodisme	+	○
	Fécondation interne	+	○
	Cystes germinaux	○	-
APPAREIL CIRCULATOIRE	Absent	Absent	Présent
CAVITE COELOMIQUE GENERALE	Absente	Absente	Présente

(1) Prenant 1959; Pietsch & Westheide 1987; présent travail.

(2) de Beauchamp 1961; Rieger *et al.* 1991.

(3) Fauvel 1959; Dorresteijn & Fischer 1988; Heimler 1988; Storch 1988; Michel 1988; Smith & Ruppert 1988

Chère Mme le Professeur

Enfin. - Discussion
typhonique.

Tableau p. 93. :

Personnellement je n'aurai
renouvelé des M. de T. !

Pour la structure des T.
vois me refire que à
richer !

- Vitellogenèse !(p. 82 !)
- Prokaryoplasmidie ?? flaque
- Compartiment genital ~~aux~~
(pres d'epithélium?)
- Structure des soies ??

qu'apparaissent dans le tronc des jeunes individus postmétamorphiques plusieurs petites cavités épithélialisées qui fusionnent pour former les tractus tels qu'on les observe chez les adultes. Malgré ces observations, nombre d'auteurs estiment que les appareils génitaux des myzostomes actuels dérivent du coelome d'un organisme ancestral dont l'anatomie devait être semblable à celle des polychètes errants actuels, coelome qui se serait progressivement réduit (Beard 1894; Wheeler 1896; Maidl 1910; Stummer-Traunfels 1927; Jägersten 1940a). Ils estiment également que la répétition de certaines structures est l'indice d'une métamérisation qui, elle aussi, se serait estompée au cours du temps. Pour Clark (1978) cependant, c'est à la fois par habitude et par méconnaissance de leur morphologie et de leur physiologie que les myzostomes sont considérés comme proches des polychètes. La formation des tractus génitaux observée par Wheeler (1896) et Maidl (1910) n'est pas fondamentalement différente de celle du tractus génital d'organismes acoelomates tels les turbellariés (il y a aussi chez ces derniers apparition d'espaces épithélialisés au sein du parenchyme; Rieger *et al.* 1991). Quant à la soi-disant métamérisation myzostoméenne, elle n'est nullement conforme à celle des polychètes. En effet, sur les cinq paires de parapodes que montrent les adultes de *M. cirriferum*, ce sont ceux de la paire médiane qui apparaissent d'abord, puis pratiquement simultanément ceux des quatre paires restantes (Jägersten 1940a; présent travail); en outre, cela ne s'accompagne pas de la formation de métamères comme chez les polychètes. La répétition de structures telle qu'elle s'observe chez les myzostomes est une pseudométamérisation et le taxon des Myzostomida paraît donc plus volontiers se situer à la frontière entre acoelomates et coelomates qu'au sein des coelomates.

Si on suppose que les coelomates protostomiens dérivent des acoelomates (ce qui reste à démontrer; voir Willmer 1994), la question qui se pose est de savoir où se situent les myzostomes parmi les Spiralia. Traditionnellement, on appartenait les myzostomes aux annélides polychètes mais, comme on l'a vu, on pourrait tout aussi logiquement les appartenir aux plathelminthes turbellariés. Le Tableau 21 compare les caractères majeurs des trois groupes précités dans le but d'en discuter les rapports et différences.

Donn

Parmi les caractères repris (Tableau 21), les myzostomes en partagent dix avec les turbellariés et six avec les polychètes. Parmi ces derniers, la présence d'un anus et l'existence d'une cuticule ne permettent nullement d'associer les myzostomes aux polychètes. On observe en effet anus et cuticule chez de nombreux autres taxons; il est même des turbellariés qui ont des pores anaux et d'autres dont l'épiderme est recouvert par un glycocalyx similaire à une cuticule (Rieger *et al.* 1991). Les soies et le passage par une larve trochophore rapprochent bel

et bien les myzostomes des polychètes. Toutefois, on retrouve aussi des soies chez les clitellates, les pogonophores et les échiures, et une larve trochophore apparaît aussi bien chez les échiures, les sipuncles et les mollusques. Soies et larve trochophore sont des caractères plésiomorphes; ils indiquent au plus que les myzostomes doivent partager un ancêtre commun avec les différents taxons cités. De tous les organes sensoriels que possèdent les polychètes, ce sont les organes nuchaux qui ressemblent le plus aux organes latéraux des myzostomes. Cependant les premiers sont au nombre d'une à deux paires, situés antéro-dorsalement et innervés par le cerveau tandis que les seconds sont au nombre de cinq à dix paires, situés latéro-ventralement et innervés par la chaîne nerveuse ventrale. La ressemblance entre ces deux organes est vraisemblablement due au fait qu'ils remplissent des fonctions similaires (*i. e.*, ce sont des chémorécepteurs); il sont vraisemblablement analogues et non homologues.

La seule caractéristique qu'ont en commun myzostomes et polychètes sans qu'elle soit partagée avec un autre groupe de Spiralia est la présence de cirres. Les cirres sont des appendices tégumentaires tentaculiformes. Chez les polychètes, ils sont généralement au nombre de deux paires par métamères (l'une ventrale et l'autre dorsale) mais une de ces deux paires voire les deux peuvent manquer chez certaines espèces. Chez les myzostomes, les cirres sont à la marge du corps. Leur nombre est généralement de vingt (dix paires) mais certaines espèces en ont jusqu'à septante, d'autres n'en ont pas du tout. Une dizaine d'espèces de myzostomes possèdent, outre ces cirres, de petits appendices tégumentaires en bouton ou en pointe de quelque 10 µm de haut et situés à la base des parapodes. Ces appendices ont été considérés comme l'homologue des cirres ventraux des polychètes (Jägersten 1940a). Cependant si les cirres sont homologues dans les deux groupes (ce qui reste à démontrer), cela ne signifie pas pour autant que les myzostomes sont coelomates, une condition nécessaire pour qu'on puisse les affilier aux polychètes (les cirres en effet auraient pu apparaître chez un ancêtre acoelomate commun aux deux groupes).

Les myzostomes et les polychètes ont de nombreux points de divergence qui, par ailleurs, rapprochent les myzostomes des turbellariés. Les polychètes sont toujours cylindriques; qu'ils soient petits (les espèces interstitielles mesurent de l'ordre du millimètre), ou symbiotiques, ils ne sont jamais aplatis dorso-ventralement et encore moins discoïdes. Les polychètes n'ont pas d'introvert mais possèdent un proboscis dont la dévagination est la conséquence d'une surpression intracoelomique chassant vers l'avant le liquide coelomique. A l'exception du genre *Aphrodite*, tous ont un tube digestif orthosome et dépourvu de caecums. Ils présentent généralement des métanéphridies (cependant les larves et les espèces de très petite

taille ont fréquemment des protonéphridies). Ils sont majoritairement gonochoriques, ont des gonades dans chaque métamère, pratiquent la fécondation externe et leur spermatogénèse ne s'effectue jamais à l'intérieur de cellules-cystes.

D'aucuns admettent que dans certaines familles de polychètes, anciennement regroupées sous l'appellation d'archiannelides, les espèces ont diminué de taille au cours de leur évolution, conséquence de leur adaptation à un mode de vie interstitiel. Cette évolution se serait également traduite par une réduction de leur coelome au profit du développement d'un tissu parenchymateux (Westheide 1985). Cependant et contrairement aux myzostomes, ces organismes interstitiels présentent tous des signes clairs de leur appartenance au groupe des polychètes: ils sont tous cylindriques et soit sont métamérisés, soit disposent d'un coelome restreint soit encore ont conservé un système circulatoire (de Beauchamp 1959).

? depuis hier

Nous l'avons vu, les myzostomes ne sont pas métamérisés et ne développent pas de coelome. Accepter de les considérer comme des coelomates régressés c'est également accepter que le grand nombre de caractères qu'ils ont en commun avec les turbellariés ne sont que la traduction de simples convergences. Si on a accordé le statut de coelomes à leurs conduits génitaux, c'est parce qu'on a tacitement accepté l'arbitraire des auteurs anciens: puisque les myzostomes ont des cirres, des soies, une répétition de structures à l'image d'une métamérie et que leur développement passe par un stade trochophore, ce sont des polychètes; puisque les myzostomes sont des polychètes, ce sont nécessairement des coelomates. Or, nous l'avons vu, tous ces caractères auraient aussi bien pu apparaître chez un ancêtre acoelomate. Il est donc beaucoup plus raisonnable de considérer que les myzostomes ne sont ni des polychètes, ni des annélides, ni des coelomates. Sont-ils pour autant des plathelminthes? Non car la présence des soies, des cirres et d'une larve trochophore les exclut de ce phylum. Les myzostomes possèdent leurs propres caractéristiques dont la plus originale est certainement la présence d'un myoépiderme. (Des cellules myoépithéliales ont été observées dans l'épiderme de *M. cirriferum*; elles ont été depuis observées aussi dans celui de quatre autres espèces; Eeckhaut, obs. pers.) Les myzostomes s'avèrent à l'analyse être des organismes à ce point originaux qu'il faut les considérer comme formant un phylum à part entière, phylum dont la diagnose serait la suivante:

Métazoaires, triploblastiques, Spiralia, acoelomates. Symbiotes obligatoires d'échinodermes (la plupart ectocommensaux de crinoïdes). Corps formé d'un tronc postérieur généralement discoïde, aplati dorso-ventralement et d'un introvert antérieur extensible. Présence de

parapodes ventro-latéraux (généralement cinq paires), d'organes latéraux (généralement cinq paires), de cirres (généralement dix paires), de pénis (généralement une paire). Tégument composé d'une cuticule, d'un myoépiderme et d'un parenchyme. Tube digestif complet, orthosome et muni de caecums. Système excréteur formé de paires de protonéphridies. Une chaîne nerveuse ventrale unie par un collier périoesophagien à des ganglions cérébroïdes. Hermaphrodites le plus souvent simultanés. Appareil génital femelle dorsal composé d'un ovaire asaculaire et d'un tractus génital s'ouvrant à l'extérieur par un gonopore postéro-ventral. Appareil génital mâle ventral composé d'une ou deux paires de testicules asaculaires et d'une paire de tractus génitaux s'ouvrant à l'extérieur par deux gonopores ventro-latéraux. Développement passant par un stade trochophore.

I. BIBLIOGRAPHIE

I. BIBLIOGRAPHIE

- Afzelius, B. A. 1983. The spermatozoon of *Myzostomum cirriferum* (Annelida, Myzostomida). *Journal of Ultrastructure Research*, 83: 58-68.
- Afzelius, B. A. 1984. Spermiogenesis in *Myzostomum cirriferum* (Annelida; Myzostomida). *Videnskabelige meddelelser Dansk Naturhistorish Forening*, 145: 11-21.
- Altner, H. & Prillinger, L. 1980. Ultrastructure of invertebrate chemo-, thermo-, and hygrocceptors and its functional significance. *International Review of Cytology*, 67: 69-139.
- Arendt, Y. A. 1985. Biotic relations of crinoids. *Paleontologische Zeitschrift*, 1982 (2): 69-76 (en russe avec résumé anglais).
- Atkins, D. 1927. Report on the Myzostomida collected by Mr. F. A. Potts in Torres Strait, together with a description of a species obtained by Professor J. Stanley Gardiner from the Maldives. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 23: 339-357.
- Bary de, H. A. 1879. *Die Erscheinung der Symbiose*. K. J. Trübner, Strassburg. 121 pp.
- Beard, J. 1884. On the life history and development of the genus *Myzostoma* (F.S. Leuckart). *Mitteilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel*, 5: 544-580.
- Beard, J. 1894. The nature of the hermaphroditism of *Myzostoma*. *Zoologischer Anzeiger*, 17: 399-404.
- Beard, J. 1898. The sexual condition of *Myzostoma glabrum* (F.S. Leuckart). *Mitteilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel*, 13: 293-324.
- Beauchamp de, P. 1959. Archiannélides. In: P. P. Grassé (ed.), *Traité de Zoologie*, 5, Masson et Cie, Paris, pp 197-223.
- Beauchamp de, P. 1961. Classe des Turbellariés. In: P. P. Grassé (ed.), *Traité de Zoologie*, 4. Masson et Cie, Paris, pp 35-212.
- Boulenger, C. 1911. The "suckers" of the Myzostomidae. *Zoologischer Anzeiger*, 37: 346.
- Boulenger, C. 1913. Report on the Myzostomida collected by Mr. Cyril Crossland in the Red Sea in 1905. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1: 85-108.
- Brahmachary, R. L. 1989. Mollusca. In: K. G. Adiyodi, R. G. Adiyodi (eds), *Reproductive Biology of Invertebrates*, 4. John Wiley & Sons, Chichester, New York, pp 281-348.
- Brett, C. E. 1978. Host specific pit forming epizoans on silurian crinoids. *Lethaia*, 11: 217-232.
- Carazzi, D. 1904. Ricerche embriologiche e citologiche sull'uovo di *Myzostoma glabrum* Leuckart. *Monitore Zoologico Italiano*, 15: 1-30.
- Castro, P. 1978. Settlement and habitat selection in the larvae of *echinoecus pentagonus* (A. Milne Edwards), a brachyuran crab symbiotic with sea urchins. *Journal of experimental Biology and Ecology*, 34: 259-270.

- Bibliographie -

- Cheng, T. C.** 1967. Marine molluscs as hosts for symbioses with a review of known parasites of commercially important species. In: F. S. Russell (ed.), *Advances in Marine Biology*, 5. Academic Press, London, New York, pp 1-424.
- Chia, F. -S.** 1978. Perspectives: settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae. In: F. -S. Chia, M. E. Rice (eds), *Settlement and Metamorphosis in marine Invertebrate Larvae*. Elsevier, New York, pp 283-285.
- Chiu, S. T.** 1984. Feeding biology of the short-spined sea urchin *Anthocidaris crassispina* (A. Agassiz) in Hong Kong. In: Keegan B, O'Connor D. S. (eds), *Echinodermata*. Balkema, Rotterdam, pp 223-232.
- Clark, H. L.** 1902. A new host for myzostomes. *Zoologischer Anzeiger*, 25: 670.
- Clark, R. B.** 1978. Composition and relationships. In: P. J. Mill (ed.), *Physiology of the Annelids*. Academic Press, London, pp 1-32.
- Coulon, P. & Jangoux, M.** 1993. Feeding rate and sediment reworking by the holothuroid *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) in a mediterranean sea grass bed off Ischia Island, Italy. *Marine Ecology Progress Series*, 92: 201-204.
- D'agostino, A.** 1975. Antibiotics in cultures of invertebrates. In: W. L. Smith, M. H. Chanley (eds), *Culture of marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, London, pp 109-133.
- Dales, R. P.** 1962. The polychaete stomodeum and their inter-relationships of the families of Polychaeta. *Proceedings of the Zoological Society (London)*, 139: 389-428.
- Damas, D.** 1968. Origine et structure du spermatophore de *Glossiphonia complanata* (L) (Hirudinée, Rhynchobdelle). *Archives de Zoologie expérimentale et générale*, 109: 79-86.
- D'Hainaut-Courtois, N. & Golding, D. W.** 1988. Nervous system. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp 89-110.
- Diesing, K. M.** 1859. Nachträge und Verbesserungen zur Revision der Myzhelminthen. *Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften zu Wien*, 35: 421-445.
- Dorresteijn, A. W. C. & Fischer, A.** 1988. The process of early development. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp 335-352.
- Douglas, A. E.** 1994. *Symbiotic interactions*. Oxford University Press, Oxford, New York, 148 pp.
- Driesch, H.** 1896. Betrachtungen über die Organisation des Eies und ihre Genese. *Archiv für Entwickelungsmechanik der Organismen*, 4: 75-124.
- Eckelbarger, K. J.** 1978. Metamorphosis and settlement in the Sabellariidae. In: F. -S. Chia, M. E. Rice (eds), *Settlement and Metamorphosis in marine Invertebrate Larvae*. Elsevier, New York, pp 145-164.
- Eckelbarger, K. J.** 1988. Oogenesis and female gametes. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp 281-308.

- Bibliographie -

- Eeckhaut, I. & Cominardi, C. 1994. Structural descriptions of three myzostomes parasites of crinoids and of the skeletal deformations they induce on their hosts. In: B. David, A. Guille, J. P. Féral, M. Roux (eds), *Echinoderms through Time*. Balkema, Rotterdam, pp 203-210.
- Eeckhaut, I. & Jangoux, M. 1991. Fine structure of the spermatophore and intradermic penetration of sperm cells in *Myzostoma cirriferum* (Annelida, Myzostomida). *Zoomorphology*, 111: 49-58.
- Eeckhaut, I. & Jangoux, M. 1992. Development and behaviour of *Myzostoma alatum* and *Pulvinomyzostomum pulvinar*, two myzostomid symbionts of the comatulid *Leptometra phalangium* (Echinodermata). In: L. Scalera-Liaci, C. Canicatti (eds) *Echinoderm Research 1991*. Balkema, Rotterdam, pp 229-236.
- Eeckhaut, I. & Jangoux, M. 1993. Life cycle and mode of infestation of *Myzostoma cirriferum* (Annelida), a symbiotic myzostomid of the comatulid crinoid *Antedon bifida* (Echinodermata). *Diseases of Aquatic Organisms*, 15: 207-217.
- Eeckhaut, I. & Jangoux, M. 1993. Integument and epidermal sensory structures of *Myzostoma cirriferum* (Myzostomida). *Zoomorphology*, 113: 33-46.
- Eeckhaut, I. & Jangoux, M. sous presse. Feeding behaviour and functional morphology of the introvert and digestive system of *Myzostoma cirriferum* (Myzostomida). *Acta Zoologica*.
- Eeckhaut, I., Lahaye, M. -C. & Jangoux, M. 1990. Postmetamorphic development of *Myzostomum cirriferum* (Annelida) and effects of the symbiont on its crinoid host, *Antedon bifida* (Echinodermata). In: C. De Ridder, P. Dubois, M. -C. Lahaye, M. Jangoux (eds), *Echinoderm Research*. Balkema, Rotterdam, pp 317-321.
- Eeckhaut, I., Vandenspiegel, D. & Grygier, M. J. 1994. Myzostomida (Annelida) from Singapore, with related Indo-Pacific distribution records and descriptions of three new species. *Raffles Bulletin of Zoology*, 42(3): 669-688.
- Fabricius, K. E. & Dale, M. B. 1993. Multispecies associations of symbionts on shallow water crinoids of the central Great Barrier Reef. *Coenoses*, 8(1): 41-52.
- Fauvel, P. 1936. Polychètes. *Résultats du voyage de la Belgica en 1897-1899 sous le commandement de A. de Gerlache de Gomery*. J. E. Buschmann, Anvers, 44 pp.
- Fauvel, P. 1959. Classe des Annélides Polychètes. In: P. P. Grassé (ed.), *Traité de Zoologie*, 5. Masson et Cie, Paris, pp 13-196.
- Fedotov, D. 1914. Die anatomie von *Protomyzostomum polynephris* Fedotov. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 109: 631-696.
- Fedotov, D. 1916. On the parasitism of *Protomyzostomum* in *Gorgonocephalus eucnemis* M. Tr. *Zoologicheskij Zhurnal*, 1: 161-218 (en russe avec résumé anglais).
- Fedotov, D. 1925. Ueber eine neue Art von *Protomyzostomum* (*Pr. astrocladi* n. sp.) aus *Astrocladus*. *Zoologischer Anzeiger*, 73: 183-194.
- Fedotov, D. 1929. Beiträge zu Kenntnis der Morphologie der Myzostomiden. *Zeitschrift für Morphologie und Okologie der Tiere*, 15: 156-191.

- Bibliographie -

- Fish, J. D. 1967. Feeding and digestion of *Cucumaria elongata*. *Reports of the Challenger Society*, 1967: 46.
- Fransen, M. E. 1980. Ultrastructure of coelomic organization in annelids. I. Archiannelids and other small polychaetes. *Zoomorphology*, 95: 235-249.
- Franzén, A. 1987. Spermatogenesis. In: A. C. Giese, J. S. Pearse, V. B. Pearse (eds), *Reproduction of Marine Invertebrates*, 9. Blackwell Scientific Publications & The Boxwood Press, Palo Alto, Pacific Grove, pp 1-49.
- Franzén, A. & Rice S. A. 1988. Spermatogenesis, male gametes and gametes interactions. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp 309-334.
- Gabe, M. 1968. *Techniques histologiques*. Masson: Paris, 1113 pp.
- Ganter P. & Jollès G. 1969-1970. *Histochemistry normale et pathologique*, 2 vols, Gauthier-Villars, Paris, 1904pp.
- Graff, L. 1877. *Das Genus Myzostoma (F. S. Leuckart)*. Wilhelm Engelmann, Leipzig, 82 pp.
- Graff, L. von 1883. Verzeichniss der von den United States Coast Survey steamers "Hassler" und Blake" von 1867 bis 1879 gesammelten Myzostomiden. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 11(7): 125-133.
- Graff, L. von 1884. Report on the Myzostomida collected during the voyage of HMS Challenger during the years 1873-1876. *Reports of the Scientific Research during the Voyage of the HMS Challenger Expedition*, 10: 1-82.
- Graff, L. von 1885. Ueber einige Deformitäten an fossilen Crinoiden. *Palaeontographica*, 31: 184-191.
- Graff, L. von 1887. Report on the Myzostomida collected during the voyage of H.M.S. Challenger during the years 1873-76. Supplement. *Reports of the Scientific Research during the Voyage of the HMS Challenger Expedition*, 20: 1-16.
- Grygier, M. J. 1988. Unusual and mostly cysticolous crustacean, molluscan and myzostomid associates of echinoderms. In: R. D. Burke, P. V. Mladenov, P. Lambert, R. L. Parsley (eds), *Echinoderm Biology*. Balkema, Rotterdam, pp 775-784.
- Grygier, M. J. 1989. Three new species of *Myzostoma* (Myzostomida). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 102 (3): 793-804.
- Grygier, M. J. 1990. Distribution of Indo-Pacific *Myzostoma* and host specificity of comatulid-associated Myzostomida. *Bulletin of Marine Science*, 47 (1): 182-191.
- Grygier, M. J. 1992. Hong Kong Myzostomida and their indo-pacific distributions. In: B. Morton (ed.), *The marine flora and fauna of Hong Kong and southern China III*. Hong Kong University Press, Hong Kong, pp 131-147.
- Grygier, M. J. 1994. Summary and significance of overlooked Japanese literature on Myzostomida. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 107(1): 174-178.
- Hara, J. & Okada, Y. 1921. Two new species of *Myzostoma*. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 10: 33-39.

- Bibliographie -

- Hauksson, E. 1979. Feeding biology of *Stichopus tremulus*, a deposit-feeding holothurian. *Sarsia*, 64: 155-160.
- Heimler, W. 1988. Larvae. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp 353-372.
- Handler, G. 1982. The feeding biology of *Ophioderma brevispinum* (Ophiuroidea: Echinodermata). In: J. M. Lawrence (ed.), *Echinoderms: Proceedings of the International Conference*, Tampa Bay. Balkema, Rotterdam, pp 21-27.
- Isquierdo, I. B. 1934. Sobre dos Mizostomidos de las costas de Espana. *Boletin de la Sociedad Espanola de Historia Natural*, 34: 489-496.
- Jägersten, G. 1934. Studien über den histologischen Bau der männlichen Geschlechtsorgane und die Ausbildung des Spermiums bei *Myzostomum*. *Zoologiska Bidrag fran Uppsala*, 15: 1-22.
- Jägersten, G. 1936. Zur Kenntnis der Parapodialborsten bei *Myzostomum*. *Zoologiska Bidrag fran Uppsala*, 16: 283-289.
- Jägersten, G. 1937. Myzostomiden von Prof. Dr. Sixten Bocks Expedition nach Japan und den Bonin-Inseln 1914. *Arkiv för Zoologi*, 29A(17): 1-35.
- Jägersten, G. 1938. Ueber den Befruchtungsmechanismus der Myzostomiden. *Arkiv för Zoologi*, 30B(7): 1-4.
- Jägersten, G. 1939a. Ueber die morphologie und physiologie des Geschlechtsapparats und den Kopulationsmechanismus der Myzostomiden. *Zoologiska Bidrag fran Uppsala*, 18: 163-242.
- Jägersten, G. 1939b. Zur Kenntnis der Larventwicklung bei *Myzostomum*. *Arkiv för Zoologi*, 31A(11): 1-21.
- Jägersten, G. 1940a. Zur Kenntnis der Morphologie, Entwicklung und Taxonomie der Myzostomida. *Nova Acta Regiae Societatis Scientiarum Upsaliensis*, (4)11(8): 1-84.
- Jägersten, G. 1940b. Neue und alte *Myzostomum*-Arten aus dem Zoologischen Museum Kopenhagen. *Videnskabelige Meddelelser fra Dansk Naturhistorisk Forening i Kobenhavn*, 104: 103-125.
- Jägersten, G. 1940c. Zur Kenntnis der Histologie und Physiologie des Darmes der Myzostomiden. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 153: 83-107.
- Jägersten, G. 1940d. Beobachtungen über *Myzostomum cirriferum*. *Arkiv för Zoologi*, 32B (9): 1-6.
- Jägersten, G. 1940e. Zur Kenntnis von *Glanduloderma myzostomatis* n. g., n. sp., einer eigenthümlichen, in Myzostomiden schmarotzenden Turbellarierform. *Arkiv för Zoologi*, 33A(3): 1-24.
- Jägersten, G. 1944. Ueber den Bau des Kopulationsapparates und Kopulations-mechanismus bei *Dinophilus*. *Zoologiska Bidrag fran Uppsala*, 22: 61-86.
- Jamieson, B. G. M. 1986. Onychophoran-euclitellate relationships: evidence from spermatozoal ultrastructure. *Zoologica Scripta*, 15(2): 141-155.
- Jangoux, M. 1990. Diseases of Echinodermata. In: O. Kinne (ed.), *Diseases of Marine Animals*, 3. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, pp 439-467.

- Bibliographie -

- Kato, K. 1952. On the development of myzostome *Scientific Reports of the Saitama University*, (B)1(1): 1-16.
- Khoeler, K. J. & Birky, C. W. 1966. An electron microscope study of the dimorphic spermatozoa of *Asplanchna* (Rotifera). *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie*, 70: 303-321.
- Kinne, O. 1980. Diseases of marine animals: general aspect. In: O. Kinne (ed.), *Diseases of marine animals*, 1. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, pp 13-73.
- Kostanecki, K. 1897. Die Befruchtung des Eies von *Myzostoma glabrum*. *Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik*, 51: 461-480.
- Lahaye, M.-C. 1987. *Comportement larvaire et ontogénèse postembryonnaire chez la comatule Antedon bifida (Echinodermata, Crinoidea)*. Thèse de doctorat. Université Libre de Bruxelles, 156 pp.
- Lahaye, M.-C., Bulteel, P. & Jangoux M. 1990. Dynamique de population, croissance et longévité de la comatule *Antedon bifida* (Echinodermata, Crinoidea). In: C. De Ridder, P. Dubois, M.-C. Lahaye, M. Jangoux (eds), *Echinoderm Research*. Balkema, Rotterdam, pp. 177-181.
- Lahaye, M.-C. & Jangoux, M. 1985. Functional morphology of the podia and ambulacral grooves of the comatulid crinoid *Antedon bifida* (Echinodermata). *Marine Biology*, 86: 307-318.
- Lanzavecchia, G., de Eguileor, M. & Valvassori, R. 1988. Muscles. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp 71-88.
- Leuckart, F. S. 1827. *Versuch einer naturgemäßen Eintheilung der Hymenophora*. Neue Akademische Buchhandlung von Karl Gross, Heidelberg, Leipzig, 88 pp.
- Leuckart, F. S. 1830. Paragraphe non titré n°92. *Isis von Oken*, 23: 612-613.
- Leuckart, F. S. 1836. In Beziehung auf der Haarstern (*Comatula*) und *Pentacrinus europaeus*, so wie auf das Schmarotzerthier auf *Comatula*. *Notizen aus dem Gebiete der Natur- und Heilkunde gesammelt und mitgetheilt von Dr. L.G.V. Froriep*, 59(9, n°1087): 129-131.
- Löven, M. S. 1842. Mémoire sur le *Myzostoma cirriferum*. *Annales des Sciences Naturelles*, (2)18: 291-298.
- Maidl, F. 1910. Ueber die Zölomverhältnisse von *Myzostoma*. *Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien*, 60: 200-215.
- Mann, T. 1984. *Spermatophores. Developement, Structure, Biochemical Attributes and Role in the Transfer of Spermatozoa*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 217 pp.
- Marenzeller, E. von 1895. *Myzostoma asteriae* n. sp., ein Endoparasit von Asterias-Arten. *Anzeiger der Akademie der Wissenschaften, Wien*, 18: 192-195.
- Margulis, L. 1991. Symbiogenesis and symbiontism. In: L. Margulis, R. Fester (eds), *Symbiosis as a Source of Evolutionary Innovation*. The MIT Press, Cambridge, London, pp 1-14.

- *Bibliographie* -

- Margulis, L. & Bermudes, D.** 1985. Symbiosis as a mechanism of evolution: status of cell symbiosis theory. *Symbiosis*, 1: 101-124.
- Mattei, X. & Marchand, B.** 1987. Les spermatozoïdes des acanthocephales et des myzostomides. Ressemblances et conséquences phylétiques. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, 305: 525-529.
- Mattei, X. & Marchand, B.** 1988. La spermiogénèse de *Myzostomum sp.* (Procoelomata, Myzostomida). *Journal of Ultrastructure Research*, 100: 75-85.
- Mc Clendon, J. F.** 1906. The myzostomes of the Albatross expedition to Japan. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 22:119-130.
- Mc Clendon, J. F.** 1907. New marine worms of the genus *Myzostoma*. *Proceedings of the United States National Museum*, 32: 63-65.
- Messing, C. G.** 1994a. Comatulid crinoids (Echinodermata) of Madang, Papua New Guinea, and environs: diversity and ecology. In: B. David, A. Guille, J. P. Féral, M. Roux (eds), *Echinoderms through Time*. Balkema, Rotterdam, pp 237-244.
- Messing, C. G.** 1994b. Crinoid meadows of the West Indies: Distribution, responses to flow, disarticulation, sediment production and taphonomy. In: B. David, A. Guille, J. P. Féral, M. Roux (eds), *Echinoderms through Time*. Balkema, Rotterdam, p. 245.
- Metschnikoff, E.** 1866. Zur Entwicklungsgeschichte von *Myzostomum*. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 16: 240-245.
- Meyer, D. L. & Ausich, W. I.** 1983. Biotic interactions among recent and among fossil crinoids. In: M. J. S. Tevesz and P. L. Mc Gall (eds), *Biotic interactions in recent and fossil benthic Communities*. Plenum Press, New York, pp 377-427.
- Michel, C.** 1988. Intestine and digestive glands. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp 157-176.
- Mooi, R., David, B. & Marchand, D.** 1994. Echinoderm skeletal homologies: classical morphology meets modern phylogenetics. In: B. David, A. Guille, J. P. Féral, M. Roux (eds), *Echinoderms through Time*. Balkema, Rotterdam, pp 87-96.
- Morton, B.** 1989. *Partnerships in the sea: Hong Kong's marine symbioses*. E. J. Brill, Leyden, 151 pp.
- Müller, J.** 1841. Ueber die Gattungen und Arten der Comatulen. *Archiv für Naturgeschichte*, 7(1): 139-148.
- Murray, L. W. & Tanzer, M. L.** 1985. The collagen of the Annelida. In: A. Bairati & R. Garrone (eds), *Biology of Invertebrate and Lower Vertebrate Collagens*. Plenum Press, New York, pp 243-258.
- Nansen, F.** 1885. *Bidrag til myzostomernes anatomi og histologi*. Bergens Museum, Bergen, 80 pp.
- Nansen, F.** 1887. Anatomie und Histologie des Nervensystems der Myzostomem. *Jenaische Zeitschrift für Naturforschung*, 21: 267-321.
- Nichols, D.** 1994. Reproductive seasonality in the comatulid crinoid *Antedon bifida* (Pennant) from the English Channel. *Philosophic Transactions of the Royal Society of London*, 343: 113-134.

- Bibliographie -

- Noble, E. R. & Noble G. A.** 1982. *Parasitology - The biology of animal parasites*. Lea & Febiger, Philadelphia, 522 pp.
- Nordheim von, H.** 1991. Ultrastructure and functional morphology of male genital organs and spermatophore formation in *Protodrilus* (Polychaeta, Annelida). *Zoomorphology*, 111: 81-94.
- Norrevang, A** 1968. Electron microscopic morphology of oogenesis. *International Review of Cytology*, 23: 114-186.
- Okada, Y.** 1922. On a new *Protomyzostomum* (*P. sagamiense* sp. nov.) from the ovary of *Gorgonocephalus*. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 10: 165-169.
- Okada, Y** 1933. *Mesomyzostoma katoi* n. sp., an interesting *Myzostoma* found in the gonad of *Comanthus japonicus*. *Annotationes Zoologicae Japoneneses*, 14: 185-188.
- Pietsch, A. & Westheide W.** 1987. Protonephridial organs in *Myzostoma cirriferum* (Myzostomida). *Acta Zoologica*, 68: 195-203.
- Piveteau, J.** 1952. Sous-classe des Archiannelida et des Myzostoma. In: P. P. Grassé (ed.), *Traité de Paléontologie*, 2. Masson et Cie, Paris, pp 193-194.
- Platel, R.** 1962. Histologie du tube digestif de *Myzostomum cirriferum* (Leuckart) (Myzostomides). *Cahiers de Biologie Marine*, 3: 261-288.
- Prenant, M.** 1959. Classe des Myzostomides. In: P. P. Grassé (ed.), *Traité de Zoologie*, 5, Masson et Cie, Paris, pp 714-784.
- Rao, H. K. & Sowbhagyavathi, R.** 1972. Observations on the associates of crinoids at Waltair Coast with special reference to myzostomes. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 38: 360-366.
- Reimscheid, E.** 1916. Beiträge zur Kenntnis der Myzostomiden. *Abhandlungen den Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft*, 35(2): 179-226.
- Reynolds, E. D.** 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 17: 208-212.
- Rhode, B.** 1990. Ultrastructure of nuchal organs in some marine polychaetes. *Journal of Morphology*, 206: 95-107.
- Richards, K. S.** 1978. Epidermis and cuticle. In: P. J. Mill (ed.), *Physiology of the Annelids*, Academic Press, London, New York, pp 33-61.
- Richards, K. S.** 1984. Annelida. Cuticle. In: J. Bereiter-Hahn, A. G. Matoltsy, K. S. Richards (eds), *Biology of the Integument, Invertebrates*, 1. Springer Verlag, Berlin, pp 310-322.
- Rieger, R. M. & Rieger, G. E.** 1976. Fine structure of the archiannelid cuticle and remarks on the evolution of the cuticle within the Spiralia. *Acta Zoologica*, 57: 53-68.
- Rieger, R. M., Tyler, S., Smith, J. P. S. & Rieger, G. E.** 1991. Platyhelminthes: Turbellaria. In: F.W. Harrison, B. J. Bogitsh (eds), *Microscopic Anatomy of Invertebrates, Platyhelminthes and Nemertinea*, 3. Wiley-Liss, New York, pp. 7-140.
- Roosen-Runge E. C.** 1977. *The process of spermatogenesis in animals*. Cambridge University Press, Cambridge, 214 pp.
- Rullier, F** 1950. Rôle de l'organe nucal des annélides polychètes. *Bulletin de la Société Zoologique Française*, 75: 18-24.

- Bibliographie -

- Rullier, F.** 1951. Etude morphologique, histologique et physiologique de l'organe nucal chez les annélides polychètes sédentaires. *Annales de l'institut océanographique*, 25: 207-341.
- Schroeder, P. C.** 1989. Annelida-Polychaeta. In: Adiyodi K. G., Adiyodi R. G. (eds) *Reproductive Biology of Invertebrates*, 4. John Wiley & Sons, Chichester, New York, pp 383-442.
- Semper, C.** 1858. Zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Gattung *Myzostoma* Leuckart. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 9: 48-65.
- Siebold, C. T. E. von** 1875. Von der Challenger-Expedition - Briefe von R. v. Willemoes-Suhm an C Th. E. v. Siebold III. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 25: 31-32.
- Siebold, C. T. E. von** 1876. Von der Challenger-Expedition - Briefe von R. v. Willemoes-Suhm an C Th. E. v. Siebold VI. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 26: 79-80.
- Smith, P. R. & Ruppert, E. E.** 1988. Nephridia. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New-York, pp 231-262.
- Sterrer, W.** 1974. Gnathostomulida. In: A. C. Giese, J. S. Pearse (eds), *Reproduction of Marine Invertebrates. Acoelomate and Pseudocoelomate Metazoans*, 1. Academic Press, London, pp 345-357.
- Storch, V.** 1988. Integument. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp 13-36.
- Storch, V. & Schlötzer-Schrehardt, U.** 1988. Sensory structures. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp 121-134.
- Strathmann, R. R.** 1978. Larval settlement in echinoderms. In: F. -S. Chia, M. E. Rice (eds), *Settlement and Metamorphosis in marine Invertebrate Larvae*. Elsevier, New York, pp 235-246.
- Stummer-Traunfels, R. R. von** 1903. Beiträge zur Anatomie und Histologie der Myzostomem. I. *Myzostoma asteriae* Marenz. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 85: 495-595.
- Stummer-Traunfels, R. R. von** 1908. Myzostomidae. *National Antarctic Expedition. Naturhistorisches Museum in Hamburg*, 4: 1-26.
- Stummer-Traunfels, R. R. von** 1909. Arktische Myzostomem. *Fauna Arctica*, 5: 75-85.
- Stummer-Traunfels, R. R. von** 1926. Myzostomida. In: W. Kükenthal, T. Krumbach (eds), *Handbuch der Zoologie*, 3. De Gruyter & Co, Berlin, Leipzig, pp 132-210.
- Thompson, J. V.** 1836. Ueber den Haarsten (Comatula); und Beweis, das der Pentacrinus europaeus das Junge unserer einheimischen Art ist. *Froriep's Notizen*, 49(1057): 5.
- Thomas, M. B. & Edwards N. C.** 1991. Cnidaria: hydrozoa. In: F. W. Harrison, J. A. Westall (eds), *Microscopic Anatomy of Invertebrates*, 2. Wiley-Liss, New York, Chichester, pp 91-184.
- Thorson, G.** 1955. Modern aspects of marine level-bottom animal communities. *Journal of Marine Research*, 14(4): 387-397.

- *Bibliographie* -

- Wagin, V. L. 1954.** *Asteromyzostomum* n. gen. - a new representative of the class Myzostomida (Annelides). *Trudy Leningradskogo Obshchestva Estestvoispytatelej*, 72(4): 16-37 (en russe).
- Westheide, W. 1984.** The concept of reproduction in polychaetes with small body size: adaptations in interstitial species. In: A. Fischer, H. -D. Pfannenstiel (eds), *Polychaete Reproduction*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New-York, pp 265-288.
- Westheide, W. 1985.** The systematic position of the Dinophilidae and the archiannelid problem. In: S. Conway Morris, J. D. George, R. Gibson, H. M. Platt (eds), *The origin and relationships of lower invertebrates*. Clarendon Press, Oxford, pp 310-326.
- Westheide, W. 1988.** Genital organs. In: W. Westheide, C. O. Hermans (eds), *The Ultrastructure of Polychaeta*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, pp 263-280.
- Wheeler, W. M. 1894.** Protandric hermaphroditism in *Myzostoma*. *Zoologischer Anzeiger*, 17: 177-182.
- Wheeler, W. M. 1896.** The sexual phases of *Myzostoma*. *Mitteilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel*, 12: 227-302.
- Wheeler, W. M. 1898.** The maturation, fecundation and early cleavage of *Myzostoma glabrum* Leuckart. *Archives de Biologie*, 15: 1-77.
- Wheeler, W. M. 1904.** A new *Myzostoma* parasitic in a starfish. *The Biological Bulletin*, 8: 75-78.
- Whittle, A. C. & Zahid, Z. R. 1974.** Fine structure of nuchal organs in some errant polychaetous annelids. *Journal of Morphology*, 144: 167-183.
- Willmer, P. 1994.** *Invertebrate relationships. Patterns in animal evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, 400 pp.
- Woodham, A. 1992.** Distribution and population studies on *Myzostoma cirriferum* Leuckart (Myzostomida) in a Scottish sea loch. In: G. Colombo *et al.* (eds), *Marine Eutrophication and Population Dynamics*. Olsen & Olsen, Fredensborg, pp 247-255.

J. ANNEXE

J. ANNEXE

**Publications personnelles relatives
aux myzostomes**

Structural description of three myzostomes parasites of crinoids and of the skeletal deformations they induce on their hosts

Igor Eeckhaut

Laboratoire de Biologie Marine, Université de Mons-Hainaut, Belgium

35338

Nadia Améziane-Cominardi

Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris,
France

ABSTRACT: Three species of deforming myzostomes infested the crinoids collected during the French Expeditions of the last decade in the Pacific. *Cystimyzostomum tenuispinum* is the most abundant and infests five different species of crinoids. It induces galls on the arms or pinnules of its hosts. The two other myzostome species are rarer. *Cystimyzostomum murrayi* induces a bean shaped cyst attached at the base of the arms of an undetermined species of comatulid crinoid. *Cystimyzostomum deformator* was previously reported to induce galls on the host's pinnules. Here, we report that it can also induce a half ball shaped cyst on the oral side of the arms of *Sarocrinus angulatus*.

1. INTRODUCTION

The taxon Myzostomida includes about 140 species of worms generally considered as being close to polychaetes. All myzostomes behave as obligate symbionts of echinoderms: most of them are commensals of crinoids, the other are parasites of asteroids (6 species), ophiuroids (3 species), or crinoids (20 species) (Jangoux 1990). Most parasitic myzostomes of crinoids infest the integument. Some of them can create skeletal deformations: they either deform original skeletal ossicles to build a spacious shelter in which they live (i. e. gallicolous species) or live in the integument where they do not deform the original host's skeleton but induce the formation of minute skeletal plates reinforcing the wall of their shelter (i. e. cysticolous species). Similar deformations have also been recorded from fossil crinoids and are generally considered as being due to an infestation by myzostomes (Meyer & Ausich 1963; Arendt 1985).

With rather few exceptions, contemporary parasitic myzostomes mostly infest bathyal echinoderms (in 100 to 1200 m water depth; Stummer-Traunfels 1926) explaining why these parasitoses have been so anecdotaly documented. Some of the crinoids collected during the French Expeditions of the last decade were infested by deforming myzostomes. A morphological study based on OM and SEM observations of three of these parasitic myzostomes and of the deformations they induce on the skeleton of their hosts was carried out.

Musorstrom IV 1985 (off New Caledonia); Karubar 1991 (off Kai, Tanimbar, and Aru Islands); and Musorstrom VII 1992 (off Wallis and Futuna Islands). Part of the collected crinoids presented deformations which were cut off, fixed in Bouin's fluid during 24h, and stored in ethanol 70%. Bouin's fixed material was used for SEM observations: it was dehydrated in graded concentrations of ethanol, dried by the critical point method using liquid CO₂ as the transition fluid, mounted on aluminium stubs, coated with gold in a sputter coater and observed with a JEOL JSM 6100 scanning electron microscope.

The parapodial hook apparatus (viz. the parapodial hook, the support rod, and the replacement hooks) of the myzostomes is generally considered to be specific at the species level. For its observation, part of the individuals were slightly digested in weak bleach for a few minutes. Once most of the tissue was dissolved, the hook apparatus were dried and mounted on slides. Microscopic observations were made with an Olympus IMT-2 contrasting phase microscope.

3. RESULTS

Three deforming myzostomes were observed on crinoids: *Cystimyzostomum tenuispinum* (Graff, 1884), *Cystimyzostomum deformator* (Graff, 1884), and *Cystimyzostomum murrayi* (Graff, 1884).

Cystimyzostomum tenuispinum (Graff, 1884)

Myzostoma tenuispinum Graff, 1884: 68-70, Pl. XIII, Figs. 6-16; Jangoux, 1990: 500, Fig. 22B

Myzostomum tenuispinum Clark, 1921: 672; Pl. 40, Fig. 1254; Pl. 42, Figs. 1270-1275; Pl. 44, Figs. 1298, 1299, 1302-1304

Cystimyzostomum tenuispinum Jägersten, 1940: 52

Previously recorded distribution: Challenger station 170 off Kermadec Islands, Chall. sta. 174 near Fiji Islands, and Chall. sta. 214 off Meangis Islands

Previously recorded hosts (according to Clark, 1921):
Pachylometra inaequalis (Carpenter, 1884),
Perissometra angusticalyx (Carpenter, 1884),
Charitometra basicurva (Carpenter, 1884),
Charitometra incisa (Carpenter, 1884).

Material. 51 galls induced by *C. tenuispinum* have been observed on 16 crinoids belonging to 5 different species (Table I). Six individuals of *C. tenuispinum* were extracted from the deformations.

Description of the myzostome (Figs. 2, 9B, C). The body of this myzostome is stout, ovoid, of ca. 3 mm long, 2.3 mm wide and 1.5 mm thick. It is folded up dorsally: its dorsal part is concave and its ventral part is convex. A protrusible introvert (I), at the apex of which opens a mouth, lies antero-ventrally and can reach the length of ca. 750 µm when fully extended. Posteriorly, at the level of the body margin, is an anogenital cone (AGC) of ca. 150 µm long at the tip of which open close to each other an anus and a female genital pore. Five pairs of parapodia (P) fit the ventrolateral parts of the animal. Each is made of an integumental cone of ca. 150 µm long at the apex of which protrudes the tip of a hook-like seta (S). The support rod of the parapodial hook apparatus is 1.5 times longer than the parapodial hook but the latter is a little thicker (Fig. 9B, C). The tip of the support rod is bent 30° with regard to the shaft; the manubrium (viz. the part situated at the apex of the support rod in which the parapodial hook inserts; m) is small, lies on both sides of the shaft, and is characterized at its apex by a small outgrowth (o). No replacement hook has been observed. Four pairs of slit-like lateral organs (viz. presumed sensory organs; Eeckhaut & Jangoux 1993a) lie between the parapodia but closer to the body margin. Five pairs of cirri (C) of ca. 70 µm long are in front of the parapodia at the level of the body margin. All the body is covered by tufts of tens of capitate cilia (viz. cilia with their tips that are curled).

Description of the deformation induced by the parasite (Fig. 1, 3). Individuals of *C. tenuispinum* induce two types of galls which can be observed on crinoid individuals of the same species. Galls are situated on pinnules and brachials from the first to the sixth series (Fig. 1).

The first type of gall is a tissular deformation (mainly of the skeleton) which extends from one side of a brachial groove up to the aboral side of the arm and measures 3 to 7 mm high and 2 to 6 mm wide. The skeleton of the pinnulars and brachials are deformed: 2 to 4 pinnulars of one pinnule are enlarged and 2 brachials are modified in size and shape. The joints between the pinnulars and brachials are still visible but less easily than when they were in a healthy stage. In the largest galls, new skeletal plates are intercalated between the deformed brachials. They were generally smaller than the brachials and of irregular shape. Deformed brachials and new

intercalated skeletal plates are included in the walls that surround a cavity in which the myzostome lives.

The cavity opens to the exterior by 2 apertures: the first one (OA) lies near the brachial groove and the second one (AA) is situated at the aboral side of the arm.

The second type of gall is a tissular deformation (mainly of the skeleton) at the level of a pinnule. Generally, 2 to 4 pinnulars are deformed in size and shape. Deformed pinnulars are enlarged and are included in the walls that surround a cavity which opens to the exterior by 2 apertures: the first one lies near the pinnular groove and the second one is situated at the aboral side of the pinnule. The gall is 5 mm high and 4 mm wide.

C. tenuispinum individuals lie in the cavity of the gall in such a way that their anterior part is close to the oral aperture and their posterior part close to the aboral aperture. The body of the individuals is too large to allow the myzostome to leave its shelter but it could possibly move in it. *C. tenuispinum* can probably divert alimentary particles carried by the host's ciliated groove thanks to its introvert.

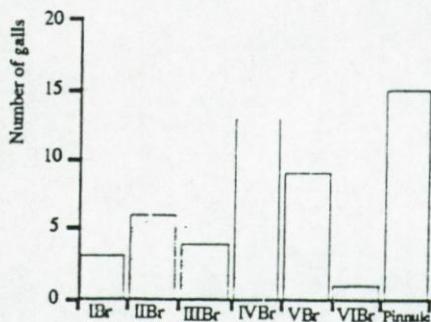


Fig. 1. Crinoid infestation by *Cystimyzostomum tenuispinum* (Graff, 1884). Number and position of the galls induced by the myzostome on the crinoids (all species of crinoid hosts confounded). xBr: series of the deformed brachial.

Cystimyzostomum deformator (Graff, 1884)

Myzostoma deformator Graff, 1884: 64-66, Pl. XII, Figs. 1-9; Jangoux, 1990: 500, Fig. 22A.

Myzostomum deformator Clark, 1921: 672, Pl. 43, Figs. 1277-1279

Cystimyzostomum deformator Jägersten, 1940: 52

Previously recorded distribution: Chall. sta. 214 off Meangis Island

Previously recorded host (according to Clark, 1921): *Diplocrinus alternicirrus* (Carpenter, 1884)

Material. One cyst on the arm of one individual of *Saracrinus angulatus* Carpenter. One crinoid infested out of 25. Two *C. deformator* observed in the cyst. Station: 05°49'S-132°18'E, 296-299m.

Table I. Crinoid infestation by *Cystimyzostomum tenuispinum* (Graff, 1884). A: frequency of the infestation; B: Number of galls per host. Three other crinoids (viz. *Saracrinus varians* (Carpenter, 1884), *Neocalledonicrinus vaubani* Avocat & Roux, 1990, *Guillecrinus neocalledonicus* Bourseau et al, 1991) collected in the infested station were non-infested

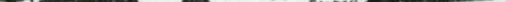
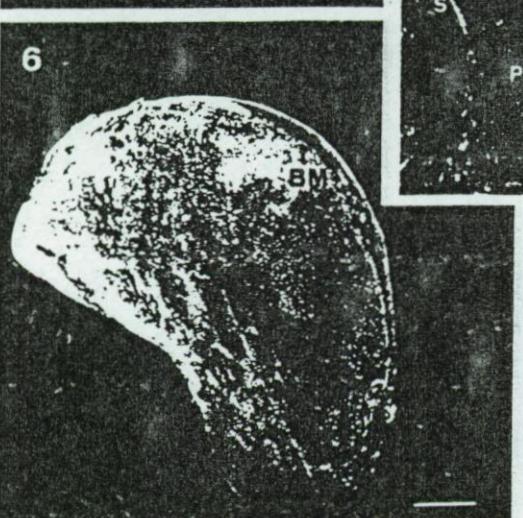
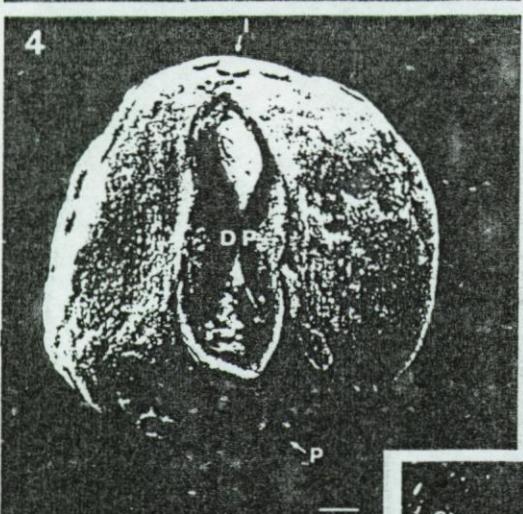
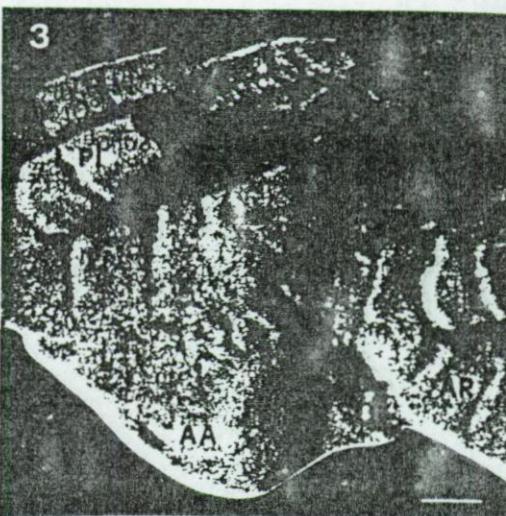
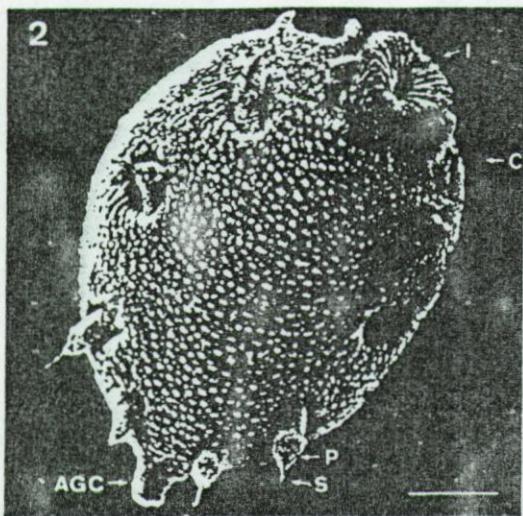
Name of the host	Place of collect	A	B
<i>Saracrinus nobilis</i> (Carpenter, 1884)	08°01'S-132°51'E 271-273m 09°32'S-131°02'E 219-215m 22°59'S-167°65'E 350-355m 22°43'S-167°09'E 340-345m 22°57'S-167°33'E 410-440m 22°55'S-167°13'E 400m	10/37 (27%)	1 to 13
<i>Saracrinus angulatus</i> (Carpenter, 1884)	05°49'S-132°18'E 296-299m 05°30'S-132°52'E 336-346m 13°10'S-176°14'W 360m	3/31 (1%)	1
<i>Metacrinus levii</i> Ameziane-Cominardi, 1990	23°05'S-167°46'E 540-600m	1/5	2
<i>Metacrinus cyaneus</i> H.L. Clark, 1916	19°04'S-117°05'E 201-202m	1/2	8
<i>Diplocrinus alternicirrus</i> (Carpenter, 1884)	22°14'S-167°28'E 1300-1476m	1/7	1

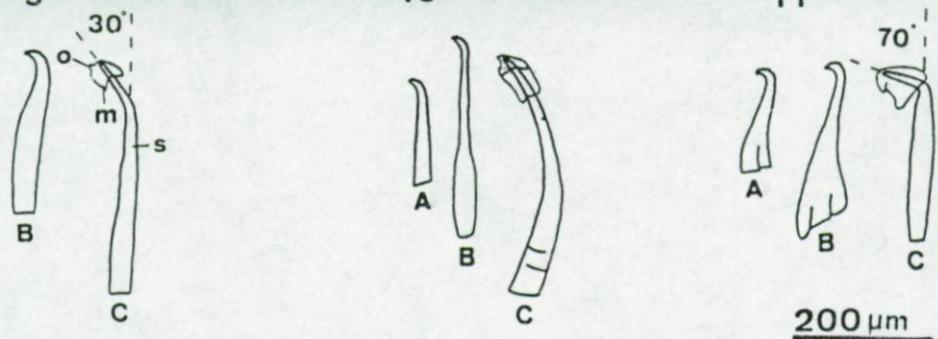
Description of the myzostome (Figs. 4, 10A, B, C). The body of *C. deformator* is discoid, stout, and measures 5 mm in diameter and is 3.5 mm thick. It is folded up dorsally: the dorsal part (DP) is concave and the ventral part (VP) is convex. The ventral part is stretched latero-laterally and thus appears much larger than the dorsal part which is very reduced. The ventral part bears 5 pairs of parapodia (P) which are reduced to discoid plate-like body folds of 400 µm in diameter. The support rod of the parapodial hook apparatus is longer and thicker than the parapodial hook (Fig. 10A, B, C). The latter is straight, wider at its basis than at its apex. Its tip is weakly curved and does not protrude to the exterior of the animal. The support rod is curved; the manubrium is long, lying on both sides of the hatt. One straight replacement hook was observed. A small protrusive introvert (I), at the apex of which is a mouth, lies antero-ventrally between the first 2 pairs of parapodia. An anus and a female genital pore are postero-ventrally, close to each other, at a point symmetrically opposite to the mouth. There are no oral nor lateral organs. All the body is covered by tufts of straight cilia.

Description of the deformation induced by the parasite (Fig. 5, 12). Individuals of this species provoke half ball shaped cyst on the oral side of the crinoid's arm. The cyst is 10 mm long, 9 mm wide, and 7 mm high. It is a hollow shelter whose walls include polygonal skeletal plates of 100 to 800 µm long (Fig. 12). It extends over 2 to 3 brachials which are slightly larger than the non deformed ones. The pinnulars at the basis of the pinnules in front of the deformed brachials are also slightly enlarged. The brachial ambulacral groove is yet present: it lies above the cyst and seems not to be altered. The cavity of the cyst consists of two equal-sized compartments separated from each other by a skeletal wall (SW). It communicates with the exterior by a slit like aperture of 1 mm long lying just in front of a pinnule.

The cyst is inhabited by two *C. deformator* individuals. The two myzostomes lie in the cavity of the cyst in such a way that their dorsal part points to the skeletal wall which separates the two compartments

Remark. Graff (1884) described specimens of *C. deformator* which fit exactly the individuals we





Figs. 9, 10, 11 respectively. Drawings of the replacement hook (A), parapodial hook (B) and support rod (C) of *C. tenuispinum*, *C. deformator*, and *C. murrayi*. m: manubrium; o: outgrowth; s: shaft.

observed. The Graff's specimens live in couple on crinoids but, however, always in galls of pinnules.

Cystimyzostomum murrayi (Graff, 1884)

Myzostoma murrayi Graff, 1884: 74-75, Pl. XV, Figs. 5-13

Myzostomum murrayi Clark, 1921: 673, Pl. 44, Figs. 1300-1301

Cystimyzostomum murrayi Jägersten, 1940: 52; Jangoux 1990: 500, Fig. 22C

Previously recorded distribution: Chall. sta. 170 off Kermadec Islands; Chall. sta. 192 near Kei Islands; Blake station 269 off St. Vincent

Previously recorded hosts (according to Clark, 1921): *Horoemmetra duplex* (Carpenter, 1884), *Stiremetra breviradia* (Carpenter, 1884), *Adelometra angustiradia* (Carpenter, 1884)

Material. One cyst observed on one undetermined species of comatulid crinoid. Two *C. murrayi* observed in the cyst. Station: 12°15'S-177°28'W, 800-810m.

Description of the myzostomes (Figs. 6, 7, 11A, B). Two myzostomes of different size and shape live

in the cyst: a small, flattened, and discoid individual and a large, bean shaped individual.

The small individual is 1 mm in diameter and 0.3 mm thick. The only external appendages it bears are 5 pairs of latero-ventral parapodia of 50 μm long at the apex of which protrudes the tip of a hook-like seta. A small protrusive introvert, at the apex of which opens a mouth, lies anteriorly, at the level of the body margin. An anus opens postero-ventrally. There are no cirri nor lateral organs.

The body of the large bean shaped individual is that of a discoid, and flattened myzostome whose lateral parts have been totally folded up dorsally: when viewed laterally, the myzostome appears as a half circle or a bean (Fig. 6). It is 4 mm in diameter and 0.5 mm thick. The dorsal part is totally covered by the lateral parts of the individual. Five pairs of parapodia (P) with seta (S) lie antero-ventrally. The support rod of the parapodial hook apparatus is as long as the parapodial hook but a little thinner. The latter has a very large basis with two furrows. The support rod is nearly straight with its apex bending 70° with regard to the shaft; the manubrium is large and shows two small outgrowths. One replacement hook was observed. The positions of the introvert and anus are similar to those in the small individual. There is no cirri, nor lateral organs. All the body is covered by tufts of straight cilia.

Figs. 2 to 8. The three species of deforming myzostomes and the deformations induced on their hosts. Scale bar = 0.5mm for Figs 2, 4, 6 and 1 mm for Figs. 3, 5, &

Figs 2, 3 respectively. *Cystimyzostomum tenuispinum*. General view of the myzostome (viewed ventrally; SEM) and the gall it induces on the arm of a *Saracrinus nobilis* individual (OM).

Figs 4, 5 respectively. *Cystimyzostomum deformator*. General view of the myzostome (viewed dorsally; SEM) and the cyst it induces on the arm of a *Saracrinus angularis* individual after partial dissection (SEM).

Figs 6, 7, 8 respectively. *Cystimyzostomum murrayi*. General view of the myzostome (viewed laterally; SEM), of the parapodium (SEM), and of the cyst it induces at the basis of the arm of a comatulid crinoid individual (OM).

Abbreviations. A: aperture; AA: aboral aperture; AGC: ano-genital cone; AR: arm; BM: body margin; C: cirrus; CW: cyst wall; DP: dorsal body part; I: introvert; OA: oral aperture; P: parapodium; PI: pinnule; S: seta; VB: ventral body part.

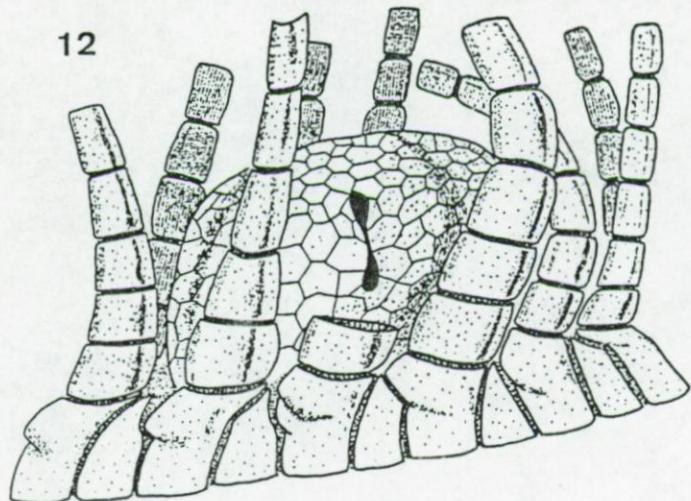


Fig. 12. Drawing of the cyst induced by *C. deformator* as observed *in vivo*

Description of the deformation induced by the parasite (Fig. 8). Individuals of this species provoke a bean shaped cyst at the point of contact between an arm and the tegmen of their host. The cyst is 5 mm long, 3 mm high, and 1.5 mm thick. It is a hollow shelter whose walls include polygonal skeletal plates of 600 µm long. One end of the bean shaped cyst is attached at the base of an arm, the other is free. The cavity of the cyst communicates to the exterior by an ovoid aperture (A) of 300 µm in diameter situated at the free extremity of the cyst.

The large bean shaped myzostome fits exactly into the cavity of the cyst. It certainly cannot move in it. The small ovoid myzostome attaches by its setae on the internal surface of the cyst. It could possibly move in the cyst but never goes out of it.

Remark. Two other myzostomes induce bean shaped cyst on their host: *Cystimyzostomum cysticolum* (Graff, 1884) and *Cystimyzostomum cysticolum* var. *orientale* (Mc. Clendon, 1906). Both these myzostomes occur in couple in the cyst, viz. a large bean shaped individual and a small discoid individual. According to these authors both myzostomes differ mainly from *C. murrayi* by the different shaped cyst they induce on their host. All the three show very slight morphological differences

4. DISCUSSION

The myzostomes we described hereabove can be considered as parasites sensu Kinne (1980). The parasitism is expressed by tissular abnormalities occurring on the crinoid host, mainly at the level of the skeleton. The advantage to the myzostomes is probably afforded by better protection against predators than if they were outside their shelter, and, at least for *C. tenuispinum*, to receive food particles since it is situated near the ambulacral groove which carries them.

C. tenuispinum is the commonest deforming myzostome which occurs on West Pacific stalked crinoids. Among its hosts, two, viz. *S. nobilis* and *S. angulatus*, were collected largely. *C. tenuispinum* is most common on the former than on the latter. A third species of host belonging to the same genus than the two last ones, viz. *S. varians*, was largely collected but was myzostome free. The two other species of myzostomes also live in the West Pacific but are rarer. *C. murrayi* only induces cysts on its host while *C. deformator* is able to induce both galls (Graff 1884) and cysts (present paper).

All three myzostome species live in a shelter, viz. a gall or a cyst, made of deformed host's tissues which is always close to one of the ambulacral groove of the crinoid. This is also true for all the myzostome species which provoke skeletal deformations (see Graff 1884). The site of the myzostome's shelter could be a consequence of the mode of infestation of the parasite. The best known life cycle of a myzostome is that of the North Atlantic ectocommensal *Myzostoma cirriferum* (Eeckhaut & Jangoux 1993b). After having received a spermatophore, the fertilized individual sheds its eggs into the water where they will reach the metatrophic stage (Eeckhaut & Jangoux 1993b). The metatrophicophores are infesting larvae and are caught by the crinoid hosts as food particles: pinnular podia catch the larvae which attach in the ambulacral grooves where they undergo their metamorphosis (Eeckhaut & Jangoux 1993b). A similar mode of infestation for parasitic myzostomes should explain why their shelter is always near an ambulacral groove.

To our knowledge, deformations recorded from fossil crinoids and related to be due to infestations by myzostomes always occur on articles of the stalks. Until now, contemporary myzostomes only provoke deformations on the skeleton of the crinoid's arms and pinnules. The suggestion that the crinoid fossil deformations are due to myzostomes is thus not yet supported by zoological observations.

ACKNOWLEDGEMENTS

I. Eeckhaut is a Research Assistant at the National Fund for Scientific Research. Work supported by a FRFC grant n° 2454991. Contribution of the "Centre Interuniversitaire de Biologie Marine" (CIBIM).

REFERENCES

- Arendt, Y. A. 1985. Biotic relations of crinoids. (In Russian; Engl. summary). Paleont. Zh. 1982 (2): 69-76
- Clark, A. H. 1921. A monograph of the existing crinoids, vol. 1. The comatulids. Part 2. Bull. U.S. natn. Mus. 82(1,2): 795 pp
- Eeckhaut, I. & Jangoux, M. 1993a. Integument and epidermal sensory structures of *Myzostoma cirriferum* (Myzostomida). Zoomorph. 113: 33-45
- Eeckhaut, I. & Jangoux, M. 1993b. Life cycle and mode of infestation of *Myzostoma cirriferum* (Annelida), a symbiotic myzostomid of the comatulid crinoid *Anedon bifida* (Echinodermata). Dis. aquat. Org. 15: 207-217
- Graff, L. von 1884. Report on the Myzostomida collected during the voyage of HMS Challenger during the years 1873-1876. Rep. Scient. Res. Voy. Challenger 1873-1876, Zool. 10: 1-82.
- Jägersten, G. 1940. Zur Kenntnis der Morphologie, Entwicklung und Taxonomie der Myzostomida. Nova Acta Reg. Soc. Scient. Upsala IV 11(8): 1-84
- Jangoux, M. 1990. Diseases of Echinodermata. In O. Kinne (ed) Diseases of marine animals, vol. 3, pp 439-568. Biologische Anstalt Helgoland: Hamburg.
- Kinne, O. 1980. Diseases of marine animals: General Aspect. In O. Kinne (ed) Diseases of marine animals, vol. 1, pp 13-73. Biologische Anstalt Helgoland: Hamburg.
- Mc Clendon, J. F. 1906. The myzostomes of the Albatross expedition to Japan. Bull. Am. Mus. nat. Hist. 22:119-130
- Meyer, D. L. & Ausich, W. I. 1983. Biotic interactions among recent and among fossil crinoids. In M. J. S. Tevesz and P. L. McGall (eds), Biotic interactions in recent and fossil benthic Communities, pp 377-427. Plenum Press, New York
- Sümmer-Traunfels, R. R. von 1926. Myzostomida. In W. Kükenthal, T. Krumbach (eds) Handbuch der Zoologie 3 (1), 132-210. De Gruyter & Co: Berlin, Leipzig.

Fine structure of the spermatophore and intradermic penetration of sperm cells in *Myzostoma cirriferum* (Annelida, Myzostomida)

I. Eeckhaut¹ and M. Jangoux^{1,2}

¹ Laboratoire de Biologie marine, Université de Mons-Hainaut, 19 Ave Maistriau, B-7000 Mons, Belgium

² Laboratoire de Biologie marine (CP160), Université Libre de Bruxelles, 50 Ave Franklin D Roosevelt, B-1050 Bruxelles, Belgium

Received February 12, 1991

Summary. The spermatophore of *Myzostoma cirriferum* is a white V-shaped structure up to ca. 500 µm long. It is formed by a translucent matrix which includes numerous cysts of two types that are very close together and tend to form interlacing twists. According to their contents, three spermatophoral regions can be distinguished: the body with the horns, the foot and the basal disc. The body-horns region forms the upper part of the spermatophore and extends over ca. 400 µm. This region includes mature spermocysts which are formed by one cyst cell each including one to three groups of rolled up spermatozoons. Features of these cyst cells are their great length (up to 25 µm), their euchromatic nuclei each provided with a large nucleolus, their numerous mitochondria and osmophilic vesicles included in the cytoplasm as well as cytoplasmic remnants of the residual bodies of the spermatids. Spermatozoons appear to be well adapted to the intradermic penetration occurring in this species in that all of them possess nuclei provided with dense nuclear grains, a hairpin-bent flagellum and a microtubular palissade. The spermatophore foot is located just below the body and extends over ca. 90 µm. It contains exclusively spermocysts which include one to three abortive germinal cells. They differ also from the previous cysts by their smaller length (ca. 6–10 µm) and their more heterochromatic nuclei. The basal disc is the lower part of the spermatophore. It extends over ca. 10 µm and contains electron-dense vesicles in its upper part and vesicles with fibrillar material in its lower part. When mature myzostomids contact each other, a spermatophore is expelled from one seminal vesicle of the donor myzostomid to the integument of the receiver myzostomid. The vesicles with fibrillar content are the first in contact with the cuticle of the receiver myzostomid. The material they include is supposed to have a histolytic action and to be responsible for the lysis of the cuticle and epidermal cells thus providing a passage for the spermatophore contents. Afterwards, cysts move as a result of the spermatozoons' beating and pass

through the receiver's integument. At the time of penetration, cytoplasmic membranes of the cyst cells merge together forming an enormous syncytium extending into the whole receiver's body. This syncytium surrounds the spermatozoons and the abortive germinal cells. The whole process of intradermic penetration (i.e. from the fixation of the spermatophore to its reduction to an empty matrix) lasts from 1–5 h.

A. Introduction

Myzostomids are peculiar annelids which have been considered as a subtaxon (Wheeler 1896) or as a sister group (Kato 1952) of the polychaetes. All myzostomids described so far are echinoderm symbionts that are either commensals or parasites (Prenant 1959; Jangoux 1987). They differ from regular polychaetes by, e.g. their body shape which is circular, the position of their parapodes which is always ventral and their obligate hermaphroditic condition (Stummer-Traunfels 1926; Prenant 1959; Eeckhaut et al. 1990).

The structure of the myzostomid reproductive system was investigated by Beard (1884, 1898), Wheeler (1896) and Jägersten (1934, 1939) using light microscopic techniques (see also Stummer-Traunfels 1926; Prenant 1959). More recently, the spermatogenesis was studied by Afzelius (1983, 1984) and Mattei and Marchand (1987, 1988) using electron microscopic techniques. Fertilisation in *Myzostoma glabrum* (Leuckart, 1827) was investigated by Wheeler (1898) who reported it to be external. In *M. cirriferum* Leuckart, 1836, and *M. ambiguum* Graff, 1887, fertilisation occurs through a spermatophore that is ejected by one myzostomid (viz. the donor) and attached to another (viz. the receiver) (Jägersten 1939; Kato 1952, respectively). Then, the spermatophore contents penetrate the receiver's body and reach mature oocytes for internal fertilisation, a process classically called "hypodermic injection" (Westheide 1984).

The purpose of the present paper is to investigate the structure of mature spermatophores in *M. cirriferum* and to decipher the different phases of intradermic penetration of the spermatophore contents.

B. Material and methods

Specimens of *M. cirriferum* were collected with their crinoid hosts, *Antedon bifida* (Pennant, 1777), at 10 m depth by SCUBA diving at Morgat (Bay of Douarnenez, Brittany, France) in September and December 1988, and March and May 1989. They were maintained with their hosts for several days in marine aquaria either at the Marine Biological Station at Roscoff (open-circuit aquarium: 7–14°C, 34‰ salinity) or at the Laboratory at Mons (closed-circuit aquarium: 10°C, 32‰ salinity). In vivo observations were made at the Roscoff Station (myzostomids were taken from their hosts by means of small forceps or by aspiration using Pasteur pipettes).

For light microscopy, myzostomids were fixed for 24 h either in Bouin's fluid or in 10% formaldehyde in sea water. Fixed individuals were embedded in paraplast and cut into 7 µm thick sections. Bouin-fixed sections were used for routine histology (Masson Trichrome; de Groat hematoxylin counterstained with phloxin and light green) or for histochemistry (the periodic acid-Schiff technique blocked by acetylation and controlled by desacetylation; the Alcian blue techniques at pH 2.6 blocked by methylation and followed by saponification) according to the procedure of Ganter and Jollès (1969–1970). Formaldehyde-fixed sections were used for the Feulgen reaction.

For TEM study, myzostomids were fixed for 3–24 h at 4°C in a solution of 3% glutaraldehyde in cacodylate buffer (0.1 M, pH 7.3). They were washed in buffer, postfixed for 1 h with 1% osmium tetroxide in 0.1 M cacodylate buffer and washed again in buffer. After dehydration, specimens were embedded in Spurr, sectioned using a LKB V ultramicrotome, contrasted with uranyl acetate and lead citrate and observed with a Philips EM 300 transmission electron microscope. For SEM study, myzostomids were fixed in Bouin's fluid, dehydrated in ethanol, dried by the critical point method, coated with gold and examined with an ISI DS-130 scanning electron microscope.

C. Results

I. In vivo observations

Reproduction in *M. cirriferum* was observed from September to May. It implies that two mature individuals contact each other and that one of them (viz. the donor) ejects a spermatophore that will attach to the integument of the other (viz. the receiver). However, spontaneous emissions of spermatophores were occasionally observed in individuals isolated in dishes with filtered sea water. These myzostomids discharged their spermatophores after a 24–48 h period without any contact with another individual (when placed on their dorsal side, they can expulse a spermatophore on their ventral integument opposite to the active penis). Whatever the case, the donor is always of great length, generally more than 1.0 mm long. It is recognisable by the presence of two seminal vesicles distended by spermatophores. When a myzostomid displaces on its host and meets a partner (the future receiver), it releases a spermatophore by a vigorous contraction of one of the two seminal vesicles. The spermatophore in the other seminal vesicle does not participate

in this process. Contact between the two myzostomids is very brief and the two separate after the emission. The receiver seems to be impregnated by the attached spermatophore and it often utilizes its proboscis in trying to remove it from its integument. The spermatophore generally attaches to the dorsal integument of the receiver but it can be emitted successfully to all parts of the receiver's body (we observed spermatophores attached to either the ventral or the dorsal integument as well as to the cirri or the proboscis). In most cases, receiver individuals had one attached spermatophore, sometimes two. After attachment, the spermatophore pierces the integument and releases all its contents through it. The penetration can be observed in vivo because of the presence of white trails produced by the spermatophore's contents extending into the translucent receiver's body. These trails appear 30 min after the attachment of the spermatophore. At the point of penetration a white mass is formed from which numerous digitations spread out. From 1–5 h following its fixation, the spermatophore is reduced to its matrix while its contents have completely penetrated the receiver's body.

II. Structure of the spermatophore

When attached to the integument of the receiver, the mature spermatophore looks like a white V-shaped basket (Figs. 1, 2, 11A). Its length varies according to that of the donor, with a maximal length of ca. 500 µm. From its largest extremity appear two curved horns each of

Figs. 1–10. *Myzostoma cirriferum*. Fine structure of the spermatophore

Fig. 1. Dorsal view of a receiver myzostomid harbouring a spermatophore (SEM)

Fig. 2. General view of an anchored spermatophore just after its emission (SEM)

Fig. 3. Contact between the spermatophore and the integument (SEM)

Fig. 4. Section through a type A cyst showing the nucleus and the cyst spaces containing spermatozoons (TEM)

Fig. 5. Detailed view of a type A cyst showing the differences between the peripheral (deprived of organelles) and the inner parts of the cytoplasm (TEM)

Fig. 6. Aspect of the two types of vesicles included in type A cysts (TEM)

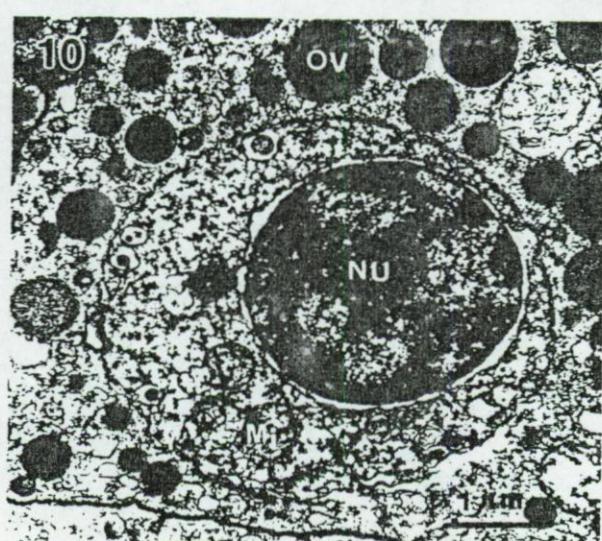
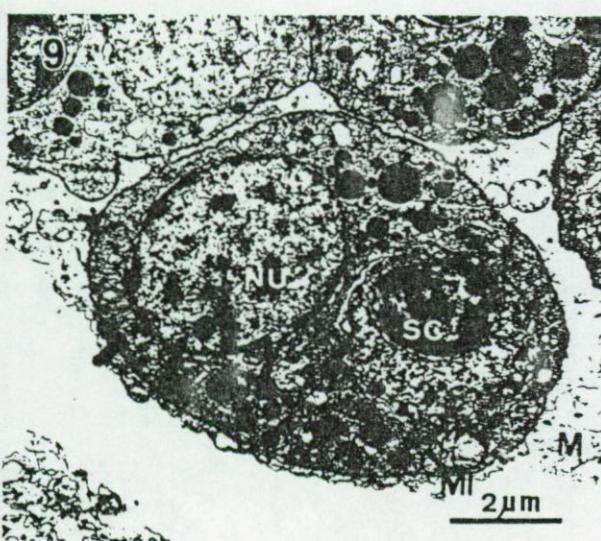
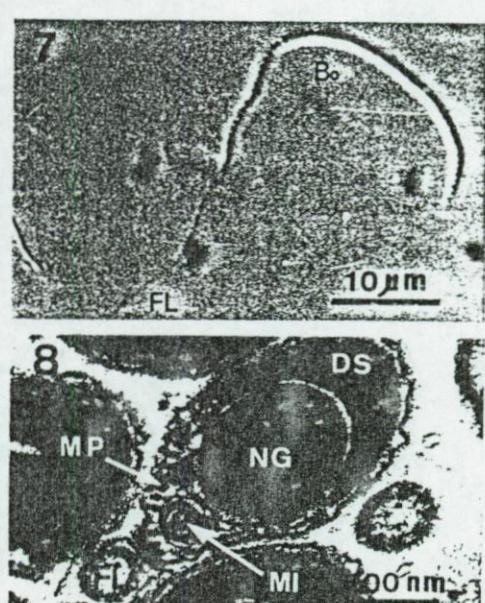
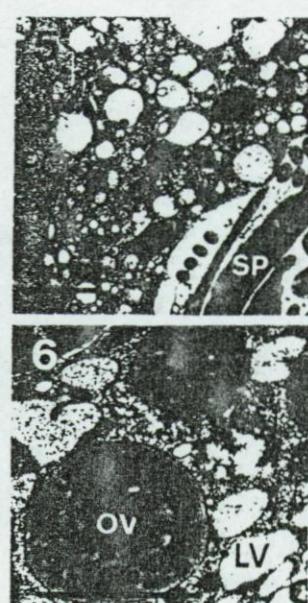
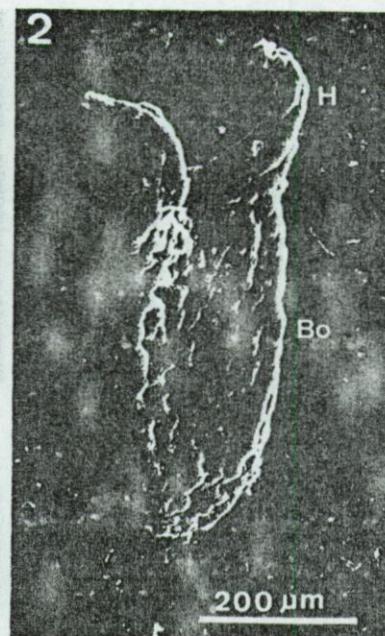
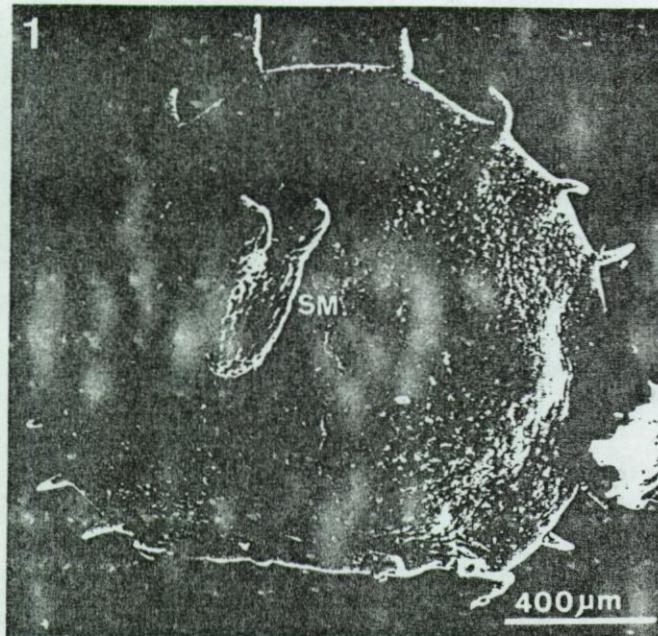
Fig. 7. General view of a spermatozoon (phase contrast microscopy)

Fig. 8. Transverse section through a spermatozoon (TEM)

Fig. 9. Section through a type B cyst showing the nucleus and a cyst space obliterated by a small spherical cell (TEM)

Fig. 10. General view of a small spherical cell showing the heterochromatic nucleus and the vacuolated cytoplasm (TEM)

Abbreviations: BO body; CS cyst space; DS dense structure; FL flagellum; H horn; LV lucent vesicles; M matrix; MI mitochondria; MP microtubular palissade; NG nuclear grain; NU nucleus; OV osmiophilic vesicle; PC peripheral cytoplasm; SC small spherical cell; SM spermatophore; SP spermatozoon; V.A vacuole



ca. 150 µm long. The rest of the spermatophore is 350 µm long and 150 µm (apex) to 30 µm (base) wide; its thickness is ca. 50 µm. The spermatophore is formed by a translucent extracellular matrix which includes numerous white cysts (Figs. 4, 9, 12). The matrix consists of a fibrillar to amorphous material that coats cysts to a thickness of ca. 1 µm. Cysts are very close together and tend to form numerous sinuous chains which interlace with each other. However, contacts between adjacent cysts chains may be absent and thus free spaces occur at some places in the spermatophore. These spaces have no distinct shape nor exact position. They never occur at the level of the horns nor at the base of the spermatophore (Figs. 2, 3).

According to the spermatophoral contents, three regions can be distinguished: the body with the curved horns, the foot and the basal disc (Fig. 11A). The body-horns region forms the upper part of the spermatophore and measures ca. 400 µm in length (Fig. 11B). It includes numerous cysts of the same type (viz. type A cysts) (Fig. 4). Type A cysts consist of a large, almost spherical and hollow cell, the internal wall of which delimits one to three closed and irregularly shaped extracellular spaces. In each of these cyst spaces, a pile of rolled up spermatozoons occurs. The diameter of type A cyst cells may be up to 25 µm but most of them measure about 20 µm. The nucleus, which is ca. 4 µm long, always appears to be highly euchromatic and often contains a large nucleolus (Fig. 4). The peripheral part of the cytoplasm consists of a homogenous fibrillar material which is totally deprived of organelles and is 1–2 µm thick (Figs. 4, 5). The rest of the cytoplasm includes numerous mitochondria as well as two types of vesicles (Figs. 5, 6). Vesicles of the first type are always spherical and measure from 300 nm to 1 µm in diameter (Fig. 6). They are strongly osmiophilic and appear to be padded by an electron-dense material embedded in a less electron-dense one. Their content is PAS-positive and shows a weak affinity with Alcian blue. Vesicles of the second type have no determined form and can be circular, elongated or bilobed (Fig. 6). They measure from 100 to 400 nm in length and include a non-electron-dense fibrillar material. As previously said, each type A cyst cell completely surrounds one to several groups of rolled up spermatozoons that are located in the cyst extracellular spaces. Spermatozoons are elongated cells of ca. 30 µm long and 1.5 µm wide; they are provided with a long flagellum of ca. 70 µm long which has a 9+0 axonemal pattern (Figs. 7, 8). The flagellum arises from one extremity of the cell (viz. the flagellar pole). It bends as soon as it leaves the cell body and borders the latter along its whole length, being attached to the cell membrane through extracellular processes. It ends with a free portion of ca. 40 µm long that arises opposite the flagellar pole of the spermatozoon (Fig. 7). The spermatozoon nucleus is highly elongated and typically includes a series of 40–50 dense nuclear grains (these grains react positively to the Feulgen test) (Fig. 8). One or two enlarged mitochondria and a palissade of 20–22 microtubules run from one spermatozoon pole to the other. Microtubules are located between the nucleus and the cell membrane

in the cytoplasm area facing the attached part of the flagellum (Fig. 8). Opposite to the flagellum is a dense cytoplasmic structure that caps the nucleus over its whole length (Fig. 8). In vivo observations showed that rolled up spermatozoons make continuous movements in their cysts. When dislodged from their cyst and placed in sea water, they swim according to a helicoidal path. Swimming is due to the beating of both the flagellum and the spermatozoon body, the beating of the latter being very vigorous.

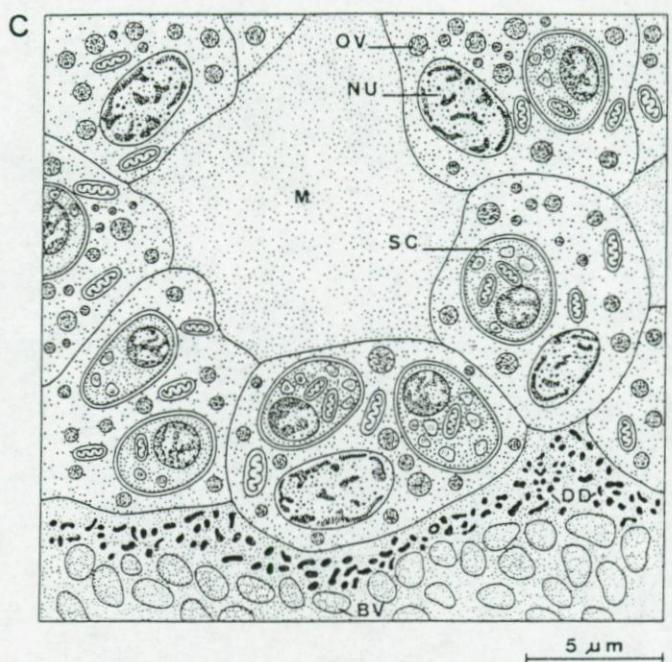
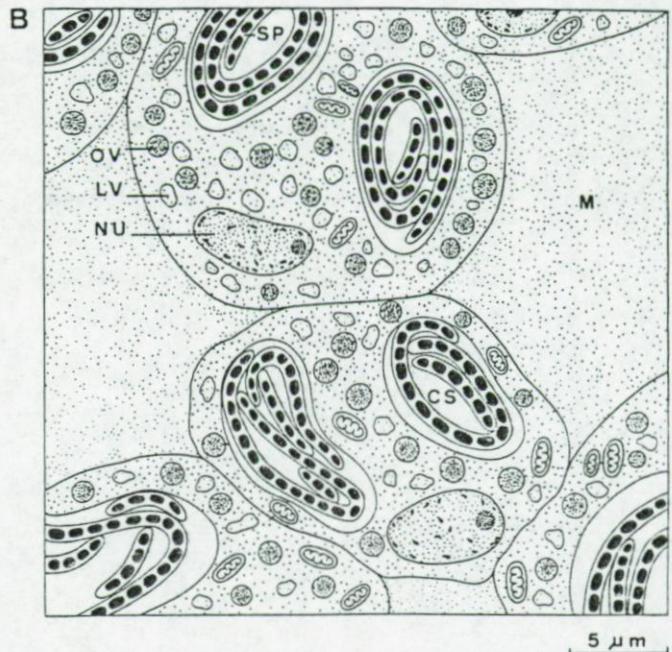
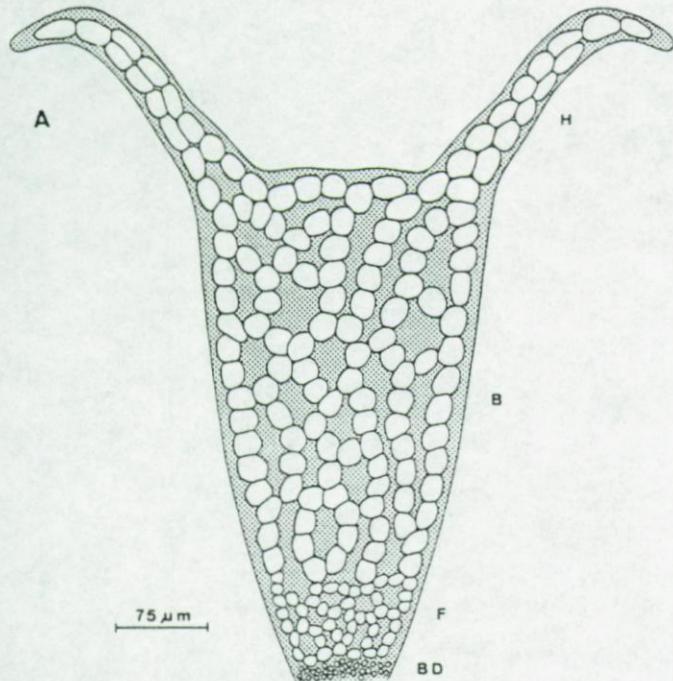
The spermatophore foot extends below the body-horns region for a length of ca. 90 µm (Fig. 11C). The cysts it includes (viz. type B cysts) differ from those of the body-horns region in that they contain small spherical cells instead of rolled up spermatozoons (Figs. 9, 12). Type B cyst cells are spherical to ovoid in shape and measure from 6 to 10 µm in diameter. Their cytoplasm appears identical to that of type A cyst cells except that it does not include vesicles of the second type. Moreover, their nucleus is smaller (2–3 µm), more heterochromatic and never has nucleolus. Each type B cyst cell includes one to three internal extracellular spaces, each of them containing a small spherical cell (Fig. 10). The latter is of ca. 3 µm in diameter and has an eccentric nucleus which is almost totally heterochromatic (Fig. 10). Its cytoplasm includes a few mitochondria and numerous peripheral vacuoles which often contain a dense core (Fig. 10). These vacuoles may be of a great size and may even tear the cytoplasm apart (Figs. 11C, 12).

The basal disc attaches the spermatophore to the receiver's integument (Figs. 11C, 12). It extends over ca. 10 µm. In its upper part, the spermatophore matrix is provided with an electron-dense material that appears in the form of spherical or hemispherical droplets of ca. 400 nm in diameter (Figs. 12, 13). The lower part of the basal disc includes numerous vesicles of 1–4 µm in diameter that have fibrillar contents (Figs. 12, 14). These are located in the spermatophore area that intimately contacts the receiver's body.

III. Intradermic penetration of the spermatophore contents

Four phases can be distinguished in the process of intradermic penetration: fixation, degradation, penetration and expansion. These result in the fertilisation of female gametes by the spermatozoons after they have crossed the receiver's integument. The integument consists of a cuticular epidermis, a dermis and a mesothelial lining (Fig. 15). The cuticle is crossed by numerous epidermal microvilli which end in club-shaped projections. These projections are covered by the thin granular outer layer of the cuticle. The epidermis is very pleated and epidermal cells join together by zonulae adhaerentes and septate junctions. Below the epidermis lies the dermis which extends between the diffused dorsal (female) and ventral (male) gonads.

The fixation phase is when the emitted spermatophore attaches to the receiver myzostomid. Fixation oc-



curs between the basal disc of the spermatophore and the cuticle that covers the epidermis of the receiver (Fig. 3). At the point of contact, the integument is slightly sunken. Ultrathin sections revealed that the membrane of the most basal spermatophoral vesicles (viz. the vesicles with fibrillar content) disappears and that consequently the lower part of the basal disc appears as a single large fibrillar mass (Fig. 16). This mass sends digitations of ca. $1.5 \mu\text{m}$ in length and 300 nm wide which go through the cuticular outer layer and extend into the space separating the club-shaped projections of the microvilli. Some digitations invade the inner layer of the cuticle (Fig. 16).

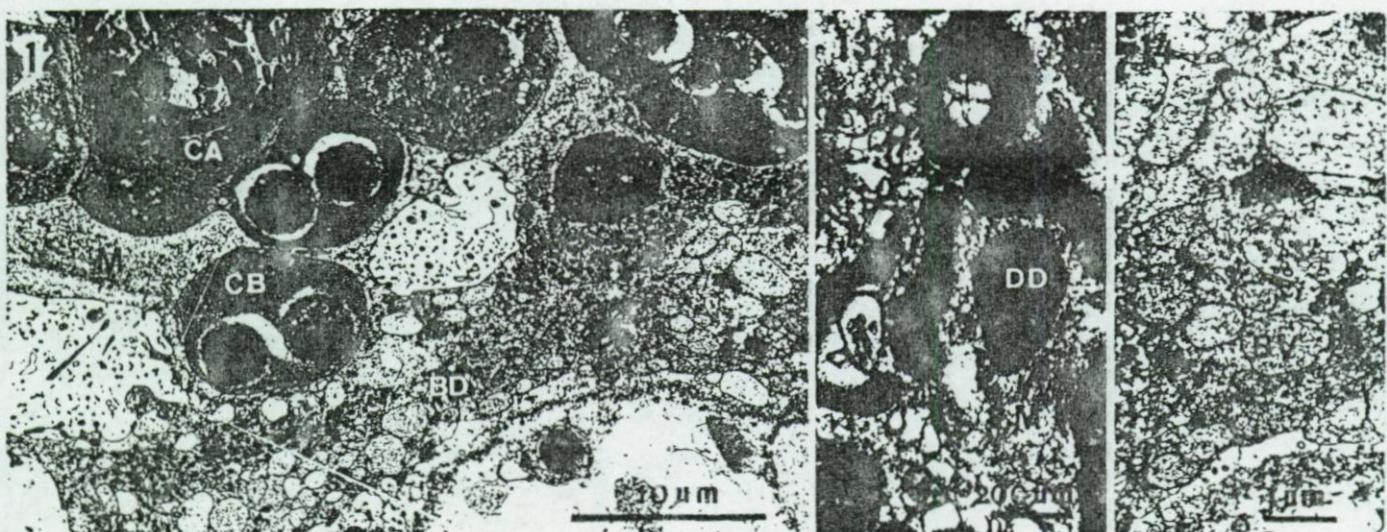
During the degradation phase, the digitations flow through the cuticle and the epidermis (Fig. 16). The cuticle is strongly altered forming button-like structures (Figs. 17, 20). This is due to the overdevelopment of the cuticular inner layer whose fibrillae – which at a normal stage are parallel to the myzostomid surface – no longer have a determinated direction (Fig. 17). Digitations also penetrate epidermal cells (Fig. 18). The cell membrane first invaginates at the point of penetration, forming a narrow apical depression that is obstructed by a digitation. Then the cell membrane at the deepest part of the depression progressively softens, and the digitation enters the cell and tends to merge with the cytoplasm (Fig. 18). Invasion of the dermal layer by the digitations has not been observed.

The penetration phase starts when the contents of the spermatophore pass between the muscular fibres of the dermal tissue. At the very beginning of this phase, the cytoplasmic membrane of all cyst cells (viz. type A and B cells) fuse together and thus there is formed an extremely large syncytium (Figs. 19, 20). The cytoplasm of the syncytium is provided with a thin fibrillar cytoplasmic border deprived of organelles, the remaining cy-

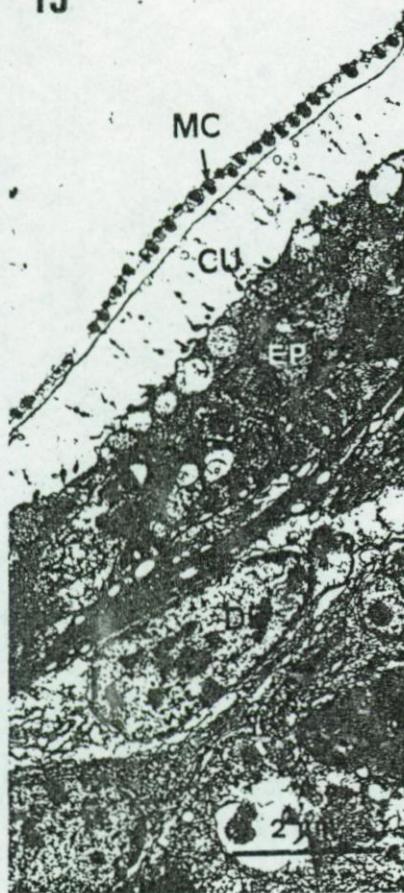
Fig. 11A–C. Spermatophore of *M. cirriferum*: A Drawing of a spermatophore just after emission (in vivo observation); B Structure of type A cysts (body-horns region); C Structure of the lower region of the spermatophore showing type B cysts (foot region) and the two types of vesicles encountered in the basal disc

Abbreviations: B body; BD basal disc; BV basal vesicle; CS cyst space; DD dense droplet; F foot; H horn; LV lucent vesicle; M matrix; NU nucleus; OV osmiophilic vesicle; SC small spherical cell; SP spermatozoon

toplasmic mass being highly vacuolated and still containing osmiophilic vesicles (Figs. 19, 20). Two types of nuclei are present in the syncytium: slightly heterochromatic, non-nucleolated nuclei originating from type B cyst cells and euchromatic nucleolated nuclei originating from type A cyst cells (Figs. 19, 20). The whole syncytium surrounds both spermatozoons, which are no lon-



15



Figs. 12-17. *M. cirriferum*. The basal disc of the spermatophore and its relation with the receiver integument

Fig. 12. Longitudinal section through the basal part of the spermatophore showing the two types of cysts and the basal disc (TEM)

Fig. 13. Upper part of the basal disc showing the dense vesicles (TEM)

Fig. 14. Lower part of the basal disc showing the fibrillar vesicles (TEM)

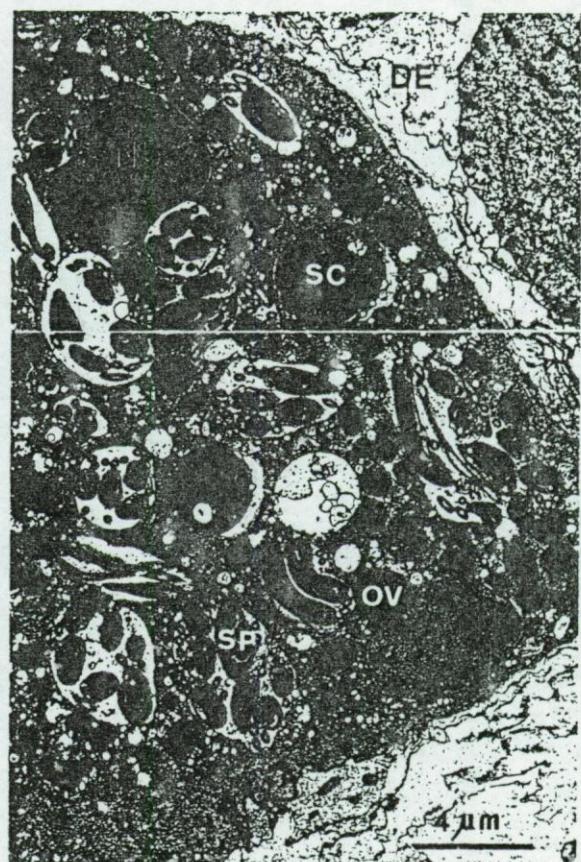
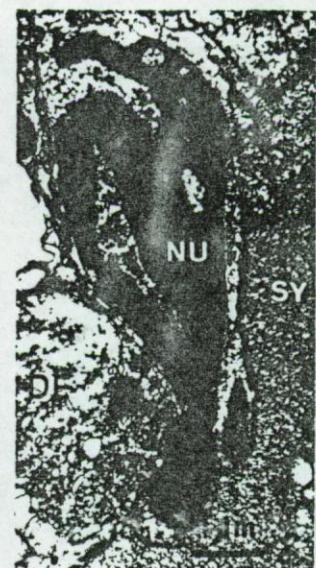
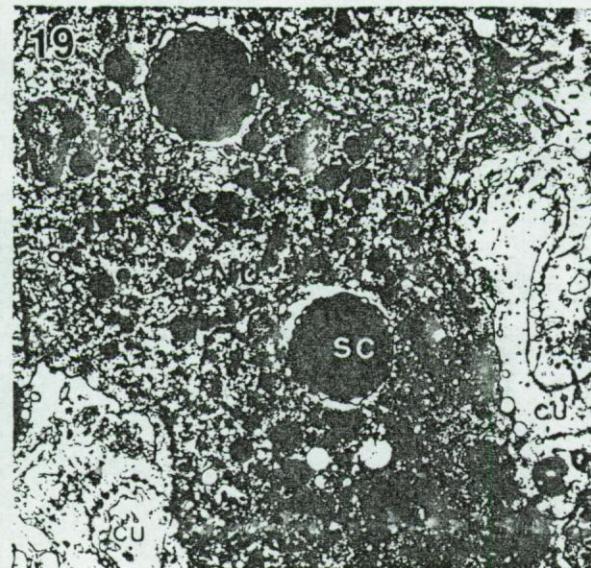
Fig. 15. Transverse section through the dorsal integument showing its normal structure (TEM)



Fig. 16. Cuticle-invading digitations. Some of them curve and lie in the free spaces between microvilli (arrow), others invade the cuticle (TEM)

Fig. 17. Button-like structure formed during the lysis of the cuticle (TEM)

Abbreviations: BD basal disc; BL button-like structure; BV basal vesicle; CA type A cyst; CB type B cyst; CU cuticle; DD dense droplet; DE dermis; DI digitation; EP epidermis; FM fibrillar mass; M matrix; MC microvilli



Figs. 18–22. *M. cirriferum*. Penetration and expansion of the spermatophore contents into the receiver's integument

Fig. 18. Digitation invading an epidermal cell (TEM)

Fig. 19. Penetration of the fused cyst cells (type B cyst cells) into the integument (TEM)

Fig. 20. Penetration of the fused cyst cells (type A cyst cells) into the integument (TEM)

Fig. 21. Degenerating epidermal cell in contact with the syncytium (TEM)

Fig. 22. General view of the syncytium extending into the dermal layer and surrounding small spherical cells and spermatozoons (TEM)

Abbreviations: CU cuticle; D digitation; DE dermis; EP epidermis; NU nucleus; OV osmiophilic vesicles; SC small spherical cell; SP spermatozoon; SY syncytium

ger rolled up, and small spherical cells. At the point of penetration, both the cuticle and the epidermis disappear (Fig. 20), and the epidermal cells in contact with the penetrating syncytium degenerate. Their nuclei are almost entirely heterochromatic and their cytoplasm is highly reduced and deprived of organelles (Figs. 20, 21). Cells of the dermal layer in contact with the syncytium also degenerate and their nuclei appear heterochromatic (Fig. 20).

The expansion phase corresponds to the extension of the whole syncytium into the dermal layer of the receiver (Fig. 22). The fibrillar cytoplasmic border of the syncytium appears to be much thinner than during the penetration phase (Fig. 22). The remaining mass of the cytoplasm has the same aspect as during penetration except that the small spherical cells become more and more torn apart and sometimes only pycnotic nuclei are still visible. As previously said, the whole process from fixation to expansion takes from 1–5 h. By then the spermatophore is reduced to its extracellular matrix which is empty and retracted.

D. Discussion

I. Structure of the spermatophore

The gross structure of the spermatophore of *M. cirriferum* corresponds to that described by Jägersten (1939) for the same species. It differs from the spermatophore of *M. ambiguum* described by Kato (1952) by its different shape (in *M. ambiguum* the spermatophore is club-shaped) and by its greater length (which in *M. ambiguum* is 120–140 µm).

In the body-horns region of the spermatophore, the matrix covers cysts (type A cysts) which correspond to the mature spermocysts mentioned by Jägersten (1934). While spermocysts are not an unusual feature in the testis of invertebrates, they were, however, never reported in those of non-myzostomid annelids (Roosen-Runge 1977). Indeed, in non-myzostomid annelids, developing spermatids are attached to each other by cytoplasmic bridges (viz. the cytophore) and are not surrounded by a cyst cell (Franzen and Rice 1988). Furthermore, the spermatophore of *M. cirriferum* is most peculiar in that it includes spermocysts. As a rule, in other invertebrates that build up spermatophore, cyst cells release their spermatozoons at maturity and then enter a degenerating phase; they do not participate in the formation of the spermatophore (Anderson 1950; Edwards 1961; Roosen-Runge 1977). Cyst cells in the *M. cirriferum* spermatophore probably assume a protecting role for spermatozoons. No obvious nutritive role has been observed but such a role can be suspected by the appearance of the cyst cells. Each of their nuclei is provided with a large nucleolus and the cytoplasm contains numerous mitochondria as well as abundant osmiophilic vesicles which react positively to PAS suggesting that they contain glucidic components. So, they might form the energy reserve required by spermatozoons for intradermic penetration. We also observed in these cyst cells a second type of vesicle which has no particular form

nor fixed length. It is highly probable that these are cytoplasmic remnants of the fragmented residual bodies of the spermatids which appear at the end of spermiogenesis. Spermatozoons of myzostomids, which have been studied mostly by Afzelius (1983, 1984) and Mattei and Marchand (1987, 1988), show some unique features in that they have dense nuclear grains, a hairpin-bent flagellum, a microtubular palissade and no acrosome. Some of these features make spermatozoons very "adapted" for intradermic penetration. The nuclear grains should permit spermatozoons to be more flexible in their movements. They have been considered to be heterochromatin grains (Afzelius 1983, 1984) or proteinaceous grains (Mattei and Marchand 1987, 1988). However, as these grains stain positively to the Feulgen reaction (thus indicating the presence of DNA), we agree with Afzelius (1983) in considering them to be heterochromatin grains. Modifications to the spermatozoon's nuclei have also been reported in interstitial polychaeta which practise intradermic penetration (Westheide 1984). Other facilities are provided by the hairpin-bent flagellum and the microtubular palissade which runs over the whole of the spermatozoon's body and should enable it to make more vigorous movements than the free flagellum. All these facts should probably facilitate a more effective propagation of the spermatophore's contents through the integument.

In the foot region, the matrix covers cysts (type B cysts) which correspond to the so-called podocysts of Jägersten (1934). As mentioned by this author, each podocyst is formed by one great podocyte (viz. the B cyst cell) which includes small podocytes (viz. the small spherical cells). The ultrastructural study of the latter revealed that they show features of abortive cells (pycnotic nuclei, highly vacuolated cytoplasm). As they are included in cysts having the same aspect as spermocysts and as they have with their cyst cell the same relationship as the spermatozoons with their own cyst cell, we may tentatively consider them to be abortive germinal cells. This is reinforced by the fact that type B cysts are present in the testis as spermocysts (Eeckhaut unpublished observations). Degeneration of germ cells is a common phenomenon in animals, and degenerating cells sometimes show a behaviour which suggests that they have become functional components of the reproductive process (Roosen-Runge 1977). In *M. cirriferum*, abortive germinal cells and their cyst cells have an exact position in the spermatophore (viz. the foot). They were never observed in another spermatophoral region and thus it is supposed that they could play a role in intradermic penetration. A similar situation occurs in the rotifer *Asplanchna brightwelli* (which also practises hypodermic impregnation) where atypical degenerating spermatids produce immotile rods which are cellular products of abnormal spermatids filled with microtubules (Koehler and Birk 1966). The function of these rods, which are situated in front of the spermatozoons during emission, may be related to the peculiar mode of reproduction of these animals (Koehler and Birk 1966). At the present time no obvious role can be assigned to the type B cysts in *M. cirriferum*.

The basal disc is the region of the spermatophore which contacts the receiver's integument. The dense vesicles observed in the upper region of the basal disc have never been observed in contact with the cuticle or the epidermis of the receiver during penetration. This could mean that the dense material does not play a role in the penetration. Vesicles similar to those of the lower disc region have been previously reported in a non-myzostomid species, viz. the leech *Placobdella ornata*, where the vesicular material was suggested to be responsible for the lysis of the integument (Damas 1969). In the hypodermic insemination of *Dinophilus taeniatus* (Polychaeta), sperm enters the female via a hole produced by histolytic enzymes (Jägersten 1944). In some species of the genus *Trilobodrilus* (Polychaeta), the hypodermic sperm transmission is probably due to lytic secretions of gland cells of the male genital tract (Westheide 1988). In *M. cirriferum*, the lysis of the integument of the receiver appears to be practiced by the fibrillar material of the basal vesicles of the spermatophore, thus providing a passage for the spermatophoral contents. Accordingly, some interest can be attributed to the position of the type B cysts in that they could protect mature spermocysts from the lytic activity of the basal vesicles and thus keep spermocysts intact. The origin of the two kinds of vesicles is unknown but it is highly probable that they are secreted by some cells of the seminal vesicles in contact with the lower part of the spermatophore when the latter is being built up.

II. Intradermic penetration of the spermatophore contents

Kato (1952) observed a breeding season extending from early summer to late autumn in *M. ambiguum*. In *M. cirriferum* reproduction has been observed to occur in September, December, March and May (Eeckhaut 1989). This suggests it occurs throughout the year. We suggest that two types of action (a histolytic action and a mechanical action) enable sperm cells to flow through the integument. The fixation phase could be due to a single histolytic action as the fibrillar mass pierces the uppermost thin granular layer of the cuticle and invades the free spaces between the apices of the microvilli. The following degradation phase could be due to a duo histolytic-mechanical action, the fibrillar mass penetrating the cuticle and the epidermal cells while the vigorous beating of the spermatozoons act on the cuticle and the epidermis. As the spermatozoons (in their cysts) lie above the supposed histolytic fibrillar mass, their beating could allow the mass to penetrate more deeply into the integument and to accelerate the penetration process and could act on the cell junctions by diminishing the cell cohesion at the point of degradation. The degradation is followed by the penetration and the extension of the syncytium formed by the fused cyst cells. This propagation does not seem to be due to a lytic action on the dermal layer but to the vigorous beating of the spermatozoons. The syncytium probably extends up to the coelomic cavity where the mature oocytes lie by tearing the dermal layer at the point of penetration.

Kato (1952) observed a total penetration of the spermatophore contents of *M. ambiguum* in about 15–20 min. In *M. cirriferum*, we have observed total penetration occurring after 1–5 h.

Intradermic penetration (often called hypodermic penetration) is not peculiar to myzostomids. This has been observed in other invertebrates such as Plathelminthes (Apelt 1969), Gnathostomulida (Sterrer 1974), Polychaeta (Schroeder and Hermans 1975; Westheide 1988), Hirudinea (Harant and Grassé 1959; Amin 1981), Rotifera (Koehler and Birk 1966; Aloia and Moretti 1973), Onychophorans (Cuenot 1949) and Hemiptera (Carayon 1974). Intradermic penetration in *M. cirriferum* is fairly similar to that of some rhynchobellous Hirudinea where lytic action exerted on the cuticle is also present (Damas 1969). However, in *M. cirriferum* spermatophores can attach to all parts of the receiver's body while in Hirudinea spermatophores are generally expulsed to a particular part of the body (viz. the area copulatrix) and the spermatozoons reach the ovary via a channel-like tissue (Harant and Grassé 1959). Intradermic penetration in *M. cirriferum* differs also from other similar penetrations because, here, cysts are active components of the spermatophore and participate in the penetration of the receiver's body.

Acknowledgements. We thank Professor P. Lassere for providing facilities at the Marine Station of Roscoff (Brittany, France) and E. Bricourt, J. Harry and M. Klinert for technical assistance. The work was supported by an IRSIA grant to I. Eeckhaut. Contribution of the "Centre Interuniversitaire de Biologie Marine" (CIBIM).

References

- Afzelius BA (1983) The spermatozoon of *Myzostomum cirriferum* (Annelida, Myzostomida). J Ultrastruct Res 83:58–68
- Afzelius BA (1984) Spermiogenesis in *Myzostomum cirriferum* (Annelida, Myzostomida). Vidensk Medd Dan Naturhist Foren Khobenhavn 145:11–21
- Aloia RC, Moretti RL (1973) Mating behavior and ultrastructural aspects of copulation in the rotifer *Asplanchna brightwelli*. Trans Am Microsc Soc 92:371–380
- Amin OM (1981) Leeches (Hirudinea) from Wisconsin, and a description of the spermatophore of *Placobdella ornata*. Trans Microsc Soc 100:42–51
- Anderson JM (1950) A cytological and cytochemical study of the testicular cyst cells in the Japanese beetle. Physiol Zool 23:308–316
- Apelt G (1969) Fortpflanzungsbiologie. Entwicklungszyklen und vergleichende Frühentwicklung acoeler Turbellarien. Mar Biol 4:267–325
- Beard J (1884) On the life history and development of the genus *Myzostoma* (F.S. Leuckart). Mitt Zool Stat Neapel 5:544–580
- Beard J (1898) The sexual condition of *Myzostoma glabrum* (F.S. Leuckart). Mitt Zool Stat Neapel 13:293–324
- Carayon J (1974) Insémination traumatique hétérosexuelle chez *Xylocoris maculipennis* (Hém. Anthocoridae). C R Acad Sci Paris 278 (D):2803–2806
- Cuenot L (1949) Les Onychophores. In: Grassé P (ed) Traité de Zoologie, vol 6. Masson, Paris, pp 3–75
- Damas D (1969) Origine et structure du spermatophore de *Glossiphonia complanata* (L.) (Hirudinée, Rhynchobellous). Arch Zool Exp Gén 109:79–86
- Edwards JS (1961) On the reproduction of *Prionoplus reticularis*

- (Coleoptera, Cerambycidae) with general remarks on reproduction in the Cerambycidae. J Microsc Sci 102:519–529
- Eckhaut I (1989) Développement et reproduction de *Myzostomum cirriferum* (Leuckart) (Polychaeta, Myzostomidae). Master thesis, Université de Mons-Hainaut, Belgium
- Eckhaut I, Lahaye MC, Jangoux M (1990) Postmetamorphic development of *Myzostomum cirriferum* (Annelida) and effects of the symbiont on its crinoid host, *Antedon bifida* (Echinodermata). In: De Ridder C, Dubois P, Lahaye MC, Jangoux M (eds) Echinoderm research. Balkema, Rotterdam, pp 317–321
- Franzén A, Rice SA (1988) Spermatogenesis, male gametes and gametes interactions. In: Westheide W, Hermans CO (eds) The ultrastructure of polychaeta. Gustav Fischer, Stuttgart New York, pp 309–334
- Ganter P, Jollès G (1969–1970) Histochemistry normale et pathologique, 2 vols. Gauthier-Villars, Paris, 1904 pp
- Harant H, Grassé P (1959) Classe des Annelides Achètes ou Hirudinées ou Sangsues. In: Grassé P (ed) Traité de Zoologie, vol 5. Masson, Paris, pp 471–593
- Jägersten G (1934) Studien über den histologischen Bau der männlichen Geschlechtsorgane und die Ausbildung des Spermiums bei *Myzostomum*. Zool Bidr Uppsala 15:1–22
- Jägersten G (1939) Über die Morphologie und Physiologie des Geschlechtsapparats und den Kopulationsmechanismus der Myzostomiden. Zool Bidr Uppsala 18:163–242
- Jägersten G (1944) Über den Bau des Kopulationsapparates und Kopulationsmechanismus bei *Dinophilus*. Zool Bidr Uppsala 22:61–86
- Jangoux M (1987) Diseases of Echinodermata. III. Agents metazoans (Annelida to Pisces). Dis Aquat Org 3:59–83
- Kato K (1952) On the development of *Myzostoma*. Sci Rep Saitama Univ 1 (1):1–16
- Khoeler KJ, Birky CW (1966) An electron microscope study of the dimorphic spermatozoa of *Asplanchna* (Rotifera). Z Zellforsch 70:303–321
- Mattei X, Marchand B (1987) Les spermatozoïdes des acanthocéphales et des myzostomides. Ressemblances et conséquences phylétiques. C R Acad Sci Paris 305:525–529
- Mattei X, Marchand B (1988) La spermiogénèse de *Myzostomum* sp. (Procoelomata, Myzostomida). J Ultrastruc Res 100:75–85
- Prenant M (1959) Classe des myzostomides. In: Grassé P (ed) Traité de Zoologie, vol 5 (1). Masson, Paris, pp 714–784
- Roosen-Runge EC (1977) The process of spermatogenesis in animals. Cambridge University Press, Cambridge, 214 pp
- Schroeder PC, Hermans CO (1975) Annelida: Polychaeta. In: Giese AC, Pearse JS (eds) Reproduction of marine invertebrates, 3, Annelids and echiurans. Academic Press, New York, pp 1–213
- Sterrer W (1974) Gnathostomulida. In: Giese AC, Pearse JS (eds) Reproduction of marine invertebrates, vol 1, Acoelomate and pseudocoelomate Metazoans. Academic Press, London, pp 345–357
- Stummer-Traunfels RR Von (1926) Myzostomida. In: Küenthal W (ed) Handbuch der Zoologie 3. De Gruyter, Berlin, pp 132–210
- Westheide W (1984) The concept of reproduction in polychaetes with small body size: adaptations in interstitial species. In: Fischer A, Pfannenstiel HD (eds) Polychaete reproduction. Gustav Fischer, Stuttgart New York, pp 265–288
- Westheide W (1988) Genital organs. In: Westheide W, Hermans CO (eds) The ultrastructure of polychaeta. Gustav Fischer, Stuttgart New York, pp 263–280
- Wheeler WM (1896) The sexual phases of *Myzostoma*. Mitt Zool Stat Neapel 12:227–302
- Wheeler WM (1898) The maturation, fecundation and early cleavage of *Myzostoma glabrum* Leuckart. Arch Biol 15:1–77

Development and behaviour of *Myzostoma alatum* and *Pulvinomyzostomum pulvinar*, two myzostomid symbionts of the comatulid *Leptometra phalangium* (Echinodermata)

I.Eeckhaut

Laboratoire de Biologie marine, Université de Mons-Hainaut, Belgium

M.Jangoux

Laboratoire de Biologie marine (CP 160), Université Libre de Bruxelles & Laboratoire de Biologie marine, Université de Mons-Hainaut, Belgium

35343

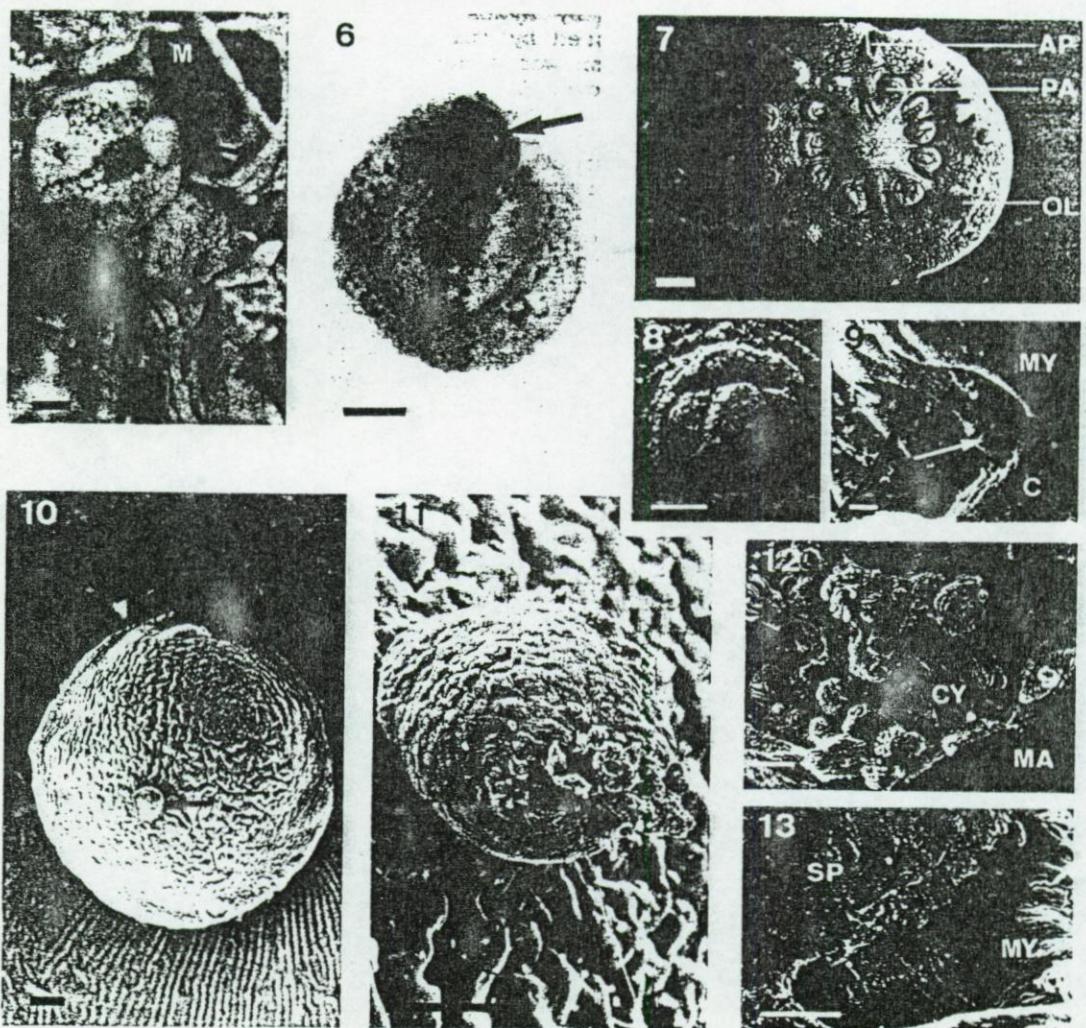
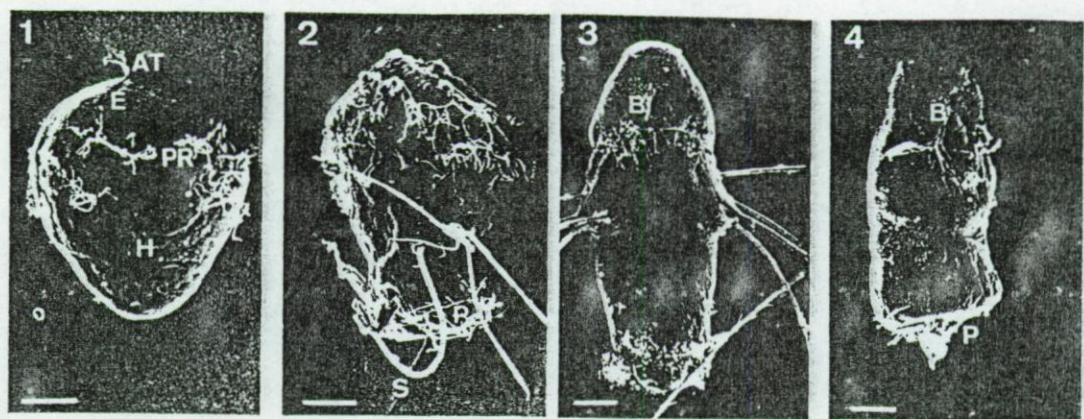
ABSTRACT: *Leptometra phalangium* and its myzostomid symbionts were collected off Banyuls-sur-mer in February 1991. Out of the 204 *L. phalangium* observed, 33 (16 %) were infested by *Myzostoma alatum* (1 to 6 myzostomids per host) and 31 (15 %) were infested by *Pulvinomyzostomum pulvinar* (1 to 2 myzostomids per host). Coinfestation was observed in 2 cases (1 %). Larval, metamorphic and postmetamorphic developments of *M. alatum* as well as its reproductive process have been observed. Pelagic larvae of *M. alatum* develop in metatrochophorae which begin their metamorphosis when they are 7-days old. Two ectosymbiotic postmetamorphic stages have been recognized in *M. alatum*: a male stage (individuals from 0.4 to 1 mm long) and a hermaphroditic stage (individuals from 1 to 2.4 mm long). Hermaphrodites and largest males attached to the tegmen of the host's integument while small males attached to the antero-dorsal part of the hemaphrodites. Two endosymbiotic postmetamorphic stages have been recognized in *P. pulvinar*: a juvenile stage (individuals from 0.6 to 1 mm long) and a female stage (individuals from 3 to 4 mm long). Females totally filled the host' stomach while juveniles loosely attached to either the females (small juveniles) or the host's digestive wall (largest juveniles). Both *M. alatum* and *P. pulvinar* do not cause injuries nor provoke particular reaction of their host (they only divert alimentary particles caught by the comatulids). Each symbiosis could be considered more a commensalism than a parasitism.

1 INTRODUCTION

Myzostomids are aberrant annelids having affinities with polychaetes. One of their most extraordinary features is their intimate association with echinoderms. Indeed, there is no free-living myzostomid, nor any living symbiotically with non-echinoderm hosts (Graff 1877, 1884; Clark 1921; Jangoux 1990). Most of myzostomid species are symbionts of crinoid comatulids, a few live either on or in ophiuroids or asteroids but none of them infests echinoids or holothuroids (Graff 1884, 1887; Fedotov 1916; Jangoux 1990). The great majority of myzostomids are ectocommensals, moving freely on the host body surface (Clark 1921; Stummer-Traunfels 1926). However, some species are ectoparasites

provoking galls or cysts while others are endoparasites living either in the gonads or the coelom of their hosts (Wheeler 1904; Fedotov 1916; Jangoux 1990).

Two myzostomid species were reported to infest *Leptometra phalangium* (J. Müller): *Myzostoma alatum* von Graff which is an ectosymbiont and *Pulvinomyzostomum pulvinar* von Graff which is an endosymbiont of the digestive tract. The aim of the present paper is to investigate the development of *M. alatum* and *P. pulvinar* using electron microscopical technique (SEM) and to characterize the relationships that occur between these myzostomids and their comatulid host.



2 MATERIAL AND METHODS

Individuals of *Leptometra phalangium*, and their myzostomid symbionts, were collected by trawling (100 m depth) off Banyuls-sur-Mer (France) in February 1991. They were maintained in an open-circuit marine aquarium at the Arago Biological Station.

For histological observations (semi-thin sections), myzostomids were fixed for 3 to 24 h at 4°C in a solution of 3% glutaraldehyde in cacodylate buffer (0.1 M, pH 7.3). They were washed in buffer, postfixed for 1 h with 1% osmium tetroxide in 0.1 M cacodylate buffer and washed again in buffer. After dehydration, specimens were embedded in Spurr and cut into 1 µm thick serial sections. Sections were stained in a solution 1:1 of Methylene Blue/Azur II according to the method of Humphrey & Pittman (1974).

Figs 1 to 13. *Myzostoma alatum*. Figs 1 to 4. SEM views of larvae of 2, 3, 5 and 7 days old, respectively. Figs 5 to 9. OM and SEM views of postmetamorphic stages: male and hermaphrodite observed in situ (Fig. 5; arrow indicates the male individual) and separated from their host (Fig. 6; arrow indicates the male individual); ventral side of a hermaphrodite (Fig. 7) with details of a lateral organ (Fig. 8) and of a parapodium clinged to the host's integument (Fig. 9; arrow indicates the parapodium). Figs. 10 to 13. SEM views of an attached spermatophore: view of the just emitted spermatophore attached to the dorsal part of a myzostomid receiver (Fig. 10; arrow indicates the spermatophore); structure of the spermatophore (Fig. 11), and details of its content (Fig. 12) and of its point of attachment with the surface of the receiver (Fig. 13). Thin bar= 10 µm; coarse bar= 250 µm
Abbreviations: A, arm; AP, aperture of the proboscis; AT, apical tuft; B, buccal aperture; C, comatulid; CY, cyst; E, episphere; H, hyposphere; M, mouth; MA, matrix; MY, myzostomid; OL, lateral organ; P, pygidium; PA, parapodium; PR, prototroch; S, seta; SP, spermatophore

SEM observations were done on myzostomids fixed in Bouin's fluid for 24 h. They were dehydrated in graded concentrations of ethanol and dried by the critical point method using CO₂ as transition fluid. Pieces were mounted on aluminium stubs, coated with gold in a sputter coater and observed with a Philips 515 scanning electron microscope.

Larvae of *M. alatum* were obtained from layings of fertilized myzostomids previously separated from their hosts. Eggs were transferred in Petri dishes filled with filtered sea water (0.2 µm) containing streptomycin sulfate (40 mg/l). The dishes were gently agitated and the water was changed every day. After five days, the larvae were transferred into dishes capped with a 0.8 µm filter and placed in an aquarium tank (open-circuit aquarium).

3 RESULTS

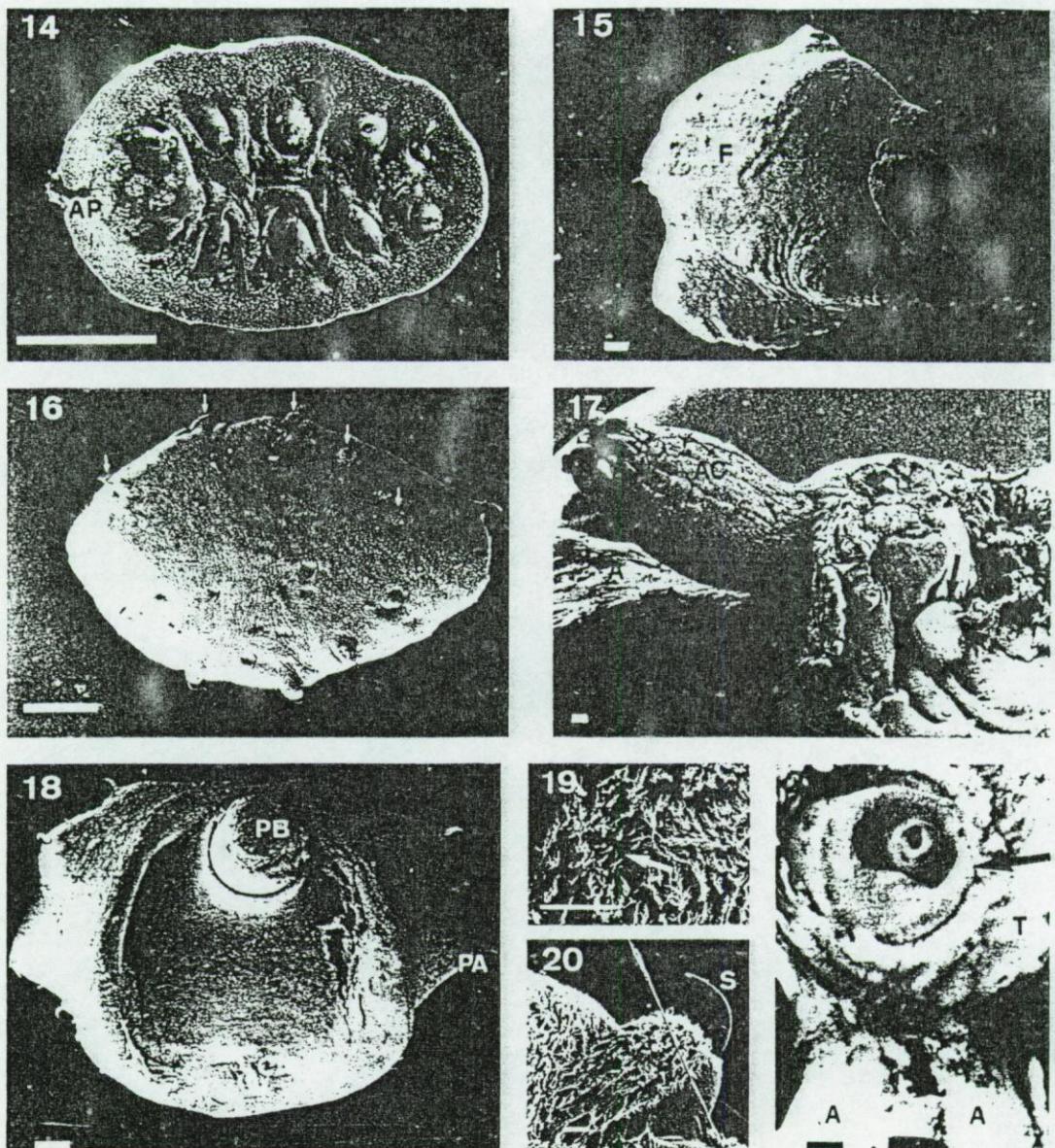
Out of the 204 *Leptometra phalangium* observed 64 (31 %) of them were infested by either *Myzostoma alatum* or *Pulvinomyzostomum pulvinar*. Among them, 33 (16 %) were infested by *M. alatum* (infestation rate: 1 to 6 myzostomids per host) and 31 (15 %) were infested by *P. pulvinar* (infestation rate: 1 to 2 myzostomids per host). Coinfestation was observed in 2 cases (1%).

3.1 Observations on *Myzostoma alatum*

A. Larval development and metamorphosis

The larvae were maintained alive until 7 days after laying. From the first to the sixth day, larvae are very motile: they turned on themselves and went forward making a counter-clockwise spiral movement. After 6 days, larvae became less motile and started to metamorphose.

The 2-days old larva is pear-shaped and measures ca 40 µm long (Fig. 1). It has a prototroch made of successive ciliary tufts (up to 30 cilia per tuft). The prototroch divides the larval body into an episphere (including an apical tuft) and a hyposphere (Fig. 1). The 3-days old larva measures 60 µm long (Fig. 2). It has two groups of setae



Figs. 14 to 21. *Pulvinomyzostomum pulvinar*. Figs 14, 15. SEM views of small juveniles: ventral side of a small juvenile (Fig 14) and its localization on the female as observed in situ (Fig 15). Figs 16, 17. SEM views of large juveniles: ventral side of a large juvenile (Fig 16; arrows indicate parapodia) and its localization in the host's stomach after dissection of the comatulid (Fig. 17). Figs 18 to 21. OM and SEM views of females: dorsal side of a female (Fig. 18) with

details of a lateral organ (Fig. 19; arrow indicates the lateral organ) and of a parapodium (Fig. 20); localization of *P. pulvinar* in the host's stomach after dissection of the comatulid (Fig. 21; arrow indicates the female individual). Thin bar= 10 μ m; coarse bar= 200 μ m. Abbreviations: A, arm; AC, anal cone; AP, aperture of the proboscis; CA, cloacal aperture; CG, calicinal groove; F, female individual; J, juvenile individual; PA, parapodium; PB, proboscis; S, seta; T, tegmen.

(5 setae per group, length of setae: ca 20 μm long) located on both sides of the hyposphere, and a posterior pygodium which is retractile and surrounded by a telotroch (Fig. 2). The 5-days old larva is 80 μm long (Fig. 3). A buccal aperture occurs ventrally on the episphere (Fig. 3). The setae are 150 μm long and the pygodium, when protracted, is 25 μm long. The 7-days old larva is a metamorphic larva. It measures 80 μm long and has lost all the setae and some of its cilia (Fig. 4).

B. Postmetamorphic development and behaviour

Histological observations allow the recognition of two postmetamorphic stages, viz. a male stage (individuals from 0.4 to ca 1 mm long) and a hermaphroditic stage (individuals from ca 1 mm to 2.4 mm long). Postmetamorphic individuals are translucent animals sometimes having a dorsal sagittal strip of orange colour punctuated by small black patches (Figs. 5, 6). The rest of the dorsal surface is punctuated by black and orange patches. Their relative transparency makes possible *in vivo* observations of internal organs such as the digestive tract and the highly developed digestive caeca, and the paired seminal vesicles in which white germinal products accumulate. Whatever their length, they all show the same external structure. The body is ovoid and dorso-ventrally pleated (Fig. 5, 6, 7). Tufts of epidermal cilia occur all over the body surface while external organs are located either on the ventral side of the animal (most organs) or at the level of the body margin (10 pairs of very small cirri observed on living animals). *M. alatum* has an antero-ventral retractile proboscis whose length, when extended, can reach up to 800 μm (for the largest individuals). The entire proboscis can retract into an antero-ventral cavity (Fig. 7). The anal aperture and the female genital pore are postero-ventral and open opposite to the mouth. Ten parapodia (5 pairs) are located ventrally forming a cercle at ca 600 μm from the body margin (Fig. 7). Each parapodium includes a circular fold of ca 100 μm in diameter at the center of which protrudes a curved seta of 100

μm long (Fig. 9). Four pairs of extensible lateral organs alternate with parapodia and lie at 300 μm from the body margin; their shape changes from slit-like (when retracted) to button-like (when protracted) (Figs. 7, 8). At the level of the third pair of parapodia open two penial apertures (next to the body margin).

All postmetamorphic stages of *M. alatum* are ectosymbionts of *L. phalangium*. The largest males and all the hermaphrodites are attached on the host's tegmen, their anterior part close to the mouth of the comatulid (Fig. 5). When the infestation is high, the tegmen (including the anal cone) is totally covered by myzostomids. Smaller males are not on the host itself but are attached to the antero-dorsal part of the body of hermaphrodite individuals (Fig. 6). Whatever the stage, individuals are totally motionless with their parapodial setae clinged to the host's or the hermaphrodite's integument (Fig. 9). In trying to remove myzostomids from comatulids, we always injured them as their setae remain driven in the host's body. The only movement is that of the proboscis which is very motile and is - most of the time - protracted and directed into the mouth aperture of the host.

C. Reproductive process

The reproduction of *M. alatum* begins by the emission of a spermatophore from one individual to the integument of another, and continues by the intradermic penetration of the spermatophore content. To observe the process, we separated several myzostomids from their hosts and provoke the contact of individuals in Petri dishes. When two *M. alatum* touch each other, one of them (viz. a myzostomid having one of its two lateral seminal vesicles full of germinal products) ejects a spermatophore that attaches to the integument of the other (Fig. 10). The length of the donor was always between 1.3 to 1.8 mm long while that of the receiver was always greater than 1 mm.

In vivo, the spermatophore looks like a white ovoid basket with a free tapered extremity (opposite to the adhesive point). The length of the spermatophore is of 300 to 500

μm and its diameter of 100 to 200 μm (Fig. 11). The attached spermatophore is composed of a thin fibrillar matrix surrounding numerous cysts (Fig. 11, 12). Each cyst (ca 15 μm in diameter) is formed by one cyst-cell surrounding numerous curled spermatozoons (Fig. 12). The spermatophore is attached to the integument by its basis thanks to numerous fibrillar processes (1 to 5 μm long) emanating from the spermatophore matrix (Fig. 13). Two hours after attachment, the spermatophore is highly reduced and its content has penetrated through the receiver's body.

3.2 Postmetamorphic development and behaviour of *Pulvinomyzostomum pulvinar*

Histological observations allow the recognition of two postmetamorphic stages, viz. a juvenile stage (individuals from 0.6 to 1 mm long) and a female stage (individuals from 3 to 4 mm long). Individuals measuring from 1 to 3 mm long were not observed.

Juveniles are white and translucent animals. Small juveniles are ovoid in shape and dorso-ventrally pleated (Fig. 14). Their dorsal surface is totally ciliated while their ventral surface is ciliated over a band of 100 μm all around the body margin (Fig. 14). At the most anterior part opens the proboscis aperture. Ten parapodia (five pairs) are situated ventrally, each at ca 200 μm from the body margin. Each parapodium is an integumental cone of 50 μm long. At the apex of each cone protrudes a curved setae of 30 μm long (Figs. 14, 20). Six to ten pairs of small slit-like lateral organs occur within the ventral ciliary band (Fig. 19). Large juveniles are pleated on themselves with their lateral margins folded and covering partly the dorsal surface of the individual (Fig. 16). Their external features are similar to that of small juveniles, but their ventral and dorsal surfaces are entirely ciliated.

Females are orange, pink or red. Their body is wider than long with the body lateral margins covering partly the dorsal surface of the individual (Figs. 18, 21). They have

an antero-dorsal aperture through which the proboscis can protrude and a posterior cloacal aperture (Figs. 18, 21). Five pairs of parapodia and 6 to 10 pairs of lateral organs occur on the ventral surface (Figs. 19, 20).

All postmetamorphic stages of *P. pulvinar* are endosymbionts of the digestive tract of *L. phalangium*. Female individuals totally fill the stomach of their host with their ventral surface facing the stomach wall (Fig. 21). The female lies in such a way that its posterior part is situated near the mouth while its anterior part (i.e. the one including the proboscis) is in the most basal region of the stomach (Fig. 21). The female is loosely attached to the host's gut and the parapodial setae are not driven in it (after dissection of the host, the myzostomid can be removed from the stomach without being injured). Juveniles are attached either to the ventral surface of a female (small juveniles; Fig. 15) or directly to the host's stomach (large juveniles; Fig. 17). As for females, juveniles are loosely clinged and can be easily dislodged.

4 DISCUSSION

Until now, the larval development of myzostomids was investigated in three species, viz. *Myzostoma parasiticum* Leuckart and *Myzostoma cirriferum* Leuckart (Jägersten 1939 a) and on *Myzostoma ambiguum* Graff (Kato 1952). The larval development of *M. alatum* confirms the observations of the previous authors. In the four studied species, early larvae are pear-shaped and evolve in metatrochophora larvae having paired setae (the number of setae varies according to the species), a posterior retractile pygidium and a ventral buccal aperture. In our observations, larvae died after seven days. As metamorphosis in larvae of symbiotic invertebrates is often upon the dependance of chemical stimuli emanating from the host (Lewis 1978; Chia 1978), it is most probable that larvae of *M. alatum* need to contact *L. phalangium* during their development to ensure complete metamorphosis.

One of the strange feature we observed during the postmetamorphic

development of the two investigated species of myzostomids is the association between early and late stages (i.e. male and hermaphroditic stages in *M. alatum* and juvenile and female stages in *P. pulvinar*). This association was previously observed by Beard (1884) and Wheeler (1896) for the two same species and for the species *M. parasiticum*. It should be noticed that, in the case of *P. pulvinar*, these authors indicate that the association concerns a male and a female individual while, according to our observations, the small individuals associated with the females are juveniles (i.e. they do not possess mature male gametes). Beard (1884) reported that, in the three species, "small associated males" do not develop any more and stay in the male stage until they die, while according to Wheeler (1896), "small associated males" develop in hermaphrodites or, in the case of *P. pulvinar*, first in hermaphrodites and then in females. In *P. pulvinar*, we have observed an evolution of the juvenile external structure which, from a dorso-ventrally pleated body, evolves to a female-shaped body (i.e. with the body margins covering partly the dorsal part of the myzostomid). This agrees with Wheeler's observations.

The peculiar myzostomid reproductive process has been described in *M. ambiguum* (Kato 1952) and *M. cirriferum* (Jägersten 1939 b; Eeckhaut & Jangoux in press). The time of penetration of the spermatophore content varies according to the species: it is short (15 minutes) in *M. ambiguum* (Kato 1952) while lasting more than one hour in *M. cirriferum* (Eeckhaut & Jangoux in press) and *M. alatum* (present observation). The structure of the spermatophore of *M. alatum* slightly differs from that of *M. cirriferum*. In the latter species, the spermatophoral matrix coats all cysts (Eeckhaut & Jangoux in press) while in *M. alatum*, the spermatophoral matrix forms a kind of basket that surrounds the cysts (i.e. the matrix does not coat all cysts but only the most peripheral ones). Neither male nor hermaphroditic individuals of *P. pulvinar* were observed during the sampling period (February 1991) and we were consequently unable to

observe its reproductive process.

The mode of feeding of the two myzostomids is well adapted to that of the host. The latter catches particles in the water column and particles flow in the ambulacrinal grooves to the mouth. Alimentary particles are then diverted by myzostomids: *M. alatum* pumps them in emitting its proboscis into the mouth while *P. pulvinar* lies in the stomach in such a way that alimentary particles first arise at the level of its postero-dorsal part and afterwards flow to its antero-dorsal part where the proboscis lies. *L. phalangium* shows no pathological sign due to the myzostomid infestation and none of these myzostomids could be mentioned as true parasite, the association between each of these myzostomid species and *L. phalangium* being more a commensalism. *M. alatum* is strongly clinged to its host by its setae but it does not provoke injury and the host reaction is weak: there is no formation of cyst or gall by the comatulid. The symbiosis between *L. phalangium* and *P. pulvinar* is at the limit between commensalism and parasitism. Indeed, if *P. pulvinar* does not provoke injury, it can not only divert a great part of the alimentary particles of the host but it also reduces greatly the functional surface of the host's digestive tract. This should presumably disturb the digestion and absorption processes of the comatulid.

5 ACKNOWLEDGEMENT

We would like to thank Prof. A. Guille for providing facilities at the marine Station Arago at Banyuls-sur-mer (France); J. Harray and J. Cillis for technical assistance. Work supported by an IRSIA grant to I. Eeckhaut. Contribution of the "Centre Interuniversitaire de Biologie Marine (CIBIM)".

6 REFERENCES

- Beard, J. 1884. On the life history and development of the genus *Myzostoma* (F.S. Leuckart). *Mitth Zool. Stat. Neapel.* 5: 544-580.
- Chia, F.-S. 1978. Perspectives: Settlement and metamorphosis of

- marine invertebrate larvae. In F.-S. Chia & M. E. Rice (eds), Settlement and Metamorphosis of marine Invertebrate Larvae, 283-285. Elsevier: New-York.
- Clark, A. H. 1921. A monograph of the existing crinoids. The comatulids. Bull. U.S. natn. Mus. 82: 795 pp
- Eeckhaut, I; Lahaye M. C. & Jangoux, M. 1989. Postmetamorphic development of *Myzostomum cirriferum* (Annelida) and effects of the symbiont on its crinoid host, *Antedon bifida* (Echinodermata). In C. De Ridder, P. Dubois, M.-C. Lahaye & M. Jangoux (eds), Echinoderm Research, 317-321. Balkema: Rotterdam.
- Eeckhaut, I & Jangoux, M. in press. Fine structure of the spermatophore and intradermic penetration of sperm cells in *Myzostoma cirriferum* (Annelida, Myzostomida). Zoomorphology.
- Fedotov, D. M. 1916. On the parasitism of *Protomyzostomum* in *Gorgonocephalus eucnemis*. Zool. Zh. SSSR. 1: 161-218 (in Russian with English summary)
- Graff, L. von 1877. Das genus *Myzostoma* (F.S. Leuckart). Leipzig: 79 pp.
- Graff, L. von 1884. Report on the Myzostomida collected during the voyage of HMS Challenger during the years 1873-1876. Scient. Rep. Challenger Exped. 10: 1-82.
- Graff, L. von 1887. Report on the Myzostomida. Supplement. Scient. Rep. Challenger Exped. 20: 1-16.
- Grygier, M. J. 1988. Unusual and mostly cysticolous crustacean, molluscan and myzostomid associates of echinoderms. In R. D. Burke, P. V. Mladenov, P. Lambert & R. L. Parsley (eds), Echinoderm Biology, 775-784. Balkema: Rotterdam.
- Humphrey, C. D. & Pittman, F. E. 1974. A simple methylene blue-azure II-basic fushin stain for epoxy-embedded tissue secretions. Stain. Technol. 49: 9-14.
- Jägersten, G. 1939 a Zur Kenntnis der Larvenentwicklung bei *Myzostomum*. Arkiv f. Zool. 31: 1-21.
- Jägersten, G. 1939 b. Ueber die Morphologie und Physiologie des Geschlechtapparats und den Kopulationsmechanismus der Myzostomiden. Zool. Bidrag Uppsala 18: 163-242.
- Jangoux, M. 1990. Diseases of Echinodermata. In O. Kinne (ed) Diseases of marine animals, vol. 3, 439-568. Biologische Anstalt Helgoland: Hamburg.
- Kato, K. 1952. On the development of *Myzostoma ambiguum*. Scien. Rep. Saitama Univ. 1: 1-16.
- Lewis, C. A. 1978. A review of substratum selection in free-living and symbiotic cirripeds. In F.-S. Chia & M. E. Rice (eds) Settlement and metamorphosis of marine Invertebrate Larvae, 207-218. Elsevier: New-York.
- Stummer-Traunfels, R. R. Von 1926. Myzostomida. In W. Kükenthal (ed) Handbuch der Zoologie 3 (1), 132-210. De Gruyter & Co: Berlin, Leipzig.
- Wheeler, W. M. 1896. The sexual phases of *Myzostoma*. Mitth. Zool. Stat. Neapel 12: 227-302.
- Wheeler, W. M. 1904. A new *Myzostoma*, parasitic in starfish. Biol. Bull. 8: 75-80.

35344

Life cycle and mode of infestation of *Myzostoma cirriferum* (Annelida), a symbiotic myzostomid of the comatulid crinoid *Antedon bifida* (Echinodermata)

I. Eeckhaut¹, M. Jangoux^{1, 2}

¹Laboratoire de Biologie marine, Université de Mons-Hainaut, 19 ave. Maistriau, B-7000 Mons, Belgium

²Laboratoire de Biologie marine (CP 160/15), Université Libre de Bruxelles, 50 ave. F. D. Roosevelt, B-1050 Bruxelles, Belgium

ABSTRACT: Eight different stages succeed one another in the life cycle of the myzostomid *Myzostoma cirriferum*, viz. the embryonic stage, 4 larval stages, and 3 postmetamorphic stages. Fertilization is internal. Embryogenesis starts after egg laying and takes place in the water column. Ciliated protrochophores and trochophores are free-swimming. Ciliated metatrochophores (i.e., 3 d old larvae) bear 8 long denticulate setae and form the infesting stage. They infest the host *Antedon bifida* through the feeding system of the latter: they are treated by hosts as food particles and are caught by the host's podia. By means of their setae, metatrochophores attach on the host's podia and are driven by the latter in the pinnule groove where they eventually attach and undergo metamorphosis. Juveniles and early males remain in the pinnules. They attach to the ambulacrual groove through parapodial hooks and produce localized pinnular deformations. Late male and hermaphroditic individuals move freely on their host. They occur outside the ambulacrual grooves and are located respectively on the pinnules, the arms or the upper part of the calyx of the host, depending on their stage and size. The success of the *Myzostoma cirriferum-Antedon bifida* symbiosis is ensured by the usually high density of the hosts' populations, the way the myzostomids reproduce (reproduction occurs year-round) and their effective mode of infestation.

INTRODUCTION

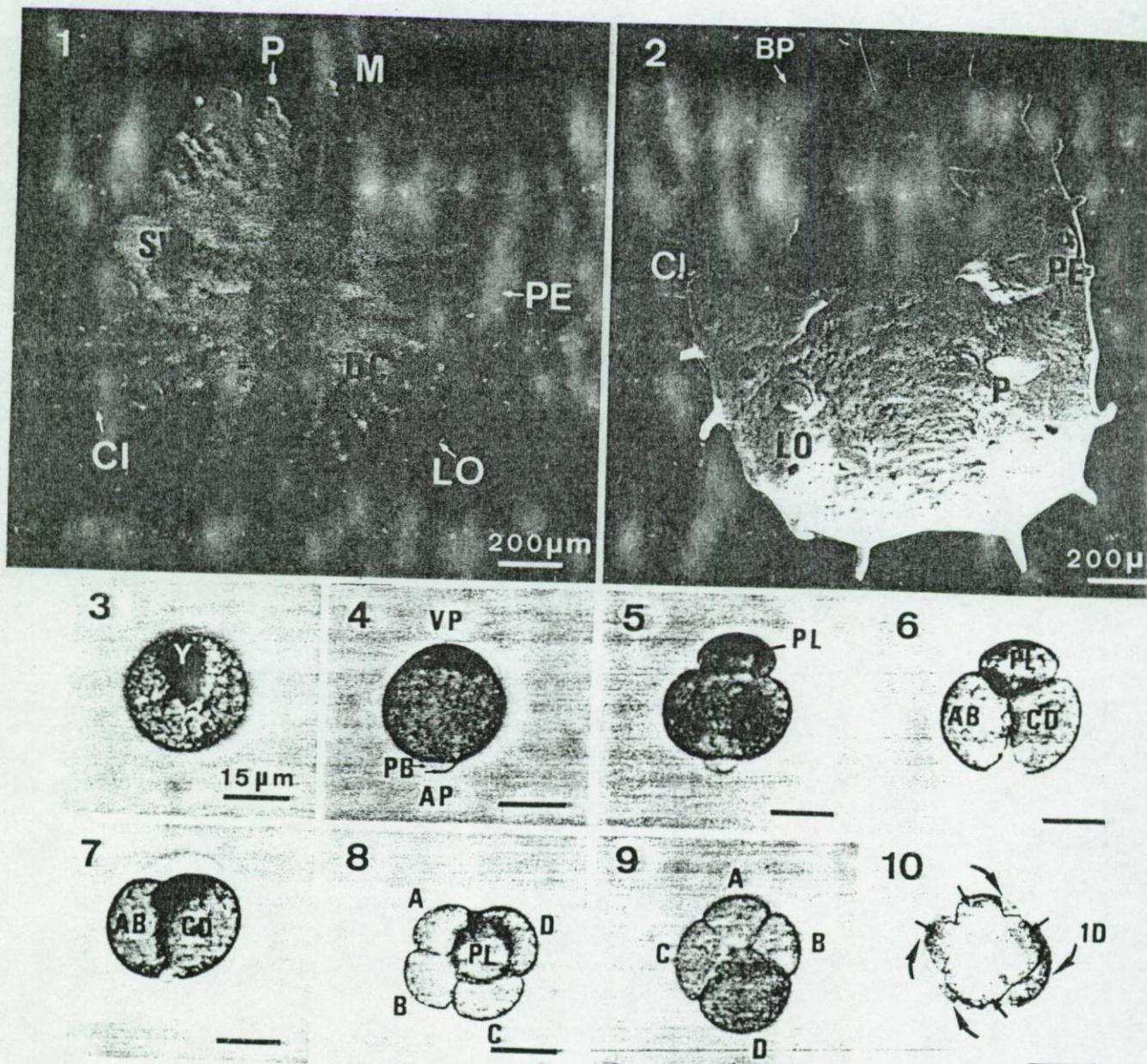
Myzostomids are tiny invertebrates having affinities with polychaetes (Wheeler 1896, Kato 1952). There are more than 120 species which are all obligatory symbionts of echinoderms, most of them being associated with crinoids (Grygier 1990, Jangoux 1990). Until recently, reports on the myzostomid life cycle were very limited, the most complete being those of Jägersten (1939, 1940) on *Myzostoma cirriferum* Leuckart, 1836 and Kato (1952) on *Myzostoma ambiguum* Graff, 1887. During the last few years, SEM and TEM observations were performed on myzostomids but they focused on one or a few particular developmental stages and never traced the entire life cycle (Grygier 1988, 1989, Eeckhaut et al. 1990, Eeckhaut & Jangoux 1992). Moreover, the specificity of the symbiosis (Jangoux 1990) as well as the usually high levels of infestation

(Clark 1921, Jägersten 1940) suggest that myzostomids have a very well host-adapted mode of infestation, which is unknown.

The aim of the present paper is to detail the entire life cycle of *Myzostoma cirriferum* Leuckart, 1836 – viz. from fertilized eggs to fully developed individuals – with special emphasis on the mode of infestation of its comatulid host, *Antedon bifida* (Pennant, 1777).

MATERIALS AND METHODS

Adult *Myzostoma cirriferum* and their host *Antedon bifida* were collected by scuba-diving at Morgat (Brittany, France), from January 1990 to December 1991. The hosts were located on a pile of concrete blocks at a depth of 3 to 10 m, where they formed a



Figs. 1 to 10. *Myzostoma cirtiferum*. Adult morphology and early embryogenesis. Fig. 1. OM view of the dorsal surface of an adult individual. Fig. 2. SEM view of the ventral surface of an adult individual. Fig. 3. Just-emitted egg. Fig. 4. Egg with 2 polar bodies. Fig. 5. Formation of the 2-blastomere stage (appearance of the first polar lobe). Fig. 6. Division in the non-polar part of the egg. Fig. 7. Resorption of the first polar lobe. Fig. 8. Embryo before resorption of the second polar lobe. Fig. 9. Embryo after resorption of the second polar lobe. Fig. 10. 8-blastomere stage (arrows indicate blastomeres). AP: animal pole; BP: buccal papilla; CI: cirrus; DC: digestive caeca; I: introvert; LO: lateral organ; M: mouth; P: parapodium; PE: penis; PB: polar body; PL: polar lobe; SV: seminal vesicle; VP: vegetal pole; Y: yolk

dense population of up to 1000 ind. m^{-2} (Lahaye & Bulteel 1987).

The comatulids and their symbionts were maintained in an open-circuit aquarium at the Biological Station of Roscoff (7 to 18 °C – depending on the time of the year – and 34‰ salinity). *In vivo* observations were done on myzostomids that were either maintained on their hosts or placed in petri dishes after hav-

ing been separated from them. Egg layings by adult *Myzostoma cirtiferum* were induced by separating them from their host and by increasing the water temperature to ca 20 °C. Eggs were placed in petri dishes containing ca 50 ml of 0.2 µm filtered seawater with 50 mg l^{-1} of streptomycin sulfate (no. of eggs: ca 4 ml^{-1} ; salinity 34‰). Once the larval stage was reached, the dishes were gently stirred and maintained at room

temperature (ca 20 °C). The water was renewed every day. For infestation studies, batches of ca 500 larvae were transferred to dishes including either a whole *Antedon bifida* (ca 4 cm in diameter) or a few autotomized or sectioned arms (ca 3 cm long).

Light microscopy was used to determine the stage of postmetamorphic individuals (viz. juvenile, male or hermaphrodite). Bouin-fixed 4 µm thick sections were used for routine histology (Masson Trichrome; de Groat hematoxylin counterstained with phloxin and light green) according to Ganter & Jollès (1969–1970).

For SEM observations, larvae and postmetamorphic individuals were fixed in Bouin's fluid for 24 h, dehydrated through a graded ethanol series, dried by the critical point method from carbon dioxide. They were mounted on aluminium stubs, coated with gold in a sputter coater and observed with a JEOL JSM 6100 scanning electron microscope.

RESULTS

Development

Adult morphology. Adult *Myzostoma cirriferum* are translucent disc-shaped animals generally coloured in orange, pink or red (Fig. 1). Their relative transparency makes possible *in vivo* observations of internal organs such as the digestive tract and the paired seminal vesicles in which spermatophores form (Fig. 1). Their body consists of a short anterior introvert and a large posterior trunk (Figs. 1 & 2). When extended, the introvert in the largest individuals reaches ca 700 µm long and 250 µm wide; when retracted, it is housed in a pouch located in the antero-ventral part of the myzostomid trunk (Figs. 1 & 2). The trunk of the largest adults measures 2.4 mm in diameter (observed range 0.7 to 2.4 mm). Five pairs of parapodia are located latero-ventrally in 2 rows, one on each side of the body (Fig. 2). Each parapodium is topped by a hook-like seta (Fig. 2). Close to the third pair of parapodia, near the body margin, lies 1 pair of penile apertures (Fig. 2). Four pairs of lateral organs are located between the 5 pairs of parapodia (Fig. 2). Ten paired cirri are located on each body margin of the trunk (Fig. 2). Cirri are needle-like structures ca 20 µm wide and 60 to 100 µm long (when retracted or extended respectively).

Reproductive process, laying and early embryogenesis. The reproductive process of *Myzostoma cirriferum* has been described in detail by Eeckhaut & Jangoux (1991). Reproduction occurs year-round and fertilization is internal. Once fertilized, eggs accumulate in the coelomic cavity which lies dorsally to the digestive system. Eggs are released in the water column, and layings can be induced by separating the myzosto-

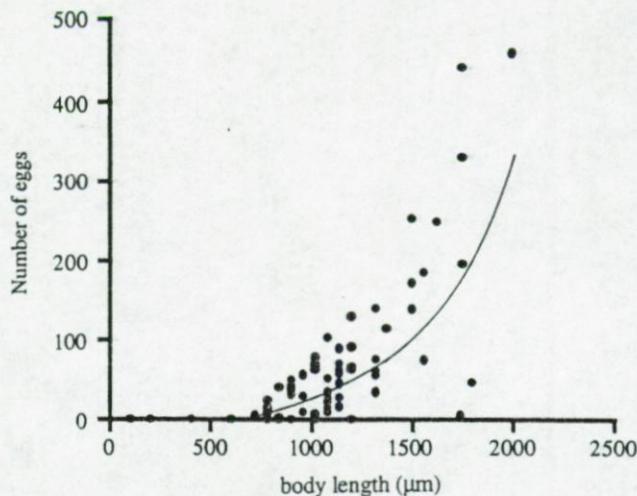


Fig. 11. *Myzostoma cirriferum*. Relation between the body length (B) and the number of eggs (N) laid over a 24 h period (laboratory conditions; December 1991). Equation of the regression line: $N = 3.1 e^{(0.0023 B)}$; $r = 0.77$

mids from their hosts and increasing the water temperature (up to 20 °C). As a result, myzostomids laid egg batches during a period of up to 48 h. The number of eggs varied according to the length of the individual (Fig. 11): myzostomids of less than 0.7 mm long never laid, while those of greater length laid a few (myzostomids whose length is close to 0.7 mm) to some hundred eggs (myzostomids whose length is close to 2 mm). In order to detect if there are definite periods of laying, 10 large myzostomids were separated from their hosts at each sampling period and the eggs laid over a 24 h period were counted (Table 1). With the exception of August, when the average number of eggs laid by 1 myzostomid was rather low (40 eggs), layings were fairly similar, the average numbers being between 147 and 204 (high values for standard deviations in Table 1 are because some individuals presumably had laid part of their eggs before they were field-collected; see also Fig. 11).

The chronology of early embryogenesis of *Myzostoma cirriferum* is summarized in Table 2. At 20 °C, the first maturation division occurs 2 h after laying (from the animal pole emerges the first polar body). The second polar body appears 10 min later (Figs. 3 & 4). The cleavage pattern is spiral. The first cleavage is preceded by formation of the first polar lobe at the vegetal pole (2 h 15 min after laying): the egg constricts perpendicularly to the vegetal-animal (V-A) axis and transforms into a caped-like egg (Fig. 5). Almost simultaneously (2 h 18 min), a furrow, parallel to the V-A axis, sinks in at the animal pole resulting in the formation of a capped 2-blastomere stage (viz. 1 polar lobe, and the AB and CD blastomeres) (Fig. 6). Shortly afterwards (2 h 25 min), the polar lobe merges with the CD

Table 1. *Myzostoma cirriferum*. Number of eggs laid in different months in 1990 ($n = 10$, individuals measuring from 0.9 to 2.0 mm long; laboratory conditions)

	Jan	Mar	May	Aug	Dec
Mean no. of eggs ($m \pm SD$)	147 \pm 102	204 \pm 178	177 \pm 96	40 \pm 17	162 \pm 72
Range	18 – 334	18 – 512	24 – 359	8 – 82	47 – 304

Table 2. *Myzostoma cirriferum*. Chronology of early embryogenesis (laboratory conditions). Times indicate when 50 % of the embryos reached the corresponding development stage

Time after laying (min)	Events
120	First division of maturation (1st polar body)
130	Second division of maturation (2nd polar body)
135	Appearance of the first polar lobe
138	First cleavage (formation of a capped 2-blastomere stage)
145	The first polar lobe fuses with blastomere CD (formation of a regular 2-blastomere stage)
158	Appearance of the second polar lobe
159	Second cleavage (formation of a capped 4-blastomere stage)
168	The second polar lobe fuses with blastomere D (formation of a regular 4-blastomere stage)
198	Appearance of the third polar lobe and beginning of the third cleavage (division of blastomere D)
205	Division of blastomeres A, B, and C and fusion between the third polar lobe and blastomere 1D (formation of a regular 8-blastomere stage)

blastomere thus forming the regular 2-blastomere stage (Fig. 7). The second cleavage (2 h 38 min) is preceded by the formation of the second polar lobe arising from the CD blastomere. Almost simultaneously (2 h 39 min), the AB blastomere and the non-polar part of the CD blastomere divide in two, resulting in the formation of a capped 4-blastomere stage (viz. 1 polar lobe and the A, B, C, and D blastomeres) (Fig. 8). Shortly thereafter (2 h 48 min) the polar lobe merges with blastomere D, forming the regular 4-blastomere stage (Fig. 9). During the second cleavage, the 2 polar bodies regress and disappear. The third cleavage (3 h 18 min) is also preceded by the formation of a polar lobe coming from the D blastomere. That lobe, however, is less prominent than those formed previously. The cleavage first concerns blastomere D (3 h 19 min) and shortly later (3 h 25 min) blastomeres A to C. The polar lobe finally merges with blastomere 1D resulting in the formation of the regular 8-blastomere stage (Fig. 10).

Larval development. SEM study allows the recognition of 4 larval stages, viz. a protrochophore, a trocho-

phore, a metatrochophore and a metamorphic larva.

The protrochophore is spherical and measures from 30 μm (18 h after laying) to 40 μm (48 h after laying) in diameter (Fig. 12). It has a prototroch that divides its body into a hyposphere and an episphere (Fig. 12). At the top of the episphere lies an apical tuft of ca 10 cilia (each 10 μm long).

The trochophore measures from 40 μm (48 h after laying) to 50 μm (72 h after laying) in length (Fig. 13). It differs from the protrochophore in having an elongated hyposphere giving the larva a pear-shaped aspect.

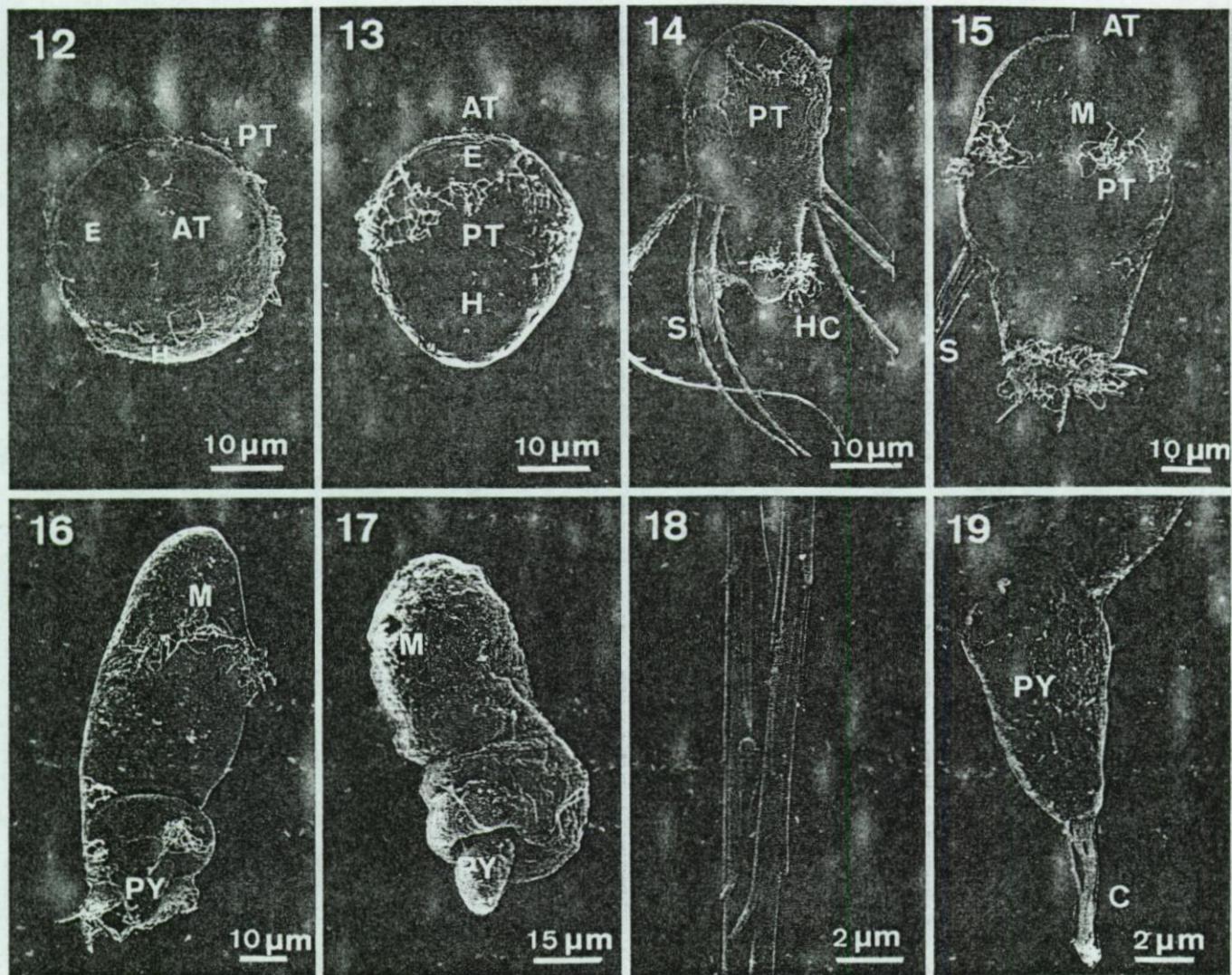
The metatrochophore is also pear-shaped and measures from 50 μm (72 h after laying) to 70 μm (10 d after laying) in length but it differs from the previous stages in that it has 4 pairs of lateral setae (Figs. 14 & 18). These are denticulates and their length can reach up to 150 μm (in 10 d old larva) (Figs. 14 & 18). During the fourth day, the metatrochophore acquires an antero-ventral buccal aperture located close to the prototroch, as well as a retractile pygmydium 5 to 15 μm long (when retracted or extended respectively) (Fig. 15). At the same time, the prototroch splits into 4 ventral tufts, and a hypospherical ciliary crown appears surrounding the pygmydium (Figs. 14 & 15). During the fifth day, a tuft of

10 straight cilia appears at the top of the pygmydium (Fig. 19).

Metamorphic larvae lose all setae and cilia (loss of setae precedes loss of cilia). This process does not begin simultaneously for all larvae. Indeed, though a few larvae have already lost their setae from the fifth day, for most of them this occurs on the seventh day (Fig. 20). Metamorphic larvae are bean-shaped with their body folding back ventrally; they measure 70 μm in length (Figs. 16 & 17). When maintained *in vitro*, in the absence of hosts, they generally die when they are 12 to 14 d old.

Postmetamorphic development. Histological and SEM analysis allows us to distinguish 3 postmetamorphic stages: a juvenile, a male and a hermaphroditic stage.

The juvenile stage includes myzostomids from 70 to 500 μm long. These are whitish translucent worms. The smallest juvenile observed on *Antedon bifida* was 70 μm long and 30 μm wide (Fig. 21). Juveniles are bean-shaped animals with their body folding back



Figs. 12 to 19. Larval development of *Myzostoma cirriferum* (SEM views). Fig. 12. Protrochophore. Fig. 13. Trochophore. Fig. 14. Early metatrochophore. Fig. 15. Late metatrochophore. Fig. 16. Early metamorphic larva. Fig. 17. Late metamorphic larva. Fig. 18. Details of setae. Fig. 19. Details of the pygmydium. AT: apical tuft; C: cilium; E: episphere; H: hyposphere; HC: hypospherical ciliated crown; M: mouth; PT: prototroch; PY: pygmydium; S: seta

ventrally and their ventral surface pleated (Figs. 21 & 22). A constriction divides the juvenile body in 2 parts: an anterior part, corresponding to the future introvert, and a posterior part which will form the trunk of the adult (Fig. 22). The mouth opens at the apex of the future introvert which is not yet retractile. The posterior part (two-thirds of the whole body length) bears 1 pair of parapodia. A further step in the myzostomid development is reached at 200 µm long. The body is no longer bean-shaped and the distinction between the introvert and the trunk is stronger (Fig. 23). The introvert is still not retractile but the introvert pouch is differentiating. The major features of this 200 µm juvenile are the appearance of the 5 pairs of parapodia and 4 pairs of lateral organs looking like small slits. Myzostomids of 300 µm long are similar to those of

200 µm, but have 4 pairs of buccal papillae at the apex of the introvert (Fig. 24). At 400 µm long, the juvenile begins to look like the adult; the introvert can almost totally retract into its introvert pouch, the body is wider with 6 pairs of cirri on its margin (Fig. 25).

Myzostomids enter the male stage when they reach a length of ca 500 µm (Fig. 26). At this stage, mature male gametes as well as 4 deferent ducts and 2 seminal vesicles appear in the ventro-lateral parts of the body, on both sides of the ventral nerve cord. Myzostomids are then as wide as they are long, the introvert can totally retract into the introvert pouch, and they have 10 pairs of marginal cirri and 1 pair of penises. When they reach 600 µm, they look very similar to adults but differ from them in both internal morphology and behaviour.

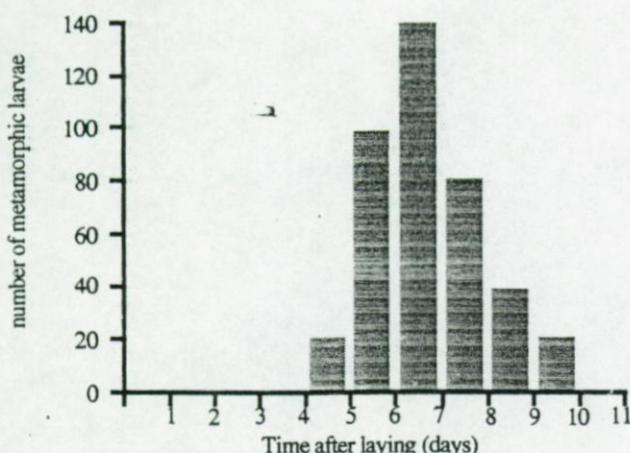


Fig. 20. *Myzostoma cirriferum*. Time (d after laying) of appearance of metamorphic larvae (laboratory conditions)

The hermaphroditic or adult stage (Figs. 1 & 2) is reached when myzostomids are close to 700 µm long. At this stage, mature female gametes appear in the dorso-lateral parts of the body. All individuals from 700 to 2400 µm show the same shape and the same internal organization. Their coloration develops progressively and the digestive caeca become more and more branched.

Behaviour

Larval behaviour. Early protrochophores (18 h old) rotate slowly counterclockwise, and the larvae are not able to elevate in the water column. From 24 h their ciliary activity enables larvae (viz. late protrochophore and trophophore) to swim though a counterclockwise movement allowing them to move upright. With the appearance of setae, the swimming of the 3 d old larva (viz. the metatrochophore) changes: it still rotates but the general trajectory is not straight yet and has a counterclockwise spiral movement. From the fifth day, the larvae become less motile and often remain motionless. Metatrochophores show a great tendency to attach by their setae either on the substrate or on any kind of sestonic particles occurring in the water column. From the seventh day, most larvae begin to lose their setae, returning to a swimming stage. These larvae (viz. metamorphic larvae) swim for a few hours the same way as metatrochophores. They eventually either stay motionless or move slowly without rotating, often in circles.

Assays of host's infestation were performed using larvae at different developmental stages. Whatever the larval stage of *Myzostoma cirriferum*, its swimming is not modified by the presence of the host and larvae do not seem to be attracted by hosts. For each larval stage,

larvae are treated by the host as any other food particles (for a detailed description of the feeding behaviour of *Antedon bifida*, see Lahaye & Jangoux 1985). When larvae swim close to pinnules, they are caught by the comatulid podia, mostly by the primary podia. Yet the fate of captured larvae will vary according to the larval stage.

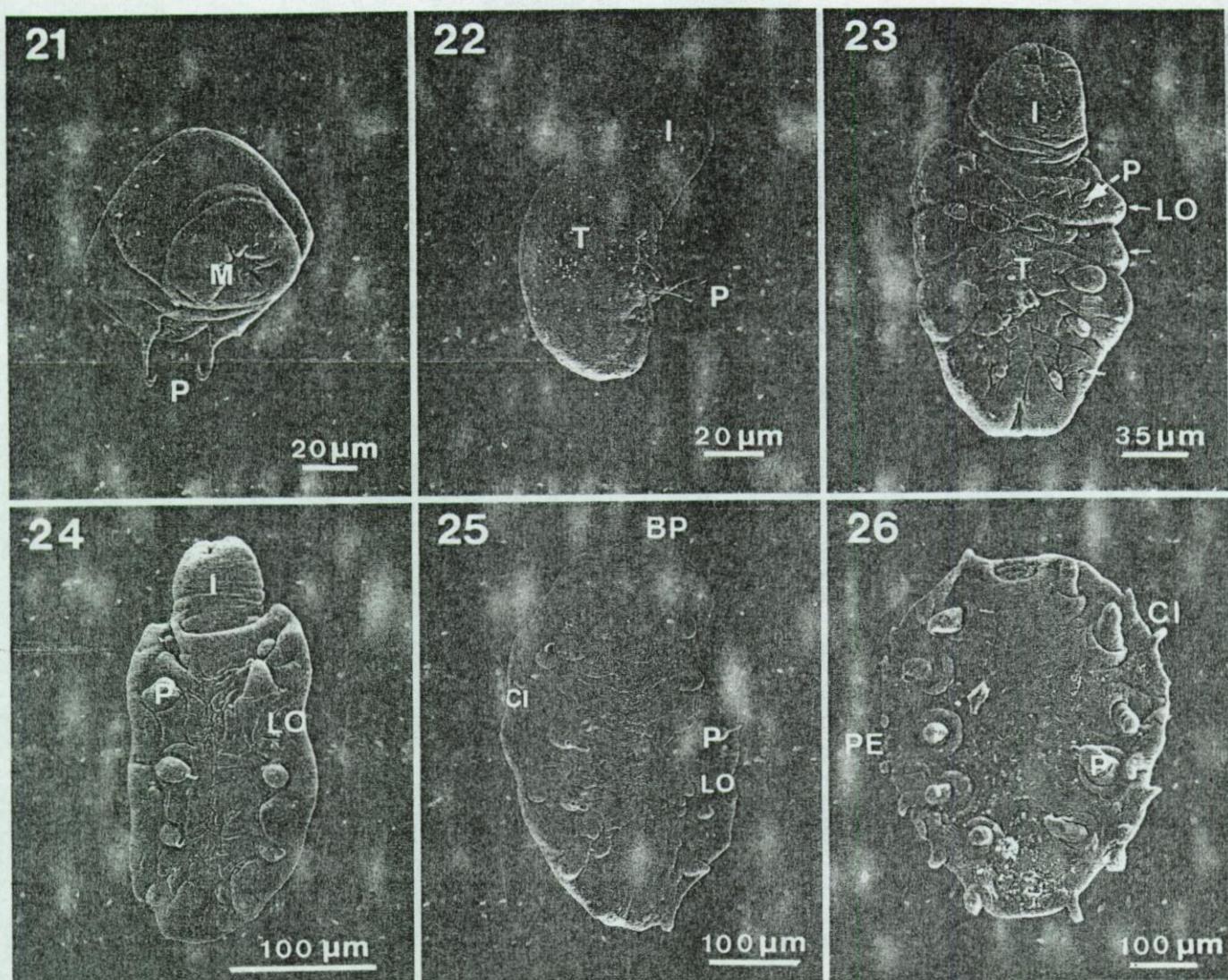
When protrochophores, trophophores or metamorphic larvae are caught by podia, the latter bend, driving the larvae into the ambulacral grooves. In most cases, captured larvae are rejected into the water column through the activity of secondary or tertiary podia while a few are carried to the mouth where they are swallowed. The greater the larvae are, the more are their chances of being rejected.

When metatrochophores are caught by the podia, they attach to them by their setae and, as podia necessarily will bend and wipe on the groove wall, larvae thus will eventually attach to the groove integument (Figs. 27 & 28). Some metatrochophores, however, will either not attach or detach. They will be carried by the groove ciliary current and will be either rejected to the water column as were non-metatrochophoran larvae or transported to the mouth and swallowed. It has been observed that swallowed metatrochophores will always be regurgitated by a vigorous contraction of the host foregut.

Postmetamorphic behaviour. Two types of behaviour can be distinguished in postmetamorphic individuals corresponding to 2 different stages during their development: a pinnular or fixed stage, and a free-moving stage.

Pinnular stage concerns myzostomids from 70 to 600 µm long. They are always fixed in pinnular grooves, generally in proximal pinnules (distal pinnules are rarely infested). They are fixed into the groove by their parapodial hooks, so that their ventral side lies against the bottom of the groove with their anterior part (viz. the future introvert) pointed to the arm of the host (Figs. 29, 30 & 31). Infested pinnules are generally inhabited by a single myzostomid, although 2 can occasionally be present. Individuals smaller than 500 µm are steadily attached to pinnules but become progressively more motile as they grow, the largest pinnular worms being able to move in the ambulacral groove. Fixed myzostomids produce asymmetric pinnular deformations; viz. they occur usually on 1 of the 2 pinnular sides (Figs. 31 & 32). Deformations are roof-like and can cover the groove over its width and over a length depending on the myzostomid size (the greatest length observed was 450 µm). Such roof-like deformation covers either part of or the entire body of the myzostomid. It results in the fusion of several podia and ambulacral lappets.

At the end of the pinnular stage, myzostomids be-



Figs. 21 to 26. Postmetamorphic development of *Myzostoma cirriferum* (SEM views). Figs. 21 to 25. Early to late juveniles. Fig. 26. Early male. BP: buccal papilla; CI: cirrus; I: introvert; LO: lateral organ; M: mouth; P: parapodium; PE: penis; S: seta; T: trunk

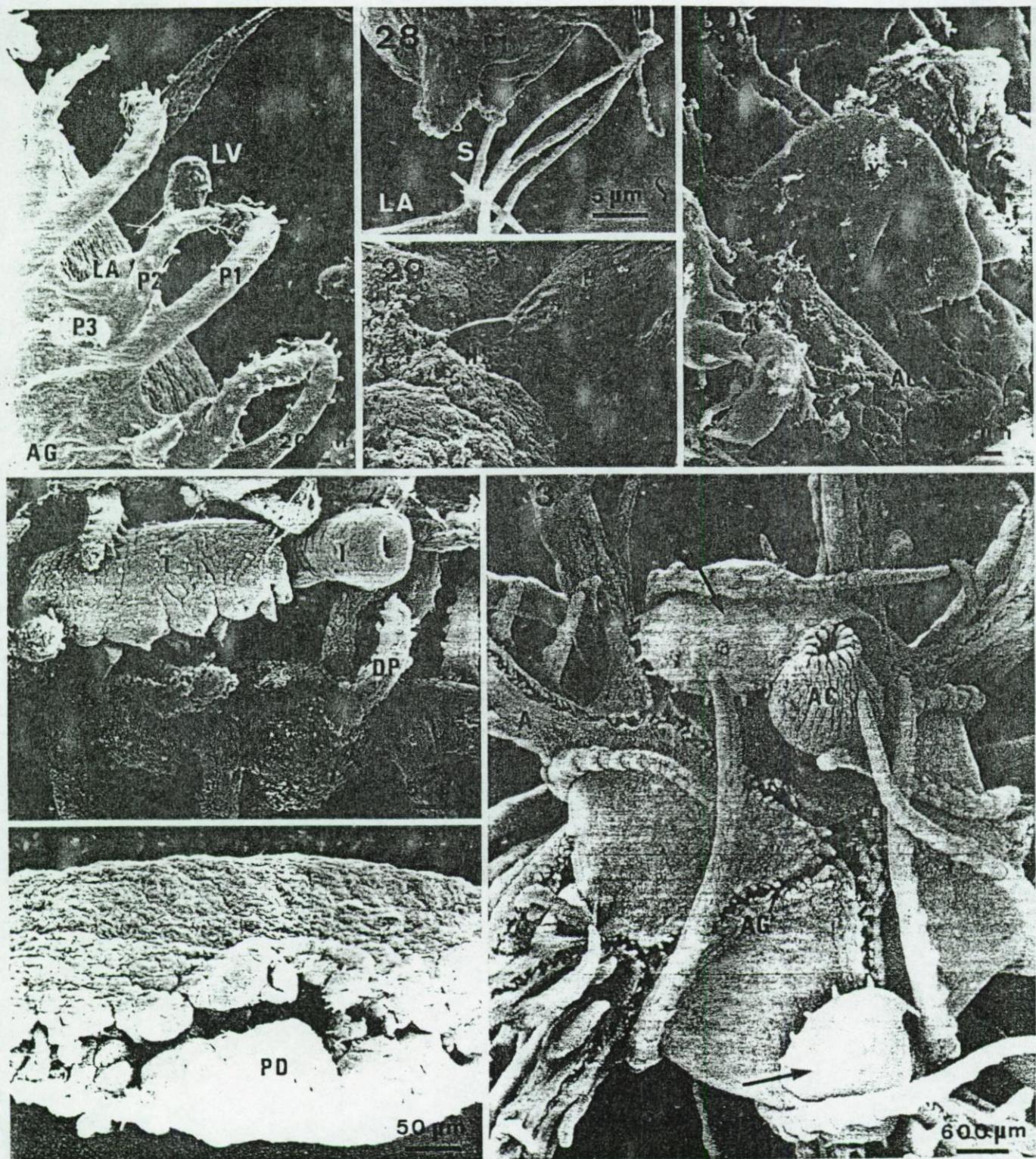
come totally free-moving (Fig. 33). Up to a length of 1 mm, myzostomids move all over the host's body but never enter an ambulacral groove. They move very quickly and can wander from one end of an arm to the other, viz. ca 4 cm, in 2 to 3 s. When they are still, they often apply their introvert into a brachial or pinnular groove where they divert food particles. Myzostomids longer than 1 mm are less motile and generally stay on the upper part of the calyx of the host.

DISCUSSION

One of the most remarkable features of myzostomids is their reproductive process which is internal and implies the intradermic penetration of a spermatophore

content (Kato 1952, Eeckhaut & Jangoux 1991, 1992, Lehmann et al. 1991). Reproduction in *Myzostoma cirriferum* occurs throughout the year (Eeckhaut & Jangoux 1991) and individuals longer than 0.7 mm are able to lay fertilized eggs year-round. The more the myzostomid length increases, the greater the number of eggs they lay. Once laid, eggs start to cleave. The cleavage pattern in *M. cirriferum* is spiral and the first 3 divisions are characterized by the formation of polar lobes. This last feature has already been reported by Kato (1952) for the species *Myzostoma ambiguum* and is also encountered in early embryos of a few polychaetes (Schroeder 1989) and a few gastropod molluscs (Brahmachary 1989).

The life cycle of *Myzostoma cirriferum* is summarized in Fig. 34. Larvae of this species appear similar to



Figs. 27 to 33. Relations between *Myzostoma cirriferum* and its host, *Antedon bifida*. Figs. 27 & 28. Setal attachment of a metatrochophore to a host's podion. Fig. 29. Parapodial attachment of a pinnular myzostomid to the groove integument of its host. Fig. 30. The smallest observed pinnular myzostomid. Figs. 31 & 32. Pinnular deformations produced by juvenile myzostomids observed on relaxed and contracted pinnule, respectively. Fig. 33. Large hermaphroditic individuals on the host's tegmen. A: arm; AC: anal cone; AG: ambulacral groove; DL: deformed lappets; DP: deformed podia; HS: hook-like seta; I: introvert; LA: lappet; LV: larva; M: mouth; MY: myzostomid; P: parapodium; P1, P2, P3: primary, secondary and tertiary podia; PD: pinnular deformation; S: seta; T: trunk

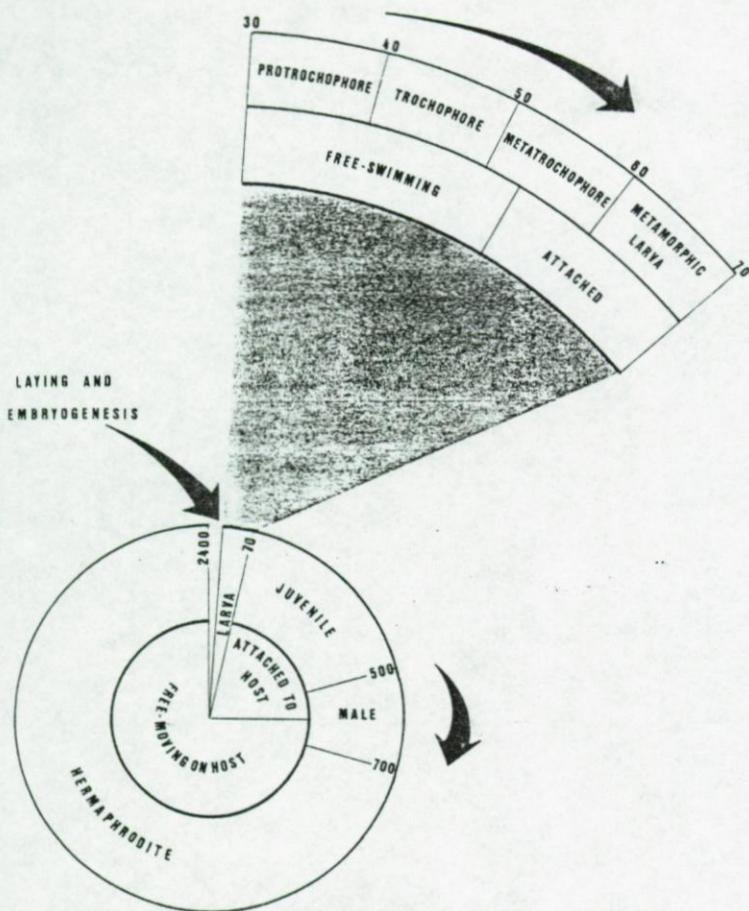


Fig. 34. *Myzostoma cirriferum*. Life cycle (circle) and details of larval development (arc). For both the circle and arc, the outer ring deals with myzostomid morphological stages and the inner ring with myzostomid behaviour (numbers indicate length of individual in μm)

those observed previously in 3 other ectosymbiotic myzostomids of comatulids, viz. *M. ambiguum*, *M. alatum*, and *M. parasiticum* (Kato 1952, Eeckhaut & Jangoux 1992, Jägersten 1939 respectively). The life span of laboratory-reared larvae of these 4 species is about 10 d and, in *M. cirriferum*, the free-swimming larval stage would occur up to the third day. This corresponds to the acquisition of setae which means that larvae can attach to any 'fleshy' substratum they contact and thus have become infesting. To be free-swimming for 3 d appears rather paradoxical. Indeed, while the embryos and developing larvae of *M. cirriferum* are directly situated near the natural hosts they have to infest, the longer the free-swimming stage, the better chance the larvae have of being carried away from the comatulid hosts. However, the high density of the investigated host population could indirectly prevent a too high myzostomid larval dispersal. Indeed, this population can reach 1000 ind. m^{-2} (Lahaye & Bulteel 1987). It forms an epibenthic stratum of a few cm thick extending over

numerous square meters. Such a dense population could generate favourable hydrodynamic conditions enabling small particles and, all the more, myzostomid larvae to stay between host individuals. Platel (1962) reported a low level of myzostomid infestation for a population of *Antedon bifida* where individuals were scattered on the substratum. It is thus probable that the denser the comatulid population, the easier the infestation. (In the investigated host population there is a 100% infestation of adult comatulids and the infestation rate can reach up to 71 myzostomids per host; Eeckhaut unpubl.) During the first 3 d, larvae should be confronted by another problem: they should be considered by comatulids as any other small particles and should thus be caught as food particles. However, as we observed, the captured larvae can be rejected by secondary and tertiary podia to become free again. Larvae probably take advantage of this mechanism of rejection which could prevent a lot of them from being swallowed by their host.

With the appearance of setae, metatrochophores can attach either on the comatulid pinnules or on the neighbouring substratum. Pinnule-attached metatrochophores will eventually lose their setae and rapidly acquire their first pair of parapodia to attach more firmly to the pinnule. The total loss of setae in reared metatrochophores was observed, but *in vitro*-produced metamorphic larvae never acquired 1 pair of parapodia. According to Chia (1978) the metamorphosis in symbiotic invertebrates

is dependent upon some stimuli from the host. If the larvae are not correctly stimulated, the stage of competency (viz. the stage during which the larvae can metamorphose) takes more time and can end in their death. In *Myzostoma cirriferum*, the stage of competency is probably reached in 5 d old larvae, viz. in metatrochophores having differentiated the mouth aperture and the pygidium. These larvae will have been adequately stimulated if they have already attached in pinnular grooves, and they will thus metamorphose totally and quickly. As a consequence, the life span as metamorphic larvae is very short (viz. they acquire their first pair of parapodia very rapidly becoming thus a juvenile). Yet metatrochophores that attached to the neighbouring substrate could not be correctly stimulated (as are those produced in laboratory conditions). They will thus metamorphose partially and give rise to metamorphic larvae with longer life span. To be able to delay metamorphosis would be an advantage for myzostomids. Indeed, long-lived metamorphic larvae are

still able to swim for some time after they lost their setae. This means they still have some chance to be caught by a comatulid, to be appropriately stimulated, and to complete their metamorphosis.

The population of postmetamorphic *Myzostoma cirriferum* on a given host always appeared very well structured: small myzostomids (viz. juveniles and early males) attach in pinnular grooves and large ones (viz. late males and hermaphrodites) always occur outside the grooves and move on the whole surface of the comatulids. The fact that small individuals are situated in pinnular grooves has 2 advantages for the myzostomid population. Firstly, they are in a place where alimentary particles transit and where they can feed easily. Secondly, to be attached in pinnules prevents these immature individuals from being in contact with large mature ones. Indeed, when moving, adult individuals can emit their spermatophore to any conspecific they touch (Eeckhaut & Jangoux 1991). Yet, as they never move in ambulacral grooves, they consequently never contact an immature myzostomid. The more adult individuals grow, the more motionless they are, and largest hermaphroditic individuals are concentrated on the upper part of the calyx of their host. As a result, the reproductive process is even more efficient; when a large adult emits its spermatophore, there are more chances that it will be emitted on another large adult and consequently that the spermatozoons used in this process reach more mature oocytes.

Among polychaetes, the invertebrate group closest to the myzostomids, the process of intradermic penetration of a spermatophore content was only reported in some archiannelid species (Westheide 1984). According to Westheide (1984), the existence of small polychaete species as archiannelids is only possible if successful fertilization is better insured than in the larger macrobenthic species which discharge their gametes into the water. This implies an adaptation of the reproductive behaviour resulting in the occurrence of direct sperm transfer and internal fertilization. In *Myzostoma cirriferum*, internal fertilization must certainly be of the utmost importance for the survival of the species: it is a small invertebrate and, as a consequence, the adults only possess a small number of gametes. However, it is a symbiotic invertebrate which usually means that it has to produce a substantial number of infesting larvae at the next generation. Yet the reproductive potential of *M. cirriferum* is rather low (largest individuals rarely produce more than a few hundred eggs), and its survival as a symbiote appears to be permitted both by the fact that it reproduces year-round, and by its effective mode of infestation.

Acknowledgements. We thank Professor Lassere for providing facilities at the 'Observatoire océanologique de Roscoff'.

Work supported by an IRSIA grant to I. Eeckhaut and by FRFC grant no. 2454991. Contribution of the 'Centre Interuniversitaire de Biologie Marine' (CIBIM).

LITERATURE CITED

- Brahmachary, R. L. (1989). Mollusca. In: Adiyodi, K. G., Adiyodi, R. G. (eds.) Reproductive biology of invertebrates. IV. John Wiley & Sons, Chichester, p. 281–348
- Chia, F.-S. (1978). Perspectives: settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae. In: Chia, F.-S., Rice, M. E. (eds.) Settlement and metamorphosis in marine invertebrate larvae. Elsevier, New York, p. 283–285
- Clark, A. H. (1921). A monograph of the existing crinoids. The comatulids. Bull. U.S. natn. Mus. 82
- Eeckhaut, I., Jangoux, M. (1991). Fine structure of the spermatophore and intradermic penetration of sperm cells in *Myzostoma cirriferum* (Annelida, Myzostomida). Zoomorphology 111: 49–58
- Eeckhaut, I., Jangoux, M. (1992). Development and behaviour of *Myzostoma alatum* and *Pulvinomyzostomum pulvinar*, two myzostomid symbionts of the comatulid *Leptometra phalangium* (Echinodermata). In: Scalera-Liaci, L., Canicatti, C. (eds.) Echinoderm research 1991. Balkema, Rotterdam, p. 229–236
- Eeckhaut, I., Lahaye, M.-C., Jangoux, M. (1990). Postmetamorphic development of *Myzostomum cirriferum* (Annelida) and effects of the symbiont on its crinoid host, *Antedon bifida* (Echinodermata). In: De Ridder, C., Dubois, P., Lahaye, M.-C., Jangoux, M. (eds.) Echinoderm research. Balkema, Rotterdam, p. 317–322
- Ganter, P., Jollès, G. (1969–1970). Histochemistry normale et pathologique, Vols. 1–2. Gauthier-Villars, Paris
- Grygier, M. J. (1988). Unusual and mostly cysticolous crustacean, molluscan and myzostomidan associates of echinoderms. In: Burke, R. D., Mladenov, P. V., Lambert, P., Parsley, R. L. (eds.) Echinoderm biology. Balkema, Rotterdam, p. 775–784
- Grygier, M. J. (1989). Three new species of *Myzostoma* (Myzostomida). Proc. biol. Soc. Wash. 102 (3): 793–804
- Grygier, M. J. (1990). Distribution of Indo-Pacific *Myzostoma* and host specificity of comatulid-associated Myzostomida. Bull. mar. Sci. 47 (1): 182–191
- Jägersten, G. (1939). Zur Kenntnis der Larventwicklung bei *Myzostomum*. Ark. Zool. 31 (A): 1–21
- Jägersten, G. (1940). Beobachtungen über *Myzostomum cirriferum*. Ark. Zool. 32 (B): 1–6
- Jangoux, M. (1990). Diseases of Echinodermata. In: Kinne, O. (ed.) Diseases of marine animals, Vol. III, Cephalopoda to Urochordata. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, p. 439–567
- Kato, K. (1952). On the development of myzostome. Science Rep. Saitama Univ. 1: 1–16
- Lahaye, M.-C., Bulteel, P. (1987). Age à maturité sexuelle chez la comatule *Antedon bifida* (Crinoidea). Bull. Soc. Sc. nat. Ouest France suppl. H.S.: 143–148
- Lahaye, M.-C., Jangoux, M. (1985). Functional morphology of the podia and ambulacral grooves of the comatulid crinoid *Antedon bifida* (Echinodermata). Mar. Biol. 86: 307–318
- Lehmann, D., Pietsch, A., Westheide, W. (1991). Ultrastructural investigations on the spermatophore of *Myzostoma cirriferum* (Polychaeta: Myzostomidae) – preliminary results on organization and hypodermic passage. Bull. mar. Sci. 48 (2): 590
- Platel, R. (1962). Histologie du tube digestif de *Myzostomum cirriferum* (Leuckart) (Myzostomides). Cah. Biol. mar. 3: 261–288

- Schroeder, P. C. (1989). Annelida-Polychaeta. In: Adiyodi, K. G., Adiyodi, R. G. (eds.) Reproductive biology of invertebrates. IV. John Wiley & Sons, Chichester, p. 383-442
- Westheide, W. (1984). The concept of reproduction in polychaetes with small body size: adaptations in interstitial

species. In: Fischer, A., Pfannenstiel, H.-D. (eds.) Poly-chaete reproduction. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, p. 265-287

Wheeler, W. M. (1896). The sexual phases of *Myzostoma*. Mitt. zool. Stn Neapel 12: 227-302

Editorial responsibility: Managing Editor

Manuscript first received: July 22, 1992

Revised version accepted: December 30, 1992

Integument and epidermal sensory structures of *Myzostoma cirriferum* (Myzostomida)

I. Eeckhaut¹ and M. Jangoux^{1,2}

¹ Laboratoire de Biologie marine, Université de Mons-Hainaut, 19, ave Maistriau, B-7000 Mons, Belgium

² Laboratoire de Biologie marine (CP 160/15), Université Libre de Bruxelles, 50, ave F.D. Roosevelt, B-1050 Bruxelles, Belgium

Received February 20, 1992

Summary. The fine structure of the integument of *Myzostoma cirriferum* is described with special attention to the integument sensory areas. Hypotheses about the functions and a functional model of these are proposed. The integument consists of an external pseudostratified epithelium with cuticle (the epidermis) covering a parenchymo-muscular layer (the dermis). The dermis includes two types of cells: muscular fibers of the double obliquely striated type and parenchymal cells. Differences occur in the epidermis, which consists either of a large non-innervated myoepithelial area (viz. the regular epidermis) or of several rather localized sensory-secretory areas associated with discrete nerve processes (viz. the sensory epidermis). The regular epidermis is made up of three types of cell: covering cells, ciliated cells and myoepithelial cells. The sensory epidermis shows small or marked structural variations from the regular epidermis. Small variations occur in the cirri, the buccal papilla, the body margin, the parapodia and the parapodial folds where nerve processes insinuate between epidermal cells. They are thought to be mechanoreceptor sites that could give information on the structural variations of the host's integument and participate in the recognition of individuals of the same species. The sensory epidermis differs markedly from the regular epidermis in the four pairs of lateral organs. Each lateral organ consists of a villous and ciliated dome-like central part, surrounded by a peripheral fold. The epidermis of the fold's inner part (viz. the part facing the central dome) is made up of secretory cells, while that of the fold's outer part is similar to the regular epidermis. The epidermis of the dome includes vacuolar cells, sensory cells and a different type of secretory cell. Lateral organs are presumed to be both chemoreceptors and mechanoreceptors. They could allow the myzostomids to recognize the host's integument and prevent them from shifting on the surrounding inhospitable substrate.

A. Introduction

Myzostomids account for more than 120 species, all of which are obligatory symbionts of echinoderms, especially crinoids (Jangoux 1990). They are small parapodia-bearing 'worms' with peculiar morphological features (e.g. their body is disc-shaped and dorso-ventrally flattened; they are all hermaphrodites and have a reduced coelom acting as an oviduct), which has led some authors to consider them as a separate taxon closely related to the Polychaeta (Kato 1952; Afzelius 1983).

Very little is known about myzostomid morphology and physiology. Contemporary researchers have focused on either male gametogenesis (Afzelius 1983, 1984; Mattei and Marchand 1987, 1988), reproductive processes (Eeckhaut and Jangoux 1991; Lehmann et al. 1991), or excretory organs (Pietsch and Westheide 1987). Investigations on the integument and the epidermal sensory structures are rare, and information comes basically from works using classic histological techniques (Stummer-Traunfels 1926; Prenant 1959; Rao and Sowbhagyavathi 1972). Yet, owing to their particular mode of life, sensory structures of myzostomids presumably play a prominent role in the relationship with their host. The present paper aims to investigate the fine structure of the integument of *Myzostoma cirriferum* with special attention to the epidermal sensory structures, to consider the function of these structures in the context of the host-symbiont relations, and to compare them with those occurring in polychaetes.

B. Material and methods

Adult specimens of *Myzostoma cirriferum* Leuckart, 1836, and their host *Antedon bifida* (Pennant, 1777) were collected by scuba diving at Morgat (Brittany, France) in September 1989 and January 1990. They were maintained either in an open-circuit aquarium at the Biological Station of Roscoff (7–10°C, 34‰ salinity) or in a closed-circuit aquarium at the Laboratory of Mons (10°C, 32‰ salinity). In vivo observations were made at the Roscoff Laboratory on myzostomids that were either maintained on their hosts or placed in petri dishes after separation from them.

Correspondence to: I. Eeckhaut

For light microscopy, myzostomids were fixed in Bouin's fluid, embedded in paraplast and cut into 4- μm -thick sections. Bouin-fixed sections were used for routine histology (Masson Trichrome; de Groat hematoxylin counterstained with phloxin and light green) or for histochemistry (the Alcian blue technique at pH 2.6, blocked by methylation and followed by saponification, the Periodic Acid-Schiff technique blocked by acetylation and controlled by disacetylation; the Mercuric Bromophenol Blue and Orange G staining methods for proteins, and the Van Gieson staining method for collagen) according to the procedure of Ganter and Jollès (1969-1970).

For TEM observations, myzostomids were fixed by immersion in 3% glutaraldehyde in cacodylate buffer (0.1 M, pH 7.8) for 3-24 h at 4° C. They were rinsed in buffer and then postfixed for 1 h with 1% osmium tetroxide in the same buffer. After a final buffer wash, they were dehydrated in graded ethanol, embedded in Spurr, sectioned using a LKB V ultramicrotome, contrasted with uranyl acetate and lead citrate, and examined with a Philips EM 300 transmission electron microscope.

For SEM observations, myzostomids were fixed in Bouin's fluid for 24 h, dehydrated in graded ethanol, dried by the critical point method (using CO₂ as transition fluid), mounted on aluminium stubs, coated with gold in a sputter coater and observed with a JEOL JSM-6100 scanning electron microscope.

C. Results

I. SEM observations

The body of an adult specimen of *Myzostoma cirriferum* consists of an anterior introvert (I) and a posterior trunk (Fig. 1). When extended, the introvert of the largest individuals is ca. 700 μm long and 250 μm wide; when retracted, it is housed in a pouch located in the anteroventral part of the myzostomid trunk. Whatever the stage of the introvert - viz. extended or retracted - the mouth (M) is always terminal (Fig. 2). The latter is underlined by a circular lip bearing four pairs of buccal papillae (Figs. 1, 2, 3, BP).

The trunk of the largest adult individuals measures 2.4 mm in diameter. There are five pairs of parapodia organized in two rows of five parapodia located lateroventrally on each side of the body (Fig. 1, P). Parapodia are integumental cones of ca. 100 μm long (Figs. 1, 4). They are surrounded by a parapodial fold (PF) and bear apically a hook-like seta (S) (Figs. 4, 5). Close to the third pair of parapodia lies one pair of penes (Figs. 1, 8). Between the five pairs of parapodia, are four pairs of lateral organs (Fig. 1, LO). Each lateral organ consists of a villous dome-like central part (D) that is surrounded by a peripheral fold (F) (Figs. 1, 6, 7). The shape of lateral organs in preserved individuals may be either cone-like (when individuals are relaxed in 5% ethanol before fixation; Fig. 6) or star-like (when individuals are fixed by direct immersion in the fixative; Fig. 7). Ten pairs of cirri occur and are located on the body margin on both sides of the trunk (Fig. 1, C). Cirri are needle-like structures 60-100 μm long (when retracted or protracted, respectively) (Fig. 9). Each cirrus has a ventral groove of ca. 1 μm in depth along its whole length (Fig. 9).

The surface of the dorsal and ventral integuments is not flat, but made up of small rounded bulges ca.

200 nm in diameter (Fig. 11). Two types of cilia have been observed. Cilia of the first type measure up to 20 μm long and are presumed to be vibratile (Fig. 10). They occur all over the trunk surface where they are arranged in many tufts of several tens of cilia but they never occur neither on the introvert nor on the trunk appendages (viz. cirri, parapodia, lateral organs) (Fig. 8). Cilia of the second type measure 2-6 μm long and are presumed to be sensory (Fig. 11). They occur in the central part of lateral organs as well as on cirri, on parapodia and parapodial fold, on buccal papillae and on a narrow band ca. 50 μm wide that underlines the trunk margin (both ventrally and dorsally). They occur either singly or in tufts of up to 5 cilia.

II. In vivo observations

Adult specimens of *M. cirriferum* are vagile and move freely on the host's body wall. With the exception of the penes, all integument appendages described above are motile. Individuals shift quickly on the host thanks to their parapodia. They can move forwards, backwards or laterally. During myzostomid displacements, parapodial setae grip the host's integument. Most of the time, the introvert is retracted into the introvert pouch. When protracted, it can be applied to the surface of the host (it was often observed to be extended in the comatulid ambulacrals grooves where alimentary particles occur), or to itself or to another myzostomid. Lateral organs make ceaseless rapid movements (protraction versus retraction). When the lateral organs are cone-like the central mass is protracted and touches the host's body while the integumental fold is retracted; when they are star-like, the protracted integumental fold covers the central mass. Cirri can contract or relax but show only limited movements. They are often applied either to the host's surface or to another myzostomid.

III. TEM observations

The integument of *M. cirriferum* consists of an external pseudostratified epithelium with cuticle (the epidermis)

Figs. 1-11. *Myzostoma cirriferum*. SEM views of an adult individual. BP, buccal papilla; C, cirrus; D, dome; F, fold; G, groove; I, introvert; LO, lateral organ; M, mouth; P, parapodia; PE, penis; PF, parapodial fold; S, seta

Fig. 1. General view of the ventral side

Figs. 2, 3. Details of the introvert showing the mouth and a buccal papilla, respectively

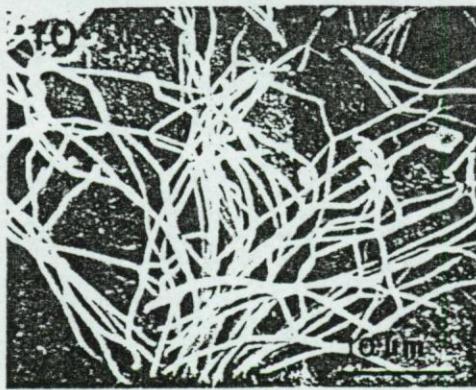
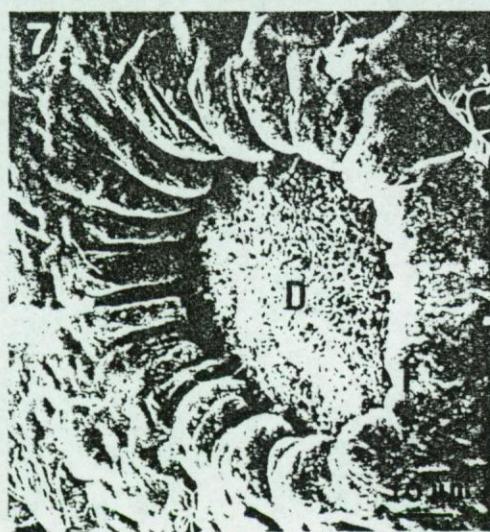
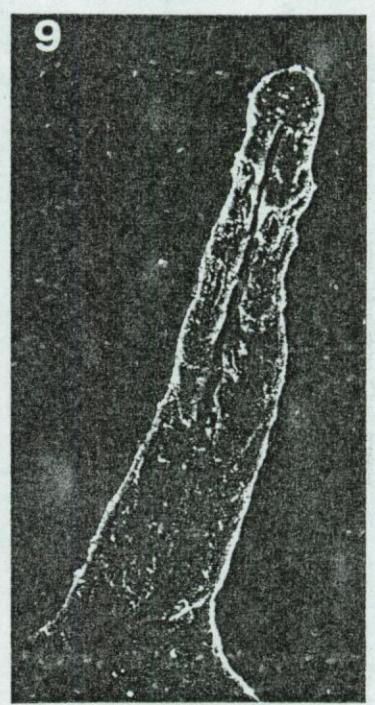
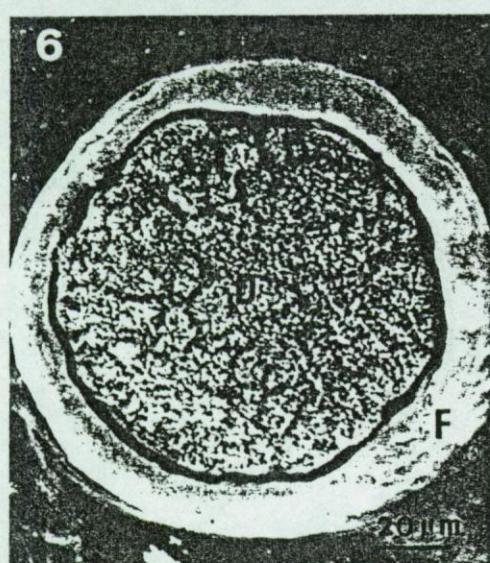
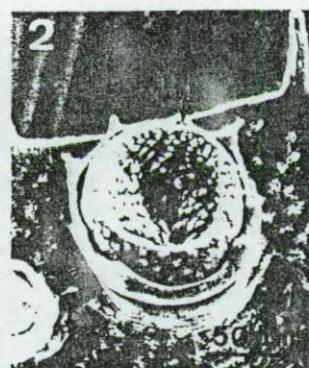
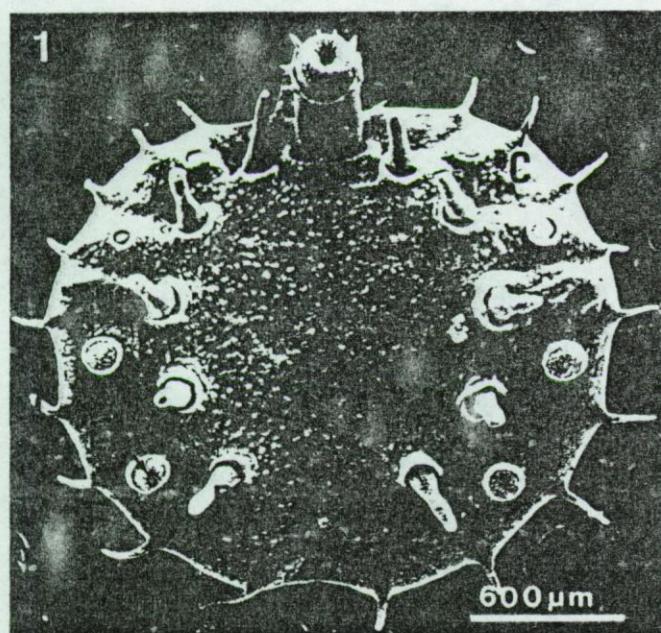
Figs. 4, 5. Profile view of a parapodium and detail of the apical seta, respectively

Figs. 6, 7. Details of lateral organs when protracted and retracted, respectively

Fig. 8. Outer aspect of the left penis

Fig. 9. Ventral view of a cirrus

Figs. 10, 11. Cilia of first and second types, respectively



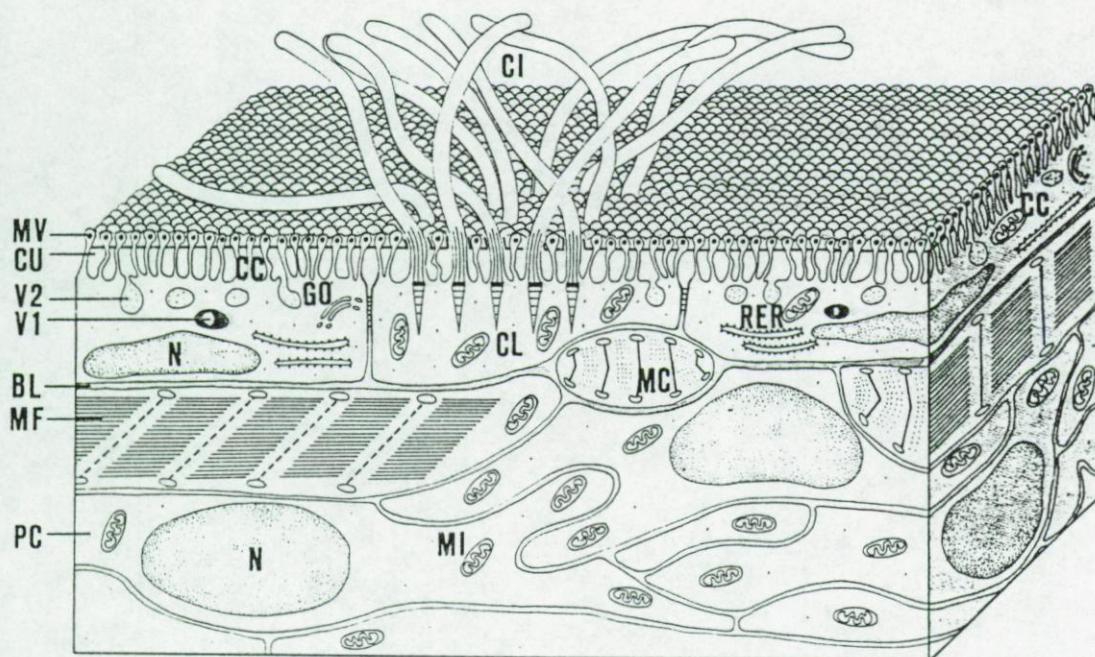


Fig. 12. *Myzostoma cirriferum*. Schematic drawing of a portion of a longitudinal section through a non-sensory area of the integument (not to scale). *BL*, basal lamina; *CC*, covering cell; *CI*, cilium; *CL*, ciliated cell; *CU*, cuticle; *GO*, Golgi apparatus; *MC*, myoepithelial cell; *MV*, microvillus; *N*, nucleus; *PC*, parenchymal cell; *RER*, rough endoplasmic reticulum; *V1* and *V2*, vesicles of 1st and 2nd types

elial cell; *MI*, mitochondrion; *MF*, muscular fiber of the dermis; *MV*, microvillus; *N*, nucleus; *PC*, parenchymal cell; *RER*, rough endoplasmic reticulum; *V1* and *V2*, vesicles of 1st and 2nd types

covering a parenchymo-muscular layer (the dermis) which insinuates between the diffuse gonads (Figs. 12, 13). The dermis shows local variations in thickness that are mostly linked to the occurrence and the developmental stages of gonads. Differences also occur in the epidermis, which generally consists of a large non-innervated myoepithelial area (viz. the regular epidermis). However, there are also epidermal sensory-secretory areas associated to discrete nerve processes. They often cover the body appendages and together they form the sensory epidermis.

1. Cuticle

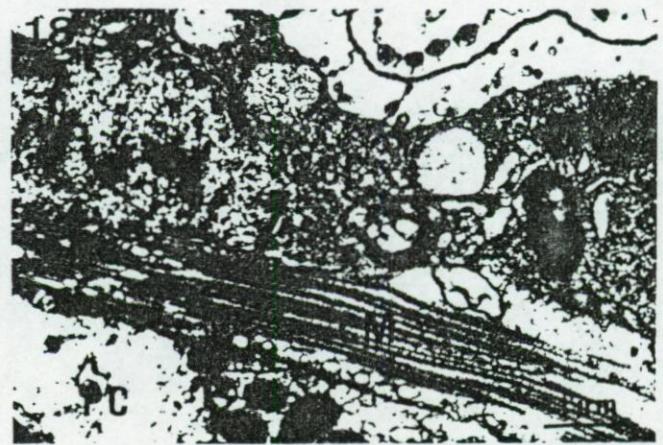
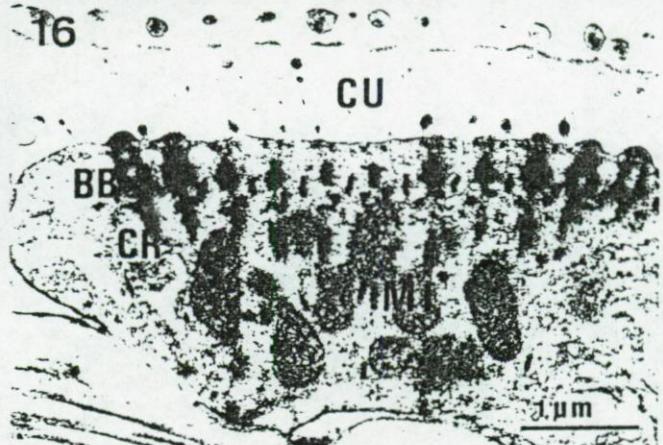
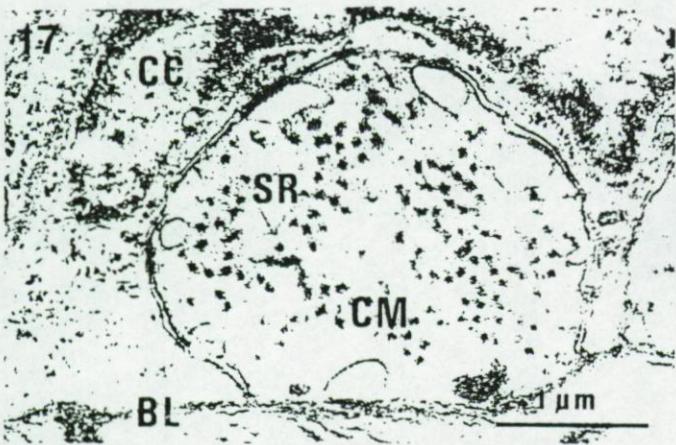
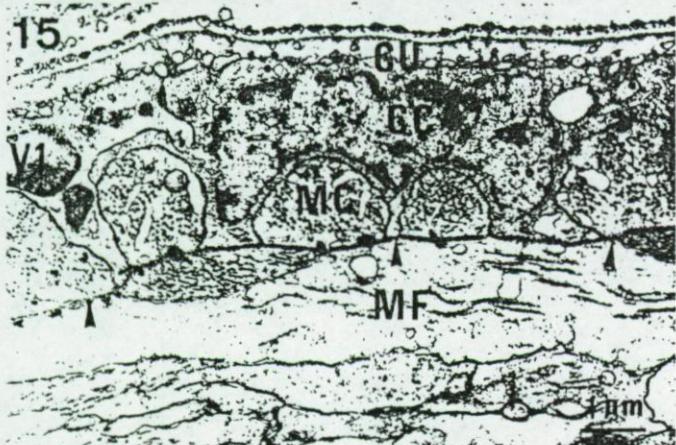
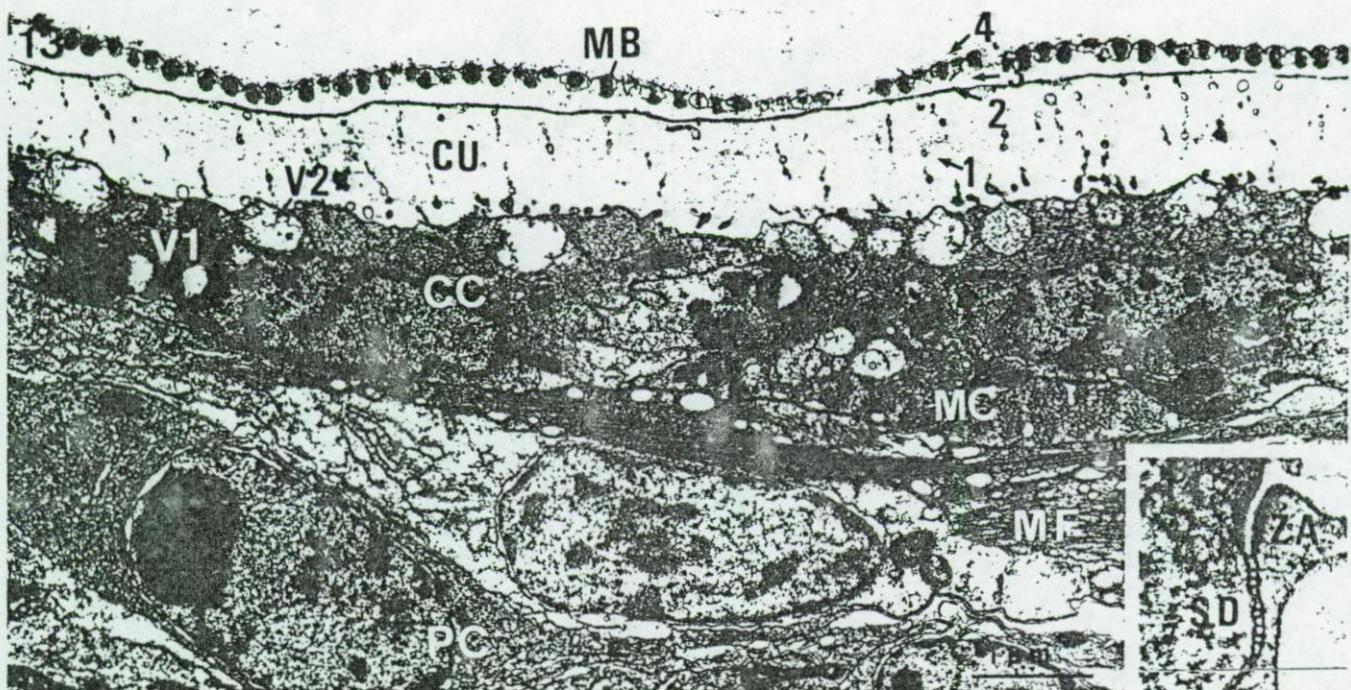
The cuticle (*CU*) is 1 μm thick and consists of 4 superposed layers (Fig. 13). The most internal and largest layer (750 nm thick) is made of a web-like fibrillar dense material in a lucent matrix. It is covered by a thin layer that forms a dense margin 30 nm thick. These two layers are crossed by numerous microvilli, which end in bulges (Figs. 12, 13, 15). Microvillar bulges (*MB*) are 200 nm in diameter and include a dense central granular mass (Figs. 12, 13). Bulges are situated in the third cuticular layer (ca. 200 nm thick), which is lucent and poorly fibrillar; they are covered by the fourth and most external layer, which is very thin (20 nm thick) and consists of granular material (Fig. 13). The cuticle reacts positively to the Alcian Blue, PAS and Van Gieson staining methods.

2. Regular epidermis

The regular epidermis includes three cell types: covering cells (*CC*), ciliated cells (*CL*), and myoepithelial cells (*MC*) (Fig. 12). All cell types contact the epidermal basal lamina (ca. 50 nm thick), while only covering cells and ciliated cells face the outer medium. The latter cell types bear microvilli that cross part of the epidermal cuticle. Covering and ciliated cells are joined to each other by junctional complexes, each consisting in a zonula adhaerens ca. 200 nm thick and a septate desmosome ca. 500 nm long (Fig. 14).

a) *Covering cells*. Covering cells are flattened cells about 3 μm high by 15 μm long (Figs. 12, 13, 15). They have an ovoid nucleus and their cytoplasm houses many mitochondria, a Golgi apparatus, cisternae of rough endoplasmic reticulum (*RER*) and two types of vesicles. Vesicles of the first type (*V1*) are spherical to ovoid in shape (Figs. 12, 13, 18). They measure 1 μm in diameter and contain an electron-dense material that forms dark spots at the periphery of the vesicles. Vesicles of the second type (*V2*) are generally ovoid (1 μm long). They are located in the most apical part of the cytoplasm, just under the cuticle, and appear either empty or full of a granular material (Figs. 12, 13, 18). When empty, their membranes are fused with the apical cell membrane.

b) *Ciliated cells*. Ciliated cells are similar in shape and size to covering cells. They bear from 20 to 50 cilia (Figs. 12, 16). Each cilium is 20 μm long and has the classic microtubular arrangement ($9 \times 2+2$ microtu-



Figs. 13–18. *Myzostoma cirriferum*. Fine structure (TEM) of the non-sensory area of the integument. *BB*, basal body; *BL*, basal lamina; *CM*, coarse myofilaments; *CR*, ciliary rootlet; *CU*, cuticle (1, 2, 3, 4: first, second, third and fourth cuticular layers; respectively); *MB*, microvillar bulge; *MI*, mitochondrion; *SD*, septate desmosome; *SR*, sarcoplasmic reticulum; *V1* and *V2*, vesicles of the first and second type; *ZA*, zonula adhaerens

Fig. 13. Sagittal section through the dorsal region (arrows, basal lamina)

Fig. 14. Detail of a junctional complex between two epidermal cells

Fig. 15. Sagittal section through the introvert pouch showing the abundance of myoepithelial cells (arrows, basal lamina)

Fig. 16. Detail of a ciliated cell

Figs. 17, 18. Transverse and longitudinal sections through a myoepithelial cell, respectively

bules). The cilium basal body is prolonged by a ciliary rootlet 1.5 µm long (Figs. 12, 16). The area where ciliary rootlets occur harbours many mitochondria (Figs. 12, 16). The rest of the cell cytoplasm includes the nucleus and organelles similar to those of covering cells.

c) *Myoepithelial cells*. Myoepithelial cells are elongated cells 0.5–3 µm wide and about 10 µm long (Figs. 12, 13, 15, 17, 18). They lie under the covering and ciliated cells in such a way that their longitudinal axis is always perpendicular to the antero-posterior axis of the myzostomid whether they are ventrally or dorsally located. They are particularly abundant at the level of the introvert and the introvert pouch (Fig. 15). In cross sections, coarse myofilaments (viz. myosine) surrounded by thin ones (viz. actine) form dark bands surrounded by lucent areas where sarcoplasmic reticulum occurs (Fig. 17). The dark bands are sometimes regularly arranged as in double-obliquely striated fibers: the dark bands alternate with lucent bands (Fig. 13). In longitudinal sections, the myoepithelial cell appears full of myofilaments without any particular arrangement (Fig. 18). The surrounding sarcoplasm (SR) is very tiny and includes a few mitochondria. The nucleus has never been observed.

3. Sensory epidermis

Epidermal sensory areas basically differ from the remaining epidermis in that they are innervated. Innervation occurs through thin entangled nerve processes that insinuate between the basal parts of epidermal cells. Such localized basiepidermal nerve nets were observed in several body areas, viz. the cirri, the parapodia and the parapodial fold, the body margin, the buccal papillae and the lateral organs. Nerve nets are always deprived of cell body. The latter only occurs in the ventral nerve cord from which all the observed nerve processes originate.

a) *Lateral organ*. Each lateral organ consists in a villous and ciliated dome-like central part that is surrounded by a smooth peripheral fold. The epidermis of the fold's inner part (viz. the part facing the central dome) is made up of a single cell type (secretory cells) while that of the fold's outer part is similar to the regular epidermis except that it is deprived of ciliated cells (Fig. 20). The fold epidermis is covered by a four-layered cuticle crossed by club-topped microvilli, a situation similar to that of the regular epidermis. The epidermis of the dome is markedly different from both the regular and the fold epidermis. It consists of vacuolar cells having numerous long microvilli, ciliated sensory cells, and secretory cells, the latter being distinct from those of the fold epidermis (Fig. 19). All these cells are joined together by junctional complexes consisting in a zonula adhaerens and a septate desmosome. The relative proportion of the three types of cells is 8 vacuolar cells for 2 sensory cells and 1 secretory cell. The dome epidermis is covered by a thin two-layered cuticle that is crossed by the basalmost part of the vacuolar cell microvilli (Figs. 19, 21). Moreover, the

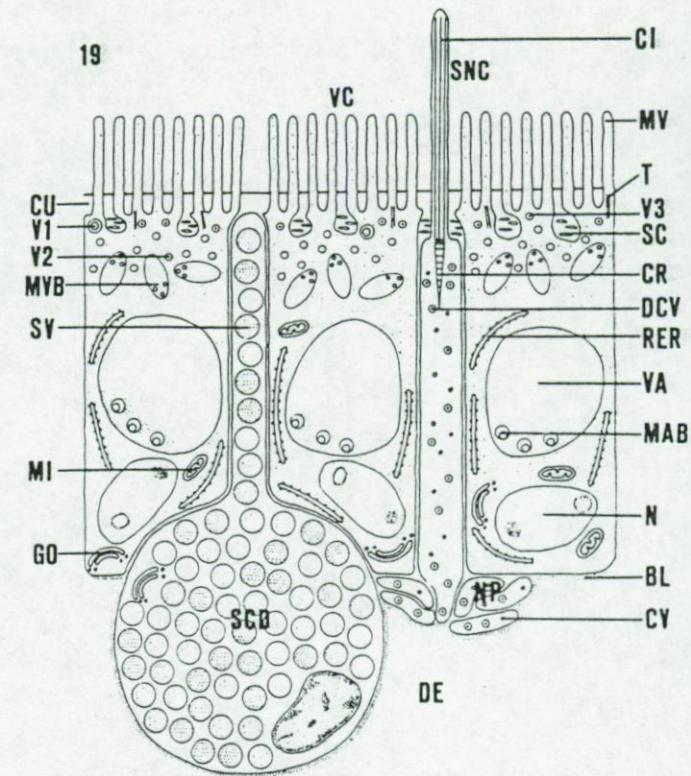


Fig. 19. *Myzostoma cirriferum*. Schematic drawing of a section through the epidermis of the lateral organ dome (not to scale). *CV*, clear vesicle; *DCV*, dense cored vesicle; *DE*, dermis; *MAB*, multiannular body; *MVB*, multivesicular body; *N*, nucleus; *NP*, nerve process; *SC*, subcuticular chamber; *SCD*, secretory cell of the dome; *SNC*, sensory cell; *SV*, secretory vesicle; *T*, tonofilaments; *V3*, vesicles of 3rd type; *VA*, vacuole; *VC*, vacuolar cell

dome epidermis is conspicuously innervated through bundles of nerve processes that cross the underlying dermal layer and basal lamina and insinuate between the basal part of epidermal cells (Figs. 19, 24).

Vacuolar cells: Vacuolar cells are 40 µm high and 5–20 µm wide. They are covered by a thin cuticle which is strongly PAS-positive. The apical cell membrane often forms indentations, and thus subcuticular chambers (SC) 300–800 nm high occur in places (Figs. 19, 21, 29). They are filled with tiny processes (TP) 50 nm in diameter.

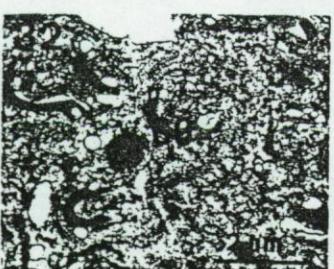
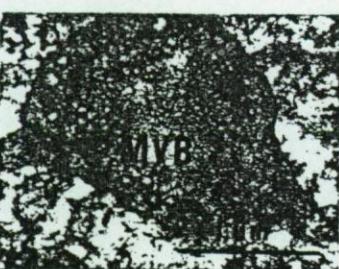
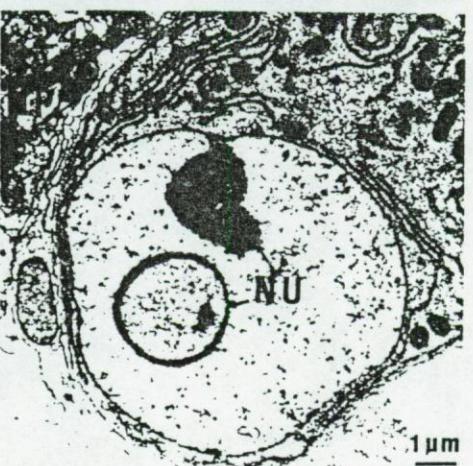
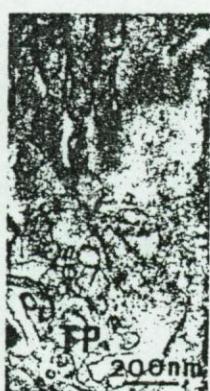
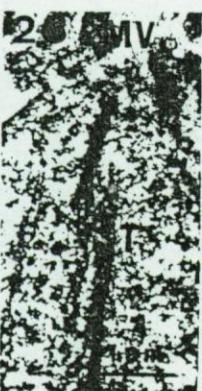
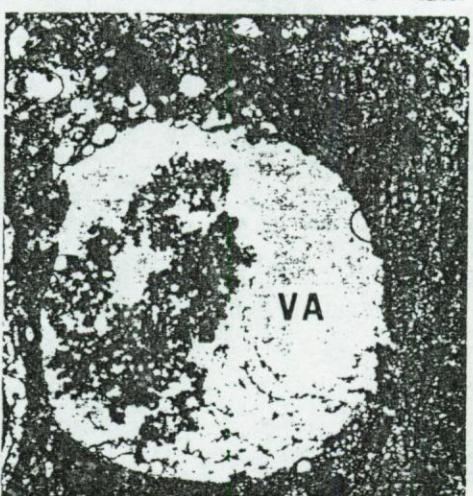
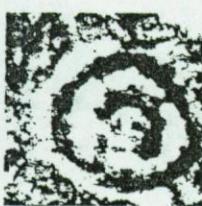
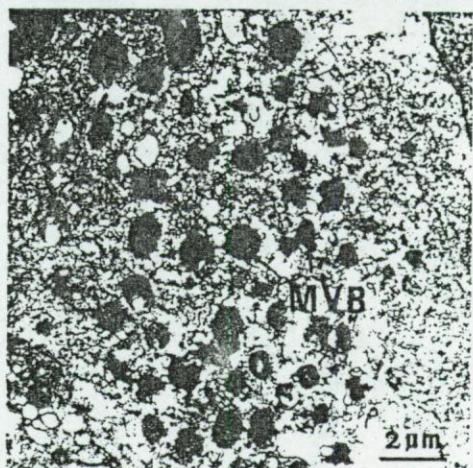
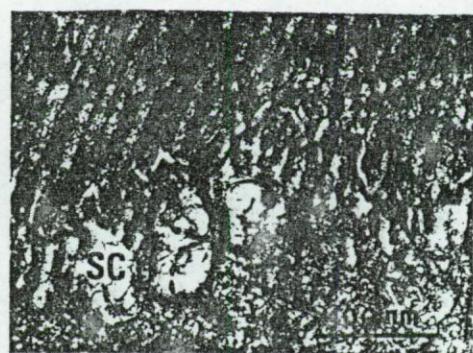
→
Figs. 20–32. *Myzostoma cirriferum*. Fine structure (TEM) of the lateral organ. *GM*, granular material; *NU*, nucleolus; *SCF*, secretory cell of the fold; *TP*, tiny process

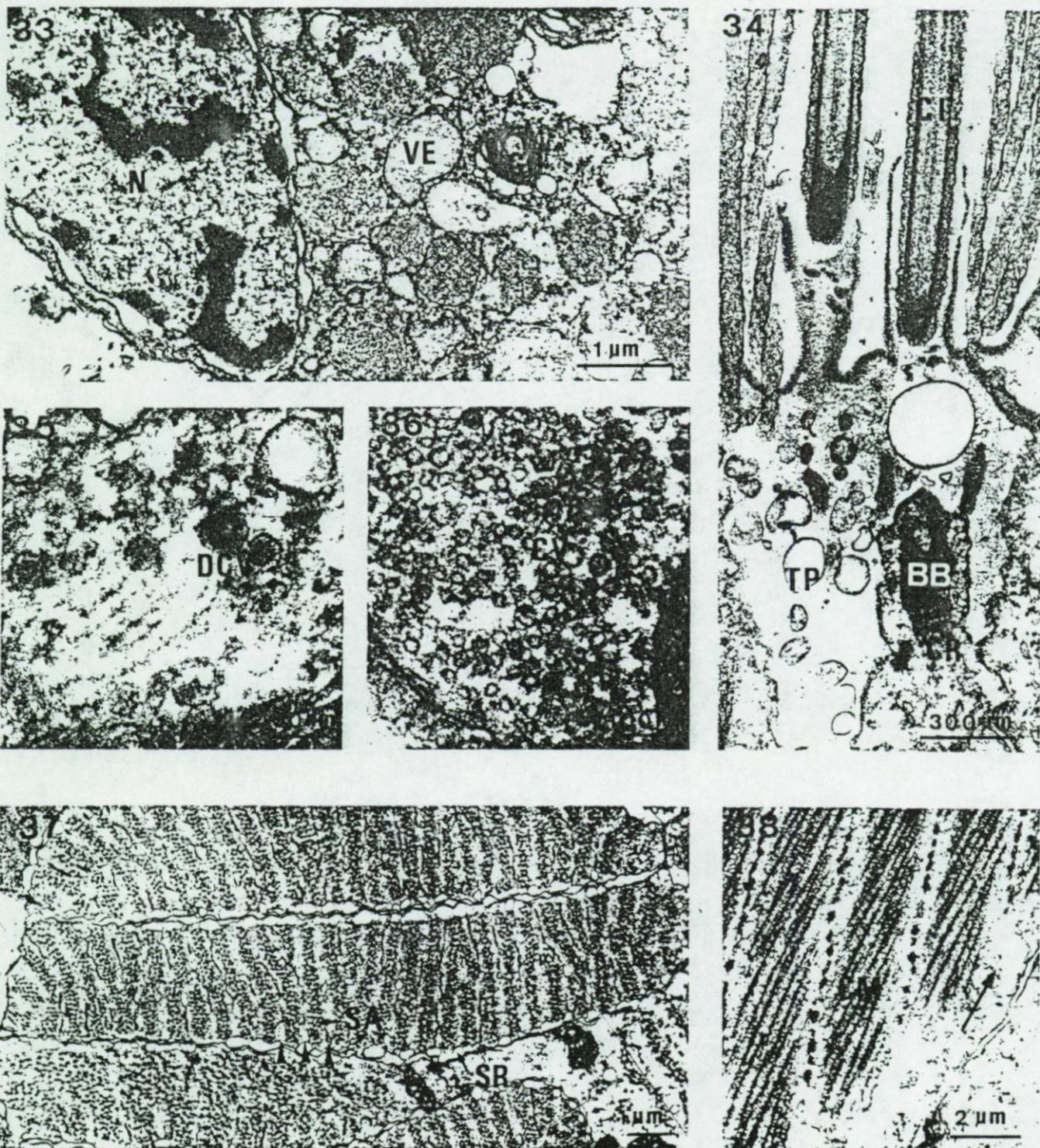
Fig. 20. Section through the peripheral fold

Figs. 21–24. Views of the different regions of a vacuolar cell. Microvilli, subcuticular chambers and the first region (21); second region (22); third region (23); and fourth region (24)

Figs. 25–32. Detailed views of the cytoplasmic content of different regions of a vacuolar cell. Vesicles of the 1st, 2nd, 3rd type and tonofilaments of the first region (25, 26, 27, 28, respectively); tiny processes of a subcuticular chamber (29); multiannular bodies of the vacuole (30); multivesicular body of the second region (31); Golgi apparatuses of the fourth region (32)

20





Figs. 33–38. *Myzostoma cirriferum*. Fine structure (TEM) of the lateral organ (33–36) and the dermis (37, 38). SA, sarcomere; VE, secretory vesicle

Fig. 33. Detail of a dome secretory cell

Fig. 34. Detail of the apex of a sensory cell

Figs. 35, 36. Views of dense cored vesicles (35) and clear vesicles (36) in the basiepidermal nerve processes

Figs. 37, 38. Transverse (37) and longitudinal (38) sections through muscular fibers. The small arrows (37) indicate the limits of the so-called sarcomeres; the long arrow (38) indicates the orientation of the longitudinal axis of the muscular fiber

ter (Fig. 29). The cell apex gives rise to numerous microvilli (MV) 6 μm long (Figs. 19, 21). The cytoplasm of supporting cells can be stratified in four regions according to their content. The first and uppermost region is 5 μm thick (Fig. 21). It includes numerous tonofilaments (T) and vesicles of three different types (Figs. 19, 21, 28). Vesicles of the first type measure ca. 300 nm in diameter; they contain an electron-dense margin and an electron-dense central annulus separated by a lucent area (Fig. 25). Vesicles of the second type are the most abundant; they measure from 70 to 160 μm in diameter and include a finely fibrillar material (Fig. 26). Vesicles of the third type are ca. 200 nm in diameter; they contain a dense central core surrounded by a less dense halo (Fig. 27). The second region of supporting cells is ca. 12 μm thick (Fig. 22). It includes numerous spherical to ovoid multivesicular bodies (MVB) 0.5–1.8 μm in diameter (Figs. 19, 22). These include numerous small vesicles that are located at one pole of the body (Fig. 31). The third region is 15 μm thick (Fig. 23). It contains a very large vacuole (VA) of 10 to 13 μm in diameter, which always includes a granular material (Alcian Blue positive) (Figs. 19, 23). That material is not uniformly distributed and tends to be organized in multiannular bodies (MAB) (Fig. 30). The vacuole is always surrounded by a highly developed RER and by numerous mitochondria (Fig. 23). A few vacuolar cells do not include such a vacuole. The fourth and basalmost region is 8 μm thick (Fig. 24). It includes the ovoid nucleus, which is surrounded by a highly developed RER, numerous mitochondria and numerous Golgi apparatuses (up to 12 Golgi apparatuses were observed in a single cell) (Figs. 19, 24, 32). The nucleus is totally euchromatic and has two nucleoli (NU), one measuring 2 μm in diameter and being uniformly dense and the other measuring 3 μm in diameter and being bordered by a dense halo 80 nm thick (Fig. 24).

Sensory cells: Sensory cells are dendritic processes of nervous cells whose bodies lie in the ventral nerve cord of individuals. Sensory processes usually detach either singly or in pairs from bundles of basiepidermal nerve processes and reach the apex of the epidermis (Fig. 19). They include mitochondria, microtubules and two types of vesicles (viz. large dense-cored vesicles 70–140 nm in diameter, and small clear vesicles ca. 30 nm in diameter) (Figs. 19, 34, 35, 36). Each sensory process bears a single cilium 10 μm long (Fig. 34). The cilium crosses the cuticle and has the usual microtubular arrangement (9 \times 2 + 2). The basal body is extended by a ciliary rootlet, which is surrounded by the afore mentioned types of small vesicles.

Secretory cells: Two types of secretory cells have been observed and are situated either in the dome epidermis or in the fold epidermis. The secretory cells of the dome have a large cell body resting under the supporting cells, and an elongated apical process running to the apex of the epidermis (Fig. 19). Their cytoplasm is full of vesicles 900 nm in diameter, which are spherical to oval in shape and filled with a homogenous, finely particulate and Al-

cian Blue-positive material (Figs. 19, 33). The vesicle content has various electron densities and some vesicles appear empty. The nucleus is euchromatic and nucleolated. Golgi apparatuses are present in the cytoplasm near the nucleus; other organelles have not been observed.

The secretory cells of the fold are 15 μm long by 5 μm wide. Their nucleus lies at the base of the cell and is surrounded by RER cisternae, mitochondria and Golgi apparatus (Fig. 20). Most of the cytoplasm is full of Alcian Blue-positive secretory products enclosed in vesicles 0.5–2.5 μm in diameter (Fig. 20). Some vesicles are filled with an homogenous granular material; in others, the material is concentrated at the vesicle margin (Fig. 20).

b) Other sensory areas. These are the cirri, the parapodia and parapodial fold, the body margin and the buccal papillae. Their epidermis is similar to that of the general integument except that it is innervated. These areas also show ciliated sensory processes that go in between covering cells to reach the apex of the epidermis. These processes are similar to those observed in the dome of lateral organs. No vacuolated cell were observed in any of these areas. Secretory cells were seen, but scattered and only in the cirri (where they are similar to those of the lateral organ dome) and in parapodia and parapodial folds (where they are similar to those of the lateral organ fold).

4. Dermis

The dermis is a parenchymo-muscular layer. It includes two parts that are more or less imbricated: an upper muscular part (viz. the dermal muscles) which reacts positively with Orange G and Mercuric Bromophenol Blue, and a lower parenchymal part (viz. the parenchyma), which has no affinity with any of the histochemical stains used and fills the intergonadal spaces (Figs. 12, 13).

Dermal muscles are conspicuous ventrally as well as in the introvert and the parapodia; they are poorly developed dorsally. They consist of interlacing longitudinal, circular and transverse muscle fibers. Muscle fibers are of the double-obliquely striated type (Figs. 37, 38). In cross sections, myofilaments are arranged in so-called sarcomeres (Fig. 37). In longitudinal sections, the sarcomeres are oblique with regard to the longitudinal axes of the fibers (Fig. 38). When observed, the nucleus always lies outside the sarcomeres.

The thickness of the parenchyma varies according to the development of the gonads (it is the thinnest when gonads are mature). The parenchyma is well developed in the dorsal region of the myzostomid (particularly in the dorso-sagittal region where no gonad occurs), while it is poorly developed in the ventral region and the parapodia. It is made up of cells that are highly variable in shape: they can be anything from ca. 20 μm long (e.g. when gonads are poorly developed) up to highly elongated and flattened (when gonads are fully developed) (Figs. 12, 13). Their cytoplasm includes few mito-

chondria (Figs. 12, 13). No Golgi apparatus nor RER cisterna have been observed.

D. Discussion

I. The sensory integument

Myzostomids are totally dependent on their echinoderm hosts. During their whole life, postmetamorphic individuals of *M. cirriferum* live on the Comatulida, where they move along, feed, and reproduce (Eeckhaut et al. 1990). They never leave the comatulid in order to migrate to the neighboring substratum, but on the other hand, they show a great motility on their host (Eeckhaut et al. 1990). All sensory areas of the integument are confined to body regions that are in contact with the host's surface where the animal moves along. It thus seems probable that the function of all these organs is linked with the host.

1. The lateral organs

Among the integument's sensory areas, lateral organs are the most characteristic. They were first considered to be suckers allowing myzostomids to be attached to their host (Graff 1884, 1887). Wheeler (1896) was the first in seeing them as sense organs. The great majority of myzostomids possess four pairs of lateral organs, as in *M. cirriferum*, but their number varies from zero (in the genera *Mesomyzostoma* and *Cystimyzostomum*) to ten pairs (in the genus *Pulvinomyzostomum*) (see Stummer-Traunfels 1926; Prenant 1959). According to Prenant (1959), the external morphology of these organs varies from a small pit (in representatives of the genus *Stelechopus*) to a great bag (in the genus *Myzostoma*). The internal morphology was only described in two species (viz. *Asteriomyzostomum asteriae* Marenzeller, 1895, and *Protomyzostomum polynephritis* Fedotov, 1912) by Stummer-Traunfels (1926). In the two species, each lateral organ includes a fold and a central part, the latter being the sensory area of the organ, as we have observed in *M. cirriferum*. However, the structure of the central part varies according to the species: in *A. asteriae*, it includes ciliated sensory cells in relation with nervous processes, while in *P. polynephritis* it includes non-ciliated sensory cells (Stummer-Traunfels 1926).

Clark (1978) considered myzostomid lateral organs similar to the lateral organs of some sedentary polychaetes. The latter are paired organs localized on each segment between the notopodium and the neuropodium (Rullier 1951). Each includes supporting cells and sensory cells provided with one straight cilium (Rullier 1951). The fine structure of these organs has only been studied in *Protodrilus* spp. by Nordheim (1991), and it is totally different from that of *M. cirriferum* lateral organs.

Other polychaete sensory areas are the nuchal organs, which consist of one pair of structures situated on the

dorsal part of the prostomium or peristomium (Rullier 1950, 1951). Comparative ultrastructural investigations of olfactory sense organs in vertebrates and invertebrates support the hypothesis that nuchal organs are chemosensitive (Rhode 1990). Up to now, nuchal organs of about fourteen species of polychaetes have been studied at the ultrastructural level, and all show similarities with lateral organs of *M. cirriferum*. The nuchal organs of polychaetes and the lateral organs of *M. cirriferum* have a similar cuticle, which is highly reduced and covered by microvilli, and the two generally include three similar types of cell: sensory cells, secretory cells and a third cell type (ciliated cells for nuchal organs and villous vacuolar cells for lateral organs) (Whittle and Zahid 1974; West 1978a, b; Schlötzer-Schrehardt 1986, 1987, 1991; Purschke 1986; Rhode 1989, 1990; present paper).

A common feature of nuchal organs is the presence of spaces under the cuticle, called olfactory chambers, where dendrites of sensory cells end and give rise to subcuticular modified processes and to one or several cilia (Storch and Schlötzer-Schrehardt 1988). In *M. cirriferum*, we observed small subcuticular chambers which are very similar to olfactory chambers: they are associated with uniciliated sensory cells and vacuolar cells and are filled with processes that probably arise from sensory cells. Analogies with nuchal organs suggest that myzostomid lateral organs are sensory. Moreover, these are highly motile organs that are often applied to the surface of the host's integument, which suggests that their function probably depends on contact. One of the functions of lateral organs could be to recognize the uppermost layer of the host's integument, allowing myzostomids to stay permanently on comatulids and to prevent them from migrating to an inhospitable substrate.

Because lateral organs seem to be dependent on contact while nuchal organs do not, the functional models could basically differ from one another. Two functional models of nuchal organs have been proposed. According to Storch and Welsch (1969), the ciliated cells are directly responsible for the transduction of the odoriferous stimulus into a nerve influx. According to Whittle and Zahid (1974), odoriferous molecules are sent on to the olfactory chambers by the beating of ciliated cells. Thus, odoriferous molecules would flow through the cuticle and contact the tiny processes of sensory cells where the transduction can occur. In *M. cirriferum*, lateral organs are chiefly microvillous, and the only cilia observed are not vibratile but belong to sensory cells. The lack of vibratile cilia in the lateral organs could be explained by the fact that their sensory function is exercised through contact and consequently they do not need cilia to bring odoriferous molecules to them. Two cell types could be responsible of the transduction phenomenon: the ciliated sensory cells and the villous vacuolar cells. It seems indubitable that ciliated sensory cells carry a first type of information: the first structure contacting the host integument must be the cilia. We may tentatively suggest that this first type of information is a mechanoreception. The second structures that can contact the integument are the microvilli of the vacuolar cells. These cells show great synthesizing activity (they possess an

almost totally euchromatic nucleus surrounded by a highly developed RER, numerous Golgi apparatuses and mitochondria) as well as an intense turnover of their apical membrane (they possess numerous apical vesicles and apical multivesicular bodies). Vacuolar cells could synthesize membrane chemoreceptors which would be linked to the cell membrane of microvilli.

Two models of function could thus be assumed for vacuolar cells. First, they might be sensory cells and would be responsible of the transduction when microvilli contact the integument. Then, the information would be carried by the basiepidermal processes close to the base of the cells. In this hypothesis, no function can be assigned to the tiny processes of the subcuticular chambers, and they would have to be considered as artifacts. Second, the vacuolar cells might be the intermediate between odoriferous molecules linked to the host's integument and the tiny sensory processes of the subcuticular chambers. The molecules could link to the membrane chemoreceptors of the microvilli and owing to the fluidity of the cell membrane (generated by its high turnover), they could arise in the subcuticular chambers, where they would contact the tiny sensory processes; as in the majority of nuchal organs, these would be the site of transduction. As mentioned above, the tiny processes appear to emerge from the sensory cells and, according to this second hypothesis, sensory cells would carry two types of information: the first would be mechanosensory (transmitted by the cilia) and the second would be chemosensory (transmitted by the tiny processes).

The last type of cells in the lateral organs, the secretory cells, are also observed in other body regions, all of which are areas that can contact the host. They presumably release secretions that can protect these points of friction.

2. The other sensory areas

The other sensory areas (viz. cirri, body margin, buccal papillae, parapodia and parapodial fold) are characterized by the presence of uniciliated sensory cells. In polychaetes, ciliated sensory cells are widespread and occur alone or in groups and may be uniciliated or multiciliated (Mill 1978). Uniciliated cells have been observed on parapodial and prostomial cirri of few polychaetes (Dorsett and Hyde 1969; Lawry 1967; Boilly-Marer 1972). The cirri and the body margin of *M. cirriferum* are often applied to the surface of the host or to another myzostomid and it is highly probable that they are tactile sense organs playing a role in self-species recognition and in recognition of possible variations in the structure of the host's integument, probably allowing myzostomids to orientate on it. *M. cirriferum* feed on particles diverted by way of their introvert from ciliated grooves situated at the surface of the comatulid (Eeckhaut et al. 1990). Their buccal papillae display a sensory structure and are very well placed to detect the ciliary current or the particles carried and thus indicate to the myzostomid that it is at the level of a place where it can feed.

II. The regular (non-sensory) integument

Our observations about the general structure of the integument of *Myzostoma cirriferum* confirm some of those recorded by Stummer-Traunfels (1926), who reported that the integument of *Asteriomyzostomum asteriae* is formed by an epidermis with cuticle and a dermis that includes muscular and parenchymal cells. The fine structure of the integument of *M. cirriferum* has revealed the presence of a myoepithelial epidermis and, therefore, it differs in that respect from *A. asteriae*. According to Rao and Sowbhagyavathi (1972), the integument of *Myzostoma gopalai* Subramaniam, 1938, and *Myzostoma striata* George, 1950, consists of a cuticle-covered epidermis and a dermis which, in the dorsal part of the animals, consists of a thick wall of collagen. In *M. cirriferum*, we have not observed such a wall of collagen (its dorsal part does not react to the Van Gieson stain, and we have never observed fibers with the typical periodicity of collagen fibers).

The cuticle of *M. cirriferum* is very similar to that of polychaetes. In the latter, as in *M. cirriferum*, it is formed by fibers surrounded by a matrix which is limited externally by a thin, dense margin, the epicuticle (Rieger and Rieger 1976; Richards 1978, 1984; Storch 1988) and it is crossed by microvilli that are often slightly inflated, sometimes including an electron-dense core (Storch 1988). However, in most cases, the epicuticle gives rise to epicuticular projections (Richards 1984), which is not the case in *M. cirriferum*. The cuticular matrix of the polychaetes is composed of mucopolysaccharides and includes unbanded fibers of collagen (Richards 1984; Murray and Tanzer 1985). Histochemical tests carried out on the cuticle of *M. cirriferum* show the presence of mucopolysaccharides (the cuticle is PAS- and Alcian Blue-positive) and suspect the presence of collagen (the cuticle reacts positively to Van Gieson stain).

Prenant (1959) noted that covering epidermal cells of myzostomids are generally cylindrical, while we have observed very flattened epidermal cells in *M. cirriferum*. Pavimentous epithelium also occurs in small species of polychaetes (Westheide and Riser 1983; Storch 1988). The majority of the epidermis of *M. cirriferum* is formed by covering cells in which a common feature is the presence of two types of vesicle. One of the two has often been observed to fuse with the cytoplasmic membrane beneath the cuticle. We suppose that the granular material contained in these vesicles is involved in the formation of the cuticle. Secretion of the other type of vesicle has never been observed and its function is unknown.

The very peculiar feature of the integument of *M. cirriferum* is the presence of a myoepithelial layer, which is very unusual in invertebrates except in Cnidaria (West 1978 b). In polychaetes, it has only been observed in a representative of the genus *Typosyllis* at the level of the epidermis of antennae and of tentacular and dorsal cirri (Storch 1988). The fact that we have sometimes observed an alternation of dark and lucent bands could suggest that epidermal muscle fibers are double-obliquely striated or helical. Dermal muscle fibers of *M. cirriferum* are obviously double-obliquely striated, which is a

common feature of soft-bodies animals (Lanzavecchia et al. 1988). Several small interstitial polychaetes also possess a reduced coelome sometimes totally invaded by coelenchymal cells (Fransen 1980) which show a fine structure very similar to that of parenchymal cells of *M. cirriferum*.

III. Phylogenetic considerations

All the time, there have been controversies about the systematic position of myzostomids. Though myzostomids show some polychaete features (i.e., they have parapodia), their affinities are still far from being understood, which is mainly because we have so little information about their fine structure. Clearly, the myzostomid lateral organ structure is similar to that of the polychaete nuchal organs, but this could be due to the fact they fulfill the same function (viz. perception of odoriferous substances). This and the respective number and position of these organs – from zero to ten pairs of lateral organs located latero-ventrally along the trunk of myzostomids versus one pair of nuchal organs located dorsally at the head-trunk junction of polychaetes – makes us inclined to consider them analogous. Surely the most characteristic – and phylogenetically significant – feature of the myzostomids is the myoepithelial nature of their epidermis. No such epidermis has been observed in polychaetes (except in the antennae and cirri of a single species; Storch 1988) or in any representative of the Clitellata. Supposing a myoepidermis is the general rule in myzostomids (so far it has only been observed in *M. cirriferum*), this would support the idea that myzostomids form a distinct entity among Spiralia.

Acknowledgements. We thank Professor P. Lassere for providing facilities at the Marine Biological Station of Roscoff (Brittany, France), and E. Bricourt and J. Harry for technical assistance. This work was supported by an IRSIA grant to I. Eeckhaut and by FRFG grant 2454991. The paper is one of the contribution from the "Centre Interuniversitaire de Biologie Marine" (CIBIM).

References

- Afzelius BA (1983) The spermatozoon of *Myzostomum cirriferum* (Annelida, Myzostomida). *J Ultrastruct Res* 83:58–68
- Afzelius BA (1984) Spermiogenesis in *Myzostomum cirriferum* (Annelida, Myzostomida). *Vidensk Meddr Dansk Naturh Foren* 145:11–21
- Boilly-Marer Y (1972) Etude ultrastructurale des cirres parapodiaux de néréidiens atoques (annelides polychètes). *Z Zellforsch* 131:309–327
- Clark RB (1978) Composition and relationships. In: Mill PJ (ed). *Physiology of the annelids*. Academic Press, London, pp 1–32
- Dorsett DA, Hyde R (1969) The fine structure of the compound sense organs on the cirri of *Nereis diversicolor*. *Z Zellforsch* 97:512–527
- Eeckhaut I, Jangoux M (1991) Fine structure of the spermatophore and intradermic penetration of sperm cells in *Myzostoma cirriferum* (Annelida, Myzostomida). *Zoomorphology* 111:49–58
- Eeckhaut I, Lahaye MC, Jangoux M (1990) Postmetamorphic development of *Myzostomum cirriferum* (Annelida) and effects of the symbiont on its crinoid host. *Antedon bifida* (Echinodermata). In: De Ridder C, Dubois P, Lahaye MC, Jangoux M (eds) *Echinoderm research*. Balkema, Rotterdam, pp 317–322
- Fransen ME (1980) Ultrastructure of coelomic organization in annelids. I. Archiannelids and other small polychaetes. *Zoomorphology* 95:235–249
- Ganter P, Jollès G (1969–1970) *Histo chimie normale et pathologique*, Vols 1–2. Gauthier-Villars, Paris
- Graff L von (1884) Report on the Myzostomida collected during the voyage of HMS Challenger during the years 1873–1876. *Scient Rep Challenger Exped* 10:1–82
- Graff L von (1887) Report on the Myzostomida. Supplement. *Scient Rep Challenger Exped* 20:1–16
- Jangoux M (1990) Diseases of Echinodermata. In: Kinne O (ed) *Diseases of Marine Animals*, vol 3. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, pp 439–568
- Kato K (1952) On the development of *Myzostoma*. *Science Rep Saitama Univ* 1 (1):1–16
- Lanzavecchia G, de Egileor M, Valvassori R (1988) Muscles. In: Westheide W, Hermans CO (eds) *The ultrastructure of polychaeta, microfauna marina*. Vol 4. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, pp 71–88
- Lawry JV (1967) Structure and function of the parapodial cirri of the polynoid polychaete, *Harmothoë*. *Z Zellforsch* 82:345–361
- Lehmann D, Pietsch A, Westheide W (1991) Ultrastructural investigations on the spermatophore of *Myzostoma cirriferum* (Polychaeta: Myzostomida). Preliminary results on organization and hypodermic passage. *Bull Mar Sci* 48:abstract
- Mattei X, Marchand B (1987) Les spermatozoïdes des acanthocéphales et des myzostomides. *Ressemblances et conséquences phylétiques*. *C R Acad Sci Paris* 305:525–529
- Mattei X, Marchand B (1988) La spermiogénèse de *Myzostomum* sp. (Procoelomata, Myzostomida). *J Ultrastruct Res* 100:75–85
- Mill PJ (1978) Sense organ and sensory pathways. In: Mill PJ (ed) *Physiology of the annelids*. Academic Press, New York London San Francisco, pp 63–114
- Murray LW, Tanzer ML (1985) The collagen of the Annelida. In: Bairati A, Garrone R (eds) *Biology of invertebrate and lower vertebrate collagens*. Plenum Press, New York, pp 243–258
- Nordheim H von (1991) Ultrastructure and functional morphology of male genital organs and spermatophore formation in *Protodrilus* (Polychaeta, Annelida). *Zoomorph* 111:81–94
- Pietsch A, Westheide W (1987) Protonephridial organs in *Myzostoma cirriferum* (Myzostomida). *Acta Zool* 68:195–203
- Prenant M (1959) Classe des myzostomides. In: Grassé P (ed) *Traité de Zoologie*, vol 5 (1). Masson, Paris, pp 714–784
- Purschke G (1986) Ultrastructure of the nuchal organ in the interstitial polychaete *Styngocapitella subterranea* (Parergodrilidae). *Zool Scr* 15:13–20
- Rao KH, Sowbhagyavathi R (1972) Observations on the associates of crinoids at Waltair Coast with special reference to myzostomes. *Proc Indian Natn Sci Acad* 38:360–366
- Rhode B (1989) Ultrastructural investigations on the nuchal organ of the protandric polychaete *Ophryotrocha puerilis* (Polychaeta, Dorvilleidae). *Zoomorphology* 108:315–322
- Rhode B (1990) Ultrastructure of nuchal organs in some marine polychaetes. *J Morph* 206:95–107
- Richards KS (1978) Epidermis and cuticle. In: Mill PJ (ed) *Physiology of the annelids*. Academic Press, London New York, pp 31–61
- Richards KS (1984) Annelida. Cuticle. In: Bereiter-Hahn J, Matoltsy AG, Richards KS (eds) *Biology of the integument, invertebrates*. Vol 1. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 310–322
- Rieger RM, Rieger GE (1976) Fine structure of the archiannelid cuticle and remarks on the evolution of the cuticle within the Spiralia. *Acta Zool* 57:53–68
- Rullier F (1950) Rôle de l'organe nucal des annélides polychètes. *Bull Soc Zool Fr* 75:18–24
- Rullier F (1951) Etude morphologique, histologique et physiologique de l'organe nucal chez les annélides polychètes sédentaires. *Ann Inst Océanogr Paris* 25:207–341

- Schlötzer-Schrehardt U (1986) Ultrastructural investigation of the nuchal organs of *Pygospio elegans* (Polychaeta). I. Larval nuchal organs. *Helgol Meer* 40:397–417
- Schlötzer-Schrehardt U (1987) Ultrastructural investigation of the nuchal organs of *Pygospio elegans* (Polychaeta). II. Adult nuchal and dorsal organs. *Zoomorphology* 107:169–179
- Schlötzer-Schrehardt U (1991) Ultrastructural differentiation of nuchal and dorsal organs during postembryonic and sexual development of *Pygospio elegans* Claparède (Polychaeta, Spionidae). In: Petersen E, Kirkegaard JB (eds) Systematics, biology and morphology of world polychaeta, ophelia, Suppl 5. Helsingør, Denmark, pp 633–640
- Storch V (1988) Integument. In: Westheide W, Hermans CO (eds) The ultrastructure of polychaeta, microfauna marina, Vol 4. Gustav Fischer, Stuttgart, pp 13–36
- Storch V, Schlötzer-Schrehardt U (1988) Sensory structure. In: Westheide W, Hermans CO (eds) The ultrastructure of polychaeta, microfauna marina, Vol 4. Gustav Fischer, Stuttgart, pp 121–133
- Storch V, Welsch U (1969) Zur Feinstruktur des Nuchalorgans von *Eurythoe complanata* (Pallas) (Amphinomidae, Polychaeata). *Z Zellforsch* 100:411–420
- Stummer-Traunfels RR von (1926) Myzostomida. In: Kükenthal W (ed) Handbuch der Zoologie, Vol 3. De Gruyter, Berlin, pp 132–210
- West DL (1978a) Comparative ultrastructure of juvenile and adult nuchal organs of an annelid (Polychaeta: Opheliidae). *Tissue and Cell* 10:243–257
- West DL (1978b) The epitheliomuscular cell of *Hydra*: its fine structure, three-dimensional architecture and relation to morphogenesis. *Tissue and Cell* 10:629–646
- Westheide W, Riser NW (1983) Morphology and phylogenetic relationships of the neotenic interstitial polychaete *Apodotrocha progenerans* n. gen., n. sp. (Annelida). *Zoomorphology* 103:67–87
- Wheeler WM (1896) The sexual phases of *Myzostoma*. *Mitth Zool Stat Neapel* 12:227–302
- Whittle AC, Zahid ZR (1974) Fine structure of nuchal organs in some errant polychaetous annelids. *J Morph* 144:167–183

Postmetamorphic development of *Myzostomum cirriferum* (Annelida)
and effects of the symbiote on its crinoid host, *Antedon bifida*
(Echinodermata)

35346

I. Eeckhaut

Laboratoire de Biologie marine, Université de Mons-Hainaut, Mons, Belgique

M.-Ch. Lahaye

Laboratoire de Biologie marine (CP 160), Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique

M. Jangoux

Laboratoire de Biologie marine, Université de Mons-Hainaut, Mons, Belgique & Laboratoire de Biologie marine (CP 160), Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique

ABSTRACT: Three postmetamorphic developmental stages (viz. the juvenile, male and hermaphroditic stages) occur in *Myzostomum cirriferum*, a symbiote of the comatulid *Antedon bifida*. Juveniles are 100 to 500 µm long without functional gonads, males measure from 500 to 700 µm and have functional testes while hermaphrodites (i.e. adult worms) are 700 to 2,000 µm long and possess both functional testes and an ovary. Juvenile and some male worms live attached to the ambulacrinal grooves of the pinnules of their comatulid host where they produce marked deformation of the lappets and podia, and behave as ectoparasites. Hermaphrodites and other males move freely on the host body wall; they do not produce any deformation of the host's body and behave as ectocommensals.

1 INTRODUCTION

Myzostomids are peculiar disc-shaped polychaetes whose main biological feature is their intimate association with echinoderms. No free-living species are known, nor any that live symbiotically with non-echinoderm hosts (Jangoux 1987). They are mainly symbiotic with crinoids, but a few live either on or in ophiuroids or asteroids. The great majority are commensals of crinoids: they move freely over the host body and ingest particles caught from their hosts' ambulacrinal grooves (Clark 1921). Other myzostomids are parasites. Some infest the crinoid body wall and provoke swelling or malformation of the underlying pinnule or arm (the galls of *Myzostomum* spp. and cysts of *Cystimyzostomum* spp.) (Graff 1884, 1887, Jangoux 1987). Others are true endoparasitic species living either in the gonad, digestive tract or coelom of their crinoid, asteroid or ophiuroid hosts (Fedotov 1916, Wheeler 1904, Remscheid 1916, Jangoux 1987).

Myzostomum cirriferum is a commensal of *Antedon bifida*. The most recent study of its development and adult morphology is that of Jägersten (1940) using ordinary microscopical techniques. The aim of the present paper is to characterize the postmetamorphic developmental stages of *M. cirriferum*, using histological and

scanning electron microscopical (SEM) techniques, and to consider the potential of each stage to provoke host deformation.

2 MATERIAL AND METHODS

Adult *Antedon bifida* and their myzostomid symbionts were collected by scuba diving at Morgat (Brittany, France) in September and December 1988 and in March and May 1989. They were maintained either in an open-circuit marine aquarium at the Roscoff Biological Station (7°C, 34‰) or in a closed-circuit marine aquarium at the laboratory in Brussels (10°C, 32‰).

For light microscopy, myzostomids were fixed in Bouin's fluid, embedded in paraplast and cut into 7 µm thick serial sections. These were used for routine histology (Masson's Trichrome or de Groat's hematoxylin counterstained with phloxin and light green) according to Ganter and Jollès (1969-1970).

SEM-observations were made on myzostomids fixed in Bouin's fluid for 24 hours. They were dehydrated in graded concentrations of ethanol and dried by the critical point method using CO₂ as transition fluid. Pieces were mounted on aluminium stubs, coated with gold in a sputter coater and observed with a ISI DS-130 scanning electron microscope.

Mons, le 24-01-95

Place du Parc, 20 B-7000 MONS
(BELGIQUE)

FACULTE DES SCIENCES

LABORATOIRE DE BIOLOGIE MARINE

Prof. MICHEL JANGOUX

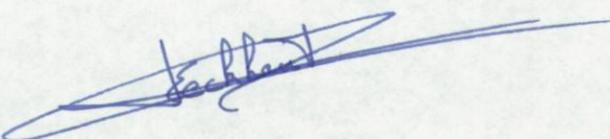
(A rappeler dans la réponse)

Prof. E. Schokaert
Department S.G.B.
L.U.C.
Universitaire Campus
B 3590 Diepenbeek

Cher Professeur Schockaert,

Veuillez trouver ci-joint un exemplaire de ma thèse intitulée "Cycle vital et biologie de *Myzostoma cirriferum* (Myzostomida), symbiose obligatoire de la comatule *Antedon bifida* (Echinodermata)".

Je vous souhaite une bonne réception et vous prie de croire, cher Professeur, en mes sentiments les plus respectueux.



Igor Eeckhaut.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Adult morphology

Adults of *Myzostomum cirriferum* are translucent animals generally colored orange, pink or red. Their relative transparency makes possible *in vivo* observations of internal organs such as the digestive tract, the highly developed digestive caeca and the paired seminal vesicles in which white germinal products accumulate. Adults of *M. cirriferum* are disc-like animals whose diameter ranges from 1 to 2 mm (Fig.1). Tufts of epidermal cilia occur all over the body surface while external organs are located either on the ventral side of the animal (most organs) or at the level of the body margin (10 pairs of cirri). *M. cirriferum* has an antero-ventral protractile proboscis whose length when extended may reach 700 μm (for the largest individuals). The entire proboscis can retract into an antero-ventral cavity, the so-called proboscital sac. The apex of the proboscis has six buccal papillae which surround the buccal aperture. The anal aperture and female genital pore are postero-ventral and open opposite to the mouth. There are 10 parapodia (5 pairs) located on the sides of the animal. Each parapodium is an integumental cone, ca 100 μm long, from the apex of which protrudes a hook-like seta ca 50 μm in length. The cones are surrounded basally by an epidermal fold. Four pairs of extensible lateral organs occur between the pairs of parapodia; their shape changes from cone-like (protracted) to star-like (retracted). They are believed to be chemoreceptive organs similar to the nuchal organs of polychaetes (Stummer-Traunfels 1926). At the level of the third pair of parapodia are 2 symmetrical penises. These are almost perpendicular to the parapodia so that the male genital apertures open next to the body margin. The penises are united to the ventral tegument along their entire length.

3.2 Postmetamorphic development

Histological and SEM analysis allow recognition of three postmetamorphic stages of *M. cirriferum*, viz. a juvenile stage, a male stage and a hermaphroditic stage.

Juvenile stage. The juvenile stage includes myzostomids between 100 to 500 μm long. These are translucent and slightly white-colored worms. The smallest

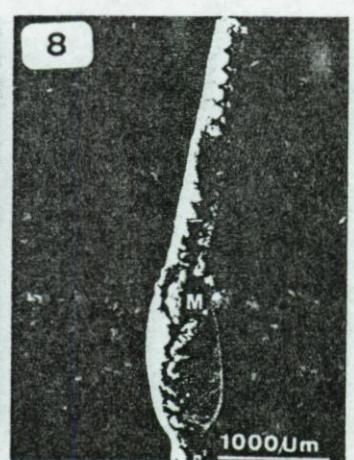
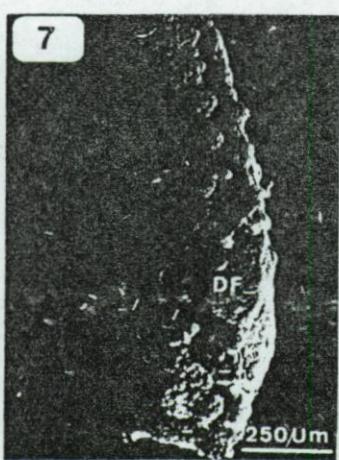
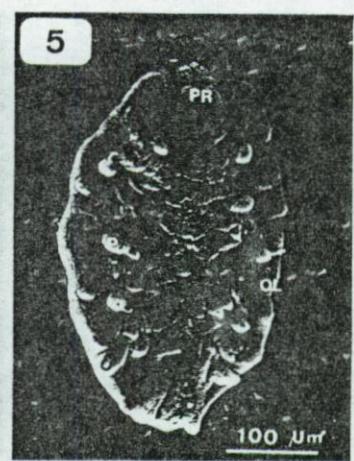
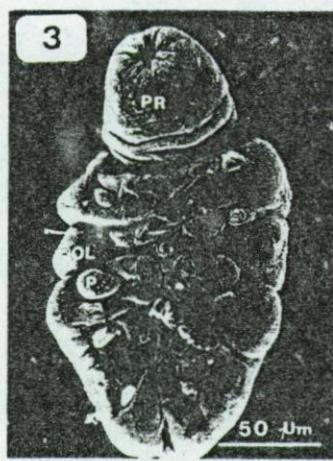
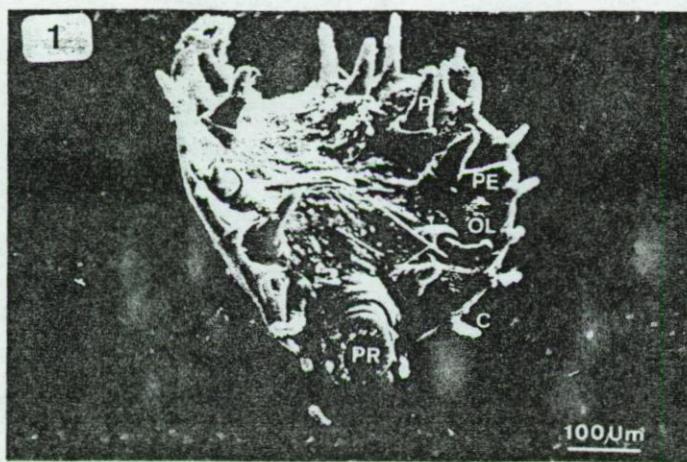
myzostomids observed on *A. bifida* were 100 μm long and 60 μm wide (Fig.2). The pear-shaped animal is folded on itself and appears very pleated. A constriction divides the juvenile body in two parts: an anterior part which correspond to the future proboscis, and a posterior part which will form the rest of the adult body. The mouth opens at the apex of the anterior part but the future proboscis is not yet retractile and there is no proboscital sac. The posterior part of the myzostomid (two-third of its whole length) is fitted with one pair of parapodia corresponding to the third paired parapodia of adults. A metamorphosis can be seen on the posterior part as four grooves divide it in five areas where future parapodia will grow.

A further stage of development is reached when the animal is 200 μm long (Fig.3). The body is no longer pear-shaped and the distinction between the proboscis and the rest of the body becomes more distinct. The proboscis is still not retractile but the proboscital sac is differentiating. The major features of this 200 μm juvenile are the appearance of both the five parapodial cones (which are, for most of them, destitute of hook-like setae) and the four lateral organs that look like small slits.

Myzostomids 300 μm in length are very similar to those of 200 μm (Fig.4). However, buccal papillae now appear at the apex of the proboscis, the proboscital sac continues to differentiate and setae emerge from parapodial cones to form complete parapodia. When 400 μm long, the juvenile myzostomids begin to look like adults (Fig.5); the proboscis is almost totally invaginated, the body becomes wider and six pairs of cirri appear at its margin.

Male stage. Myzostomids enter the male stage when they reach a length of ca 500 μm . At this stage mature male gametes can

Figures 1 to 6. SEM views of postmetamorphic developmental stages of *Myzostomum cirriferum*: hermaphroditic worm (Fig.1); juvenile worms of 100, 200, 300 and 400 μm in length (Figs.2 to 5, respectively); male worm (Fig.6). Figures 7 and 8. SEM views of pinnular deformations caused by juvenile (Fig.7) and male (Fig.8) worms of *Myzostomum cirriferum*. Abbreviations: bo, body; c, cirri; df, pinnular deformation; m, myzostomid; ol, lateral organ; p, parapodia; pe, penis; pr, proboscis.



be seen in the ventro-lateral part of the body, on both sides of the digestive tract. In addition two seminal vesicles appear symmetrically on each side of the animal. The worms gradually become as wide as they are long, the proboscis can be totally protracted and retracted and the animal has acquired all ten pairs of marginal cirri (Fig.6). The two symmetrical penes appear at the level of the third pair of parapodia. When 600 μm long, myzostomids look like very similar to adults but differ from them in both internal morphology and behaviour.

Hermaphroditic stage. The hermaphroditic or adult stage is reached when the worms are ca 700 μm in length. At this stage, the translucent animal begins to be coloured, the digestive caeca begin to invade the entire body of the polychaeta, and the female reproductive system becomes functional.

3.3 Myzostomid behaviour

Two types of behaviour can be distinguished in *M. cirriferum*, depending on the developmental stage. Young myzostomids from 100 to 600 μm in length are fixed in the ambulacral groove of pinnules and cause significant deformations. Older myzostomids, from 600 μm in length move freely on their hosts without causing any apparent deformation.

Young myzostomids are always fixed in pinnular grooves, generally in pinnules close to the calyx (pinnules distant to the calyx being rarely inhabited). Pinnular myzostomids are fixed in the groove by their parapodia, so that their ventral side lies against the bottom of the groove, and their proboscis is always pointed to the arm of the host. Infested pinnules are generally inhabited by one myzostomid, but occasionally two may be present. Worms smaller than 500 μm are strongly attached to pinnules but they become more and more motile as they grow and the largest pinnular worms can move in the ambulacral grooves.

Pinnular myzostomids can be regarded as parasites if we refer to Kinne's definition (1980) because they provoke deformation of their "pinnular shelter". In a normal state, pinnular grooves are bordered by numerous successive lappets which are protecting structures (Nichols 1960). These lappets alternate with triplets of podia which are responsible for capture of food-particles (Lahaye & Jangoux 1985). Two kinds of pinnular deformations have been observed. The

first, provoked by myzostomids smaller than 500 μm , is an asymmetric deformation occurring usually on one of the two pinnular sides (Fig.7). It is roof-like and covers the groove over all its width and over a distance whose length depends on this of the parasite (the greatest length observed was 450 μm). Such roof-like deformation covers the entire body of the myzostomid. It is composed of several lappets (up to a maximum of five) and their podia which have fused together. Sometimes, a fusion between two lappets may be seen on the other pinnular side. The second type of pinnular deformation is caused by myzostomids between 500 and 600 μm long (Fig.8). This is always smaller and consists of a fusion between two or three lappets on one pinnular side. In that case, podia remain effective.

After this intermediate moving stage the myzostomids are completely free-moving. They can thus be considered to be commensals on Kinne's definition (1980) as they seem not to cause any deformation of the host. The smallest free-moving myzostomids we observed was 400 μm long, the biggest 2.1 mm, but most of them are completely free-moving when they reach a size of 600 μm . Up to a length of 1 mm, myzostomids are very active: they move all over the body of their host but never enter ambulacral grooves. They can travel from one end of one arm of *A. bifida* to the other (ca 4 cm) in 2 or 3 sec. When they do not move, they often apply their proboscis to a brachial or a pinnular groove, presumably to divert food particles. Myzostomids greater than 1 mm are rather difficult to see on their host because their pigmentation is very similar to that of the comatulid. They are less active than the younger free-moving worms and they generally stay on the calyx or on the arms near the calyx.

Thus during the postmetamorphic development of *M. cirriferum*, fixed parasitic worms change into free-moving commensal worms. Juveniles always behave as parasites (i.e. ectoparasites) as they are fixed within the ambulacral groove of a pinnule and produce conspicuous pinnular deformation. In contrast adult myzostomids (hermaphroditic worms) always behave as ectocommensals, diverting part of the host food-particles into their own alimentary systems. Preadults (male worms) have an intermediate behaviour; some are free-moving while others remain sheltered in the host grooves but produce less marked deformation than do juvenile worms. A similar situation has been previously reported by Grygier (1988) for an

unidentified species of crinoid-associated myzostomid. Comparative examinations of heavily-, lightly- and non-infested hosts from the same population are needed to determine whether myzostomid-caused deformations are transitory or permanent and consequently whether or not the host can restore its pinnular organization after myzostomids' leaving.

4 ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Dr P. Lassere for providing facilities at the marine Station of Roscoff (Brittany, France); J. Harray for technical assistance. Work supported by an IRSIA grant to I. Eeckhaut.

5 REFERENCES

- Clark, A.H. 1921. A monograph of the existing crinoids. The comatulids. Bull. U.S. natn. Mus. 82: 1-795.
- Fedotov, D.M. 1916. On the parasitism of *Protomyzostomum* in *Gorgonocephalus eucnemis*. Zool. Zh. SSSR. 1: 161-218.
- Graff, L. von 1884. Report on the Myzostomida collected during the voyage of H.M.S. Challenger during the years 1873-1876. Scient. Rep. Challenger Exped.. 10: 1-82.
- Graff, L. von 1887. Report on the Myzostomida. Supplement. Scient. Rep. Challenger Exped.. 20: 1-16.
- Ganter, P. & G. Jollès 1969-1970. Histochimie normale et pathologique. 2 vols, 1904 pp. Gauthier-Villars: Paris.
- Grygier, M.J. 1988. Unusual and mostly cysticolous crustacean, molluscan and myzostomid associates of echinoderms. In Burke & al (eds), Echinoderm Biology, pp.775-784. Balkema: Rotterdam.
- Jägersten, G. 1940. Zur Kenntnis der Morphologie, Entwicklung und Taxonomie der Myzostomida. Nova Acta Soc. scient. Uppsali. 11 (4): 1-84
- Jangoux, M. 1987. Diseases of Echinodermata.III. Agents metazoans (Annelida to Pisces). Dis. aquat. Org. 3: 59-83.
- Kinne, O. 1980. Diseases of Marine Animals: General aspect. In O.Kinne (ed.), Diseases of marine Animals, 1, pp.13-73. Wiley & Sons: Chichester.
- Lahaye, M.C. & M. Jangoux 1985. Functional morphology of the podia and ambulacral grooves of the comatulid crinoid *Antedon bifida* (Echinodermata). Mar. Biol. 86: 307-318.
- Nichols, D. 1960. The histology and activities of the tube-feet of *Antedon bifida*. J. microsc. Sci. 101: 105-117.
- Remscheid, E. 1916. Beiträge zur Kenntnis der Myzostomiden. Abh. Senckenb. naturf. Ges. 35: 179-226.
- Stummer-Traunfels, R.R. Von 1926. Myzostomida. In W. Kükenthal (ed), Handbuch der Zoologie 3 (1), 132-210. De Gruyter & Co: Berlin, Leipzig.
- Wheeler, W.M. 1904. A new Myzostoma, parasitic in starfish. Biol. Bull. 8: 75-80.

MYZOSTOMIDA (ANNELIDA) FROM SINGAPORE, WITH RELATED INDO-PACIFIC DISTRIBUTION RECORDS AND DESCRIPTIONS OF THREE NEW SPECIES

Igor Eeckhaut, Didier VandenSpiegel and Mark J. Grygier

ABSTRACT. - Seven myzostomidan species of the genus *Myzostoma* F.S. Leuckart, 1836, were observed alive in association with comatulid crinoids collected in the territorial waters of Singapore. An eighth species from Singapore was found in a museum collection. All eight species are described and most are illustrated by color photographs from life and by scanning electron micrographs. Three of the species are new to science: *M. jaegersteni*, *M. capitocutis* and *M. singaporense*; *M. brachiatum* Graff, 1877, is recorded for the second time and a lectotype is designated for it. Other new Indo-West Pacific distribution records of four of the eight species are listed.

INTRODUCTION

The Myzostomida are represented by about 140 species of obligate symbionts of echinoderms which have unsettled taxonomic affinities. Most of them look like flatworms on account of their dorsoventrally flattened body shape, but their parapodia and cirri suggest that they are close to Polychaeta (see Graff, 1877; Jägersten, 1940a; Prenant, 1959). The genus *Myzostoma* F.S. Leuckart, 1836, is the largest in the Myzostomida. It accounts for about 120 species, most of which are ectocommensals, although a few form galls or cysts on crinoids (Graff, 1884, 1887; Jangoux, 1990). The present paper reports on eight species of *Myzostoma* recently found infesting comatulid crinoids from the waters of Singapore, including three undescribed species, and also lists additional new records outside Singapore for many of them. Until now, just two species of *Myzostoma* have been known from Singapore, *M. attenuatum* Grygier, 1989 (q.v.) and, in a summary report which shall be fully documented herein, *M. longicirrum* Graff, 1887 (see Grygier 1990).

Igor Eeckhaut, Didier VandenSpiegel - Laboratoire de Biologie Marine, Université de Mons-Hainaut, 19 ave. Maistriau, B-7000 Mons, Belgium. Mark J. Grygier - Sesoko Marine Science Center, University of the Ryukyus, Sesoko, Motobu-cho, Okinawa, 905-02 Japan.

MATERIAL AND METHODS

Crinoid hosts with myzostomes representing seven species were collected either by SCUBA diving or dredging at various sites in the territorial waters of Singapore. Once collected, they were maintained alive in an aquarium with recirculating seawater in the Department of Zoology of the National University of Singapore. Myzostomes were observed and counted on their hosts under a binocular microscope. Some specimens (the holotype and paratypes for new species; one specimen for known species) of each observed species have been deposited in the Zoological Reference Collection (ZRC) of the Department of Zoology (National University of Singapore); some others were used for histology.

For the observations of parapodial hooks, support rods, and replacement hooks, one individual of each species was digested in a weak solution of sodium hypochlorite for a few minutes. Once most of the tissue was dissolved, the specimens were dried and mounted on slides. Microscopic observations were made with an Olympus IMT-2 phase contrast microscope.

For histological observations (semi-thin sections), individuals were fixed for 3-24 h at 4°C in a solution of 3% glutaraldehyde in cacodylate buffer (0.1 M, pH 7.8). They were washed in buffer, post-fixed for 1 h with 1% osmium tetroxide in 0.1 M cacodylate buffer, and washed again in buffer. After dehydration, specimens were embedded in Spurr and cut into 1 µm thick serial sections. Sections were stained in a 1:1 solution of Methylene Blue/Azur II according to the procedure of Ganter & Jollès (1969-1970).

For SEM observations, individuals fixed either in Bouin's fluid or glutaraldehyde were dehydrated in graded concentrations of ethanol and dried by the critical point method using liquid CO₂ as the transition fluid. Then they were mounted on aluminium stubs, coated with gold in a sputter coater, and observed with a JEOL JSM 6100 scanning electron microscope.

Additional specimens of some of the species mentioned above, as well as one additional species from Singapore, had been isolated during a survey of myzostomes at many natural history museums (Grygier, 1990). Most of the specimens were sorted, drawn, sometimes photographed, and later catalogued in the National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington D. C. (USNM); two were among loaned specimens from the Northern Territory Museum of Arts and Sciences, Darwin (NTMAS) and the Uppsala Universitets Zoologiska Museum (UUZM). Relevant type specimens from The Natural History Museum in London (BMNH) and the Naturhistorisches Museum Wien (NMW) were also examined. One microscopic preparation was made by exposing dissected parapodia to dilute sodium hypochlorite as described above and mounting the exposed hook apparatus in glycerine jelly on a glass slide.

TAXONOMIC ACCOUNT

Myzostoma brachiatum Graff, 1877

(Figs. 1, 20A-C, 27A-B)

Myzostoma brachiatum Graff, 1877: 16-17, 23, 72, 79, Taf. II, Fig. 2; Graff, 1884: 8, 16, 20, 24, 55, 80.

Myzostomum brachiatum - Clark, 1921: 667.

Material examined. - Host: *Heterometra savignii* (J. Müller, 1841). Locality: Johore Shoal (collected by dredging), Singapore, 30 m, coll. xii.1991. No. of hosts examined: 5 (3 infested). No. of myzostomes obtained: 4 (1-2 myzostomes per host). One specimen deposited as voucher (ZRC 1993-7279). Additional material: whole mount of Graff's (1877) illustrated syntype (NMW Inv. No. 2909), herein designated as lectotype. Other syntype not found.

Previously recorded distribution. - Bohol, Philippines (type locality) (Graff, 1877).

Previously recorded host. - *Comatella nigra* (P. H. Carpenter, 1888).

Description of specimens from Singapore. - The body is ovoid and flat (Fig. 1). The length varies from 0.7 to 1 mm and the width from 0.4 to 0.7 mm. The body margin is surrounded by 29 to 32 cirri of unequal lengths (Fig. 1). Short cirri no more than 70 μm long and long cirri 200-500 μm long are irregularly distributed around the body margin, the long cirri being more numerous posteriorly (Fig. 1). The parapodia (five pairs) are 200 μm long and are closer to the body margin than to the midpoint (Fig. 1). The support rods of the parapodia are as long as the parapodial hooks (ca. 200 μm long in the 0.8 mm long individual that was examined) but a little thinner (Figs. 20B-C). The curvature of the tip of the hook is slight (Fig. 20B). The tip of the support rod is bent 45° relative to the shaft; the manubrium lies on both sides of the shaft, its external part (viz. the part opposite to the parapodial hook) being rounded and its internal part (viz. the part facing the hook) ending with three to four parallel lobes (Fig. 20C). One replacement hook 40 μm long occurs in each parapodium (Fig. 20A). The lateral organs (four pairs) look like small slits and lie halfway between the parapodia and the margin. The penes and introvert were not exposed. The opening of the introvert pouch is antero-ventral, that of the cloaca is postero-ventral; and both are close to the body margin.

Remarks. - In its current state, the lectotype differs from Graff's (1877) figure in having much shorter marginal cirri, in missing most of the left-hand cirri, and in having three additional short cirri along the posterior half of the right margin (Fig. 27A). The present specimens from Singapore agree with it morphologically except for having a weaker distal curvature of the parapodial hooks (Figs. 20B, 27B).

***Myzostoma horologium* Graff, 1884**
(Figs. 2, 3, 14, 21A-C)

Myzostoma horologium Graff, 1884: 7, 9, 13, 19-20, 22, 27-29, 79, Pl. I, Figs. 1-17
Myzostomum horologium - Clark, 1921: 658-659.

Material examined. - Host: *Comatula purpurea* (J. Müller, 1843). Locality: Johore Shoal (dredging), Singapore, 30 m, coll. viii.1992. No. of hosts examined: 51 (10 infested). No. of myzostomes obtained: 15 (1-3 myzostomes per host). One specimen deposited as voucher (ZRC 1993-7280). Additional material: one specimen (USNM 167400) found on preserved *Comatula purpurea* (USNM 34904), "Albatross" sta. 5276, South China Sea near southern Luzon, Philippines (13°49'15"N, 120°14'15"E, 33 m, coll. 17.vii.1908); syntypes (BMNH 89.11.8-1, 89.11.8-2, and 89.11.8-3) from "Challenger" sta. 186 and 187.

Previously recorded distribution. - "Challenger" sta. 186 and 187 in the Torres Strait (Graff, 1884), probably also "Challenger" sta. 190 in the Arafura Sea (Graff, 1884).

Previously recorded hosts. - Uncertain but, according to Graff (1884), probably *Comatula rotalaria* Lamarck, 1816, *Comatula solaris* Lamarck, 1816, and *Comaster* sp.; Clark (1921)

inferred from circumstantial evidence pertaining only to station 190 that the hosts might really have been *Zygometra microdiscus* (Bell, 1882) and *Z. elegans* (Bell, 1882).

Description of specimens from Singapore. - The body is discoid and stout (Fig. 2). Its diameter varies from 0.8 to 3 mm. The body margin is surrounded by numerous, very short, closely spaced cirrus-like nubs in two size classes, 10 μm and 20 μm long (Fig. 3). The acirrate parapodia (five pairs) are 350 μm long and are closer to the body margin than to the midpoint (Figs. 2, 3). The parapodial hooks and support rods are equal in length (ca. 550 μm long in the 1.2 mm long individual that was examined), but the former are 1.5-2 times thicker than the latter (Fig. 21B-C). The tip of the hook is long and nearly straight beyond the rather sharp curve connecting it to the shaft (Fig. 21B). The tip of the support rod is bent 45° with regard to the shaft; the manubrium is large, lying on both sides of the shaft, and its internal part has numerous lobes (Fig. 21C). One replacement hook 0.25 mm long occurs in each parapodium (Fig. 21A). The lateral organs (four pairs), each of which has a diameter of 150 μm when protruded, lie halfway between the parapodia and the margin (Figs. 2, 3). The two small penes are 50 μm long and are situated close to the third pair of parapodia (Fig. 2). The introvert is large and possesses buccal papillae. The opening of the introvert pouch lies between the first pair of parapodia, while the cloacal opening lies outside the ring of parapodia at the level of the lateral organs (Fig. 2).

The ventral colouring is whitish. The dorsal colouring is variable but the most common pattern is shown in Fig. 14. It looks like a watch dial divided into ten sectors. The center of the dial is a white or yellow patch surrounded by a large, brown to purple ring. Ten brown to purple lines extend out from the center to the similarly coloured body margin. The spaces between the radial lines are white. Individual variability is expressed by occasional branchings of the radial lines. The smallest individuals are differently coloured, being whitish and spotted with many small, brown to purple patches. One large individual is totally black.

Remarks. - As described by Graff (1884), the syntypes differ from the Singaporean specimens by the absence of marginal cirri (represented only by minute nubs in the present material) and by the shape of the manubrium of the parapodial support rod, the internal part of which was drawn as though bisected. The present Philippine specimen, with a diameter of 4.3 mm, is bigger than the Singaporean ones, and, in contrast to the syntypes, has a thick and disc-like rather than hemilenticular body shape. The flat, wrinkled dorsal surface forms the top of the disc and the lateral organs and cloacal papilla lie on the side.

Myzostoma jaegerstenii, new species (Figs. 4-6, 15, 22A-C)

Material examined. - Host: *Heterometra savignii*. Locality: Johore Shoal (dredging), Singapore, 30 m, coll. xii.1991 and viii.1992. No. of hosts examined: 5 (3 infested). No. of myzostomes obtained: 7 (1-3 myzostomes per host). Type specimen: holotype (ZRC 1993-7281); 2 paratypes (ZRC 1993.7281); other paratypes used for histology. Additional specimens: three non-type specimens (USNM 167401) found loose in jar with *Neometra multicolor* (A. H. Clark, 1907) (USNM 35465), collected by A. Owston, R/V "Golden Hind", Uraga Channel, Tokyo Bay, Japan, 46 m, coll. 26.v.1901; more than 100 specimens associated with *Tropiometra carinata* (Lamarck, 1816) collected by M. Ortiz near the coast of Mozambique (Barreira Rosa), coll. 13.iv.1987.

Diagnosis. - Small, thin *Myzostoma* with flat, elongated body ending in six cirrate caudal processes. About ten pairs of marginal cirri, the most anterior pair being 2-3 times longer than the others. Parapodia acirrate, closer to body margin than to midpoint. Support rods as

long but thinner than hooks, manubrium of former developed on one side of shaft and ending in 3-5 parallel lobes. Lateral organs small, located nearly at body margin. Penes small. Introvert small and thin; opening of introvert pouch very close to anterior body margin. Ciliation sparse, with capitate cilia. Relative lengths of pharynx, stomach, and intestine 2:1:2; three pairs of lateral caeca starting from the stomach.

Description of type lot. - The holotype is 1 mm long (including the caudal processes but not their cirri) and 0.67 mm wide. The lengths of the paratypes range from 1.0 to 2.7 mm and their widths from 0.6 to 0.8 mm. There are six caudal processes measuring 150-400 μm long, those closer to the midline being the longest (Fig. 4). One or several caudal processes were lost from most of the paratypes. There are about ten pairs of marginal cirri around the body in addition to those which arise from the tips of the caudal processes (Fig. 4). The former are about 100 μm long except the most anterior pair, which is 300 μm long, and the latter are 200 μm long (Figs 4, 5). The parapodia (five pairs) are 100 μm long. The support rod in each is as long as the hook (ca. 150 μm long in the 0.8 mm long specimen which was examined) but a little thinner (Fig. 22B-C). The tip of the hook is more or less evenly curved and medium-sized relative to the length (Fig. 22B). The tip of the support rod is bent 30° relative to the shaft; the manubrium is only developed on one side of the shaft and resembles a more or less quadrangular flag ending in 3-5 parallel lobes (Fig. 22C). One replacement hook 30 μm long occurs in each parapodium (Fig. 22A). There are four pairs of lateral organs that look like small slits and are only 20 μm long (Fig. 5); the lateral organs were only observed in a retracted condition. The introvert was not exposed; its pocket opens closer to the anterior body margin than to the first pair of parapodia (Fig. 5). The cloacal opening is posteroventral, close to the bases of the most median caudal processes. Cilia occur sparsely all over the body and are unusual in that the tips of all the cilia are curled (Fig. 6). The animal is very translucent in life, the dorsal and ventral colouring being a dull white (Fig. 15).

The digestive system in the 2.5 mm long sectioned individual (caudal processes included) consists of a straight tube 850 μm long and probably three pairs of blind digestive caeca. The tube consists of a pharynx (325 μm long), a stomach (175 μm long), and an intestine (350 μm long). The three pairs of caeca start from the stomach and divide to penetrate into the lateral parts of the body.

Individuals are hermaphrodites. Both the female and male genital systems are similar to those of other species of *Myzostoma*. The female genital system lies dorsal to the digestive system and consists of a diffuse ovary and a branched oviduct. The ovary of the sectioned specimen is well developed and consists of numerous female gametes at different stages of development (viz. oogonia, previtellogenetic and vitellogenetic oocytes) lying in the parenchyma. Developing female gametes occur in the trunk and the caudal processes. The male genital system lies ventrolateral to the digestive system and consists of a diffuse testis, probably four short deferent ducts, two seminal vesicles, and two penes. The testis is poorly developed in the sectioned specimen and consists of male gametes which develop within cyst cells, viz. spermatocysts, these latter lying within the parenchyma [see Afzelius (1983, 1984) for a detailed explanation of myzostomidan spermiogenesis].

Remarks. - *Myzostoma jaegersteni*, new species, is characterised by its cirrate caudal processes. All three Japanese specimens agree with the specific diagnosis by having three pairs of cirrate caudal processes and ten pairs of marginal cirri, the first pair longer than the others. Unlike the Singaporean specimens, the preserved Japanese specimens are brown. The morphology of the specimens from Mozambique matches exactly that of the Singaporean

specimens but preserved specimens from Mozambique are light brown. The hook apparatus of individuals in the two lots is similar.

Two other species of *Myzostoma* recorded from the Torres Strait (Australia) have from four to six cirrate caudal processes: *M. quadrifilum* Graff, 1884 and *M. intermedium* Graff, 1884. The former species differs from *M. jaegersteni* in always having four caudal processes, the most anterior pair of marginal cirri being the same length as the others, and its brown colouring. Only one specimen of *M. intermedium* was known and it was so badly preserved that Graff (1884) only observed the outline of the body. It differs from *M. jaegersteni* in its circular body shape and dark colouring. Furthermore, among the specimens examined in the preparation of Grygier's (1990) survey, some that were quite distinct from *M. jaegersteni* could be assigned to *M. intermedium*. *Myzostoma tentaculatum* (Jägersten, 1940b), recorded from Nagasaki Prefecture, Japan (33°08'N, 129°20'E), also has cirrate caudal processes and one long anterior pair of marginal cirri like *M. jaegersteni*, but there is only one pair of very large caudal processes.

Etymology. - Dedicated to Professor Gösta Jägersten, who produced very impressive works on myzostomid taxonomy, anatomy, and biology during the first part of this century.

Myzostoma capitocutis, new species
(Figs. 7-9, 16, 23A-C)

Material examined. - Host: *Comaster gracilis* (Hartlaub, 1890). Locality: collected by SCUBA diving at Pulau Satumu (Raffles Lighthouse), Singapore, 0-15 m, coll. viii.1992. No. of hosts examined: 32 (7 infested). No. of myzostomes obtained: 9 (1-3 myzostomes per host). Type specimen: holotype (ZRC 1993. 7282); 2 paratypes (ZRC 1993-7282); other paratypes used for histology.

Diagnosis. - Small *Myzostoma* with flat, discoid body bearing 44-48 cirri of unequal length. Parapodia acirrate, lying in a circle, and located a little closer to midpoint of the body than to margin. Support rods a little longer than hooks but half as thick; manubrium of former only developed on one side of the shaft, large and triangular. Lateral organs star-shaped, located about halfway between parapodia and body margin. Penes large. Introvert large with buccal papillae. Opening of introvert pouch between first pair of parapodia. Many long, hair-like papillae, i.e., body wall extensions, covering the whole dorsal surface. Ciliation sparse, with straight cilia. Relative lengths of pharynx, stomach, and intestine 1:1:1; three pairs of lateral caeca starting from stomach.

Description. - The diameter of the holotype is 1.9 mm, and those of the paratypes range between 1.9 and 2.7 mm. The marginal cirri are 100-240 µm long (Figs 7, 8). The dorsal surface of the body bears several dozen elongate, cylindrical papillae measuring between 10 and 250 µm long (up to 500 µm in one individual), the shortest ones being confined to a zone near the body margin (Fig. 8). The parapodia (five pairs) are 200 µm long (Fig. 7). In each the hook is a little shorter than the support rod (former 450 µm long and latter 500 µm long in the 2.7 mm long specimen that was examined), but the support rod is only half as thick as the hook (Fig. 23B-C). The hook has a medium-sized, rounded tip (Fig. 23B). The tip of the support rod is not bent but follows the slight curvature of the shaft; the manubrium is only developed on one side of the shaft and looks like a large, pleated, triangular flag (Fig. 23C). One replacement hook 300 µm long occurs in each parapodium (Fig. 23A). The penes are about as long but considerably thicker than the third pair of parapodia, from the lateral base of which they arise. The lateral organs (four pairs) measure 150 µm in diameter when

protruded and are formed of a central villous mass surrounded by a serrated fold which gives the organs a star-shaped appearance (Figs. 7, 9). The introvert bears four pairs of buccal papillae (Fig. 7). The opening of the introvert pouch is located between the first pair of parapodia, and the cloacal papilla is midway between the fifth parapodia and the posterior body margin (Fig. 7). The dorsal colouring in life is dirty white to brown, always spotted with numerous dark brown patches (Fig. 16). The ventral colouring is whitish.

The digestive system in the 1.8 mm long sectioned individual consists of a straight tube 950 μm long and probably three pairs of blind digestive caeca. The tube includes a pharynx (325 μm long), a stomach (275 μm), and an intestine (350 μm). The three pairs of caeca start from the stomach and divide to penetrate into the lateral parts of the body. Individuals are hermaphrodites with a well developed ovary and testis. The gross anatomy of the genital systems is similar to that of other species of *Myzostoma*.

Remarks. - *Myzostoma capitocutis*, new species, is characterized by the occurrence of long, cylindrical dorsal papillae. Four other species have dorsal papillae: *M. gigas* Graff, 1884, *M. giganteum* Nansen, 1885, *M. tuberculatum* (Jägersten, 1937), and *M. holotuberculatum* (Jägersten, 1940). They all differ from *M. capitocutis* by the fact that their papillae are low and more or less hemispherical and in having just 10 pairs of marginal cirri. None of the known disc-like species of *Myzostoma* with many marginal cirri (e.g., *M. elegans* Graff, 1877, *M. polycyclus* Atkins, 1927, *M. evermanni* McClendon, 1907) have dorsal processes of any kind.

Etymology. - From the Latin *cutis capitidis*, scalp, based on the resemblance imparted by the hair-like dorsal papillae.

Myzostoma singaporense, new species
(Figs. 10, 11, 17, 24B-C)

Material examined. - Host: *Comaster gracilis*. Locality: collected by SCUBA diving around Pulau Satumu (Raffles Lighthouse), Singapore, 0-15 m, coll. viii.1992. No. of hosts examined: 32 (7 infested). No. of myzostomes obtained: 16 (1-6 myzostomes per host). Type specimen: holotype (ZRC 1993-7283); all paratypes used for histology.

Diagnosis. - Small *Myzostoma* with flat, ovoid body. Ten pairs of marginal cirri of nearly same length, two most anterior and two most posterior pairs being slightly longer. Parapodia acirrate, slightly closer to body margin than midpoint. Parapodial hooks and support rods of same length and thickness, manubrium of latter developed on one side of shaft, like small triangular flag with spur at its base. Lateral organs closer to body margin than to parapodia. Penes small. Introvert large, with opening of introvert pouch closer to body margin than to first pair of parapodia. Ciliation sparse with straight cilia; 4-10 tufts of cilia along body margin in intervals between adjacent cirri. Relative lengths of pharynx, stomach, and intestine 2:1:2; two pairs of lateral caeca starting from stomach.

Description. - The holotype is 0.86 mm long and 0.78 mm wide. The paratypes vary in length from 0.3 to 1.2 mm, in width from 0.2 to 0.7 mm. The 2 anterior and 2 posterior pairs of cirri are the longest and measure 150 μm , while the others are 100 μm long (Fig. 10). There are five pairs of thin, acirrate parapodia which are 100 μm long (Fig. 10), and small penes are associated with the third pair. The parapodial hooks and support rods are of the same length (ca. 200 μm long in the 1.2 mm long individual that was examined) and thickness

(Fig. 24B-C). The tip of the hook has a rather open curvature (Fig. 24B). The tip of the support rod is bent 45° relative to the shaft; the manubrium is only developed on one side of the shaft, as a small triangular flag with a large lobe at the inner corner and a spur at the base (Fig. 24B). No replacement hook was observed. When protruded, the lateral organs (four pairs) are 40 µm in diameter (Figs 10, 11). They and the opening of the introvert pouch and the cloacal opening form a ring quite close to the body margin. The introvert is ca. 300 µm long. The body ciliation is sparse but characterized by 4-10 tufts of cilia between successive cirri along the body margin (Figs 10, 11). The smallest individuals are translucent in life, and it is possible to observe within them the seminal vesicles full of white germinal products and the four red digestive caeca which dichotomise (Fig. 17). The largest individuals are less translucent; their dorsal surface is whitish with red lines.

The digestive system in the 0.8 mm long sectioned individual consists of a straight tube 750 µm long and two pairs of blind digestive caeca. The tube includes a pharynx (300 µm long), a stomach (150 µm), and an intestine (300 µm). The two pairs of caeca start from the stomach and divide to penetrate into the lateral parts of the body. Individuals are hermaphrodites; the sectioned individual had a poorly developed ovary with only a few oocytes in the vitellogenic stage, and a well developed testis. The gross anatomy of the genital systems is similar to that of other species of *Myzostoma*.

Remarks. - The most distinctive external features of *M. singaporense*, new species, are the presence of ten pairs of marginal cirri, the first and last two pairs of which are a little longer than the other cirri, and the presence of tufts of cilia around the body margin. *Myzostoma fimbriatum* Graff, 1884 has similar tufts of cilia around its body margin but does not otherwise much resemble *M. singaporense* and is an arctic or subarctic species. Several described species have ten pairs of cirri with longer anterior and posterior pairs (e.g. *M. vastum* Graff, 1883, *M. antennatum* Graff, 1884, *M. ambiguum* Graff, 1887, *M. longicirrum* Graff, 1887 (see below), and *M. longimanum* (Jägersten, 1937)). However, all of these have: 1) longer cirri than *M. singaporense* or 2) a considerably greater disparity in length between the long and short cirri or 3) a round rather than oval body.

Etymology. - Referring to Singapore, the type locality.

Myzostoma elegans Graff, 1877
(Figs. 12, 18, 25B-C)

Myzostoma elegans Graff, 1877: 12-13, 22, 72, 79, Taf. X, Figs. 1-3; Graff, 1884 (*partim*): 16, 19, 20, 24, 54, 80; Graff, 1887: 5; Grygier, 1990: 184, 189.

Myzostomum elegans - Clark, 1921 (*partim*): 666.

Material examined. - Host: *Comaster gracilis*. Locality: collected by SCUBA diving around Pulau Satumu (Raffles Lighthouse) and Pulau Semaku, Singapore, 0-15 m, coll. viii.1992. No. of hosts examined: 32 (14 infested). No. of myzostomes obtained: 27 (1-4 myzostomes). One specimen deposited as voucher (ZRC 1993-7284). Additional material: one specimen (USNM 167402) found loose in jar with *Comaster gracilis* (USNM E34588), collected by D. L. Meyer, Fiji, 1976; one specimen (USNM 167403) found loose in jar with *Comanthina schlegelii* (Carpenter, 1881) (USNM E34847), collected by D. L. Meyer, north side of Kraka Island, Banda Islands, Indonesia (4°30'09"S, 129°52'57"E, 3-18 m, coll. 1975); seven specimens (USNM 167404), host unknown, International Indian Ocean Expedition, "Anton Bruun" Cr. I., sta. 47b, northern Bay of Bengal (19°50'N, 92°55'E, 22-30 m, coll. 5.iv.1963); one specimen (USNM 167405) found loose in jar with 3 *Comanthus parvicirrus* (USNM 34994), "Albatross" sta. 5147, vicinity of Siasi, Sulu Archipelago (5°41'40"N, 120°47'10", 37m, coll. 16.ii.1908).

Previously recorded distribution. - Bohol, Philippines (type locality) (Graff, 1877); Banda Islands (Grygier 1990); Fiji (Grygier, 1990).

Previously recorded hosts. - Species referred to as the *nomen nudum* *Comatula triquetra* Lütken (in manuscript) by Graff (1877), true identity of which is unknown according to Clark (1931; therein spelled *C. triqueta*); species referred to *Actinometra armata* Semper MS (i.e., *Comanthus parvicirrus*) by Graff (1877) and *A. parvicirra* (J. Müller, 1841) (i.e., *Comanthus parvicirrus*) by Graff (1884), true identity uncertain due to complex nomenclatural history which also involves *A. polymorpha* Carpenter, 1879 (see Clark 1921, 1931, Rowe *et al.* 1986); three unspecified species of Comasteridae.

Description of specimens from Singapore. - The body is flat, almost discoidal, slightly wider than long (Fig. 12). The diameter is from 0.8 to 1.75 mm. The body margin is lined with 36-49 cirri of unequal length, varying from 10 to 150 µm long (Fig. 12). Generally, a short cirrus alternates with a long one. The acirrate parapodia are 120 µm long and lie halfway between the body margin and the midpoint (Fig. 12). The parapodial hooks and support rods are of the same length (ca. 200 µm in the 1.2 mm long individual that was examined) and width (Fig. 25B-C). The hook narrows sharply at the tip, which smoothly traces a 90° curve (Fig. 25B). The tip of the support rod is not bent but follows the slight curve of the shaft; the manubrium is only developed on one side of the shaft in the shape of a pleated, triangular flag (Fig. 25C). No replacement hook was observed. Two large penes which are 150 µm long are associated with the third pair of parapodia. The lateral organs (four pairs), which are 30 µm in diameter when retracted, lie halfway from the parapodia to the body margin (Fig. 12). The introvert is large and the opening of the introvert pouch lies halfway between the first pair of parapodia and the anterior body margin (Fig. 12). The cloacal opening lies halfway between the fifth parapodia and the posterior body margin. The ventral colouring in life is whitish and the dorsal colouring is also whitish but spotted with brown dots (Fig. 18). Sometimes the dots are concentrated to form brown dorsal patches situated in a ring halfway between the midpoint and the body margin.

Description of other specimens. - The Indonesian specimen is 2.56 mm long and 2.40 mm wide with at least 55 marginal cirri (part of margin damaged). The Fijian specimen is 1.88 mm long and 1.68 mm wide with about 42 marginal cirri. Both are brown in the preserved state, with a translucent marginal zone. Of the two, the Fijian specimen has relatively shorter cirri which are more even in length. The circle of acirrate parapodia is centered anterior of the body's midpoint, with a radius 40-50% that of the body. The low, round, mound-like lateral organs are a little closer to the parapodia than to the body margin and are well within the inner boundary of the marginal zone. The opening of the introvert pouch is in the ring defined by the lateral organs, but, unlike the specimens from Singapore, the cloacal opening lies outside that ring. The specimens collected in the Bay of Bengal are brown and range in diameter from 0.8 to 2.8 mm. The smallest one has its rather long and slender introvert extended and there are four pairs of fine buccal papillae. The specimen collected in the Sulu Archipelago is about 3.2 mm in diameter and its color is quite faded. It has more than 53 marginal cirri. There is no fourth parapodium on the left side, but the body is not otherwise deformed.

Remarks. - *Myzostoma elegans* is characterized by cirri that are numerous and of different lengths. The species was originally reported from Bohol, Philippines (Graff 1877). The syntypes were not found in the NMW in 1987, although some other myzostome types collected by Semper and described by Graff (1877) are housed there. No lectotype is designated. The identity of Graff's (1884) Caribbean specimen of *M. elegans*, which was neither described

nor illustrated and has been lost, must be considered questionable. One of Graff's two syntypes was four mm long with 80-86 marginal cirri, therefore larger and bearing more cirri than the present specimens. Graff's smaller syntype had relatively shorter cirri than the larger. Like some of the present specimens, the colouring was brown with a distinct marginal zone; like all of them, no cirri were observed on the parapodia, and the ring of lateral organs was well medial to the boundary of the marginal zone. The penis was described as emerging from the body medial to the parapodia and extending outwards between the third and fourth parapodia, but this must be an error. The lateral organs were described as oval; the present ones are round but the retracted part inside the body is oval.

It is quite possible that differences among individuals are due to allometric growth of the region between the parapodia and the inner border of the marginal zone, and to the addition of marginal cirri with growth.

In the Indo-West Pacific, the only species similar to *Myzostoma elegans* is *M. polycyclus* Atkins, 1927 (q.v.), the body of which is also a flat, round disc with numerous marginal cirri. It is possible that these nominal species are synonymous even though typical specimens of the latter are easily recognizable. *Myzostoma polycyclus* has a distinctive dorsal colouring of dark and light rings (cf. color photographs in Uchida, 1992: pl. 72, figs. 6-7), although in small specimens these may be faint, and its parapodia bear medial cirri. Despite the absence of dark markings on the specimen of *M. elegans* reported by Jägersten (1940b) from Jolo, Philippines, the presence of parapodial cirri leads us to suggest that it is really *M. polycyclus*. On the other hand, Chesunov et al.'s (1989) supposed *M. irregulare* Graff, 1884 (sic; really 1883), found infesting *Capillaster multiradiatus* (Linnaeus, 1758) in the Maldives, may really be *M. elegans*. The specimens were 1.5-2 mm in diameter and coloured light beige. The illustrated specimen had 55 marginal cirri, and no parapodial cirri appear in the drawing or are mentioned in the text.

Myzostoma stochoeides Atkins, 1927
(Figs. 13, 26A-C)

Myzostoma stochoeides Atkins, 1927: 344-346, Text-Figs 5-6, Pl. I, Figs 1-3.

Material examined. - Host: *Comaster tenellus* A. H. Clark, 1931. Locality: Johore Shoal (dredging), Singapore, 30 m, coll. viii.1992. No. of hosts examined: 8 (5 infested). No. of myzostomes obtained: 11 (1-6 myzostomes per host). One specimen deposited as voucher (ZRC 1993-7285).

Previously recorded distribution. - Badu Island, Torres Strait (type locality) (Atkins, 1927).

Previously recorded host. - *Comanthus annulatus* (Bell, 1882), now synonymised with *Comanthus parvicirrus* (see Rowe et al., 1986).

Description. - The body is discoid and flat (Fig. 13). It measures 0.9-3 mm in diameter. Ten pairs of cirri, all the same length, surround the body margin (Fig. 13). They are 140 µm long when retracted and 300 µm long when extended. The parapodia (five pairs) are situated closer to the body midpoint than to the margin (Fig. 13). Their support rods are as long (0.35 mm in the 1.7 mm long individual that was examined) but a little thinner than their hooks (Figs. 26B-C). The tip of the hook turns abruptly at a right angle and is almost straight thereafter (Fig. 26B). The tip of the support rod is not bent but follows the slight curvature of the shaft, and its manubrium is only developed on one side of the shaft, looking like a drooping flag

(Fig. 26C). One replacement hook 0.2 mm long occurs in each parapodium (Fig. 26A). The lateral organs (four pairs), which are 50 µm in diameter when retracted, are much closer to the parapodia than to the body margin (Fig. 13). The opening of the introvert pouch lies closer to the first pair of parapodia than to the anterior body margin and the papilla bearing the cloacal opening lies halfway between the fifth pair of parapodia and the rear body margin (Fig. 13). There are tufts of cilia over the ventral surface except for a narrow bare band near the margin (Fig. 13). The ventral colouring in life is yellow. The dorsal colouring is yellow to orange, dotted with brown spots.

Remarks. - The principal difference between Atkins' (1927) type specimens of *Myzostoma stochoeides*, which have not been located for reexamination, and the present specimens is the colouring: the dorsal surface of the former was ornamented with dark and clear rings.

Another species resembling the present specimens is *M. agassizii* Graff, 1883, which was recorded from Florida, Montserrat, and St. Vincent in the tropical western Atlantic (see Graff, 1884). Unlike the present specimens, it has a ventral furrow on each marginal cirrus and the introvert pouch opens more anteriorly. It is possible that the 2 mm wide, beige specimens identified by Chesunov *et al.* (1989) as *M. agassizi* (sic) from *Capillaster multiradiatus* in the Maldives are really *M. stochoeides*.

Myzostoma longicirrum Graff, 1887

(Fig. 19, 28A-G)

Myzostoma longicirrum Graff, 1887: 10, Pl. I, Fig. 4; Grygier, 1990: 184, 189.
Myzostomum longicirrum - Clark, 1921: 664.

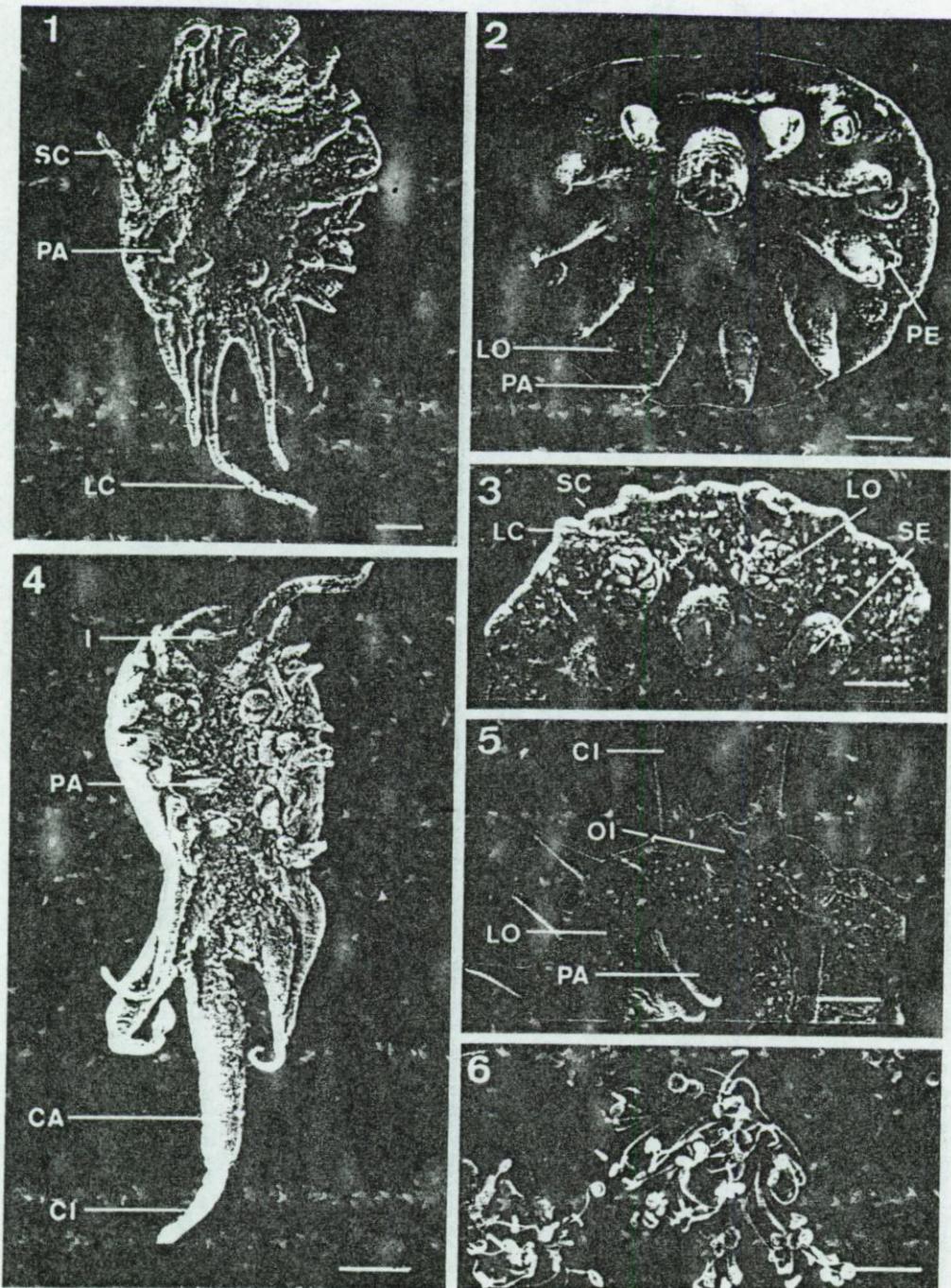
Material examined. - Four specimens (UUZM) on *Capillaster sentosus* (Carpenter, 1888), Singapore, coll. 23.x.1910; five specimens (USNM 167406) found loose in jar with 1 *C. sentosus* (USNM 34844), and 1 specimen (USNM 167407) found loose in jar with 1 *Pontiometra andersoni* Carpenter, (USNM 35222), "Albatross" sta. 5146, near Siasi Island, Sulu Archipelago (5°46'40"N, 120°48'50"E, 44 m, coll. 16.ii.1908); one specimen (USNM 167408) found loose in jar with 1 *C. sentosus* (USNM 34850), "Albatross" sta. 5249, Gulf of Davao, Philippines (7°06'06"N, 125°40'08"E, 42 m, 18 May 1908); one specimen (USNM 167409) found loose in jar with 6 *Capillaster* sp. (USNM E18308), Th. Mortensen's Pacific Expedition 1914-16, off Jolo, Sulu Archipelago, 46 m, coll. 19.ii.1914; five specimens (USNM 167410) found loose in bottle with 1 *C. sentosus* (USNM E19975) and one specimen (USNM 167411) found loose in bottle with 3 *Comatula pectinata* (Linnaeus, 1758) (USNM E19981), Th. Mortensen's Pacific Expedition 1914-16, off Jolo, Sulu Archipelago, 37 m, coll. 17.iii.1914.

Previously recorded distribution. - Zamboanga, Philippines (type locality) (Graff, 1887); Gulf of Davao, Siasi, and Jolo (Philippines) (Grygier, 1990); Singapore (Grygier, 1990).

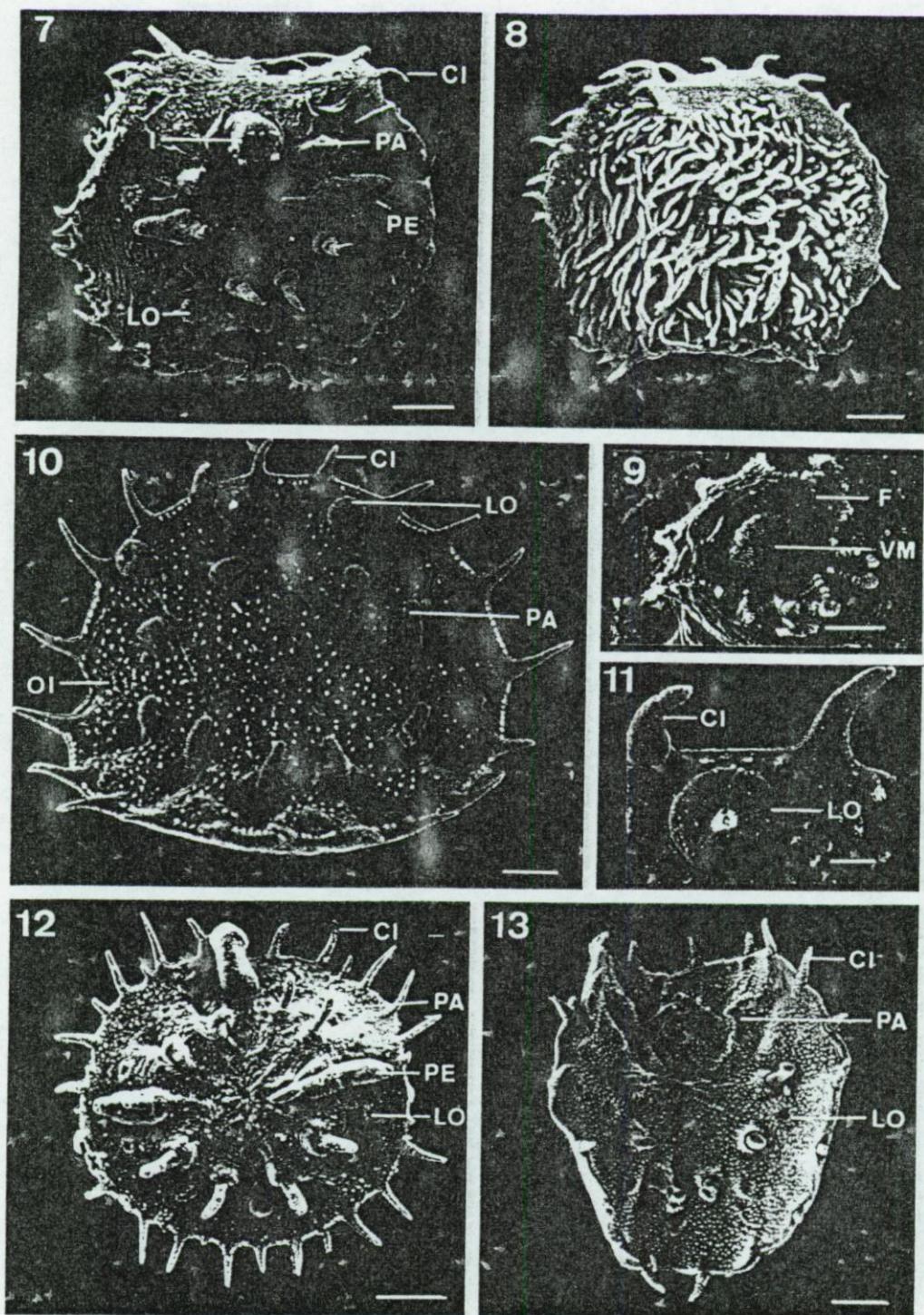
Previously recorded hosts. - *Comanthus parvicirrus*; 4 unspecified species in two unspecified families.

Description. - The most distinctive characteristics are the nearly round, dark brown body with a diameter of 1.0-2.6 mm, the membranous marginal lobes between the marginal cirri, and the first three and last three pairs of cirri being much longer than the rest and attaining nearly the disc diameter (Figs 19, 28A-B).

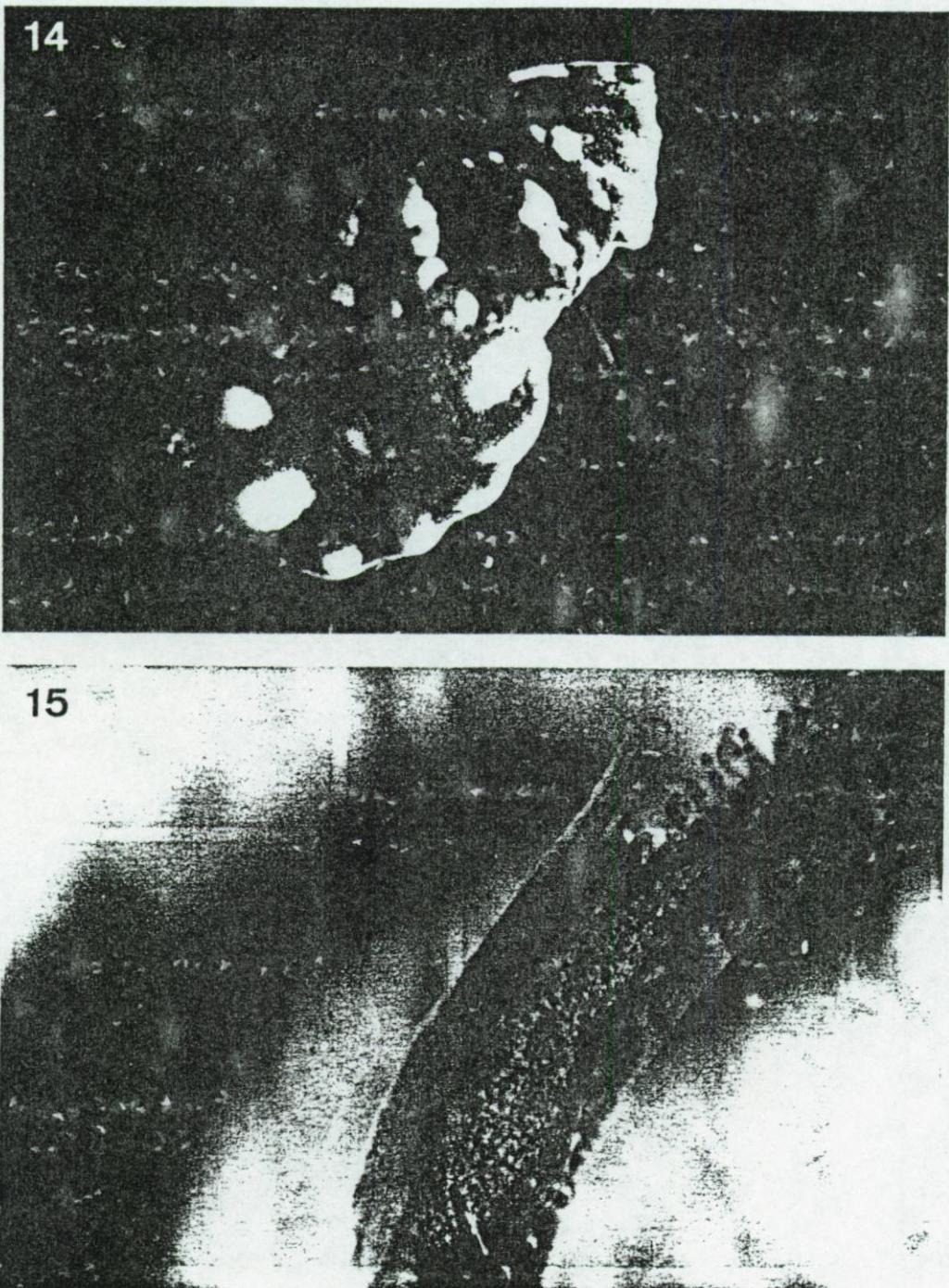
The disc-like body of the best specimen has a slightly shield-shaped outline, being a bit broader in the front (Figs. 19, 28A-B). The dorsal surface can be smooth or wrinkled, and different specimens show either a weak central hump and radial ridges, a longitudinal ridge,



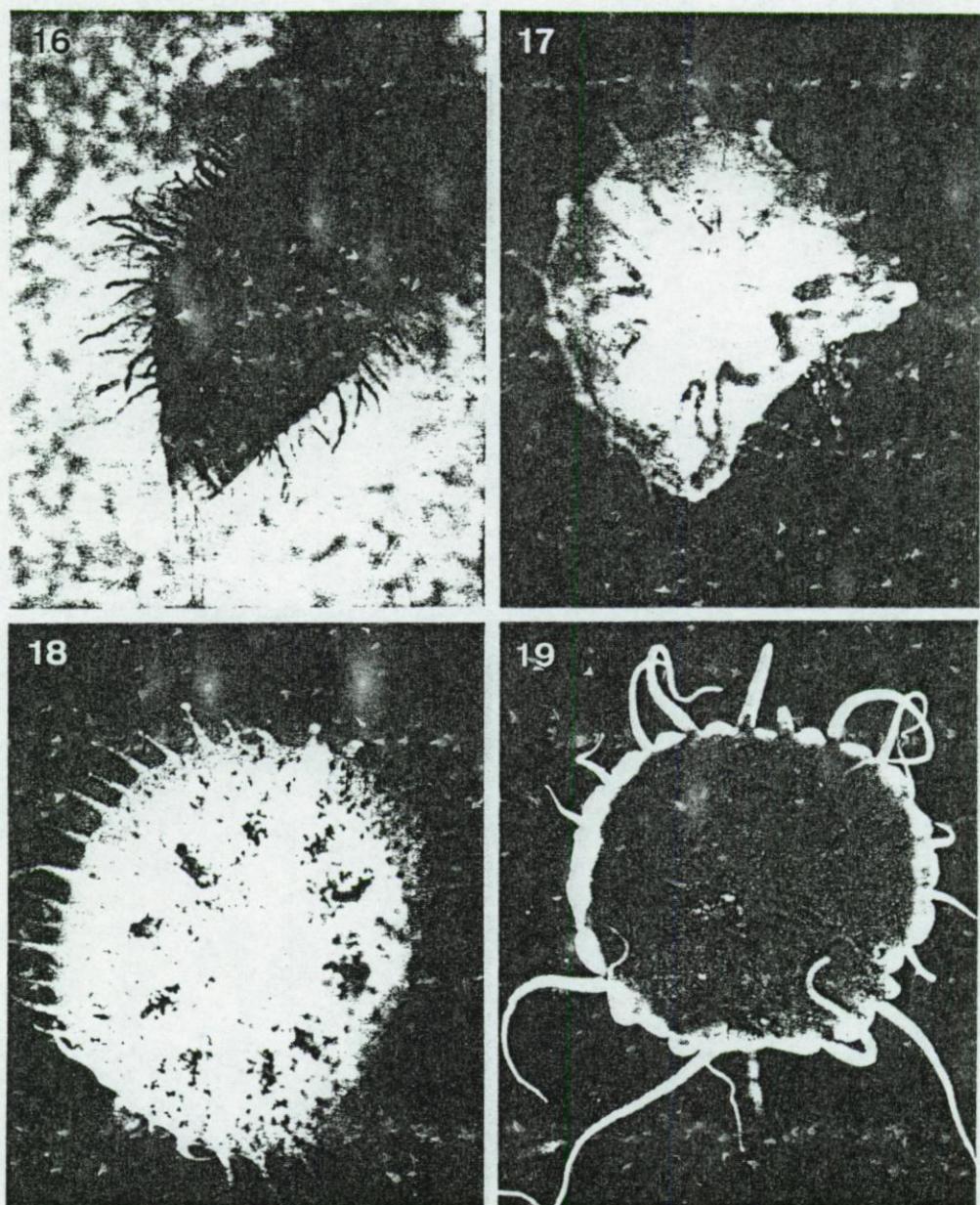
Figs. 1-6. SEM views of Singaporean *Myzostoma* species. Fig. 1. *M. brachiatum* Graff, 1877, ventral view, scale bar 100 μm . Figs 2-3. *M. horologium* Graff, 1884: ventral view and detail of body margin, respectively; scale bars 300 μm and 100 μm , respectively. Figs 4-6. *M. jaegerstedi*, new species: ventral view (one of the caudal processes is missing), detail of body margin, and ciliature, respectively; scale bars 100 μm , 150 μm , and 10 μm , respectively. Abbreviations: CA, caudal process; CI, cirrus; I, introvert; LC, large cirrus; LO, lateral organ; OI, opening of introvert pouch; PA, parapodium; PE, penis; SC, small cirrus; SE, seta.



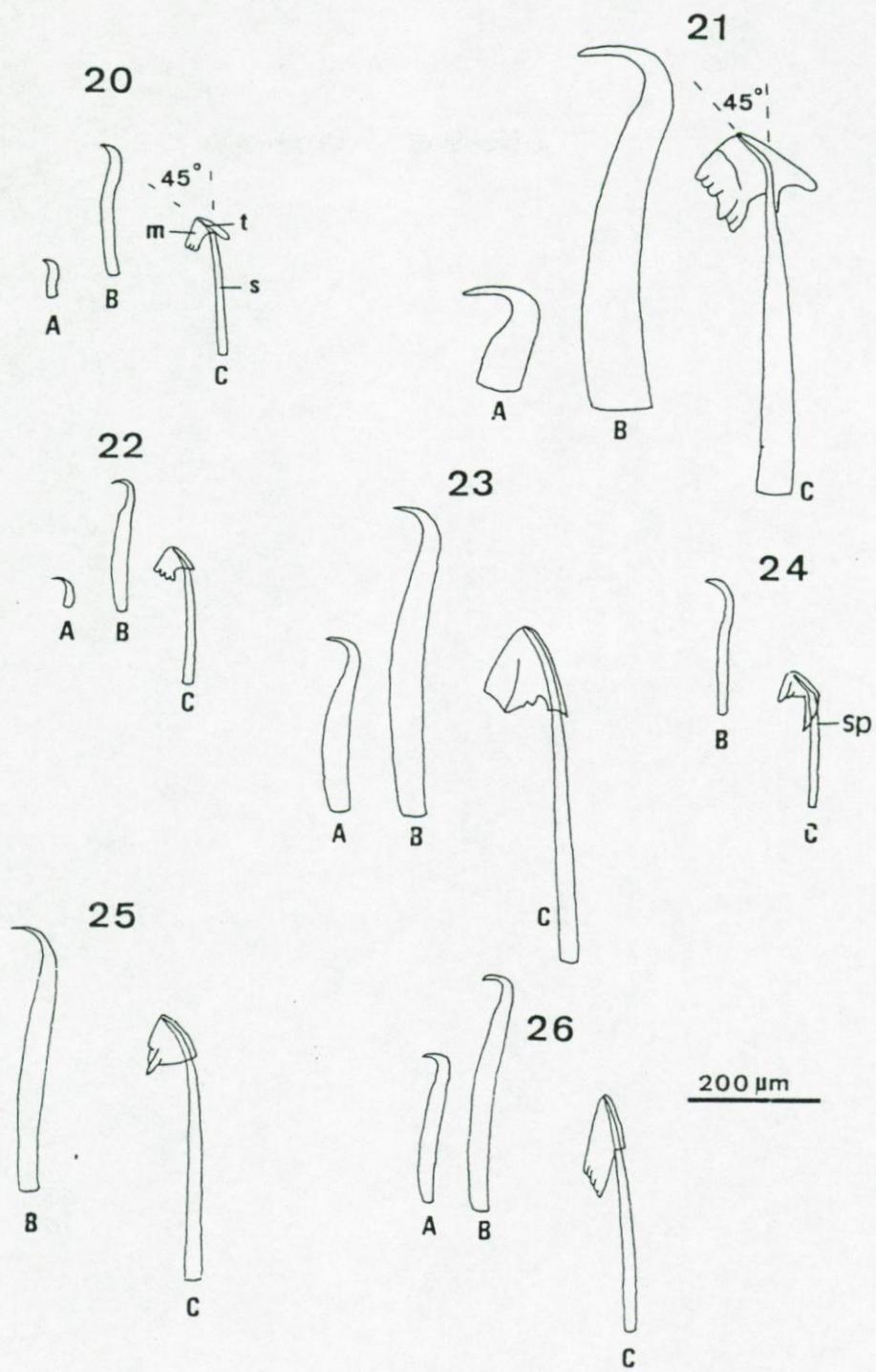
Figs. 7-13. SEM views of Singaporean *Myzostoma* species. Figs 7-9. *M. capitocutis*, new species: ventral view, dorsal view, and detail of lateral organs, respectively; scale bars 400 μm , 400 μm , and 50 μm , respectively. Figs 10-11. *M. singaporense*, new species: ventral view and detail of body margin, respectively; scale bars 100 μm and 20 μm , respectively. Fig. 12. *M. elegans* Graff, 1877, ventral view, scale bar 300 μm . Fig. 13. *M. stochoeides* Atkins, 1927, ventral view, scale bar 400 μm . Abbreviations: CI, cirrus; F, fold; I, introvert; LO, lateral organs; OI, opening of the introvert pouch; PA, parapodium; PE, penis; T, tubercle; VM, villous mass.



Figs. 14-15. Optical microscope views of Singaporean *Myzostoma* species. Fig. 14. *M. horologium* Graff, 1884 (seen from dorsal side). Fig. 15. *M. jaegersteni*, new species (seen from lateral side).

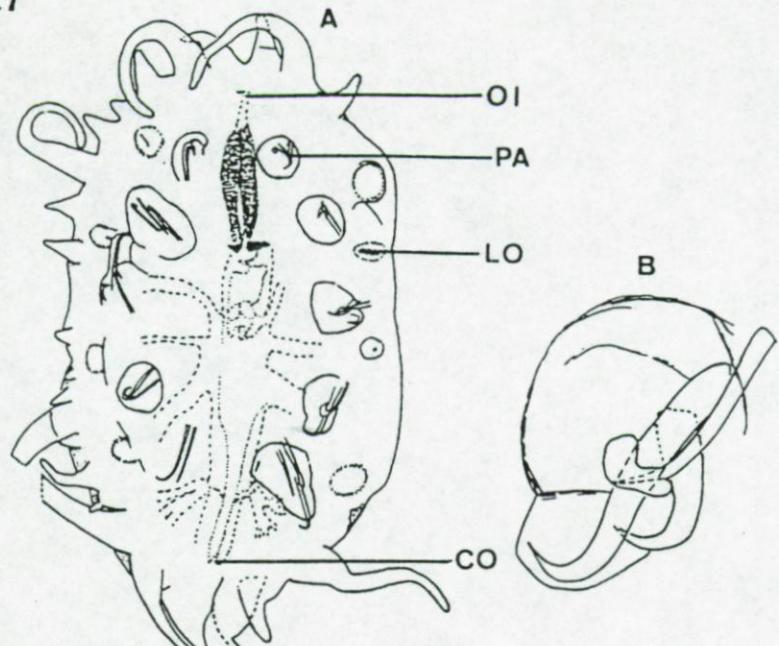


Figs. 16-19. Optical microscope views of Singaporean *Myzostoma* species. Fig. 16. *M. capitocutis*, new species (curled up and seen from ventral side). Fig. 17. *M. singaporense*, new species (seen from dorsal side). Fig. 18. *M. elegans* Graff, 1877. (seen from dorsal side). Fig. 19. *M. longicirrum* Graff, 1887, specimen from Jolo (seen from dorsal side).



Figs. 20-26. Drawings of parapodial hook apparatus of Singaporean *Myzostoma* species. In each: A, replacement hook; B, main hook; C, support rod. Fig. 20. *M. brachiatum* Graff, 1877. Fig. 21. *M. horologium* Graff, 1884. Fig. 22. *M. jaegersteni*, new species. Fig. 23. *M. capitocutis*, new species. Fig. 24. *M. singaporense*, new species. Fig. 25. *M. elegans* Graff, 1877. Fig. 26. *M. stochoeides* Atkins, 1927. Abbreviations: m, manubrium; s, shaft; sp, spur; t, tip of hook.

27



28

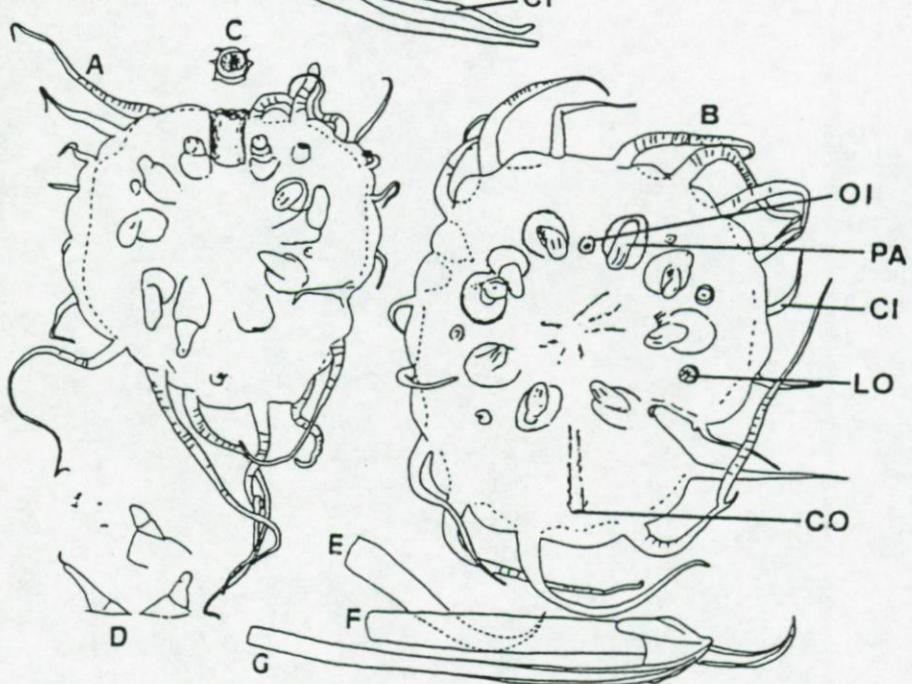


Fig. 27-28. 27. *Myzostoma brachiatum* Graff, 1877, lectotype. A, ventral view, observed on slide; B, left fourth parapodium. 28A-G. *Myzostoma longicirrum* Graff, 1887, specimens from southern Philippines infesting *Capilaster sentosus*. A-B, two specimens seen in ventral view; C, apex of the introvert; D, several parapodia; E-G, parapodial replacement hook, main hook, and support rod, respectively. Abbreviations: CO, cloacal opening; CI, cirrus; F, fold; I, introvert; LO, lateral organs; OI, opening of the introvert pouch; PA, parapodium

or humps over the introvert and seminal vesicles. The convex marginal lobes may be evident all or partway around the body and vary in size and obviousness. The marginal cirri are somewhat annulated.

On the ventral side, the circle of parapodia (five pairs) is centered slightly anterior of the center of the disc, with the parapodia halfway out to the margin but appearing closer to the center when pointing medially (Figs 28A-B). In some specimens, there are radiating ridges inside the ring of parapodia. Spacing between the parapodia is even except slightly wider across the midline for the first and fifth pairs. The parapodia are acirrate and consist of a large but usually low, oval, basal part and a finger-like distal part with a diagonal groove near the base and a aperture at the tip (Figs 28A-B). Either the hook or the support rod may be slightly longer than the other, and there is only one replacement hook (Figs 28E, F, G). The curvature of the hook's tip does not attain 90° (Fig. 28F). The support rod's manubrium is developed only on one side, with its lower angle developed into a blunt spur (Fig. 28G). The opening of the introvert pouch is located in the anterior half of the region between the bases of the first pair of parapodia (Fig. 28A-B). The introvert itself is about twice as long as thick and bears three pairs of buccal papillae that flank the circular, terminal mouth (Fig. 28B-C). The cloacal opening is just inside the border between the body proper and the posterior marginal lobe, from halfway to usually three-quarters or more of the way from the fifth parapodia to the margin (Fig. 28A-B). The lateral organs (four pairs) are round, slightly protruding, and similar in diameter to the distal parts of the parapodia (Fig. 28A-B). They are located just outside the circle of parapodia and alternate with them.

Remarks. - The size and shape, presence of marginal lobes, and pattern of cirral lengths identify these specimens as *M. longicirrum* (cf. Graff, 1887). The holotype was not found in The Natural History Museum in London in 1986 and is presumed to be lost. Graff (1887) noted that the "specimen was much damaged, and the figure given is thus to a large extent a restoration." this may explain discrepancies with Graff's description, in which the lateral organs are placed halfway from the parapodia to the margin and no buccal papillae are shown. The only other described species with a similar general appearance to *M. longicirrum* is *M. crenatum* Graff, 1883, the marginal cirri of which are all short and of equal length (Graff, 1884).

One of the present specimens is missing left leg 4 and left marginal organ 4; it has a deep notch in the body margin, which suggests that it survived an attack by some predator (Fig. 28B). One host jar (*C. sentosa*, USNM 34844) also contained *M. adhaerens* Remscheid, 1916 and *M. attenuatum* Grygier, 1989. The two instances where *M. longicirrum* was found loose with two species of comatulids from the same station suggest that cross-contamination might have occurred.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Professor T. J. Lam for providing facilities at the National University of Singapore and Dr. D. Lane for welcoming us into his laboratory. Thanks are due to Ms. R. Teo and Mr. C. Chua for help during various field trips. Specimens of *M. jaegersteni*, new species, from Mozambique were kindly sent by Dr. G. San Martin (Universitaria de Cantoblanco, Madrid). Museum specimens were examined with the cooperation of Dr. K. Fauchald, Ms. C. Ahearn, and Dr. D. Pawson (Smithsonian Institution), Dr. G. A. Boxshall and Mr. A. Muir (The Natural History Museum, London), Prof. Å. Franzen (Swedish Museum of Natural

History), Mr. R. Hanley (Northern Territory Museum of Arts and Sciences), and Dr. E. Kritscher (Naturhistorisches Museum Wien). Special thanks are expressed to Mr. B. Eeckhaut and Ms. W. Semdani for translating German papers. This work was supported by EEC contract no. CI1*-CT91-0909, by FRC grant no. 2454991, and (for M.J.G.) by a Smithsonian Institution Postdoctoral Fellowship and an appointment as Visiting Foreign Researcher at the Sesoko Marine Science Center, University of the Ryukyus, the latter being funded by the Japanese Ministry of Education, Science and Culture. Contribution of the Centre Interuniversitaire de Biologie Marine (CIBIM) and of the Sesoko Marine Science Center.

LITERATURE CITED

- Afzelius, B. A., 1983. The spermatozoon of *Myzostomum cirriferum* (Annelida, Myzostomida). *J. Ultrastr. Res.*, 83: 58-68.
- Afzelius, B. A., 1984. Spermiogenesis in *Myzostomum cirriferum* (Annelida; Myzostomida). *Vidensk. Meddr. Dansk Naturh. Foren.*, 145: 11-21.
- Atkins, D., 1927. Report on the Myzostomida collected by Mr. F. A. Potts in Torres Strait, together with a description of a species obtained by Professor J. Stanley Gardiner from the Maldives. *Proc. Zool. Soc. London*, 1927(23): 339-357.
- Bell, F. J., 1882. An attempt to apply a method of formulation to the species of Comatulae, etc. *Proc. Zool. Soc. London*, 1882: 530-536, Pl. 20.
- Carpenter, P. H., 1879. On the genus *Actinometra*, Müll., with a morphological account of a new species, (A.) *polymorpha*, from the Philippine Islands. Part I. *Trans. Linn. Soc. London*, 2nd Ser., Zool., 2(1): 1-122, Pls. 1-8.
- Carpenter, P. H., 1881. The Comatulae of the Leyden Museum. *Notes Leyden Mus.*, 3: 173-217.
- Carpenter, P. H., 1888. Crinoidea. II. The Comatulae. *Rep. Scient. Res. Voy. H.M.S. Challenger 1873-76, Zool.*, 26: ix+339, Pls I-LXX.
- Chesunov, A. V., T. A. Britayev, V. V. Larianov, I. V. Khodkina, & A. B. Tzetlin, 1989. Notes on commensals of some crinoids from Maldivian coral reefs. In: *Simbioz u morskikh zhivotnykh [Symbiosis in marine animals]*. Ed. V. A. Sveshnikov, pp. 165-191. A. N. Severtzov Institute of Animal Morphology and Ecology, Academy of Sciences of the U.S.S.R., Moscow.
- Clark, A. H., 1907. New genera of recent free crinoids. *Smithson. Misc. Coll.*, 50(3): 343-364.
- Clark, A. H., 1921. A monograph of the existing crinoids, Vol. 1. The comatulids. Part 2. *Bull. U.S. Natn. Mus.*, 82 (1, 2): xxv+795 pp.+ 57 pls.
- Clark, A. H., 1931. A monograph of the existing crinoids. Vol. 1. The comatulids. Part 3. Superfamily Comasteridae. *Bull. U.S. Natn. Mus.*, 82 (1, 3): vii + 816 pp.
- Ganter, P. & Jollès, G., 1969-1970. *Histochemistry normale et pathologique*. Vols. 1-2. Gauthier-Villar, Paris.
- Graff, L., von, 1877. Das Genus *Myzostoma* (F. S. Leuckart). Wilhelm Engelmann, Leipzig, 82 pp., Taf. I-XI.
- Graff, L., von, 1883. Verzeichniss der von den United States Coast Survey steamers "Hassler" und "Blake" von 1867 bis 1879 gesammelten Myzostomiden. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, 11(7): 125-133.
- Graff, L., von, 1884. Report on the Myzostomida collected during the voyage of H.M.S. Challenger during the years 1873-76. *Rep. Scient. Res. Voy. H.M.S. Challenger 1873-76, Zool.*, 10: 1-82, Pls. I-XVI.

- Graff, L., von, 1887. Report on the Myzostomida collected during the voyage of H.M.S. Challenger during the years 1873-76. Supplement. *Rep. Scient. Res. Voy. H.M.S. Challenger 1873-76, Zool.*, 20: 1-16, Pls. I-IV.
- Grygier, M. J., 1989. Three new species of *Myzostoma* (Myzostomida). *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 102(3): 793-804.
- Grygier, M. J., 1990. Distribution of Indo-Pacific *Myzostoma* and host specificity of comatulid-associated Myzostomida. *Bull. Mar. Sci.*, 47(1): 182-191.
- Hartlaub, C., 1890. Beitrag zur Kenntniss der Comatuliden fauna des Indischen Archipels. *Vorläufige Mittheilung Nachr. K. Ges. Wiss. Göttingen*, 5: 168-187.
- Jägersten, G., 1937. Myzostomiden von Prof. Dr. Sixten Bocks Expedition nach Japan und den Bonin-Inseln 1914. *Ark. Zool.*, 29A (17): 1-35, Taf. 1-2.
- Jägersten, G., 1940a. Kenntnis der Morphologie, Entwicklung und Taxonomie der Myzostomida. *Nova Acta Reg. Soc. Scient. Uppsala*, (4)11(8): 1-84.
- Jägersten, G. 1940b. Neue und alte *Myzostomum*-Arten aus dem Zoologischen Museum Kopenhagen. *Vidensk. Meddr. Dansk Naturh. Foren.*, 104: 103-125.
- Jangoux, M., 1990. Diseases of Echinodermata. In: *Diseases of marine animals*. Ed. O. Kinne, vol. 3, pp. 439-568. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg.
- Lamarck, J.B.P.A., de, 1816. *Histoire naturelle des animaux sans vertèbres*. Paris.
- Leuckart, F. S., 1836. In Beziehung auf der Haarstern (*Comatula*) und *Pentacrinus europaeus*, so wie auf das Schmarotzerthier auf *Comatula*. *Notizen aus dem Gebiete der Natur- und Heilkunde gesammelt und mitgetheilt von Dr. L.G.V. Froriep*, 59(9, no. 1087): 129-131.
- Linnaeus, C., 1758. *Systema Naturae*. Holmiae. Ed. 10.1: 1-824.
- McClendon, J. f., 1907. New marine worms of the genus *Myzostoma*. *Proc. U.S. Natn. Mus.*, 32: 63-65.
- Müller, J., 1841. Ueber die Gattungen und Arten der Comatulen. *Arch. f. Naturgesch.*, 74(1): 139-148.
- Müller, J., 1843. Neue Beiträge zur Kenntniss der Arten der Comatulen. *Arch. f. Naturgesch.*, 9: 131-136.
- Nansen, F., 1885. *Bidrag til myzostomernes anatomi og histologi*. Bergens Museum, Bergen. 80 pp., Tab I-IX.
- Prenant, M., 1959. Classe des Myzostomides. In: *Traité de zoologie*. Ed. P. Grassé, vol. 5, fasc. 1, pp. 714-784. Masson, Paris.
- Remscheid, E., 1916. Beiträge zur Kenntnis der Myzostomiden. *Abhand. Senckenb. Naturf. Ges.*, 35: 179-226, Taf. 12-14, 19 fig.
- Rowe, F. W. E., A. K. Hoggett, R. A. Birtles, & L. L. Vail, 1986. Revision of some comasterid genera from Australia (Echinodermata: Crinoidea), with descriptions of two new genera and nine new species. *Zool. J. Linn. Soc.*, 86: 197-277.
- Uchida, H., 1992. Annelida. In: *Guide to seashore animals of Japan with color pictures and keys*, vol. 1. Ed. S. Nishimura, pp. 310-373. Hoikusha, Osaka (in Japanese).