

ÉTUDE AU MICROSCOPE A BALAYAGE DES TROCHOPHORES DE DEUX ANNÉLIDES POLYCHÊTES DE LA FAMILLE DES PHYLLODOCIDAE

par

E.G. Zavarzina* et A.B. Tzetlin**

*Institut A.N. Severtzov de morphologie évolutive et d'écologie animale
de l'Académie des sciences de l'U.R.S.S.

**Claire de zoologie et d'anatomie comparée des invertébrés
de la faculté de biologie de l'université d'état de Moscou.

Résumé

Le présent travail est consacré à l'étude au microscope électronique à balayage des larves de deux espèces de Polychètes de la famille des Phyllodocidae, *Phyllodoce mucosa* et *Ph. maculata*, aux premiers stades de leur développement. L'utilisation du microscope électronique à balayage permet d'apporter de nouvelles données sur la morphologie des larves de ces deux espèces.

Introduction

Un nombre important de travaux consacrés à l'étude de la morphologie, de l'écologie et de la distribution des larves d'invertébrés marins, notamment de celles des Polychètes, a été publié ces dernières années. L'intérêt poussé que suscite l'étude des larves d'invertébrés marins peut être expliqué par la nécessité d'élargir nos connaissances de la dynamique saisonnière de la composition du zooplancton ainsi que des détails de leur morphologie, qui peuvent être extrêmement utiles dans le cadre de recherches d'ordre phylogénétique.

Les larves de représentants de différentes familles d'Annélides Polychètes, tels que *Harmothoe imbricata* (fam. Polynoidae) (Holborow, 1971), *Phragmatopoma lapidosa* (fam. Sabellariidae) (Eckelbarger et Chia, 1976), *Galeolaria caespitosa* (fam. Serpulidae) (Grant, 1981), *Sabella media* (fam. Sabellidae) (Mc Euen *et al.*, 1983), ont déjà, parmi d'autres, fait l'objet d'études réalisées à l'aide du microscope électronique à balayage. Les larves de la famille des Phyllodocidae n'ont été étudiées, à ce jour, qu'à l'aide du microscope optique (Thorson, 1946; Cazaux, 1969, 1975; Blake, 1975; Ospovat, 1978, Svechnikov, 1978).

Matériel et méthode

Les pontes à peine déposées de *Phyllodoce mucosa* et *Ph. maculata* furent recueillies en juin 1982 sur le littoral de la baie de Kandalakcha (Mer Blanche). Au total, 48 pontes furent récoltées et

étudiées. Au laboratoire, chacune de ces pontes fut placée en élevage dans un récipient contenant de l'eau de mer filtrée, dont la température variait de 2 à 10 °C.

La fixation des larves fut réalisée à l'aide d'une solution à 1 p. 100 d'acide osmique dans de l'eau de mer, et du mélange sublimé de Zenker. Les stades étaient les suivants :

1. Embryons au stade qui précède directement l'éclosion (protrochophores).

2. Trochophores de 1 à 2 jours.

3. Trochophores de 2 à 4 semaines.

Le matériel ainsi fixé fut ensuite étudié au microscope électronique à balayage (JEOL 35, JEOL 50). Avant le saupoudrage, les larves furent desséchées, suivant la méthode du point critique, en atmosphère de gaz carbonique. Pour l'étude de certains détails structuraux, des coupes microscopiques furent réalisées et colorées à l'hématoxyline de Karatchi.

RÉSULTATS

Les adultes de *Phyllodoce mucosa* déposèrent leurs pontes à une température proche de 3 à 4 °C. Ces pontes, fixées principalement sur *Zostera* et *Fucus* (fig. 1. a, b), formées d'une masse muqueuse sphé-

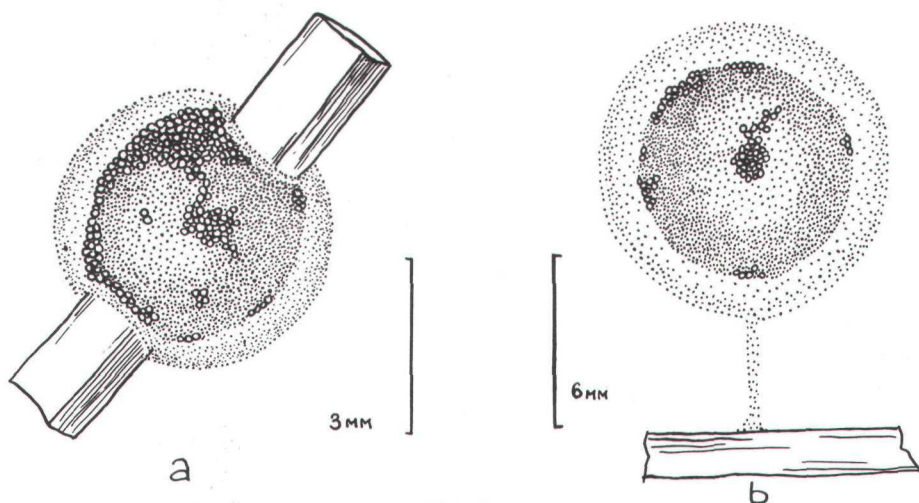


FIG. 1

Pontes de deux représentants de la famille des Phyllodocidae
a - ponte de *Ph. musoca* ; b - ponte de *Ph. maculata*

rique de 5 à 10 mm de diamètre étaient de couleur variable : blanc laiteux, bleu-ciel, jaune, vert-clair. A l'intérieur des pontes se trouve la masse ovigère contenant une grande quantité d'œufs de couleur

jaune et de 100 μm de diamètre environ. Les œufs ayant atteint le stade de développement le plus avancé se trouvent à la périphérie de la masse ovigère. La couche superficielle de la ponte est incolore. Son épaisseur, de 0,8 à 1,0 mm, diminue à mesure du développement des embryons, du fait que le processus de maturation de ces derniers s'accompagne de leur déplacement vers la surface de la ponte. L'éclosion des larves survient, dans la majorité des pontes, 6 à 8 jours après le dépôt de ces dernières.

Pour les embryons qui se développent le plus rapidement, le processus de segmentation et de formation de la trochophore dure

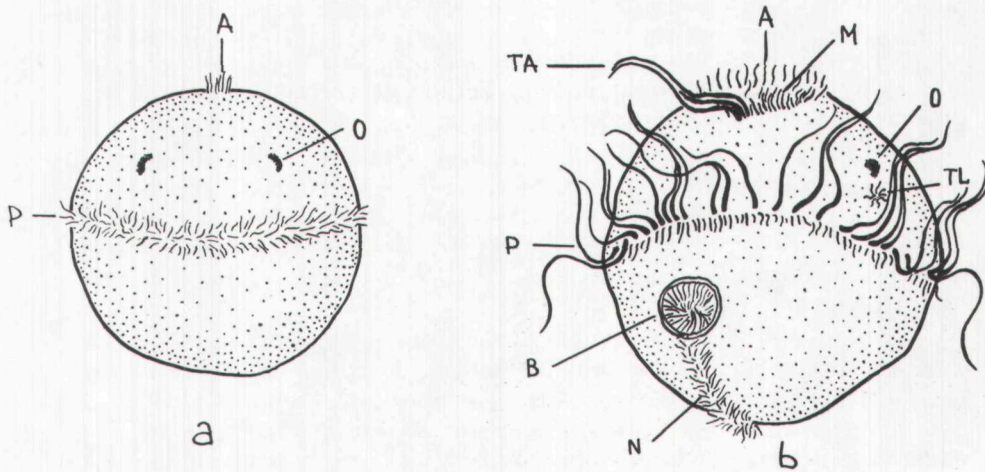


FIG. 2

Schéma de la différenciation du système ciliaire des larves de la famille des Phyllocidae.

a - jeune trochophore ; b - trochophore âgée.

(A - acrotroche, P - prototroche, O - œil, M - méniscotroche, TA - touffe apicale, TL - touffe latérale de cils sensoriels, B - bouche, N - neurotroche).

près de 24 heures, mais connue le développement des embryons contenus dans une même ponte n'est pas synchrone, chaque ponte contient, à la fois, des embryons se trouvant au stade de la segmentation, et des trochophores prêtes à éclore.

Les trochophores qui se trouvent au stade précédant directement l'éclosion sont sphériques et ont un diamètre de 100 à 120 μm . Elles sont munies d'une prototroche représentée par une couronne unique de cils courts, ainsi que d'une touffe apicale et de deux taches oculaires de couleur rouge (fig. 2, a). La différenciation des organes n'a pas encore eu lieu : les trochophores sont composées de deux feuilletts embryonnaires, elles possèdent un gastrocoele, l'intestin n'est pas encore formé, la bouche est absente, le blastopore s'est refermé sans laisser de traces (Pl, I, b). A ce stade, les trochophores commencent à bouger à l'intérieur de la ponte et se déplacent progressivement vers sa périphérie. L'éclosion se produit progressivement, à mesure de la maturation de nouvelles larves. A peine écloses elles restent quelques minutes à la surface de la ponte en battant des cils, avant de quitter

définitivement cette dernière. Certaines commencent tout de suite à nager, d'autres demeurent encore quelque temps, immobiles sur le fond, ou accomplissent des mouvements de rotation autour de leur axe antéro-postérieur, en sens contraire de celui des aiguilles d'une montre. Pendant les deux heures qui suivent l'éclosion, les larves ne diffèrent en rien, extérieurement, de celles qui étaient contenues dans la ponte. Cependant, le processus de différenciation interne se déroule très activement, et, quelques heures après l'éclosion, les larves ont une forme légèrement ovoïde, mesurent 120 à 180 μm (fig. 2, b; Pl. I, d), possèdent une bouche et un vestibule buccal disposés au-dessous de la prototroche et recouverts de cils très courts. À ce stade se forme l'intestin, relié au pharynx par un canal très étroit. L'orifice anal est absent, l'intestin est tapissé par un épithélium cilié. Ventralement, de la bouche au pygidium, s'étend longitudinalement, la neurotroche, formée de cils courts et fins (Pl. II, e). Grâce à la présence d'une forte musculature, le corps de la trochophore est contractile, la touffe apicale pouvant se rétracter à la rencontre d'un obstacle. À la surface de l'épispère et de l'hyposphère s'ouvrent plusieurs paires de canaux eratériformes (Pl. II, f) reliés à des glandes sécrétant du mucus. L'épispère porte une acrotroche, zone de cils courts et rares, et, en position ventrale, une aire de cils courts et denses disposés en forme de croissant (figs. 2, b; Pl. II, a, c, f), nommée méniscotroches par Cazaux (1969).

Au centre de la partie postérieure du méniscotroche se trouve un pinceau de longs cils de près de 50 μm de long, cette touffe est toujours dirigée vers l'avant. Sur l'épispère, légèrement plus haut que la prototroche, se trouve une paire de touffes latérales de cils courts à fonction sensorielle (figs. 2, b; Pl. II, c, d). Ces touffes, tout comme la touffe apicale, sont reliées à des cellules musculaires qui leur permettent de se rétracter quand les conditions sont néfastes. La prototroche est située au niveau équatorial, et formée de grosses cellules, les trochoblastes. À ce stade, la prototroche comporte deux ceintures ciliaires complètes. La ceinture supérieure, composée de cils longs (Pl. I, e), et la ceinture de cils courts, rappelant ceux qui tapissent la bouche, le vestibule buccal et la neurotroche, et identiques à ceux de la couronne ciliaire unique de la jeune trochophore. Deux gros yeux rouge-vif marquent l'épispère.

Pendant les quelques jours qui suivent, les trochophores grandissent, atteignant à l'âge de deux semaines une longueur de 200 à 250 μm . Le système ciliaire devient plus puissant et, à l'extrémité des cils de la touffe apicale, apparaissent des renflements en forme de tête d'épingle, facilement visibles à de forts grossissements (Pl. II, b). Sur l'épispère, les orifices des canaux eratériformes des glandes à mucus et les touffes de cils sensoriels restent visibles. L'orifice anal est absent. Tout comme la seconde paire d'yeux, il ne se formera que bien plus tard. À l'âge de 4 semaines, les larves de *Ph. mucosa* n'atteignent pas encore le stade de métatrochophore, et conservent tous les traits caractéristiques de la trochophore.

Les pontes de *Phyllodoce maculata* apparaissent sur le littoral à la fin du mois de juin, lorsque la température de l'eau à la surface atteint 6-9 °C. Les pontes ont l'aspect de masses muqueuses de forme sphérique, qui, à la différence de celles de *Ph. mucosa*, sont ancrées,

le plus souvent sur des végétaux, par l'intermédiaire d'un cordon (fig. 1, b). Ces pontes sont plus volumineuses que celles de *Ph. mucosa* (leur diamètre peut atteindre 20 mm, le cordon étant d'une longueur de 5 à 10 mm) et de couleur verte. Les œufs, dont la disposition dans la masse ovigère est identique à celle décrite pour les pontes de *Ph. mucosa* sont de couleur émeraude et ont un diamètre allant de 70 à 100 μ m. Leur maturation se déroule plus rapidement que chez cette dernière espèce, et tous les embryons atteignent le stade trochophore et quittent la ponte dans le courant des deux jours qui suivent le dépôt (ceci est probablement dû au fait que le développement a lieu à une température de l'eau plus élevée que pour *Ph. mucosa*). Les trochophores de *Ph. maculata*, à l'éclosion, ressemblent fortement à celles de *Ph. mucosa*, dont elles ne diffèrent que par leur couleur gris-bleu à gris-vert. Les larves portent sur le bord postérieur de la prototroche, des taches de pigment bleu-ciel, et sur l'épisphère, une paire d'yeux rouge-vif. Le système ciliaire comprend les cils courts et ténus de l'acrotroche et la ceinture ciliaire de la prototroche (Pl. I, c).

Deux jours après l'éclosion, les trochophores ressemblent fortement à celles de *Ph. mucosa*. L'épisphère porte une acrotroche composée d'une zone ciliaire et de la méniscotroche, et la touffe apicale. De part et d'autre de la méniscotroche sont disposées deux petites zones arquées de cils. La bouche et le vestibule buccal se creusent au-dessous de la prototroche. L'orifice anal est absent. Sur l'épisphère et l'hyposphère se trouvent plusieurs paires de canaux ératériformes reliés à des glandes à mucus. La prototroche des trochophores de *Ph. maculata* est formée de trois ceintures ciliaires complètes et non pas de deux, comme c'est le cas pour celle de *Ph. mucosa*. La ceinture moyenne composée de longs cils, est bordée par deux autres ceintures de cils courts (Pl. I, f) qui peuvent être plaquées contre ceux de la ceinture moyenne, et qui sont, dans ce cas, difficilement visibles.

DISCUSSION

Par la structure des pontes et les caractères morphologiques du développement larvaire, *Ph. mucosa* et *Ph. maculata* diffèrent peu des autres espèces du genre, et l'une de l'autre. Il est cependant possible de dégager certains traits caractéristiques de chacune de ces deux espèces, par exemple, la taille, la couleur, le moyen de fixation, et surtout le moment d'apparition des pontes. D'après nos observations, les pontes de *Ph. mucosa* se présentent toujours sous forme d'une masse muqueuse qui entoure le substrat, tandis que celles de *Ph. maculata* sont fixées au substrat par l'intermédiaire d'un cordon d'ancrage, parfois bifurqué. D'après Cazaux (1969), les pontes de *Ph. mucosa* peuvent être fixées de différentes façons, y compris au moyen d'un cordon d'ancrage. La présence de pontes muqueuses fixées à différents substrats aquatiques, notamment à des fragments de

FUCHS, est commune à toutes les espèces du genre. Les pontes de *Ph. williamsi* sont déposées sur le littoral dans les Unifies de *Zostera*, y adhérant directement par leurs parois (Blake, 1975). Ainsi, les moyens de fixation des pontes des représentants du **genre** *Phyllodoce* peuvent être très différentes. La disposition des œufs au sein de la masse ovigère est intéressante : les œufs qui se trouvent à un stade précoce de **maturation** sont disposés dans les couches intérieures de cette masse, tandis que les larves prêtes à **éclore** occupent les couches superficielles, ce qui facilite leur éclosion.

Les trochophores des deux espèces étudiées diffèrent l'une de l'autre par **leur couleur** et leur taille : les **trochophores de l'Ir, mucosa** sont de taille moins importante et de couleur **marron-vert ou jaune-vert**, tandis que celles de *Ph. maculata*, de taille moins **importante**, sont de couleur **gris-bleu ou gris-vert**, et portent sur le bord **postérieur** de la prototroche des taches de pigment bleu-ciel. La **couleur** des trochophores **petit**, cependant, être soumise à une forte variabilité intraspécifique, et ne peut, de ce fait, être considérée comme un caractère pouvant servir à la détermination.

Ainsi, Lacalli (1980) cite l'exemple de différences de coloration très nettes, pour des spécimens de *Ph. mucosa* récoltés, les uns, au Canada, et les autres, en France.

D'après nos observations, les pontes d'une même **espèce**, récoltées **en un même lieu**, peuvent, de même, avoir des pigmentations **différentes**.

Le développement des embryons à l'intérieur de la ponte dure **quelques** jours. Le stade trochophore peut se maintenir très longtemps. D'après nos observations, le passage au stade de métatrochophore n'intervient que 4 semaines après l'éclosion. D'après Cazaux (1969), ce dernier s'effectue environ un mois **après** celle dernière.

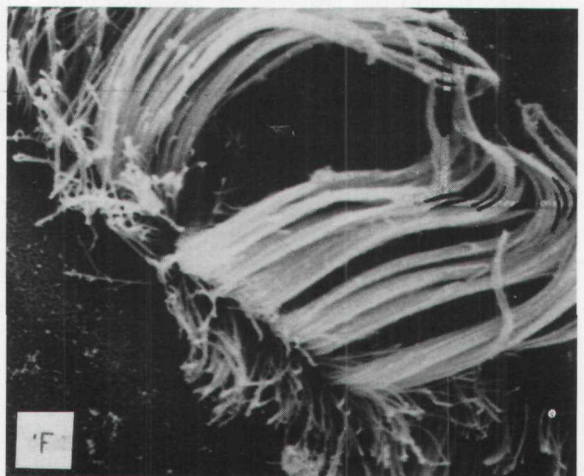
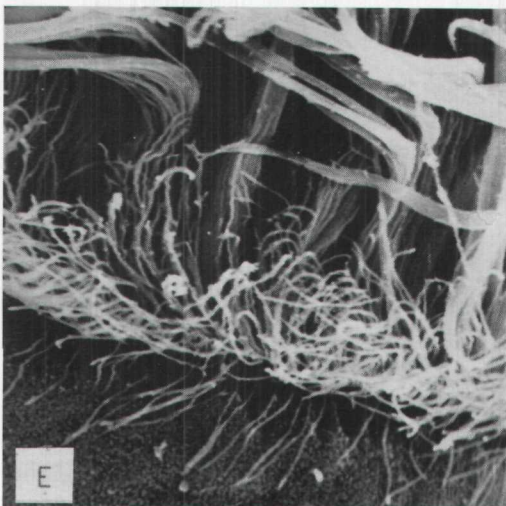
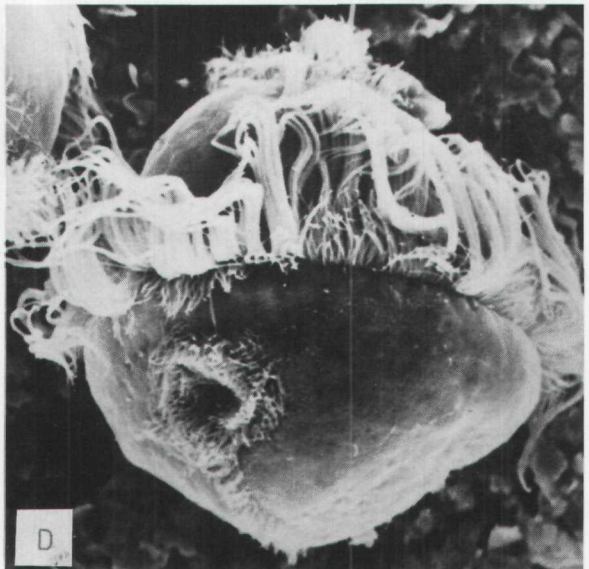
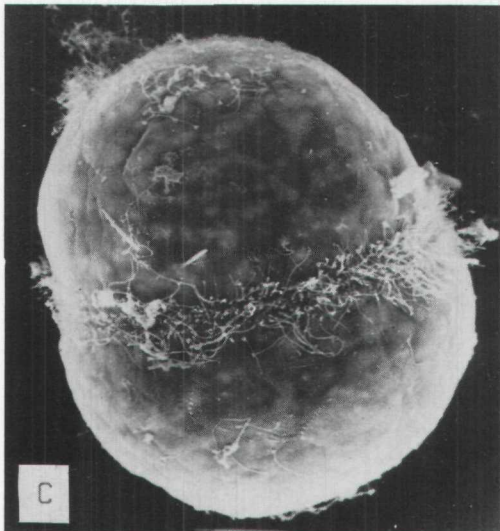
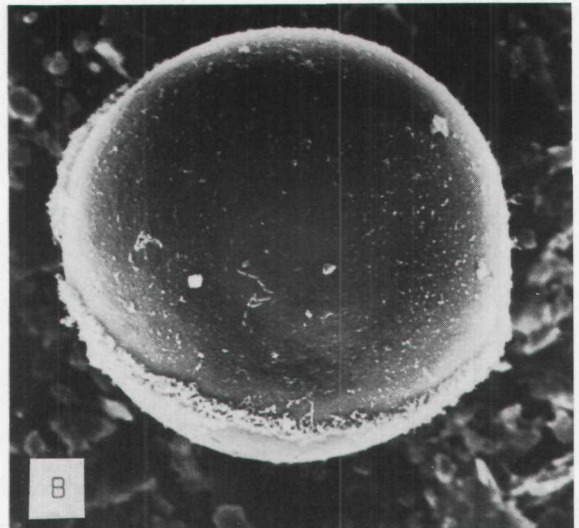
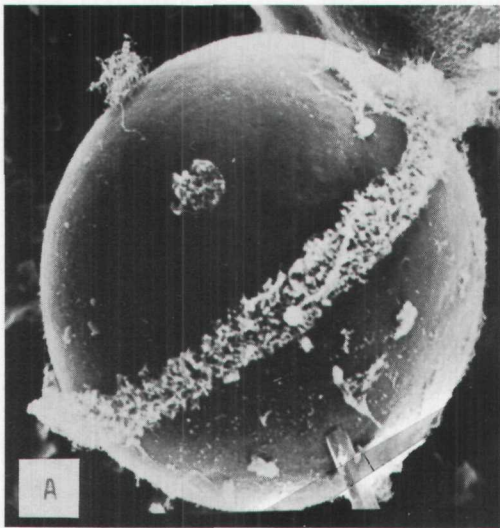
Le développement des larves des deux espèces étudiées peut être **décomposé** en quelques étapes :

1. La trochophore à l'éclosion

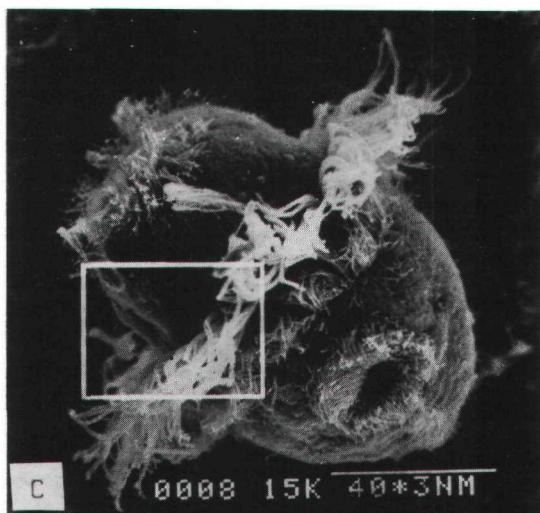
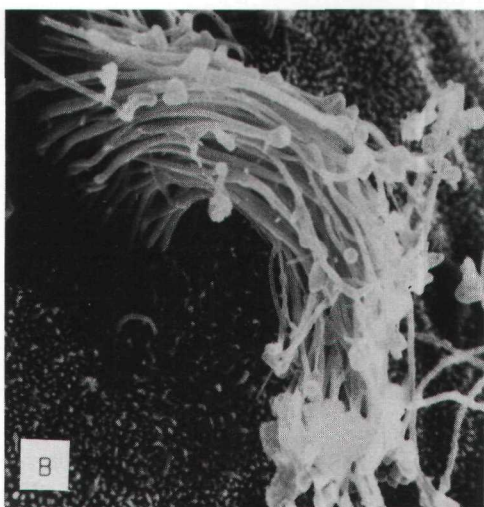
Elle porte une petite zone de cils courts sur le pôle animal (l'acrotroche), et une **prototroche** représentée par une ceinture de cils courts qui permettent à la larve d'effectuer de lents mouvements **de** rotation autour de son axe longitudinal. L'hyposphère est dépourvue de ciliation (la bouche et la neurotroche sont absentes), la musculature est faiblement développée, le corps de la larve est composé de deux feuilletts embryonnaires, le gastrocoele est présent.

PLANCHE I

Développement des larves de deux représentants de la famille des Phyllodocidae : a - **jeune trochophore de *Ph. mucosa*** ($\times 1\ 600$) ; b - jeune trochophore de *Ph. mucosa*, vue du pôle végétatif ($\times 1\ 600$) ; c - **jeune trochophore de *Ph. maculata*** ($\times 1\ 430$) ; d - trochophore de *Ph. mucosa* ($\times 1\ 600$) ; e - prototroche de *Ph. mucosa* ($\times 3\ 300$) ; f - prototroche de *Ph. maculata* ($\times 3\ 300$).



E.G. ZAVARZINA et A.B. TZETLIN



E.G. ZAVARZINA et A.B. TZETLIN

2. La trochophore âgée

Elle possède un système ciliaire puissant et bien différencié, représenté par l'acrotroche, mieux développée chez les larves de *Ph. maculata*, et la méniscotroche. De part et d'autre de la méniscotroche, la trochophore porte encore deux petites zones arquées de cils courts. Sur le milieu de son bord postérieur, la méniscotroche porte un pinceau de longs cils, caractéristique de tous les représentants de la famille Phylhodocidae. En position dorsale, par rapport aux yeux, la trochophore porte deux touffes de cils à fonction sensorielle. Sur l'hyposphère se distinguent la bouche et le vestibule buccal, ainsi que la neurotroche, composée de cils courts. La prototroche est polyslique, et composée de cils de deux sortes, courts et ténus, ou longs et puissants. Le nombre de ceintures ciliaires constitue, semble-t-il, un trait spécifique. Ainsi, le prototroche de *Ph. mucosa* est constitué de deux ceintures ciliaires, la ceinture supérieure, formée de cils longs et puissants, et la ceinture inférieure, composée de cils courts et ténus, ce qui concorde parfaitement avec les données de Cazaux (1969), tandis que la prototroche de *Ph. maculata* est composée d'une ceinture moyenne de cils longs et puissants, bordée par deux autres ceintures de cils bien plus courts. La prototroche de *Ph. laminosa* est composée des mêmes trois ceintures que celui de *Ph. maculata* (Cazaux, 1975), alors que la prototroche de *Ph. williamsi* est d'abord constituée de deux ceintures, moyenne et supérieure, auxquelles s'ajoute, par la suite, une troisième ceinture de cils courts, la ceinture inférieure (Blake, 1975).

A ce stade, la trochophore nage rapidement, grâce à la présence des longs cils de la prototroche dont les cils courts lui permettent d'effectuer de lents mouvements de rotation autour de son axe longitudinal.

Pendant les stades qui précèdent la transformation en métatrochophore, le système ciliaire ne subit pas de différenciation ultérieure, mais se renforce considérablement.

D'après Ospovat (1978), la touffe apicale et les touffes de cils sensoriels situés en retrait des yeux sont innervés de la façon suivante : la cellule nerveuse reliée à la touffe apicale et la boucle du nerf optique qui innerve les touffes de cils situées en retrait des yeux sont directement reliées à la ceinture nerveuse de la prototroche, ce qui permet à la larve de réagir très rapidement aux éventuelles excitations.

Arrêtons-nous plus longuement sur les structures ciliaires à fonction sensorielle que constituent la touffe apicale et les touffes de

PLANCHE II

Développement des larves de *Ph. mucosa*

a - 14' jour ; trochophore vue du pôle animal (X 1 200) ; b - touffe apicale de cils sensoriels (X 8 800) ; c - 14' jour ; trochophore en vue latérale, emplacement des touffes ciliaires para-oculaires (X 1 400) ; d - touffe ciliaire para-oculaire (X 5 500) ; e - bouche et neurotroche (X 3 200) ; f - pôle animal de la larve : méniscotroche piriant, au centre de sa partie postérieure un pinceau de longs cils ; à droite sont visibles les orifices des canaux de glandes à mucus (X 4 400).

cils situés en retrait des yeux. L'étude au microscope électronique à balayage des cils de la touffe apicale de la trochophore de *Ph. mucosa* témoigne de la présence, à leurs extrémités, de renflements en forme de tête d'épingle (Zavarzina et Tzetlin, 1983), observées chez des trochophores de *Ph. mucosa* fixées selon des méthodes différentes, ce qui permet de penser qu'il s'agit de structures réellement existantes, et non pas d'une illusion d'optique, comme ceci semble en être le cas selon Ehlers et Ehlers (1978) pour les discocils de *Ph. maculata*. La présence de tels renflements, portés uniquement par les cils à fonction sensorielle, permet de supposer des différences importantes de structure et de fonction. par rapport, par exemple, aux cils à fonction locomotrice de la prototroche.

En retrait des yeux, la trochophore porte, de part et d'autre, deux petites zones ciliées, nommées de façon différente par différents auteurs : protubérance ciliée de la trochophore de *Ph. williamsi* (Blake, 1975), îlots ciliaires para-oculaires de *Ph. mucosa* et *Ph. laminosa* (Cazaux, 1909, 1975), fossettes ciliées. L'étude de *Ph. mucosa* et *Ph. maculata* au microscope électronique à balayage montre que ces structures ciliaires sont reliées à des cellules musculaires dont la contraction ou la décontraction leur donnent soit l'aspect de protubérance, soit celui des fossettes ciliées. De telles touffes de cils sensoriels ont été décrites par Eckelberger et Ghia (1976) pour la trochophore de *Phragmatopoma lapidosa*.

Conclusion

Le mode de fixation des larves de *Ph. mucosa* et *Ph. maculata* d'après Cazaux (1969), peut être différent, y compris pour des spécimens d'une même espèce, mais, d'après nos observations, ce dernier constitue un trait spécifique.

Ce stade trochophore, peut durer près d'un mois (Cazaux, 1969 pour des trochophores de *Ph. mucosa*, récoltées dans le Golfe de Gascogne).

Chez les représentants de *Ph. mucosa* et *Ph. maculata*, au stade jeune trochophore, le blastopore s'est déjà refermé sans laisser de traces. A ce stade, la prototroche est représentée par une unique ceinture de cils courts. Chez la trochophore âgée, la prototroche est représentée par une ou deux ceintures de cils courts assurant les mouvements de rotation, et par une ceinture moyenne de cils longs permettant à la larve d'effectuer de puissants mouvements en avant.

Les organes ciliés à fonction sensorielle de la trochophore sont représentés par la touffe apicale, dont les cils peuvent porter (chez *Ph. mucosa*) à leur extrémité, des renflements en forme de tête d'épingle, et par les îlots ciliaires para-oculaires pairs, possédant le même mécanisme d'action que la touffe apicale.

Summary

The two first larval stages of the Polychaeta (Fam. Phyllodocidae) *Phyllodoce mucosa* and *Ph. maculata* are studied using scanning electron microscopy. The SEM technic provides new data on these two species larval morphology.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BLAKE, J.A., 1975. — The larval development of polychaeta of the northern California coast. III. Eighteen species of Errantia. *Ophelia*, 14, pp. 23-84.
- CAZAUX, C., 1969. — Etude morphologique du développement larvaire d'annélides polychètes (Bassin d'Arcachon). II. Phyllodocidae, Syllidae, Nereidae. *Arch. Zool. exp. et gén.*, 110 (2), pp. 145-202.
- CAZAUX, C., 1975. — Reproduction et développement larvaire de *Phyllodoce laminosa* Savigny 1818 (Annélide Polychète). *Cah. Biol. mar.*, 16, pp. 541-549.
- ECKELBARGER, K.J. and CHIA, F.S., 1976. — Scanning electron microscopic observation of the larval development of the reef-building polychaeta *Phragmatopoma lapidosa*. *Can. J. Zool.*, 54, pp. 2082-2088.
- EHLEKS, U. and EHLERS, B., 1978. — Paddle cilia and discocilia-genuine structures. *Tiss. and Cell Res.*, 192, pp. 485-501.
- GRANT, N.J., 1981. — A scanning electron microscopic study of larval development in the marine polychaeta *Galeolaria caespitosa* Lamarck (Serpulidae). *Tiss. and Cell Res.*, 215, pp. 171-179.
- HOLBOROW, P.I., 1971. — The fine study of the trochophora of *Harmothoe imbricata*, 4th Eur. Mar. Biol. Symp. Cambridge, pp. 237-246.
- LACALLI, T.C., 1980. — A guide of the marine flora and fauna of the bay of Fundy : Polychaeta larvae from Passamaquoddy Bay. *Can. Tech. Rep. Fish. and aquat. Sci.*, 940, pp. 1-27.
- MC EUN, F.S., W.U., B.L., and CHIA, p., 1983. — Reproduction and development of *Sabella media*, a sabellid polychaeta with extratubular brooding. *Mar. Biol.*, 76, pp. 301-309.
- OSPOVAT, M.F., 1978. — Rol nerv noi sistemy y ontogenese *Phyllodoce* (Polychaeta, Phyllodocidae), trochophora-metatrochophora. *Zool. Zurn.*, 57 (7), pp. 987-997 (en russe).
- SVECHMKOV, V.A., 1978. — Morphologia litchinok polikhet. *Moskva, Nauka*, 152 p. (en russe).
- THORSON, G., 1946. — Reproduction and larval development of Danish marine bottom invertebrates, with special reference to the planctonic larvae in the sound (Øresund). *Meddr. Kommn Danm. Fish-, og Havunders. Ser. Plankton*, 4, pp. 1-523.
- ZAVARZINA, E.G. and TZETLIN, A.B., 1983. — Novy tip restnitchek dlia trokhophornykhivotnykh. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 273 (1), pp. 212-213 (en russe).