

Bioaccumulation du fer dans le corps cardiaque de *Raricirrus beryli* Petersen & George (Polychaeta, Ctenodrilidae)

*Jean VOVELLE**, *Mary E. PETERSEN***, *Michèle GRASSET **
& *Patricia BEAUNIER****

*Laboratoire d'Histologie et Cytologie des Invertébrés Marins
Université P. et M. Curie

12, rue Cuvier, F-75005 Paris, France

**Zoological Museum, University of Copenhagen
Universitetsparken 15, DK-2100 Copenhagen Ø, Denmark

***Service de Microscopie électronique GRMP
Université P. et M. Curie

6, rue Cuvier, F-75005 Paris, France

RÉSUMÉ

Raricirrus beryli, localement abondant dans les champs pétrolifères de la mer du Nord septentrionale, est reconnu comme une espèce indicatrice pour les sédiments pollués par les hydrocarbures. Le matériel provient de deux récoltes : à proximité nord de la Beryl Platform (mai 1982) et à 200 m nord du premier site (mai 1985). Sa conservation a permis d'entreprendre une étude microanalytique (au moyen de la microsonde en dispersion de longueur d'onde, du microanalyseur ionique et de la microsonde en dispersion d'énergie) et d'obtenir des indications sur sa structure cytotologique. L'organe étudié est le corps cardiaque, dont le rôle possible de détoxification peut se traduire par des différences entre les spécimens des deux récoltes. Les éléments détectés par la microanalyse sont surtout le fer, et en quantités moindres du calcium, soufre, phosphore et aluminium. Les autres éléments repérables sont le magnésium, le chlore, des traces de cuivre, de vanadium et de fluor ; zinc et silice sont absents. Le fer a été identifié à l'échelle ultrastructurale sous la forme de particules intracytoplasmiques de ferritine, concentrées souvent dans des inclusions délimitées par une membrane ou intégrées à des granules sphérulaires. La différence entre les deux récoltes se manifeste dans la teneur en fer, trois fois plus forte dans les spécimens à proximité de la plateforme. Chez quelques uns d'entre eux, le fer apparaît à l'échelle ultrastructurale comme un feutrage d'aiguilles entourant certaines sphérules. Cette surcharge complique la fonction hématopoïétique supposée du corps cardiaque, on suggère qu'elle joue un rôle dans la détoxification.

ABSTRACT

Iron bioaccumulation in the heart body of *Raricirrus beryli* Petersen & George (Polychaeta, Ctenodrilidae)

VOVELLE, J., PETERSEN, M.E., GRASSET, M. & P. BEAUNIER, 1994.— Bioaccumulation du fer dans le corps cardiaque de *Raricirrus beryli* Petersen & George (Polychaeta, Ctenodrilidae). In: J.-C. DAUVIN, L. LAUBIER & D.J. REISH (Eds), Actes de la 4ème Conférence internationale des Polychètes. *Mém. Mus. natn. Hist. nat.*, **162** : 73-80. Paris ISBN 2-85653-214-4.

Raricirrus beryli, which is abundant in the oilfields of the northern North Sea, has been recognised as an indicator species for hydrocarbon-polluted sediments. The material came from two different sites in the North Sea: one just north of the Beryl platform (May 1982), the other 200 meters north of the platform (May 1985). A microanalytical study was carried out using a wavelength X-ray spectrometry microprobe, an ion microanalyser, and an energy dispersive spectrometry microprobe. The cytological structure of the dorsal heart body was studied from sections embedded in araldite. The elements detected under microanalysis were mainly iron and small amounts of calcium, sulfur, phosphorus, aluminium, magnesium, chlorine, copper, vanadium and fluorine. Neither zinc nor silica were detected. Iron was identified as a form of intracytoplasmic ferritin particles which were concentrated in membrane-bound inclusions or integrated with spherular granules. The main difference between the two sites was in the amount of iron, which was three times greater in specimens close to the platform as in those from 200 meters. Iron was detected at the ultrastructural level in the form of needles surrounding some of the spherules from some specimens collected near the platform. This overload of iron is not in keeping with the supposed haematopoietic function of the heart body, it is hypothesized that it plays a part in the detoxification process.

INTRODUCTION

L'animal retenu pour cette étude, *Raricirrus beryli*, a été décrit en 1991 (PETERSEN & GEORGE, 1991) et reconnu comme une nouvelle espèce de polychète indicatrice pour les sédiments pollués par les hydrocarbures (MOORE, 1991). Les échantillons qui ont permis notre recherche ont été recueillis dans deux sites différents : l'un à proximité de la plateforme pétrolière Beryl dans la mer du Nord, l'autre 200 m plus loin. Même si l'écart de temps qui sépare les deux récoltes relativise la rigueur de nos conclusions, la différence d'aspect des corps cardiaques des animaux dans les deux récoltes impose l'hypothèse de leur intervention dans un processus de détoxification. Leur conservation ne permettait pas d'envisager une étude cytologique fine, mais du moins l'appréciation de différences significatives dans leur composition élémentaire, par les méthodes de la microanalyse à l'échelle structurale et ultrastructurale.

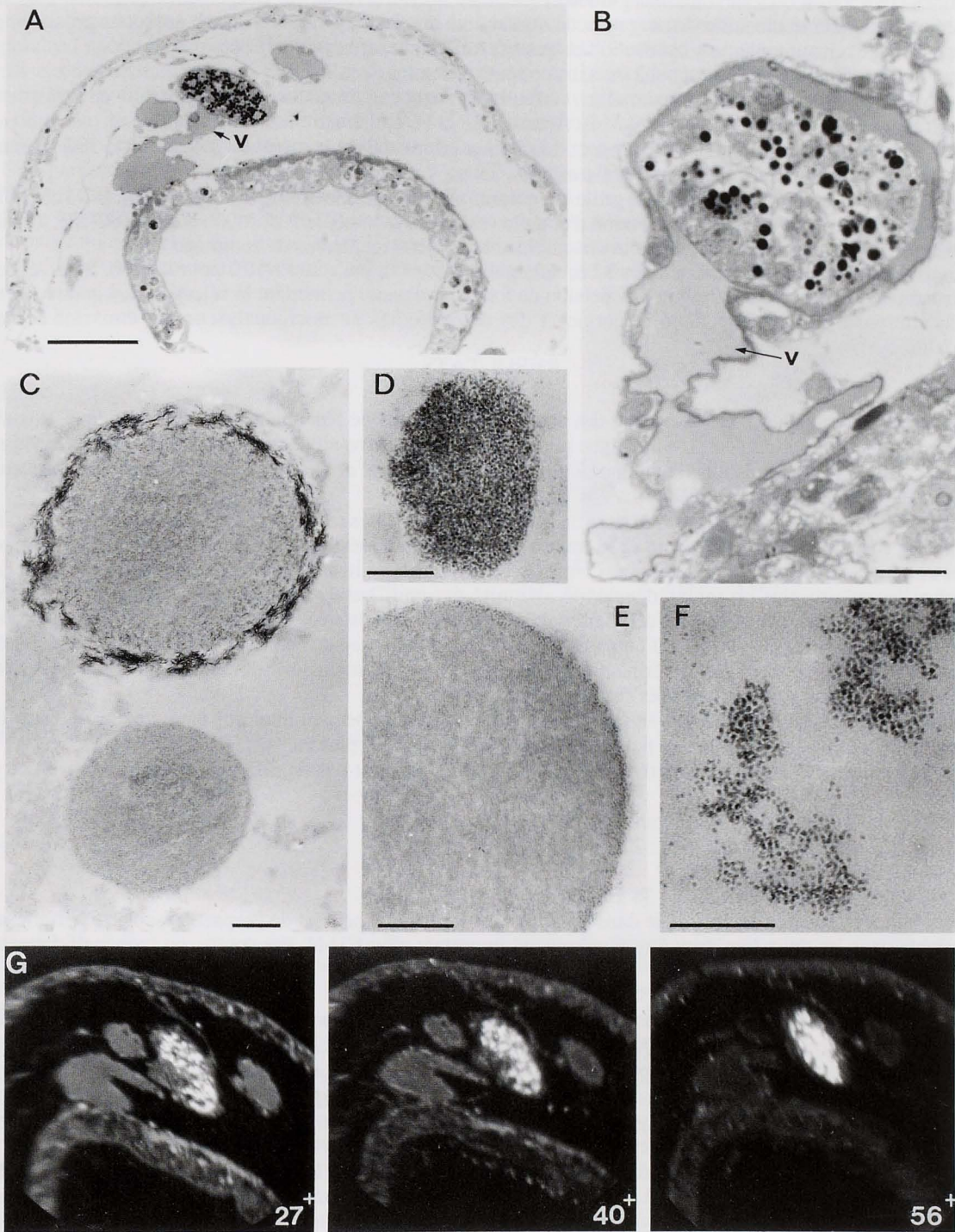
L'interprétation du corps cardiaque présent chez cinq familles de Polychètes a fait l'objet de nombreux travaux. Si l'on admet maintenant son homologie avec le tissu chloragogène "extravasal" qu'on trouve dans d'autres familles, on sait aussi que ce dernier a pu être décrit comme un rein d'accumulation avant qu'on examine son rôle dans l'hématopoïèse. La priorité de cette fonction est dorénavant acceptée aussi bien pour le corps cardiaque que pour le tissu chloragogène, mais son intervention peut intéresser aussi bien la dégradation et peut-être le recyclage du pigment respiratoire que sa biosynthèse. A côté de l'accumulation de produits accessoires décrite par KENNEDY & DALES (1958) comme le résultat du catabolisme des métalloporphyrines, l'intervention possible des corps cardiaques dans des processus de détoxification a été évoquée dans leur potentialité de séquestration d'éléments exogènes figurés ou non (BRAUNBECK & DALES, 1984). Enfin, dans les incertitudes même de son utilisation, le concept de "chloragosome" prend en compte dans les travaux récents (OUAGHI & GRASSET, 1991) une possibilité de bioaccumulation progressive notamment du fer. Une telle bioaccumulation pourrait-elle être l'indice indirect d'un état physiologique modifié par la surcharge environnementale en hydrocarbures? A travers l'hypothèse d'une détoxification chez une espèce privilégiée, c'est donc aussi à l'interprétation du rôle du corps cardiaque en conditions normales que notre travail tente de contribuer.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel utilisé pour cette étude provient de deux récoltes différentes, l'une et l'autre de la mer du Nord septentrionale : l'une prélevée juste au nord ("close up N" = CU N) de la plateforme pétrolière Beryl (mai 1982), l'autre 200 mètres au nord (200 N) du point précédent (mai 1985). Les animaux ont été fixés au formol à 10 % et le prélèvement CU N a été ensuite transféré dans l'alcool éthylique à 80 °C.

Les spécimens examinés ont été tronçonnés au niveau du corps cardiaque (au delà du 9^e sétigère) et inclus dans l'araldite après déshydratation à l'alcool. L'anatomie microscopique a été établie sur coupes transversales

FIG. 1. — A. Région dorsale (spécimen 15, CU N). Coupe transversale semi-fine colorée au bleu de Toluidine (barre 50 µm); v : espace sanguin ; B. Détail du corps cardiaque (spécimen 13, 200 N), même préparation (barre 10 µm) ; C, D, E, F. Micrographies électroniques sans post-osmication ni coloration (barre 200 nm pour C et E, 100 nm pour D et F) ; C. Sphérule entourée d'aiguilles d'oxyde de fer (spécimen 18 CU N), D. Granule de ferritine (spécimen 5, 200 N), E. Sphérule homogène enrichie superficiellement en ferritine (spécimen 4, 200 N), F. Particules intracytoplasmiques de ferritine (spécimen 18, CU N), G. Images d'émission ionique (spécimen 15, CU N). 27+ : Al, 40+ : Ca, 56+ : CaO + Fe (même échelle que A).



semi-fines colorées au bleu de toluidine, l'étude cytologique ultrastructurale sur coupes ultra-fines non colorées. La fixation initiale et le mode de conservation du matériel ne pouvaient permettre qu'une approche grossière des ultrastructures, excluant toute post-osmication et toute identification des organites et des membranes.

L'étude microanalytique a fait appel à trois instruments différents.

- sur coupes semi-fines, après montage sur terphane carboné, microsonde MS 46 Cameca équipée de spectrographes dispersifs en longueur d'onde à cristaux KAP et PET (diamètre de sonde 1 μm);

- sur coupes semi-fines étalées sur support de platine, microanalyseur ionique Cameca SMI 300 (spectres acquis sur tout le champ image, diamètre 250 μm);

- sur coupes ultra-fines montées sur grille de cuivre, microscope électronique Temscan JEOL JEM CXII équipé d'un détecteur de rayons X à sélection d'énergie (EDS) LINK modèle AN 10000 à cristal SI(LI). Tension d'accélération 60 kV. Surface analysée pour chaque spectre 50 x 100 nm, temps de comptage 300 s.

Vingt-cinq individus ont été examinés à l'échelle photonique (15 pour 200 N, 10 pour CU N), 20 à l'échelle ultrastructurale, 18 en microanalyse par dispersion de longueur d'onde, permettant la sélection des quatre retenus pour la microanalyse par dispersion d'énergie et des deux étudiés au microanalyseur par émission ionique secondaire.

RÉSULTATS

L'examen à la loupe des vers provenant des deux récoltes permet de reconnaître le corps cardiaque, dorsal et visible à travers l'épithélium, comme une ligne pigmentée plus ou moins sinueuse partant du 8 ou 9^{ème} sétigère et courant sur les 10 à 15 suivants. Brun noirâtre, il apparaît plus foncé et plus épais pour les individus provenant du lot CU N que pour ceux de 200 N.

ANATOMIE MICROSCOPIQUE ET HISTOLOGIE (Fig. 1A-B). — De section circulaire en coupe transversale, l'organe est suspendu entre l'épiderme et le tractus digestif par un mésothélium qui se dilate localement pour former un ou plusieurs vaisseaux. La masse compacte de cellules constituant le corps cardiaque baigne ainsi dans un espace vasculaire plus ou moins développé, délimité par une "basale" extracellulaire ("vascular lamina") supportant extérieurement les corps cellulaires d'un revêtement péritonéal (myomésothélium), et sans doute infléchi pour délimiter le pourtour du corps cardiaque. Ce dernier présente en coupe une douzaine de cellules à noyaux pourvu d'un gros nucléole, périphériques par rapport à leurs inclusions de taille et de contraste divers, certaines très opaques, d'autres jaunâtres et translucides.

KENNEDY & DALES (1958) ayant signalé l'éventualité du développement du corps cardiaque avec l'âge et la bioaccumulation, nous avons comparé pour les deux lots de *Raricirrus* plusieurs systèmes indicateurs.

Les valeurs obtenues (n = nombre d'individus étudiés) ne marquent pas de différence significative en ce qui concerne :

- le diamètre du corps au niveau examiné :

200 N : $251 \pm 16 \mu\text{m}$, n = 5; CU N : $274 \pm 18 \mu\text{m}$, n = 7

- le diamètre du corps cardiaque :

200 N : $35 \pm 9 \mu\text{m}$, n = 14; CU N : $36 \pm 8 \mu\text{m}$, n = 11.

L'intégrité des cellules est identique dans les deux lots. Le développement de l'espace vasculaire périphérique est variable dans les deux lots, peut être plus souvent important pour CU N. Par contre, on reconnaît davantage d'inclusions claires pour 200 N.

CYTOLOGIE (Fig. 1C-D-E). — La préparation du matériel à notre disposition ne permet qu'une appréciation incomplète des ultrastructures : les membranes sont rarement identifiables, les noyaux et certains organites (mitochondries) altérés et on devine à peine certains trajets canaliculaires intracytoplasmiques. L'absence la plus regrettable concerne les vacuoles qui doivent concentrer le pigment respiratoire. Ceci accepté, on peut faire l'inventaire et la description de divers types d'inclusions, plus ou moins contrastées et dont l'opacité aux électrons est en partie attribuable à un métal présent naturellement, que la microanalyse désignera comme du fer.

La majorité des inclusions des cellules du corps cardiaque correspond dans les deux lots à des sphérules régulières de diamètre moyen 0,9 μm (jusqu'à 1,5 μm) d'un matériau homogène modérément contrasté, à la périphérie desquelles on devine parfois une membrane. Elles peuvent être regroupées en amas moruliformes (jusqu'à 2,5 μm), parfois cernées d'une couche externe moins dense et plus souvent, dans les deux lots, d'une zone contrastée de particules que nous reconnaitrons comme de la ferritine (Fig. 1E). Cette ferritine peut envahir complètement la sphérule dans une répartition régulière ou localisée.

Distincts des sphérules par leur contraste et leur diamètre moyen (0,3 μm , Fig. 1D) des amas arrondis de ferritine, sans apparence de membrane périphérique, sont également présents dans les deux lots. Les particules

constitutives sont plus ou moins organisées, encore qu'on n'y observe jamais de plages pseudocristallines telles qu'on en connaît dans les inclusions comparables du tissu chloragogène des Sabellidae (OUAGHI, 1989) et Serpulidae (VOVELLE *et al.*, 1991). On reconnaît dans les mêmes cellules des plages plus petites (0,2 μm) et moins organisées des mêmes particules, assurément intracytoplasmiques, à contours irréguliers (Fig. 1F). Ces particules "ferritin like" pour quelques auteurs (mais que nous confirmerons par la microanalyse) apparaissent isolément, en plus ou moins grande densité, dans l'ensemble du cytoplasme. À grossissement convenable, leur taille (environ 12 nm) et leur conformation fournissent un nouvel élément d'identification.

Une partie de ces inclusions est comparable à celles décrites par divers auteurs (i.a. FRIEDMAN & WEISS, 1980 ; OUAGHI & GRASSET, 1991) dans les corps cardiaques et tissus chloragogènes de diverses Polychètes, et peut être interprétée dans le cycle de l'hématopoïèse. Les sphérules homogènes sont originales et nous hésitons à leur donner un rapport de filiation avec les "granules de ferritine", même si elles peuvent se charger de particules. On les distingue en tout cas des inclusions claires lipidiques à membrane qu'on peut identifier dans quelques spécimens des deux lots.

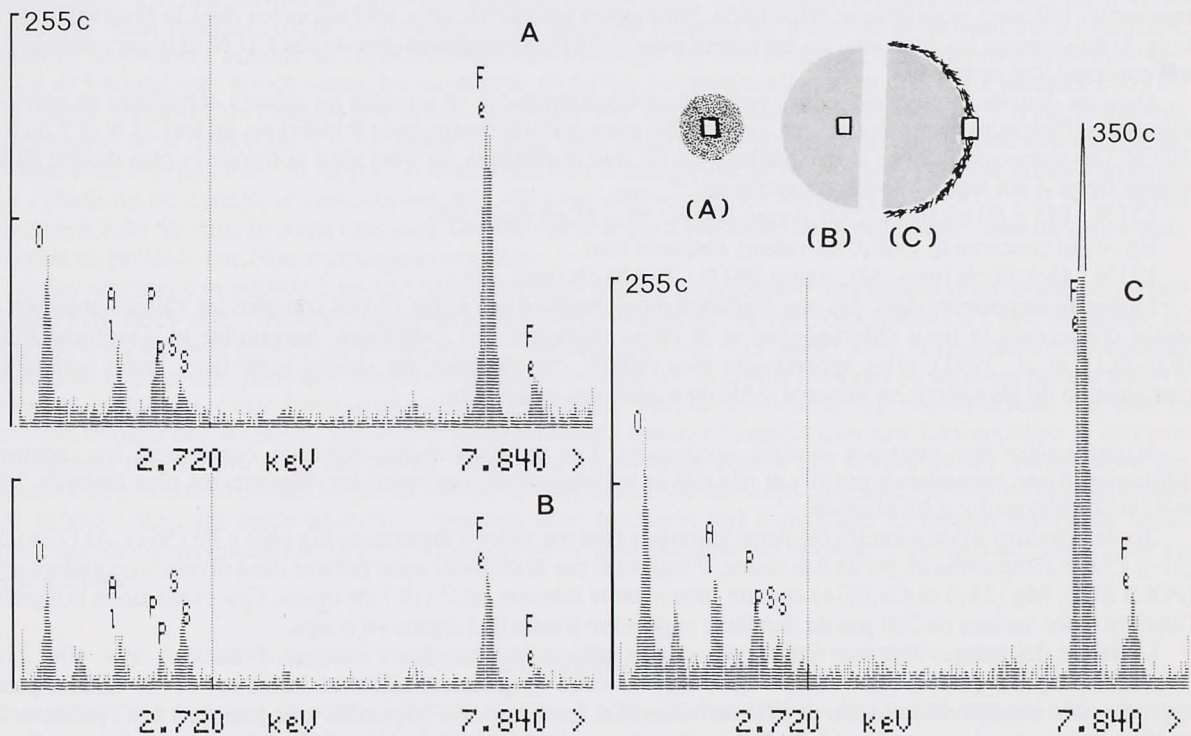


FIG. 2. — Microanalyse en sélection d'énergie sur coupes ultra fines (spécimen 18, CU N) A. Granule de ferritine, B. partie centrale d'une sphérule homogène, C. Feutrage d'aiguilles périphérique à une sphérule. Tension d'accélération 60 kV, temps de comptage 300 s. En blanc sur les schémas : surface analysée; c : nombre de coups.

Il appartient à deux individus sur neuf examinés dans le lot CU N de présenter une surcharge originale des sphérules homogènes : dans certaines plages cellulaires elles sont recouvertes sur une épaisseur de 0,1 μm d'un feutrage d'aiguilles à fort contraste, alors que leur matière fondamentale est souvent chargée de particules de ferritine (Fig. 1C). Ces aiguilles de dimension moyenne 50 nm évoquent celles que nous avons décrites en filiation d'inclusions de ferritine dans la biominéralisation cuticulaire des mâchoires d'un Eunicien (VOVELLE *et al.*, 1989) ou celle que COULON *et al.* (1987) ont reconnues dans des conditions de pollution naturelle à la surface des filaments de bysson de moules. Ces auteurs y ont identifié des oxydes métalliques (hématite principalement) et cette interprétation est à prendre en compte pour notre matériel.

MICROANALYSE. — *Spectrométrie de rayons X en dispersion de longueur d'onde.* On a d'abord examiné deux individus différents dans chacun des lots. Les éléments présents ont été reconnus et appréciés à partir de moyennes établies sur une dizaine de points (1 μm environ) particulièrement émissifs dans deux ou trois coupes voisines de chaque échantillon. Les éléments reconnus sont en ordre d'importance Fe, S, Ca, P, Al et Cu (traces). La recherche de Zn et V, suggérée par leur existence dans le tissu chloragogène des Serpulidae, n'a pas donné de réponse significative. Les valeurs obtenues pour Al ne présentent pas de variation notable entre les deux lots (non plus que celles de Cu). Les valeurs moyennes concernant les éléments majeurs ont été comparées aux valeurs maximales obtenues pour chaque échantillon, par rapport auxquelles elles sont minorées dans la proportion d'un tiers. Si on compare les deux lots, les moyennes pour Ca et P sont majorées pour le site CU N, et encore plus en ce qui concerne S et surtout Fe.

Dans un deuxième temps on a donc apprécié systématiquement, en retenant les mêmes définitions de valeurs moyennes, l'intensité de réponse du fer, en parallèle avec celle du soufre, pour 9 individus du lot CU N et 7 du lot 200 N. Les valeurs moyennes et maximales pour Fe sont multipliées par trois pour la récolte la plus proche de la station Beryl. Ceci représente une moyenne de :

CU N : 145 ± 60 c/s (max. 252), contre 200 N : 58 ± 31 c/s (max. 89).

En ce qui concerne le soufre, les valeurs obtenues sont :

CU N : 43 ± 17 c/s (max. 58), contre 200 N : 25 ± 10 c/s (max. 36).

Le soufre ne présente donc pas une évolution aussi marquée que le fer. Si l'on compare les valeurs obtenues à celles concernant le tissu chloragogène et le corps cardiaque des Sabellidae, Serpulidae et Amphictenidae (VOVELLE *et al.*, 1991), elles apparaissent plus faibles, car obtenues sur coupes semi-fines, mais surtout la participation du phosphore est minorée, celle du soufre plus importante.

Microanalyse par émission ionique secondaire. Les renseignements exploités concernent les spectres d'émission d'ions secondaires positifs et négatifs et les images obtenues pour les éléments les plus émissifs. Un individu de chaque lot a été examiné.

Sur les spectres d'émission les éléments identifiés sont par ordre d'importance Ca (40+), Fe (56+), Al (27+), S (32-), Cl (35) imputable en partie à la résine, P mal servi par la méthode mais présent dans diverses combinaisons (POCa 87+), Mg (24+) et Cu (63+) comme intervenants mineurs, et F (19) en traces. Ces évaluations intègrent l'analyse d'une surface de 200 μm de diamètre, supérieure à celle de l'organe en coupe.

L'analyse des images obtenues à partir des masses présentant la meilleure intensité d'émission, 56+, 40+, 27+ (Fig. 1G), impose qu'on tienne compte du contraste entre l'organe considéré et les tissus environnants, pour apprécier une concentration locale de l'élément identifié. La masse 56+ imputable à Fe plus qu'à CaO présente le meilleur contraste, alors que Ca et surtout Al sont présents dans les autres parties de la coupe.

Même si la réponse du fer est meilleure sur l'échantillon provenant du lot CU N, cette méthode ne permet pas d'apprécier quantitativement des différences significatives entre les vers des deux provenances.

Spectrométrie de rayons X en sélection d'énergie. Cet examen à l'échelle ultrastructurale sur coupes fines fournit des spectres correspondants pour les divers types d'inclusions à des surfaces analysées de 100 X 50 nm. Une approximation de l'importance relative des divers éléments présents dans chacun d'eux a été obtenue pour deux échantillons de chaque lot en comparant l'importance des pics obtenus dans des conditions identiques, exprimée en coups. Les éléments reconnus correspondent dans l'ordre d'importance aux pics Fe, O, Al, S, P et Ca. On les identifie dans les accumulations de ferritine, dans les sphérules homogènes et dans le feutrage d'aiguilles périphérique à certaines sphérules du lot CU N.

En ce qui concerne le fer, la réponse maximale est de 35 ± 9 coups dans le cytoplasme, 86 ± 18 et 102 ± 39 coups au centre des sphérules homogènes claires (200 N et CU N), mais les sphérules chargées de ferritine peuvent en présenter davantage, 183 ± 36 (200 N) et 155 ± 20 (CU N) dans les amas arrondis de ferritine, jusqu'à 277 ± 80 dans le feutrage périphérique (CU N).

La présence de l'oxygène, notable sur les spectres, est contingente du carbonage des grilles. Celle de l'aluminium est confirmée dans tous les cas, sans indication d'accumulation particulière dans les sphérules, ni de différence marquée selon les provenances.

Le rapport du phosphore au soufre est significatif, leurs deux pics sont alternativement prépondérants. Le phosphore est plus important que le soufre dans les accumulations de ferritine, ce qui n'est pas aussi net dans les feutrages en aiguilles. Le soufre (organique?) a la priorité au centre des inclusions sphérulaires. La présence du phosphore dans la ferritine est généralement acceptée ; nous interprétons celle du soufre dans les sphérules claires en rapport avec une composante protéique probable, comportant des acides aminés soufrés.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les trois méthodes de microanalyse utilisées ne concernent pas le même champ dimensionnel, l'une présentant la répartition des éléments dans l'animal, l'autre dans l'organe, la dernière au niveau ultrastructural des inclusions cellulaires. Leurs performances mais aussi leurs déficiences par rapport à certains éléments se complètent. La convergence des résultats obtenus permet de proposer un inventaire des éléments majeurs concentrés par le corps cardiaque : fer, calcium, soufre et phosphore, les éléments mineurs ou traces ne présentant aucun caractère original. La présence notable de l'aluminium est confirmée par les trois méthodes, elle concerne l'ensemble des tissus de l'animal sans enrichissement considérable au niveau du corps cardiaque, ni différence marquée entre les deux sites. S'agit-il d'un élément artefactuel, induit par une des manipulations préparatoires ? Il est impossible actuellement de le démontrer. Les éléments reconnus dans les deux lots de provenance différente sont identiques. Ils sont tous interprétables en rapport avec une fonction hématopoïétique de l'organe. La seule donnée apportée par l'étude de microanalyse (microsonde MS 46) pour différencier les vers de CU N et de 200 N concerne l'abondance du fer dans le corps cardiaque dont la valeur triple à proximité de la plateforme, sans qu'aucun autre élément ne présente une bioaccumulation corrélative.

Cette surcharge imputable à un seul métal impliqué dans le métabolisme du pigment respiratoire est en bon accord avec deux autres données, morphologique et ultrastructurale. Morphologiquement il s'agit de l'indice de départ, l'intensité de la pigmentation brun noir de l'organe, renforcée pour le lot CU N. A l'échelle ultrastructurale il s'agit de la présence spécifique dans des individus du même lot de dépôts ferriques en aiguilles périphériques à certaines inclusions. Cette forme d'accumulation du métal, dont la réversibilité est moins évidente que pour la ferritine, évoque une surcharge qu'on peut raisonnablement mettre en rapport avec une hématopoïèse et un cycle du pigment respiratoire sollicités par les conditions environnementales. Les conditions de conservation des animaux ne permettent pas de décrire davantage la cytophysiologie des corps cardiaques de *Raricirrus*, qui pourra être précisée dans une étude ultérieure, mais elles nous autorisent déjà à envisager un rapport entre cette forme spécifique de bioaccumulation du fer et un processus de détoxification des animaux exposés à un milieu riche en hydrocarbures.

BIBLIOGRAPHIE

- BRAUNBECK, T. & DALES, R. P., 1984. — The role of the heart body and of the extravasal tissue in the disposal of foreign cells in two polychaete annelids. *Tissue & Cell*, **16** : 557-563.
- COULON, J., TRUCHET, M. & MARTOJA, R., 1987. — Chemical features of mussels (*Mytilus edulis*) *in situ* exposed to an effluent of the titanium dioxide industry. *Annls Inst. Océanogr.*, **63** : 89-100.
- FRIEDMANN, M.M. & WEISS, L., 1980. — An electron microscopy study of hemoglobin synthesis in the marine annelid *Amphitrite ornata* (Polychaeta Terebellidae). *J. Morphol.*, **164** : 121-138.
- KENNEDY, G.Y. & DALES, R. P., 1958. — The function of the heart-body in the Polychaetes. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, **37** : 15-31.
- MOORE, D.C., 1991. — *Raricirrus beryli* Petersen & George (Ctenodrilidae): a new Polychaete indicator species from hydrocarbon-polluted sediments. *Ophelia Suppl.*, **5** : 447-486.
- OUAGHI, E. M., 1989. — Bioaccumulation naturelle du fer chez *Sabella pavonina* S. (Annélide Polychète). *C.R. Acad. Sci. Paris*, **308** : 237-244.
- OUAGHI, E. M. & GRASSET, M., 1991. — Synthèse et exocytose de chlorocruorine et mise en réserve du fer par le tissu périsvasculaire d'un annélide polychète. *Can. J. Zool.*, **69** : 2338-2348.

- PETERSEN, M. E. & GEORGE, J. D., 1991. — A new species of *Raricirrus* from northern Europe, with notes on its biology and a discussion of the affinities of the genus (Polychaeta: Ctenodrilidae). *Ophelia*, Suppl., **5**:185-208.
- VOVELLE, J., GRASSET, M. & TRUCHET, M., 1989. — Biominéralisation des mâchoires chez *Hyalinoecia tubicola* (Müller) (Polychète, Eunicida). *Annls Inst. Océanogr.*, **65**: 15-36.
- VOVELLE, J., GRASSET, M. & TRUCHET, M., 1991. — Sites of biomineralization in the Polychaete *Pomatoceros triqueter* (Serpulidae) with comments on some other species. *Ophelia*, Suppl., **5**: 661-667.