

CONSTANCE DU NOMBRE CHROMOSOMIQUE CHEZ LES ÉCHINODERMES (I)

par

D. Colombera*, M. Sibuet** et S. Venier*

Résumé

La mise au point d'une nouvelle technique pour les préparations chromosomiques nous a permis d'étudier les chromosomes de deux espèces d'Echinodermes récoltés à grande profondeur, *Elpidia glacialis* et *Pourtalesia jeffreysi*, ainsi que deux espèces littorales, *Marthasterias glacialis* et *Leptosynapta galliennei*. L'étude caryologique poursuivie sur ces quatre espèces permet de confirmer l'hypothèse de la stabilité du nombre chromosomique dans l'embranchement des Echinodermes, mais une exception remarquable est à signaler pour une espèce d'Echinide irrégulier abyssal d'origine récente. La grande variabilité morphologique des chromosomes d'espèces appartenant à des classes distinctes est également à signaler.

Introduction

Contrairement à la plupart des données anciennes, les dernières études sur le nombre de chromosomes chez les Echinodermes (Colombera, 1974 ; Colombera, Venier and Vitturi, en prép.) n'ont mis en évidence que les nombres haploïdes $n = 21$ ou $n = 22$. Bien que 44 espèces seulement aient fait l'objet d'une étude caryologique, alors que l'embranchement en compte actuellement plus de 5 500, le choix fait au hasard des espèces considérées confirme l'existence d'une uniformité dans 16 familles appartenant aux cinq classes d'Echinodermes et permet d'envisager l'hypothèse d'une grande stabilité du nombre de chromosomes dans ce phylum.

Pour confirmer l'hypothèse d'une éventuelle constance chromosomique chez les Echinodermes, quatre autres espèces ont été examinées. Ce sont : *Marthasterias glacialis* (Linné), *Leptosynapta galliennei* (Herapath), *Elpidia glacialis* (Theel) et *Pourtalesia jeffreysi* (Thomson).

(1) Ce travail a été effectué dans le cadre du sous-contrat C.N.R. (directeur : Prof. A. Sabbadin), obtenu par l'Institut de Biologie marine de Venise. Contribution n° 462 du Département scientifique du Centre Océanologique de Bretagne.

* Università degli studi di Padova, Istituto di Biologia animale, 35100 Padova.
** Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest.

Les chromosomes spermatocytaires de *Marthasterias glacialis* (Asteroidea, Asteridae) ont été examinés en raison des valeurs discordantes des données antérieures et de l'absence des nombres diploïdes $2n = 42$ ou $2n = 44$ dans la famille des Asteridae (Colombera, 1974). L'étude des chromosomes de *Leptosynapta galliennei* (Holothuroidea, Synaptidae) a été envisagée, cette espèce étant assez spécialisée sur le plan morphologique et écologique. Ayant pu étudier deux espèces *Elpidia glacialis* (Elpididae, Holothuroidea) et *Pourtalesia jeffreysi* (Pourtalesidae, Echinoidea), la chance nous a été donnée de vérifier les nombres chromosomiques chez des espèces provenant d'un habitat non encore considéré.

Matériel et méthodes

Les exemplaires de *Marthasterias glacialis* examinés dans ce travail ont été pêchés à Roscoff par 20-40 m de profondeur ; les spécimens de l'espèce *Leptosynapta galliennei* ont été déterrés sur une plage de Roscoff en juillet 1975. Les espèces *Elpidia glacialis* et *Pourtalesia jeffreysi* ont été récoltées en mer de Norvège au cours de la mission Norbi (18 juillet - 12 août 1975), organisée par le Centre Océanologique de Bretagne à bord du navire océanographique « Jean Charcot ». Les prélèvements se situent par $69^{\circ} 05' 8''N - 04^{\circ} 45' 6''E$: 3 140 m ; $77^{\circ} 00' 2''N - 01^{\circ} 03' 0''E$: 3 100 m (*Elpidia glacialis*) et par $73^{\circ} 28' 3''N - 10^{\circ} 02' 3''E$: 2 870 m (*Pourtalesia jeffreysi*).

La méthode de préparation utilisée pour l'observation des chromosomes spermatocytaires de *M. glacialis* et *L. galliennei* est celle décrite par Colombera (1970). Pour l'étude des espèces abyssales *E. glacialis* et *P. jeffreysi*, une technique a été mise au point, permettant de conserver les testicules pendant un mois ou plus avant l'écrasement :

des morceaux de gonades mâles mûres sont placés pendant vingt minutes dans de l'eau bidistillée (traitement hypotonique) ;

l'eau bidistillée est remplacée par une solution d'orcéine acétique à 30 p. 100. Cette solution sert aussi bien pour la fixation que pour la conservation des testicules ;

on procède ensuite comme dans la technique d'écrasement (Colombera, 1970).

Les préparations définitives sont colorées par la coloration Giemsa adaptée au matériel étudié. Les lamelles sont :

1° placées dans une solution tampon phosphate à pH 7 pendant cinq minutes ;

2° puis colorées avec une solution de Giemsa (une goutte de Giemsa, vingt gouttes de tampon) pendant quinze à vingt minutes ;

3° lavées avec du tampon phosphate à pH 7 ;

4° ensuite séchées et montées dans du baume de Canada.

Seuls les chromosomes de cellules spermatocytaires ont été examinés car l'élevage en laboratoire pour l'étude des ovocytes est assez délicat pour les espèces littorales (Delobel et Delavault, 1970) et impossible pour les espèces abyssales.

Les chromosomes ont été observés au microscope à contraste

de phase Zeiss, photographiés à l'aide d'un appareil Zeiss et dessinés à la chambre claire de Abbe.

Pour l'étude de chaque espèce, une dizaine de lamelles ont été réalisées à partir de deux à quatre individus.

Observations et résultats

Marthasterias glacialis

Les plaques chromosomiques examinées le plus souvent ont été interprétées comme étant des diacinèses ou des métaphases de la première division méiotique : à ces stades, en effet, les chromosomes, bien visibles, peuvent être dénombrés aisément.

Les bivalents spermatocytaires de *Marthasterias glacialis* sont très petits et ont une longueur assez variable de 1 à 2,5 µm (Planche 1,1). Chez certains, on décèle l'emplacement du centromère par la présence d'une zone plus claire due à la répulsion entre les kinétochères homologues. Plusieurs chromosomes semblent métacentriques ou submétacentriques. Il n'y a pas d'éléments hétérotypiques qui puissent être interprétés comme des chromosomes sexuels. La petite taille de ces bivalents ne permet pas d'observations plus poussées.

Le nombre haploïde, $n = 22$, a été déterminé de façon certaine dans une vingtaine de plaques (Tableau 1) : en effet, dans les cas où les nombres chromosomiques sont différents, on remarque quelques bivalents cassés ou perdus.

TABLEAU 1
Dénombrement des chromosomes au cours de la méiose

n dénombré	20	21	22	23	Total des observations
Nombre de divisions observées	2	1	20	1	24

Leptosynapta galliennei

N'ayant malheureusement pas trouvé de bivalents diacinetiques dans les préparations, nous n'avons pu étudier que les bivalents pachytènes (Planche I, 1). Ces chromosomes sont en forme de fils condensés de façon homogène, parfois pliés ou étirés à la suite de l'écrasement. Il n'a pas été possible de repérer les zones de centromères parce que celles-ci ne se différencient pas du reste des chromosomes. Leurs tailles sont variables et il n'y a pas d'éléments hétérotypiques. Malgré leur grande longueur, ces chromosomes sont visibles et, grâce au manque de connexions terminales, se distinguent assez nettement pour permettre leur dénombrement. L'analyse d'une dizaine de plaques semble montrer, avec toutefois une certaine réserve, un nombre haploïde de chromosomes $n = 22$, chez *Leptosynapta galliennei*.

Elpidia glacialis

A la métaphase spermatogoniale, les chromosomes sont de très petite taille, parfois même punctiformes (Planche I, 3) ; leur longueur maximale atteint $2,5 \mu$ et ils sont relativement épais. Dans certains cas, les chromatides et l'emplacement du centromère sont discernables. Les éléments hétérotypiques manquent.

Le nombre diploïde $2n = 42$ des chromosomes de *Elpidia glacialis*, déterminé par l'examen d'une dizaine de plaques, peut être considéré comme le plus probable, mais pas de façon certaine car les valeurs $2n = 40$ et $2n = 44$ ont été rencontrées également dans d'autres plaques.

Pourtalesia jeffreysi

On discerne très bien, dans les testicules mûrs, des chromosomes interprétés comme des bivalents diacinetiques. Les homologues sont bien séparés et l'emplacement du centromère peut être déterminé par une constriction des chromatides (Planche I, 4). Ces chromosomes ont été identifiés comme métacentriques ou submétacentriques et seul le bivalent le plus petit est télocentrique. Aucun des éléments ne se différencie des autres et ne peut être interprété comme chromosome sexuel.

Ces chromosomes ont des longueurs variables de 1 à 4μ ; une paire chromosomique, toujours présente, se distingue par l'existence d'un satellite (Planche I, 4). Le nombre haploïde de chromosomes de *Pourtalesia jeffreysi* est $n = 16$; il a été observé dans une vingtaine de plaques spermatocytaires (Tableau 2).

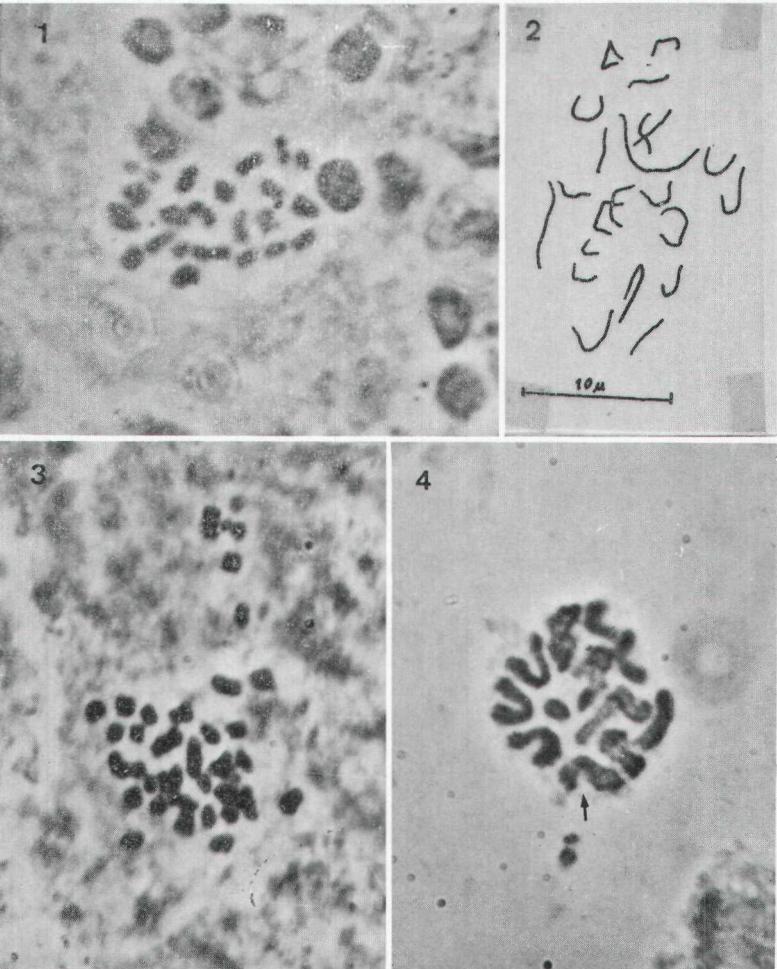
TABLEAU 2
Dénombrément des chromosomes au cours de la méiose

n dénombré	6	16	17	Total des observations
Nombre de divisions observées	15	16	3	25

Discussion et conclusions

On suppose actuellement que l'embranchement des Echinodermes est caractérisé par une certaine stabilité du nombre chromosomique dont l'origine remonte aux temps précambriens. Comme cette hypothèse est basée sur un nombre limité de données, nous avons voulu, en multipliant le nombre d'espèces examinées, en vérifier la validité.

Pour atteindre ce but, il a fallu résoudre le problème technique de la fixation du matériel et mettre au point une technique de conservation des testicules qui donne de nouvelles perspectives pour l'analyse des chromosomes chez les Echinodermes. Elle nous a permis, par



D. COLOMBERA, M. SIBUET et G. VENIER.

PLANCHE I

- 1 : bivalents spermatocytaires de *Martasterias glacialis* ;
- 2 : bivalents pachytènes de *Leptosynapta galliennei* ;
- 3 : les chromosomes à la métaphase spermatogoniale de *Elpidia glacialis* ;
- 4 : bivalents diacinétiques de *Pourtalesia jeffreysi*. La fléchette indique une constriction secondaire.

exemple, d'envisager l'étude d'espèces de grande profondeur : *Elpidia glacialis* et *Pourtalesia jeffreysi*.

Cette étude caryologique de quatre espèces d'Echinodermes, choisis tout particulièrement à cause de leurs origines diverses, a permis de renforcer l'hypothèse d'une éventuelle stabilité du nombre chromosomal dans l'embranchement des Echinodermes (Colombera, 1974 ; Colombera et Venier, sous presse ; Colombera, Venier and Vitturi, en prép.).

Ainsi, pour *Marthasterias glacialis*, le nombre $2n = 44$ montre que les anciennes données ne sont pas exactes et que ce nombre existe dans la famille des Asteridae. Le nombre diploïde rencontré pour les espèces *Leptosynapta galliennei* ($2n = 44$) et *Elpidia glacialis* ($2n = 42$) semble confirmer l'hypothèse d'une stabilité chromosomal même à partir d'espèces assez spécialisées par leur morphologie et par leur habitat en zone intercotidale ou abyssale.

En revanche, on trouve pour la première fois, chez *Pourtalesia jeffreysi* (espèce d'Echinide irrégulier abyssal) un nombre de chromosomes $n = 16$ différent des valeurs $n = 21$ ou $n = 22$ qui paraissent caractériser l'embranchement des Echinodermes.

Tout en maintenant l'hypothèse d'une stabilité chromosomal pour l'ensemble des Echinodermes, il est peut-être possible d'expliquer le cas exceptionnel pour un genre très spécialisé par son appartenance à une lignée évolutive récente ayant colonisé les domaines bathyal et abyssal. Si nous examinons un arbre généalogique des Echinoidea, nous remarquons que les Echinides irréguliers remontent au Crétacé et peuvent être considérés comme un des groupes les plus récents parmi les Echinodermes (Durham, 1966). Le genre *Pourtalesia* appartient à l'ordre des Holasteroidea dont les premiers représentants apparaissent au Valanginien (Crétacé inférieur), se diversifient au cours du Tertiaire et dont il ne reste que quelques rares espèces actuelles. La famille des Pourtalesidae n'est connue que de l'époque actuelle et est exclusivement localisée dans les zones bathyales et abyssales.

Sur le plan taxonomique, on peut considérer le genre *Pourtalesia* comme très différent des autres Echinodermes vivants, tant par le nombre réduit des chromosomes que par une morphologie particulière à test très fin. Les chromosomes spermatocytaires de ces animaux sont remarquables par leur petite taille et il est difficile d'envisager des études plus approfondies au microscope optique. Cependant, on peut noter une majorité de chromosomes métacentriques avec quelques éléments acrocentriques et l'absence de chromosomes sexuels morphologiquement différenciés.

Par la forme de ses chromosomes spermatocytaires, *Pourtalesia jeffreysi* diffère considérablement de toutes les autres espèces (Colombera, 1974 ; Colombera, Venier and Vitturi, en prép.) alors que des cas de ressemblance ont pu être remarqués : les bivalents de *Marthasterias glacialis*, par exemple, sont presque identiques à ceux d'*Asterina gibbosa* (Colombera, Venier and Morra, 1975).

La différence remarquable entre le nombre typique $n = 22$ et le nombre $n = 16$ trouvé chez *Pourtalesia jeffreysi* fait penser qu'il existe peut-être des espèces ayant un nombre intermédiaire de chro-

mosomes. On peut, de plus, signaler la corrélation entre la spécialisation et la réduction du nombre chromosomique.

En conclusion de cette étude, on remarque que :

la grande variabilité de la forme des chromosomes d'espèces de classes distinctes est confirmée ;

l'hypothèse de la stabilité du nombre chromosomique semble pouvoir être maintenue pour des espèces appartenant aux familles apparues avant le Crétacé ; en effet, nous avons montré l'existence d'une espèce appartenant à la seule sous-classe d'origine récente étudiée jusqu'ici, ayant un nombre de chromosomes différent de $2n = 42$ ou $2n = 44$.

Riassunto

Con la messa a punto di una nuova tecnica di allestimento di preparati cromosomici è stato possibile studiare la cariologia di due specie di echinodermi viventi in ambienti abissali, *Elpidia glacialis* e *Pourtalezia jeffreysi*. I risultati ottenuti in questo lavoro su quattro specie, appartenenti a quattro famiglie diverse, sostengono ulteriormente l'ipotesi di una straordinaria stabilità del numero dei cromosomi nel phylum Echinodermata. Tale stabilità può però venir meno in gruppi aberranti e di recente origine, come è stato provato dalla specie *Pourtalezia jeffreysi*. Da segnalare la notevole variabilità morfologica dei cromosomi presenti in specie appartenenti a classe diverse.

Summary

Employing a new techniques, the chromosomes of two species of abyssal echinoderms have been studied. The karyological data here presented for four species further support the hypothesis that chromosome numbers are incredibly stable in the phylum Echinodermata. This stability can be overcome in aberrant group of recent origin, as it is proved for *Pourtalezia jeffreusi*. A remarkable variability of chromosome morphology has been observed in species belonging to different classes.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- COLOMBERA, D., 1970. — A squash for chromosomes of ascidians (Tunicata). *Caryologia*, 23, pp. 113-115.
- COLOMBERA, D., 1974. — Chromosome evolution in the phylum Echinodermata. *Z. f. zool. Systematik u. Evolutionforschung*, 12, pp. 299-308.
- COLOMBERA, D. et VENIER, G., 1976. — I cromosomi degli Echinodermi. *Caryologia* (sous presse).
- COLOMBERA p., VENIER, G. and MORRA, A., 1975. — Meiotic chromosomes in male of *Asterina gibbosa* Pennant. *J. Heredity*, 66, pp. 245-246.
- DELOBEL, N. et DELAVAUULT, R., 1971. — Chromosomes en écouillon chez *Echinaster sepositus*. *Caryologia*, 24, pp. 251-258.
- DURHAM, J.W., 1966. — Classification in R.C. Moore, ed. Treatise on Invertebrate Paleontology, Part 4 Echinodermata 3, p. 4282.