

ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT D'*HALISTEMMA RUBRUM* (VOGT, 1852) SIPHONOPHORE PHYSONECTE AGALMIDAE.

par

Danièle Carré

C.N.R.S., Station Zoologique, Villefranche-sur-Mer, 06.

Résumé

Metschnikoff (1874) et Woltereck (1905) avaient donné deux descriptions contradictoires de la morphologie du développement du Siphonophore Physonecte *Halistemma rubrum*. L'auteur confirme les observations de Metschnikoff et étudie l'histologie, inconnue jusque-là, des principaux stades larvaires. Il montre que la segmentation n'aboutit pas à la formation d'une morula vraie, contrairement à ce qui est généralement admis chez les Siphonophores, mais à une blastula d'un type spécial qui se transforme en gastrula par délamination primaire. Au stade planula, une invagination ectodermique donne l'ébauche du pneumatophore tandis qu'à côté de cet organe une cloche natatoire se différencie à partir d'un nodule médusaire isolé par délamination de l'ectoderme. L'auteur compare le développement du pneumatophore avec celui du nectophore et conclut que ces deux organes ont des modes de différenciation particuliers qui ne permettent pas de les homologuer.

INTRODUCTION

Le développement d'*Halistemma rubrum* a été étudié pour la première fois par Metschnikoff en 1874. Cet auteur décrit une jeune larve siphonula pourvue d'un pneumatophore, de plusieurs cloches natatoires et ne possédant pas encore de bractées. En 1905, Woltereck reprend cette étude et donne de la siphonula d'*Halistemma rubrum* une description différente. Selon cet auteur, ce ne sont pas des cloches natatoires qui se différencient à côté du pneumatophore, mais une grande bractée larvaire apicale.

Depuis aucun travail n'avait été entrepris sur ce sujet et, devant ces données contradictoires, il nous a semblé intéressant de suivre les principales étapes de ce développement, en nous attachant plus particulièrement à leur aspect histologique négligé jusque-là.

Matériel et élevage

Nous avons récolté en mars, à l'entrée de la rade de Villefranche-sur-Mer, près de la surface, une colonie d'*Halistemma rubrum* mesu-

rant environ un mètre de longueur. Ces grandes colonies, avec des gonophores mûrs, ne se rencontrent que rarement. Le spécimen a été placé dans un bac et nous avons recueilli les gonophores mâles et femelles au fur et à mesure de leur libération.

Les œufs puis les larves ont été élevés en chambre fraîche, sur le plateau d'une berceuse et l'eau des cristallisoirs renouvelée tous les jours.

L'étude morphologique a été faite à partir de spécimens vivants observés au microscope et photographiés. Par ailleurs, après fixation dans du Bouin aqueux ou du liquide de Champy, puis inclusion dans la paraffine, les principaux stades larvaires ont été débités en coupes sériees de 5 μ d'épaisseur et colorés. Les colorations les plus employées ont été : trichromique de Prenant, glychémalum de Mayer et picro-indigo-carmin, Feulgen, Hotchkiss Mac Manus (PAS).

Liste des abréviations utilisées dans les légendes des planches et des figures

A.	: anisorhizes.
Br.	: bractée.
C. O.	: cavité ombrellaire.
C. Pn.	: cavité définitive du pneumatophore.
C. Pr.	: cavité primaire.
Ch.	: chitine.
Cn.	: cnidobande.
Eb. C. Pn.	: ébauche de la cavité définitive du pneumatophore.
Eb. N ₁ .	: ébauche du nectophore larvaire.
Eb. N ₂ .	: ébauche du deuxième nectophore.
Eb. N ₃ .	: ébauche du troisième nectophore.
Eb. Pn.	: ébauche du pneumatophore.
Ect.	: ectoderme.
Ect. A.	: ectoderme aérifère.
End.	: endoderme.
F. T.	: filament terminal.
G. ♀	: gonophore femelle.
G. ♂	: gonophore mâle.
Gr.	: granulations.
L. O.	: lame ombrellaire.
M.	: mésoglée.
N.	: noyau.
N ₁ .	: nectophore larvaire.
N ₂ .	: deuxième nectophore.
N. etc.	: noyau ectodermique.
N. end.	: noyau endodermique.
N. M ₁ .	: nodule médusaire du nectophore larvaire.
N. M ₂ .	: nodule médusaire du deuxième nectophore.
N. M ₃ .	: nodule médusaire du troisième nectophore.
P. N ₁ .	: pédoncule du nectophore larvaire.
Pn.	: pneumatophore.
S.	: sécrétions.
St.	: sténotèle.
Vit.	: vitellus.
Z. cort.	: zone corticale.

L'œuf et la segmentation

Les gonophores femelles d'*Halistemma rubrum* forment une ou deux grappes pédonculées, insérées dans la région moyenne de chaque cormidie (Pl. I, 1). Chaque gonophore est constitué par une petite méduse dont le manubrium, dépourvu de bouche, renferme un œuf unique, volumineux (600 μ de diamètre), qui occupe toute la cavité sous-ombrellaire. La maturation de l'œuf se produit avant la ponte et les

globules polaires apparaissent en position à peu près constante près du pôle distal. Puis, le médusoïde femelle se détache du stolon et se maintient en pleine eau pendant quelques heures, grâce aux battements des cils de l'ectoderme ombrellaire, jusqu'à ce que le manubrium se déchire, libérant l'œuf dans l'eau de mer. Au moment de la ponte, l'œuf est entouré d'une membrane extrêmement fine, dont nous ne

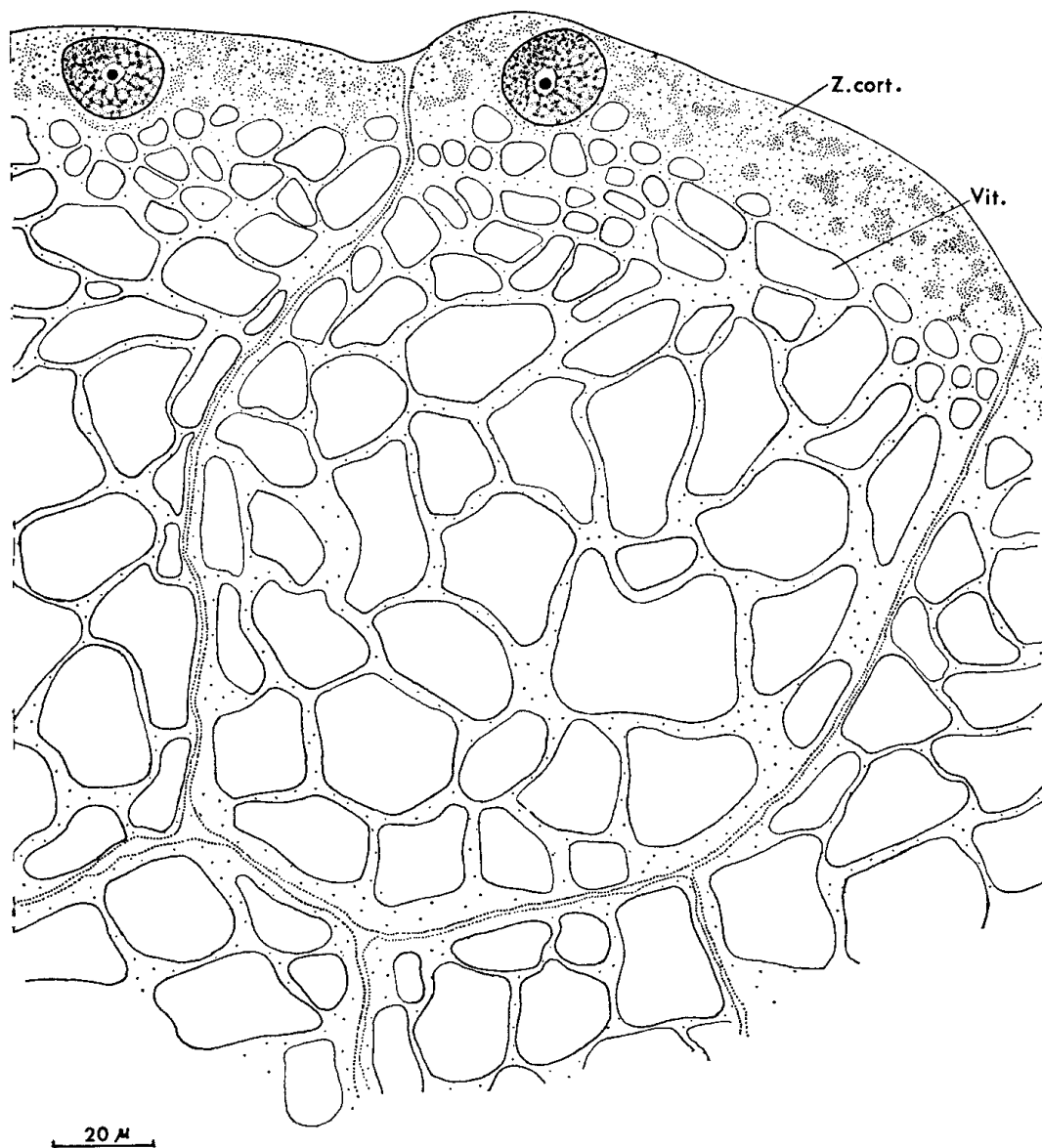
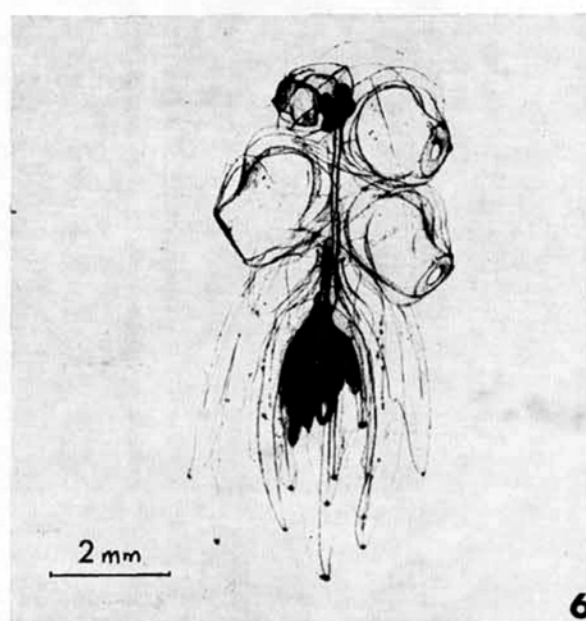
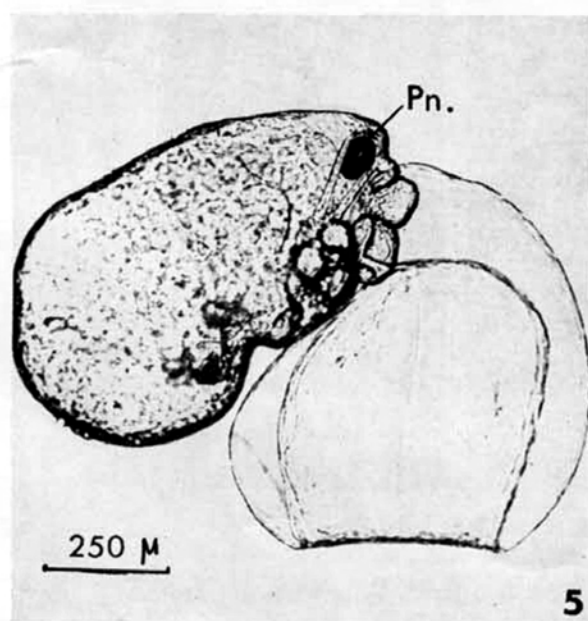
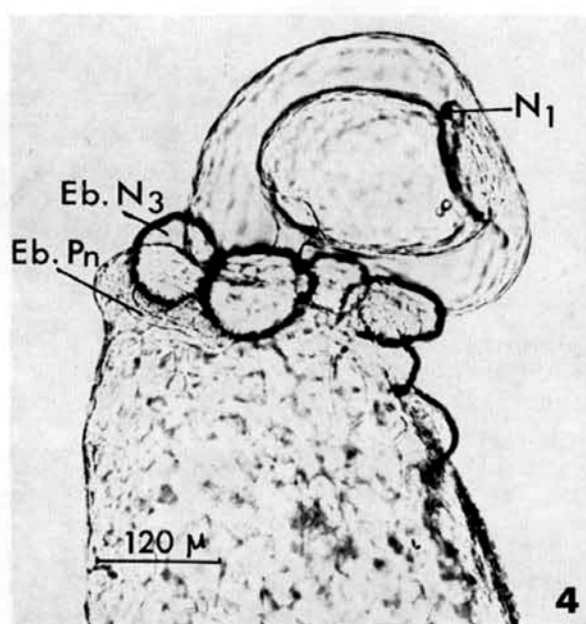
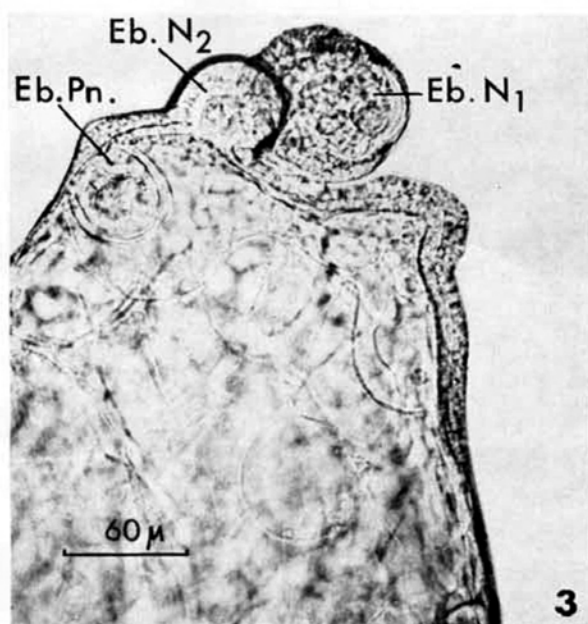
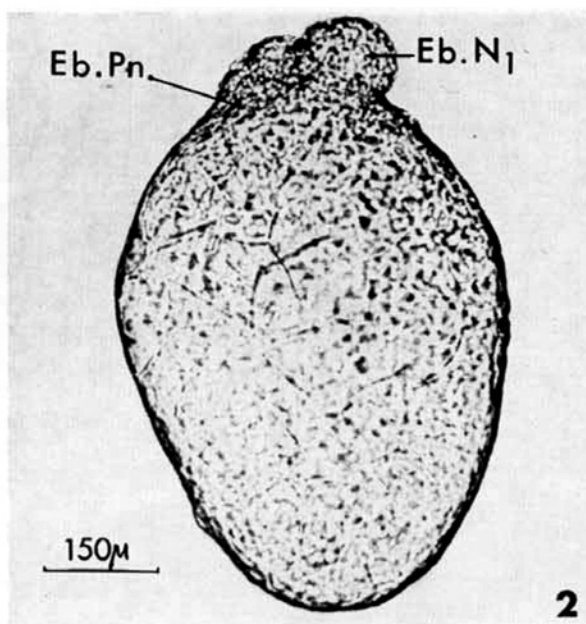
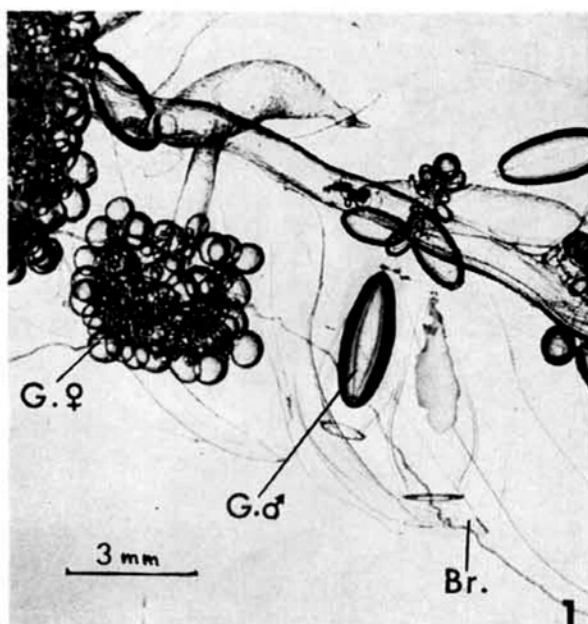


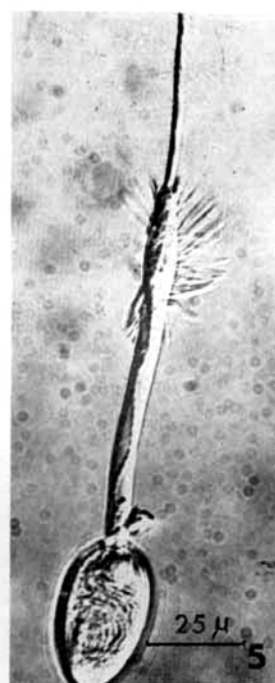
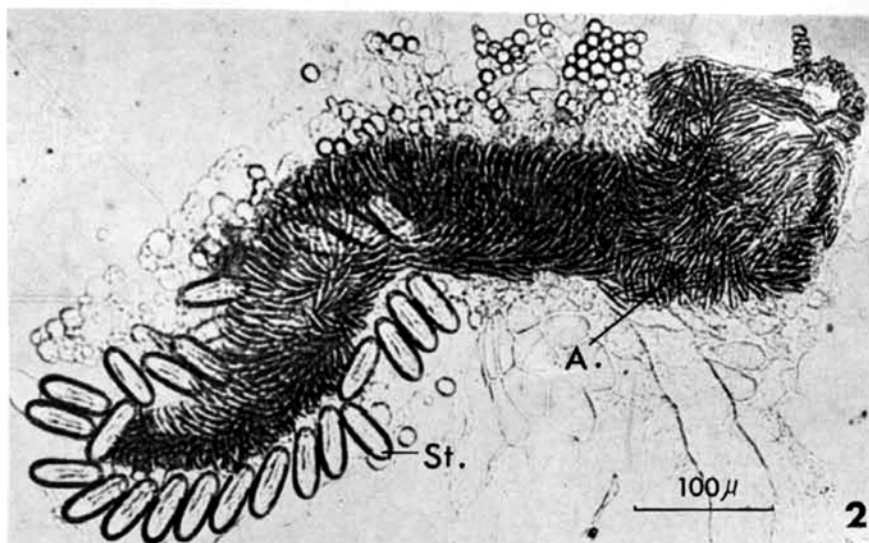
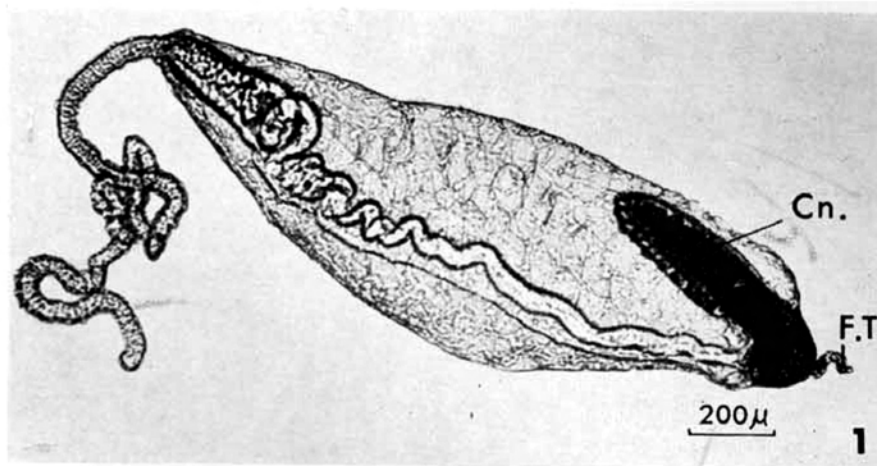
FIG. 1
Segmentation d'*Halistemma rubrum*.

Figure montrant la dualité de structure d'un blastomère au stade sterroblastula.

pouvons pas préciser la nature, et qui fait défaut à l'emplacement des globules polaires. Il présente une zone corticale granuleuse et une région interne dont la trame contient les vésicules vitellines.

Aussitôt après la ponte, des spermatozoïdes se rassemblent autour de l'œuf, surtout à l'endroit où ont été émis les globules polaires et il est vraisemblable que la fécondation se produit dans cette zone.





DANIELLE CARRÉ

PLANCHE II

Cnidome larvaire d'*Halistemma rubrum*.

1 - Tentille larvaire ; 2 - cnidobande d'une tentille larvaire ; 3 - anisorhizes d'une tentille larvaire ; 4 - sténotèles d'une tentille larvaire ; 5 - eurytèle d'une bractée larvaire.

Il convient de noter le petit nombre de larves obtenues à partir de la fécondation de nombreux œufs d'*Halistemma rubrum*. Seuls, quelques-uns des œufs fécondés dans les minutes suivant leur libération du manubrium, ont évolué normalement. Les autres sont restés non segmentés ou ont amorcé un début de segmentation, chaque division étant suivie d'une dissociation des deux blastomères formés. Il semble que les œufs d'*Halistemma rubrum* soient très fragiles et il est possible que l'existence d'une fine membrane autour de l'œuf représente un obstacle à la fécondation comme cela a déjà été signalé chez *Hippopodius hippopus* (Metschnikoff, 1874).

La segmentation débute une dizaine de minutes après la fécondation. Le premier plan de clivage, méridien, apparaît au pôle de maturation ; il divise l'œuf en deux blastomères égaux réunis seulement par un fin pédoncule cytoplasmique. Puis, ces deux blastomères se rapprochent et s'accolent avant que ne s'ébauche le second plan de clivage en position équatoriale. La troisième division s'effectue suivant un plan perpendiculaire aux précédents et conduit à deux quartettes de blastomères identiques.

Le stade à 16 blastomères est formé par deux assises sensiblement superposées de huit cellules et le passage au stade à 32 blastomères se fait par une série de mitoses plus ou moins synchrones dont tous les fuseaux sont parallèles à la surface de la larve. Des coupes histologiques effectuées dans un tel stade montrent que l'embryon est formé par une seule assise de blastomères tous identiques mais possédant une structure très hétérogène. La région corticale des cellules, où se trouve le noyau, est granuleuse, très colorable, tandis que le pôle interne de structure vacuolaire renferme le vitellus (Fig. 1). Cette larve ne nous semble pas correspondre à la définition d'une morula vraie et nous la qualifions de sterroblastula, comme nous avons déjà désigné ce même stade chez *Nanomia bijuga* (Carré D., 1969). Jusqu'à cette étape, la segmentation peut être qualifiée de totale et égale. Dans la suite du développement, seul le cytoplasme situé à la périphérie de la larve se divise en même temps que les noyaux tandis que la masse cytoplasmique interne qui renferme les réserves vitellines, ne semble plus concernée par les mitoses. Ceci aboutit à la formation d'une assise périphérique distincte de la masse du vitellus et au stade sterroblastula succède un stade pérblastula (Fig. 2).

La gastrula

La gastrulation est un phénomène peu apparent qui peut débiter au stade à 32 blastomères mais qui, le plus souvent, se produit chez la pérblastula. Nous avons pu suivre ce processus sur des coupes histologiques. Certains noyaux de l'embryon se divisent suivant des plans perpendiculaires ou obliques par rapport à la surface de la

PLANCHE I Développement d'*Halistemma rubrum*.

1 - Portion de stolon avec gonophores ; 2 - planula âgée de deux jours et demi ; 3 - planula âgée de trois jours ; 4 - jeune siphonula âgée de six jours ; 5 - siphonula âgée d'une semaine ; 6 - jeune colonie.

larve. Ainsi se différencie une assise superficielle, qui forme l'ectoderme, et l'ébauche du feuillet endodermique représenté, à ce stade, par les noyaux situés sous le feuillet ectodermique, à la périphérie du vitellus (Fig. 2).

Nous pensons que ce mode de formation de l'endoderme peut être qualifié, suivant les définitions données par Dawydoff, de gastrulation par délamination primaire.

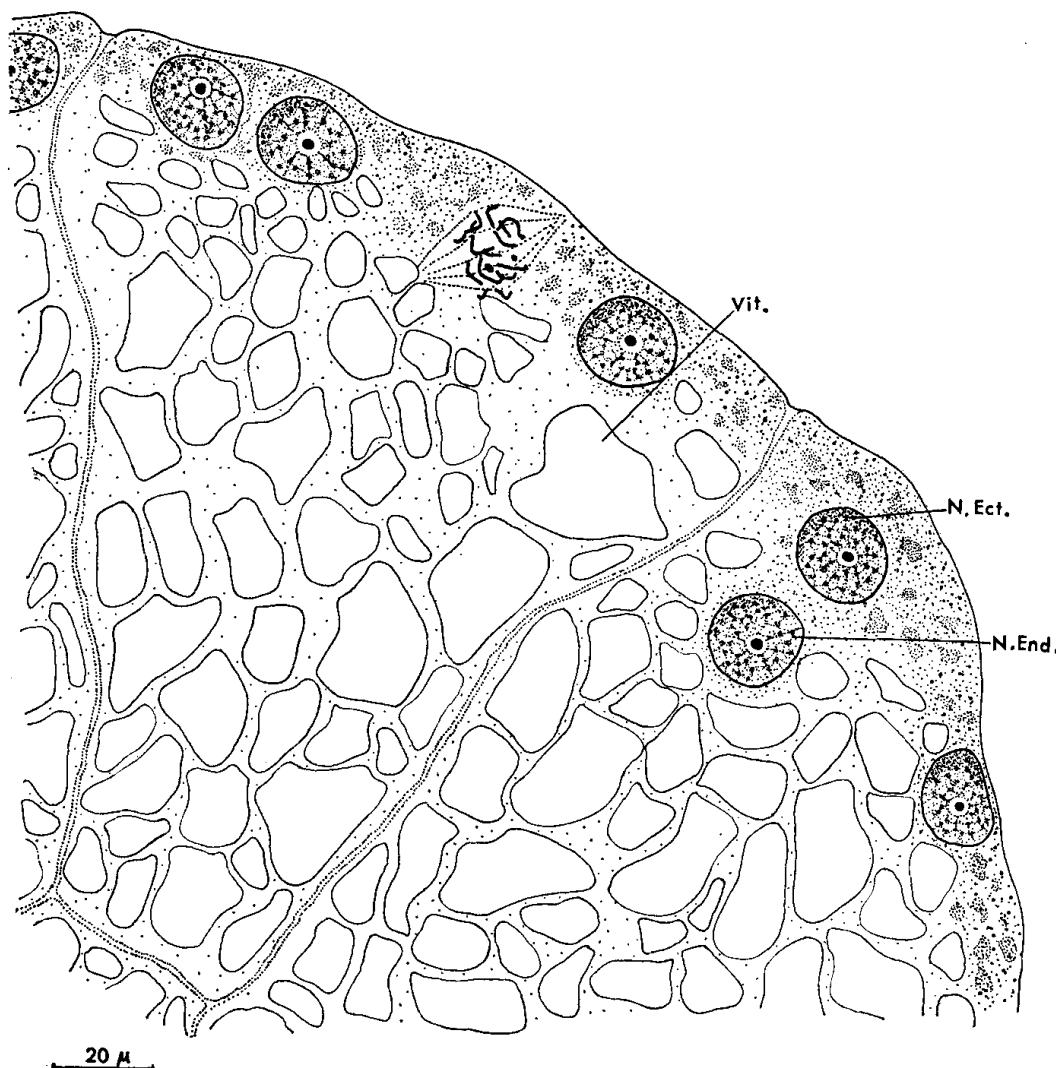


FIG. 2
Gastrulation au stade pérblastula.

La planula

Le stade gastrula est très fugitif et, un jour après la ponte, les cristallisoirs contiennent de petites planulas ovoïdes de 750 μ de longueur qui nagent en tournant sur elles-mêmes.

1° La jeune planula.

Au pôle apical de l'embryon, les cellules ectoblastiques se divisent et forment un feuillet épais, monostratifié, sans différenciations

cytologiques notables. Dans cette région, les noyaux endoblastiques, isolés lors de la gastrulation, restent, pour la plupart, contre la face interne de l'ectoderme où ils se multiplient et donnent un revêtement continu de grosses cellules cubiques.

Dans la région moyenne et au pôle postérieur de la larve, l'ectoderme est constitué par de grandes cellules plates, se divisant peu, contre lesquelles on observe, de place en place, de gros noyaux endodermiques.

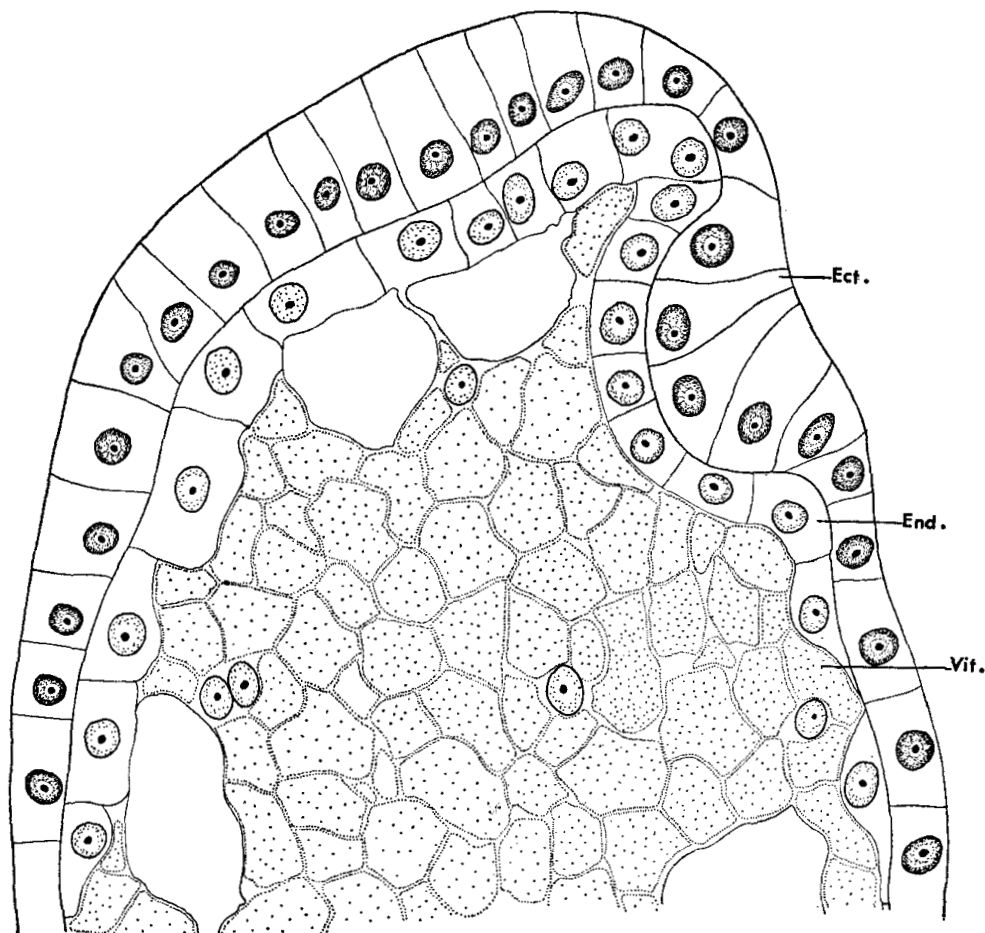


FIG. 3

Différenciation du pneumatophore d'*Halistemma rubrum*.

Invagination de l'ectoderme au pôle antérieur de la planula (coupe longitudinale).

L'intérieur de la planula, occupé par des réserves vitellines encore importantes, présente quelques noyaux endodermiques. Ces noyaux, qui ont émigré après la gastrulation entre les vésicules du vitellus, ne paraissent jamais pycnotiques ; ils peuvent se multiplier et il est fréquent d'observer des groupes de trois ou quatre noyaux accolés. Nous pensons que ce sont des éléments de réserve qui participent, à un stade plus ou moins précoce, à la formation du revêtement endodermique de l'embryon.

2° La planula âgée de 2 jours 1/2.

A ce stade, une coloration orangée apparaît sur la face ventrale tandis qu'au pôle apical se différencient les ébauches du pneumatophore et du premier nectophore (Pl. I, 2).

Pneumatophore.

Dans la région dorso-apicale, quelques cellules se divisent suivant des plans perpendiculaires à la surface de la larve et s'organisent

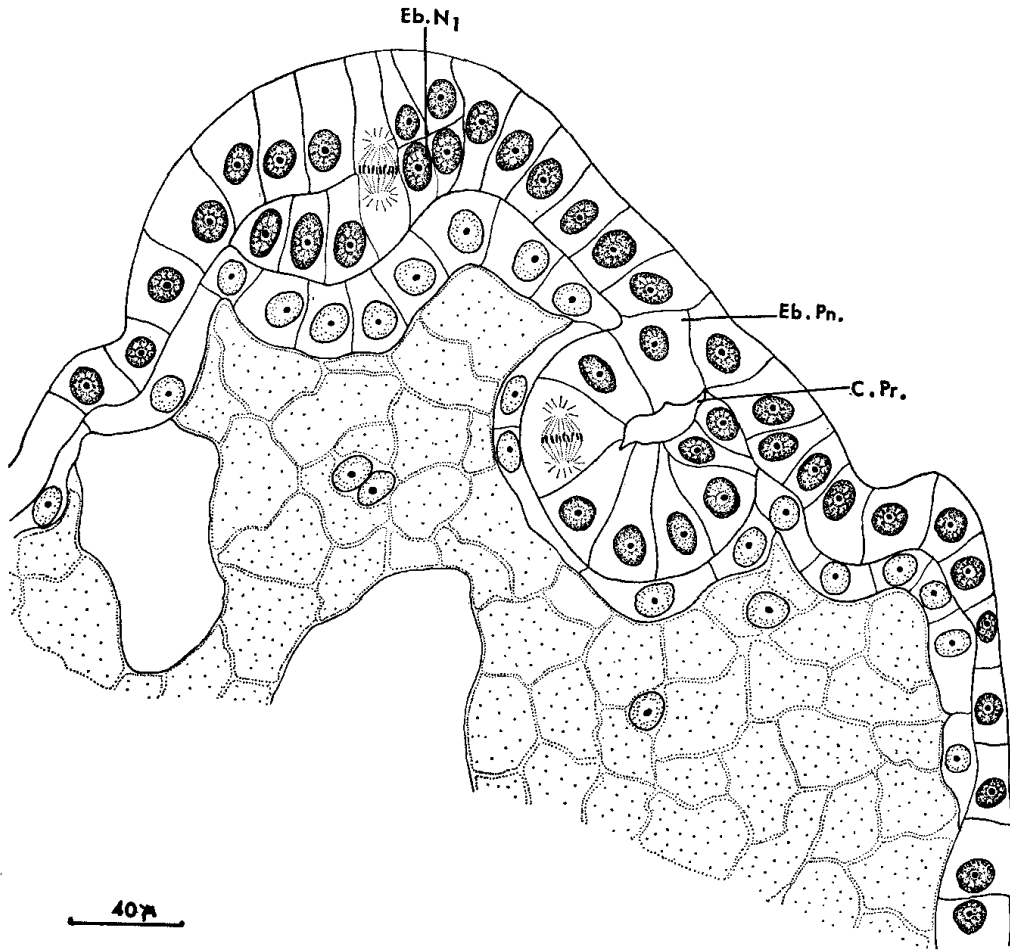


FIG. 4

Différenciation du pneumatophore et du nectophore larvaire d'*Halistemma rubrum*.

Délamination ectodermique isolant l'ébauche du premier nectophore et formation de la cavité primaire du pneumatophore (coupe longitudinale).

en un petit nodule qui est l'ébauche du pneumatophore (Fig. 3). Peu à peu, cette ébauche s'allonge et s'invagine à l'intérieur du corps embryonnaire grâce à des divisions tangentielles de ses cellules qui sont agencées régulièrement autour d'une cavité très étroite : la cavité primaire du pneumatophore (Fig. 4 et 5). Puis, tandis que l'ectoderme se reforme au-dessus de la zone d'invagination, deux à trois cellules du nodule prolifèrent et forment un petit massif qui envahit toute la cavité primaire. L'ébauche ectodermique du pneumatophore est alors constituée par une assise périphérique de structure épithéliale

et par un massif interne qui représente l'ectoderme aérifère ; entre ces deux formations une fine couche de chitine est sécrétée (Fig. 6).

Nectophore larvaire.

En même temps que la différenciation du pneumatophore on observe, dans l'ectoderme devenu très épais de la région ventro-apicale, quelques cellules qui se divisent suivant des plans tangentiels

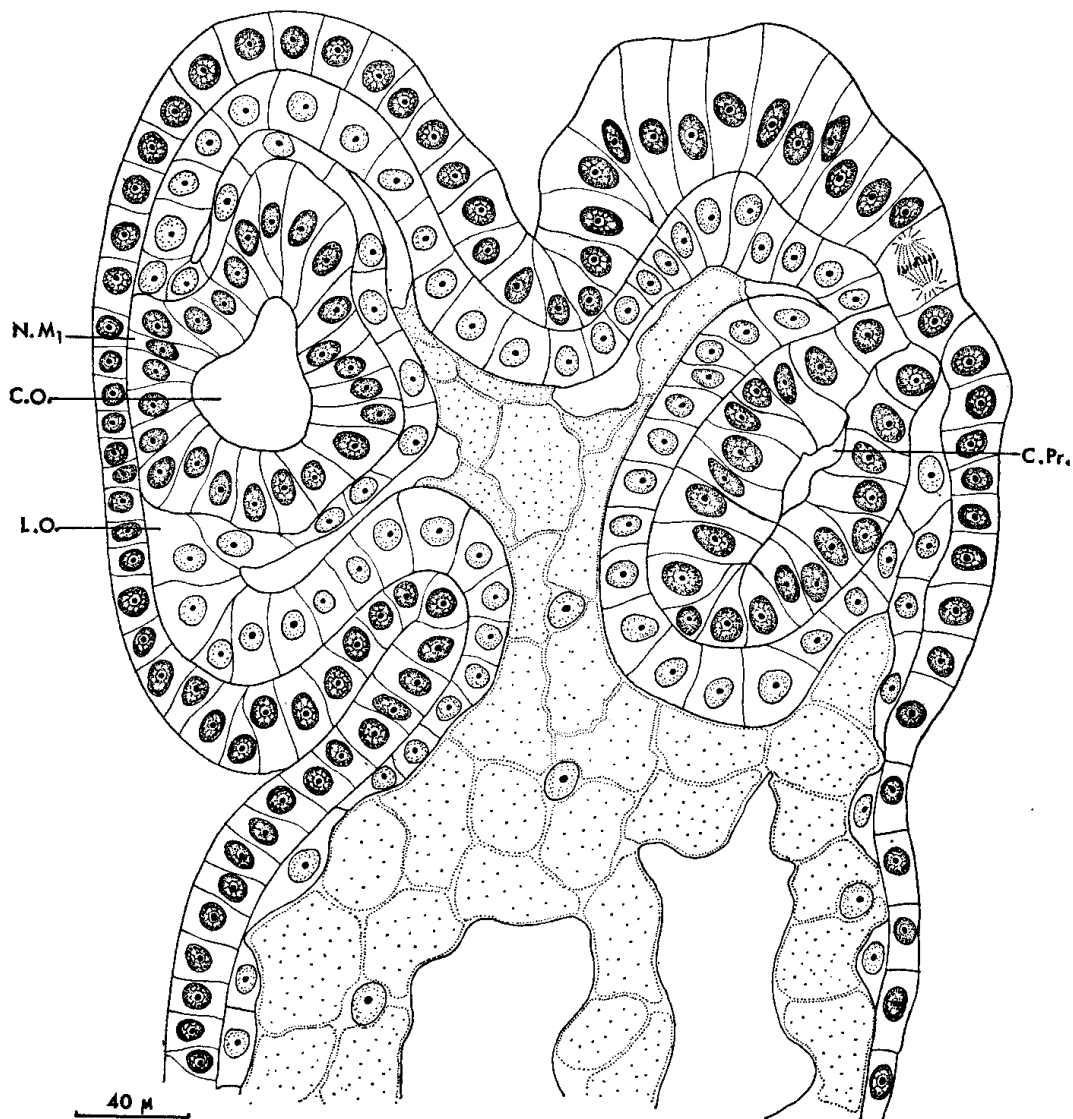


FIG. 5
Différenciation du pneumatophore et du nectophore larvaire
d'*Halistemma rubrum*.

Région antérieure d'une jeune siphonula (coupe longitudinale).

à la surface de la larve. Cette délamination isole une petite lame ectodermique recouverte par l'ectoderme général, qui est l'ébauche du premier nectophore (Fig. 4). Peu à peu, cette ébauche fait saillie à l'extérieur tandis que les cellules de la lame ectodermique se multiplient et s'organisent en un nodule médusaire typique au sein duquel

apparaît la cavité sous-ombrelle (Pl. I, 3 et Fig. 7) (1). Ce nodule médusaire ne conserve qu'une petite zone de contact avec l'ectoderme de la planula ; ailleurs, il est enveloppé par l'endoderme qui forme la lame ombrelle.

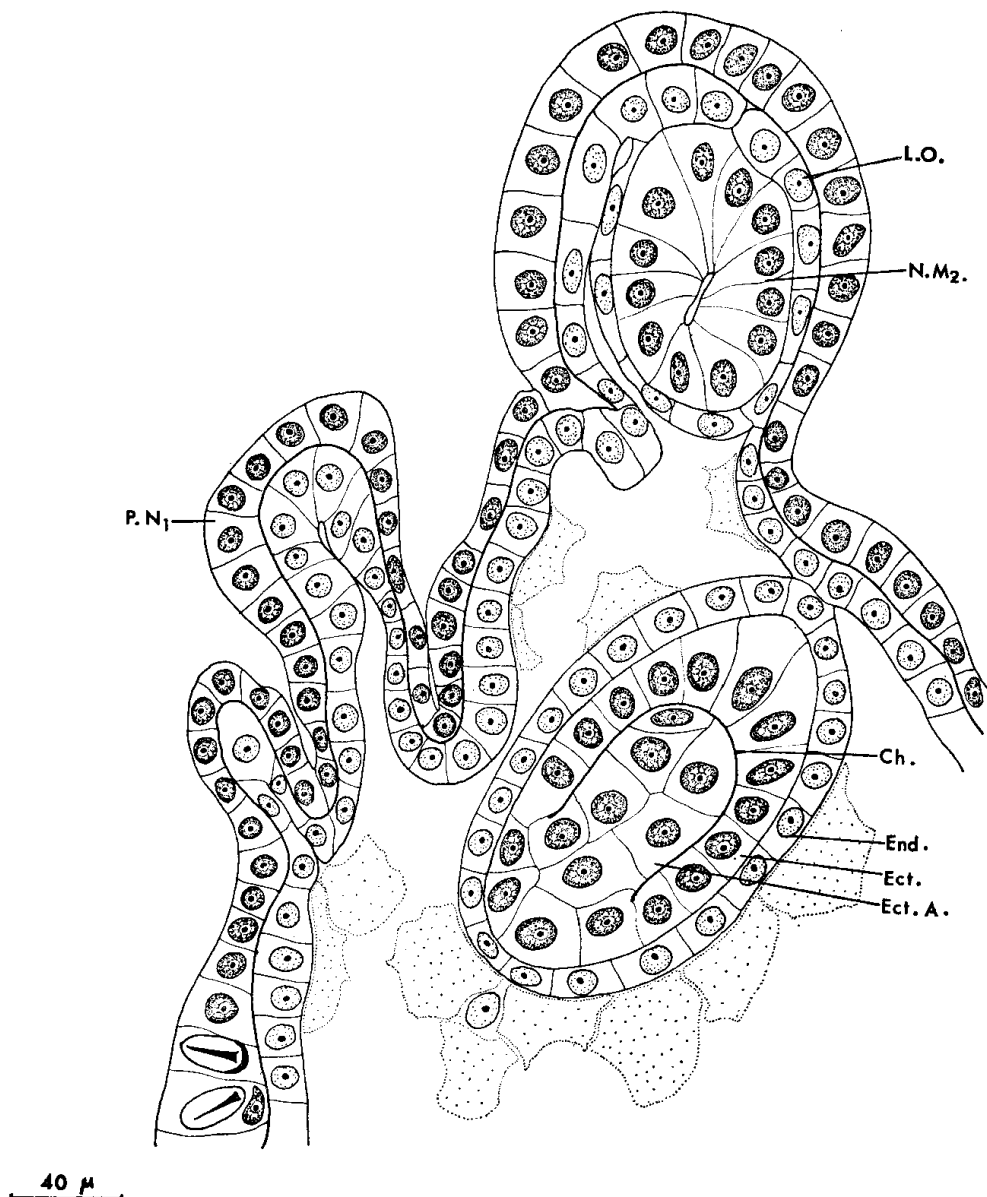


FIG. 6

Différenciation du pneumatophore et des nectophores
d'*Halistemma rubrum*.

Formation du tissu aérifère.

L'embryon obtenu trois jours après la fécondation mesure 800 μ de longueur ; il est caractérisé par la présence des deux ébauches que nous venons de décrire. Au cours des journées suivantes, le

(1) Les premiers stades de la différenciation des trois premiers nectophores bourgeonnant sur la siphonula s'étant avérés les mêmes, nous avons illustré le développement de la cloche natatoire larvaire par des figures concernant le premier, le deuxième, ou le troisième nectophore.

pneumatophore devient fonctionnel tandis que de nouveaux nectophores bourgeonnent et que la région postérieure du corps embryonnaire se différencie en un gastrozoïde. La larve prend alors le nom de siphonula et nous décrivons l'achèvement de ses principales structures.

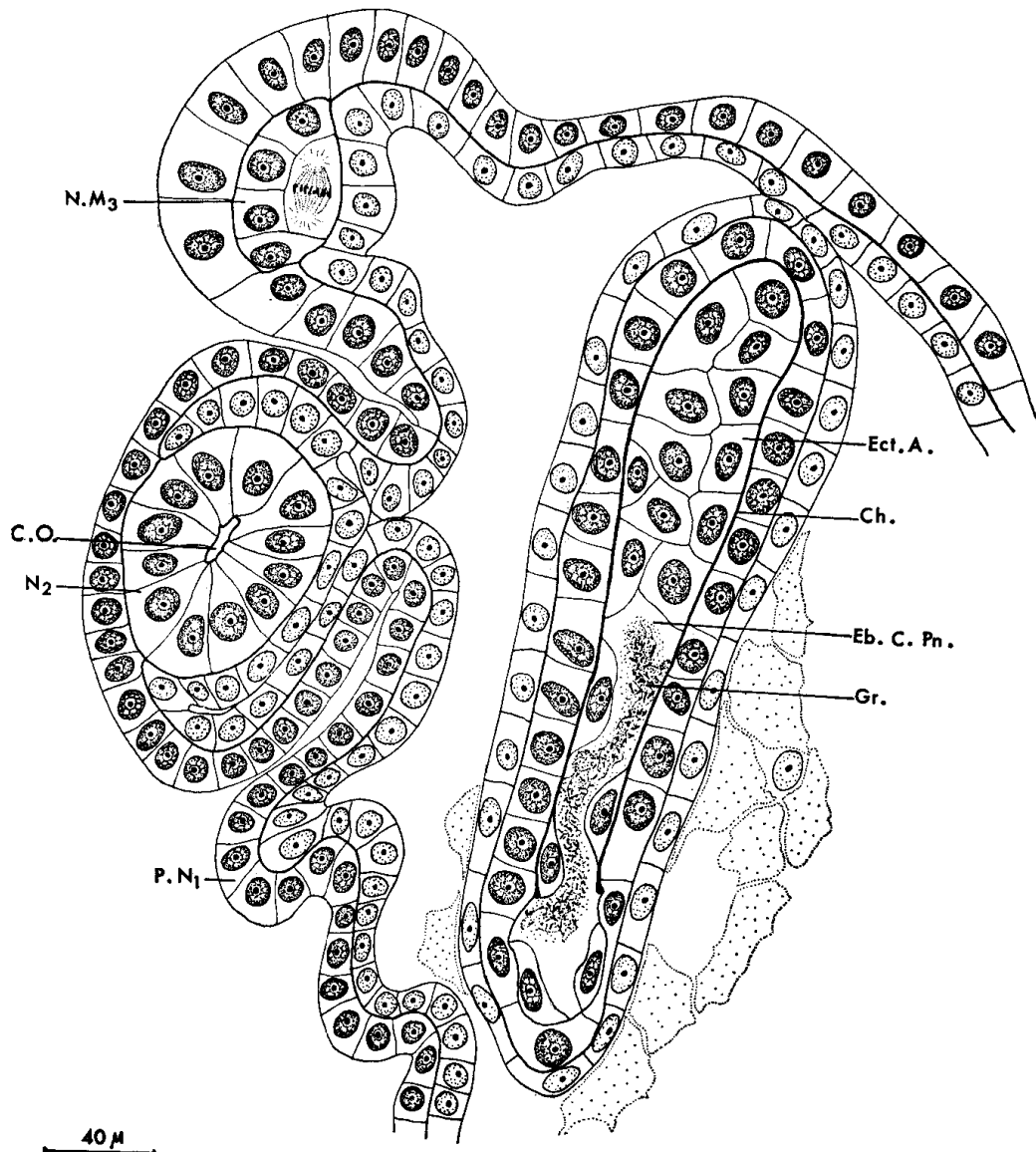


FIG. 7

Différenciation du pneumatophore et des nectophores
d'*Halistemma rubrum*.

Formation du nodule médusaire du troisième nectophore larvaire et apparition de la cavité définitive du pneumatophore.

La siphonula

Le pneumatophore.

Au sein du tissu aérifère, apparaît, chez la larve âgée de cinq jours, une cavité d'abord étroite et sinueuse, qui se régularise peu à peu pour occuper toute la partie apicale du flotteur (Fig. 7). C'est la cavité définitive du pneumatophore. Sa formation est accompagnée de

la régression du tissu aérifère dont les cellules ne semblent plus se diviser. Six jours après la fécondation, le pneumatophore se présente comme un nodule ectodermique très allongé, doublé par l'endoderme et situé obliquement par rapport à l'axe de l'embryon (Pl. I, 4). Il est encore inclus dans le corps embryonnaire. Puis, du gaz commence à être sécrété et le flotteur fait saillie à l'extérieur et devient l'apex de la larve (Pl. I, 5, 6). Autour de lui, l'ectoderme et l'endoderme du corps embryonnaire forment une double enveloppe séparée de

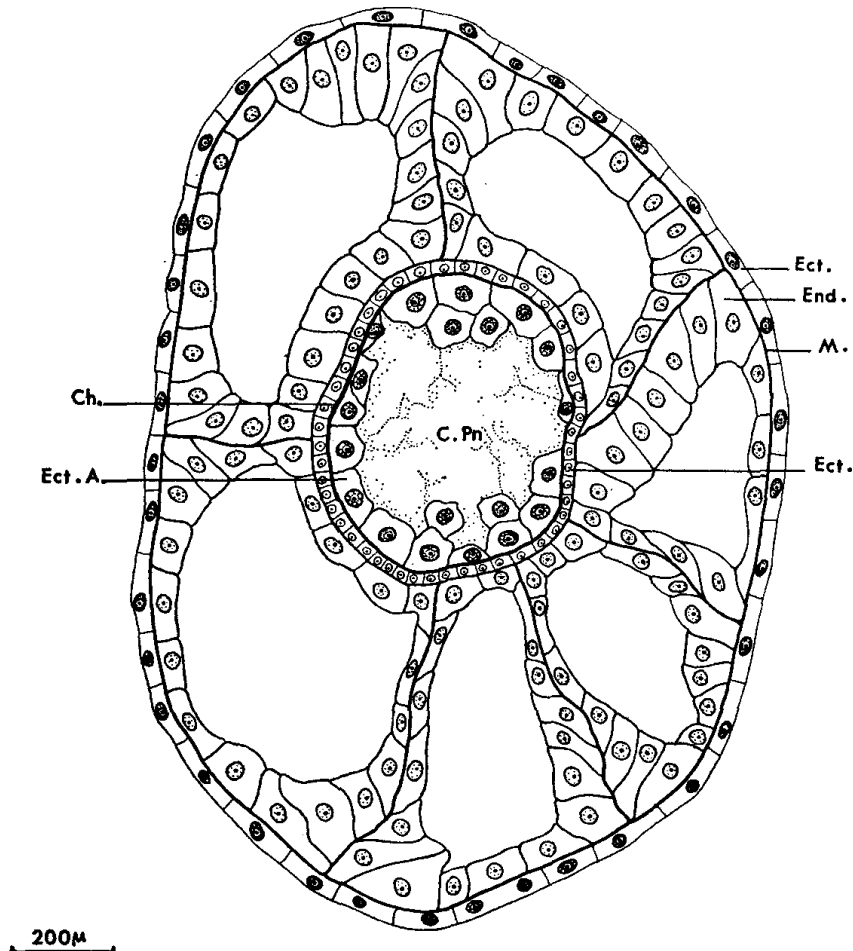


FIG. 8

Pneumatophore d'une jeune colonie d'*Halistemma rubrum*.

Coupe longitudinale.

l'endoderme entourant le nodule ectodermique par une cavité en relation avec la cavité gastrovasculaire de la colonie (Fig. 8). A ce stade, l'ectoderme aérifère est concentré au quart inférieur du pneumatophore où il forme un anneau de grosses cellules au cytoplasme granuleux et présentant une forte affinité tinctoriale. Il a disparu dans la partie apicale du flotteur et est réduit à un fin revêtement dans sa région basale.

La différenciation du pneumatophore s'achève par la formation de septums endodermiques longitudinaux ; ces septums, au nombre de six chez les jeunes colonies dont nous avons étudié l'histologie,

réunissent entre elles les deux enveloppes endodermiques du pneumatophore. Elles sont comparables aux cloisons entourant le pharynx des polypes d'Alcyonaires (Fig. 9).

Les nectophores.

Chez la jeune siphonula, tandis que l'ébauche de la première cloche se transforme en un petit nectophore bien différencié, on observe, entre cette cloche et le pneumatophore, le bourgeonnement du deuxième puis du troisième nectophore, suivant un processus identique à celui que nous venons de décrire (Pl. I, 3, 4).

La première cloche natatoire devient fonctionnelle chez la larve âgée d'une semaine et sa morphologie est différente de celle des nectophores adultes d'*Halistemma rubrum* (Pl. I, 5). Les quatre canaux sont droits, non sinueux, l'ex-ombrelle ne présente ni crêtes, ni ailes et la gouttière hydroéciale est très peu profonde. Ces caractères permettent de qualifier le premier nectophore de larvaire et il est vraisemblable qu'il s'agit d'un organe caduc car nous ne l'avons jamais retrouvé chez les post-larves et les jeunes colonies récoltées dans le plancton (Pl. I, 6). Par contre, les nectophores suivants présentent très tôt les caractères typiques des nectophores adultes (Totton, 1965).

Chez la siphonula âgée, la zone de bourgeonnement des nectophores s'allonge en un axe creux, première ébauche du stolon de la colonie qui présente, sur une seule génératrice, des nectophores à divers stades de développement. Puis, cet axe subit une torsion qui conduit à la répartition des cloches natatoires sur deux génératrices opposées.

Le gastrozoïde primaire.

Au cours de la différenciation du pneumatophore et des cloches natatoires, les réserves vitellines ont été utilisées et, à leur place, une cavité gastro-vasculaire est apparue. Cette cavité, chez la larve âgée de dix jours, occupe toute la région moyenne et postérieure du corps embryonnaire dont les parois se différencient en un gastrozoïde primaire tandis que la bouche se perce au pôle postérieur de la larve.

Les cellules de l'ectoderme du gastrozoïde sont petites, toutes identiques, sauf dans la région buccale où se différencient quelques éléments glandulaires de type spumeux et sphéruleux, caractérisés par leur forme aplatie. Le pôle externe des cellules spumeuses, peu nombreuses, est formé d'une trame très fine qui enserre quelques grandes vacuoles dont le contenu est clair et homogène. Les cellules sphéruleuses présentent dans leur région externe six à huit grains de sécrétion. Lors du contact avec une proie, les sécrétats de ces cellules s'étalent sur la surface externe de la région buccale.

Dans l'endoderme du gastrozoïde, on observe des différenciations cytologiques intéressantes. Outre des cellules spumeuses très nombreuses, localisées autour de la bouche et dans la région moyenne et identiques à celles que nous avons décrites chez *Nanomia bijuga*, trois types de cellules sphéruleuses sont observables. A la périphérie de la bouche, ces cellules sont très hautes et très étroites ; leurs excréments forment une masse dense de très petits granules localisés au pôle apical de la cellule (Pl. III, 1). Il convient de noter pour cette catégorie d'éléments glandulaires de type sphéruleux, que leur localisation autour de l'orifice buccal ne permet pas d'établir avec certitude leur

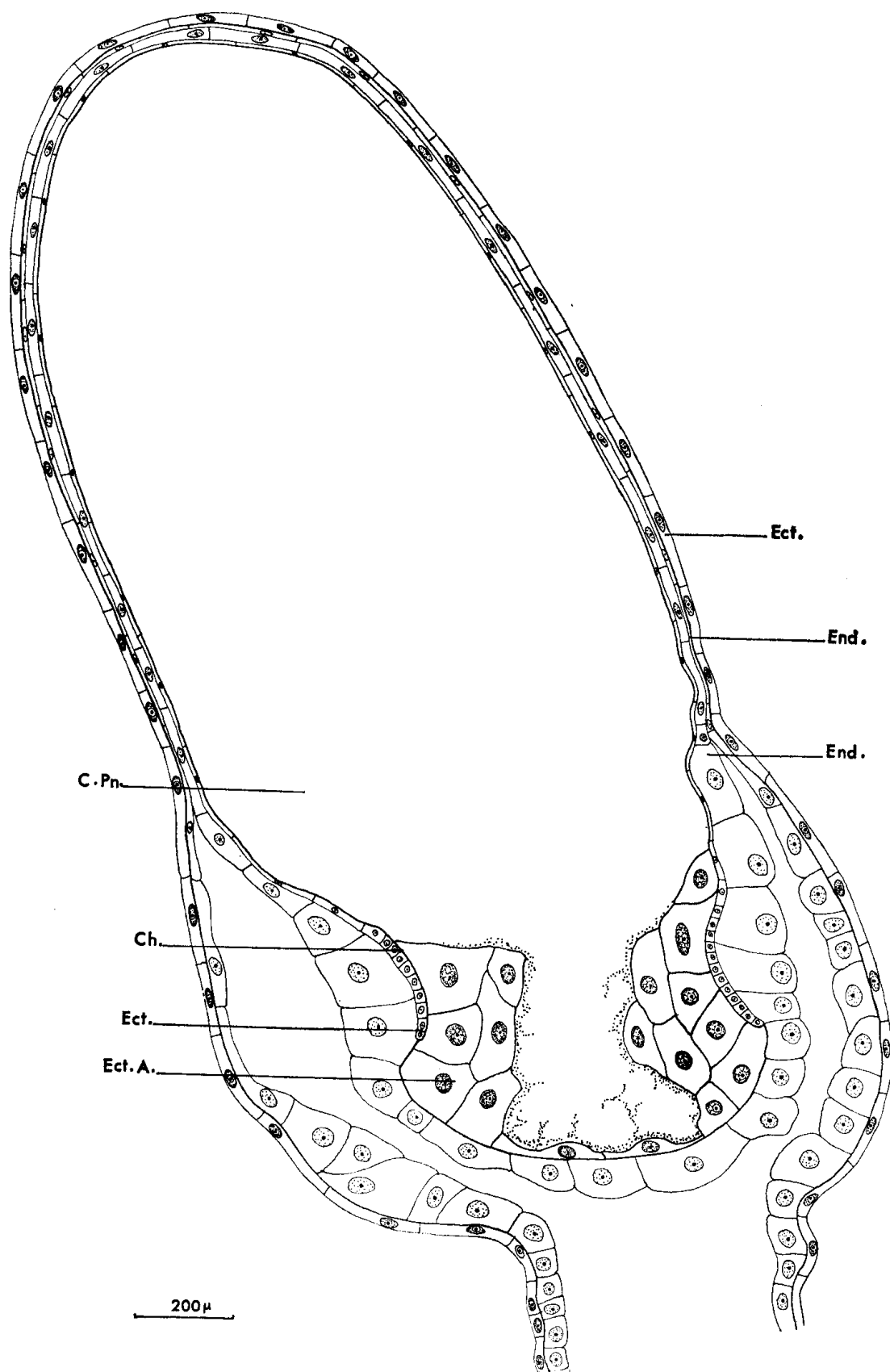


FIG. 9
Pneumatophore d'une jeune colonie d'*Halistemma rubrum*.
Coupe transversale.

appartenance au feuillet endodermique. Le deuxième type de cellules sphéruleuses hypostomiales est représenté par de grandes cellules dont le cytoplasme de la région apicale élargie est envahi de petites vacuoles serrées les unes contre les autres et renfermant des grains de sécrétion (Pl. III, 2). Enfin, dans la région moyenne du gastrozoïde, existe une troisième catégorie de cellules sphéruleuses endodermiques caractérisées par la présence, à leur pôle apical, de quatre à cinq très gros grains de sécrétion (Pl. III, 3).

Les gastrozoïdes des colonies adultes mesurent plus d'un centimètre de longueur. Leur structure se complique par la formation de bourrelets endodermiques longitudinaux (« bourrelets hépatiques » des auteurs) portant les éléments glandulaires.

Le filament pêcheur larvaire.

A la base du gastrozoïde primaire, un bourgeon didermique creux apparu chez la jeune siphonula, se développe en un filament pêcheur très contractile sur lequel se différencient des tentilles larvaires caractéristiques d'*Halistemma rubrum* (Pl. II, 1). Ces tentilles sont constituées par un sac clos, fusiforme, porté par un pédoncule et terminé par un filament. Ce sac, qui est traversé par une bande élastique, contient, dans sa partie distale, une cnidobande. La cnidobande de chaque tentille est formée essentiellement par de nombreuses rangées d'anisorhizes et par deux rangées d'une douzaine de sténotèles (Pl. II, 2).

Caractères de ces deux catégories de nématocystes :

- Anisorhizes : capsule en forme de banane, plus large au sommet, mesurant $26 \times 2 \mu$ (Pl. II, 3) ;
- Sténotèles : capsule subcylindrique mesurant $54 \times 20 \mu$; hampe mesurant $50 \times 14 \mu$, étranglée à mi-longueur et dont la partie distale est armée de stylets et d'épines (Pl. II, 4).

Les bractées.

L'ébauche de la première bractée apparaît, chez la siphonula, sous forme d'une évagination ecto-endodermique. Très vite, cette ébauche se transforme en une lame foliacée dont l'ectoderme, constitué par de grandes cellules plates, est séparé du canal bractéal endodermique par une épaisse couche de mésoglée. Chez les post-larves, plusieurs autres bractées larvaires se développent et recouvrent la première cormidie (Pl. I, 6). L'apex de ces bractées est armé d'une dizaine de nématocystes d'une catégorie particulière non encore signalée chez les Siphonophores Physonectes ; il s'agit d'eurytèles microbasiques que nous avons également observés sur les bractés larvaires d'*Agalma elegans*. Leur capsule est ovoïde mesurant $40 \times 25 \mu$, la hampe longue de 90μ est renflée dans sa partie distale qui porte une armature d'épines (Pl. II, 5).

La jeune colonie

Le petit nombre de larves obtenues par fécondation artificielle et la nécessité de fixer les principaux stades larvaires ne nous ont pas permis de poursuivre cet élevage jusqu'à l'obtention de jeunes colonies.

Le développement post-larvaire a été observé sur des échantillons recueillis dans le plancton. Nous avons ainsi pu suivre le bourgeonnement, au-dessus du gastrozoïde primaire, d'un dactylozoïde puis de nouvelles cormidies tandis que, dans la région proximale du stolon, se poursuivait le développement du nectosome (Pl. I, 6).

Discussion

L'étude de ce développement nous a permis de retrouver les différents stades décrits par Metschnikoff. Il est vraisemblable que la siphonula représentée par Woltereck corresponde à une larve aberrante ou à une mauvaise interprétation mais, cette figure ayant été retenue par certains auteurs, il était intéressant de faire une mise au point. Par ailleurs, Metschnikoff, n'ayant pas obtenu de siphonula âgée, n'avait pu apporter aucune précision sur la morphologie et la nature du premier nectophore ni sur la structure des tentilles larvaires. Les observations que nous avons faites nous permettent de considérer la première cloche natatoire comme un organe larvaire caduc (ce qui peut conduire à des comparaisons avec le nectophore larvaire de la plupart des Calycophores) et de décrire les tentilles du filament pêcheur larvaire dont la morphologie particulière rend facile l'identification des larves d'*Halistemma rubrum*.

L'étude histologique des premiers stades nous permet de conclure que la segmentation chez *Halistemma rubrum*, d'abord totale et égale, puis partielle et superficielle, conduit à une larve dont la dualité de structure est évidente et que nous avons qualifiée de « pérblastula ». Chez *Nanomia bijuga* et certaines larves d'*Halistemma rubrum*, la segmentation ne devient partielle et superficielle qu'au moment de la gastrulation, ce qui nous a amené à définir un stade sterroblastula. Nous pensons que le terme de « morula vraie » employé par tous les auteurs ayant traité du développement des Siphonophores ne convient pas pour désigner le stade précédant la gastrulation. La confusion faite par ces auteurs est facilement compréhensible dans la mesure où leurs observations ont porté sur du matériel vivant sans être complétées par une étude histologique. Nous avons suivi de nombreuses segmentations au microscope et constaté que, malgré la transparence des larves de Siphonophores, ce moyen d'investigation est insuffisant.

La gastrulation s'effectue par délamination primaire. Elle débute parfois au stade sterroblastula mais, le plus souvent, ce n'est qu'au stade pérblastula que l'on observe les premières divisions suivant des plans tangentiels à la surface de la larve. A l'issue de la gastrulation, et quel que soit le stade auquel elle commence, on obtient une larve constituée par une assise externe formant l'ectoderme, la masse du vitellus anucléé et quelques gros noyaux, plaqués contre l'ectoderme, qui sont les ébauches du feuillet endodermique. Lors du passage au stade planula, certains noyaux endodermiques restent à l'endroit où ils ont été formés et s'y multiplient, d'autres, entourés d'un peu de cytoplasme, émigrent à l'intérieur du vitellus de façon comparable à la chute des éléments endodermiques à l'intérieur du blastocœle d'une coeloblastula.

Nos observations nous conduisent à penser qu'il ne se forme pas, comme on l'a longtemps cru, un endoderme primaire transitoire contenant les réserves, puis un endoderme définitif (Dawydoff, 1928), mais une seule génération endodermique.

Un autre fait intéressant et particulier à cette espèce est la différenciation simultanée, au stade planula, d'un pneumatophore et d'une cloche natatoire permettant la comparaison du mode de formation de ces deux organes. Metschnikoff, dans son mémoire sur les Siphonophores et les méduses (1870), a entrepris cette comparaison. Il écrit que, pendant longtemps, il ne put déterminer, en étudiant le développement d'*Halistemma rubrum*, s'il avait affaire à un pneumatophore ou à une cloche natatoire. Il propose des figures illustrant parfaitement la ressemblance de ces organes. Dans les deux cas, il note l'existence d'une duplication en forme de bulle des parois du corps à l'intérieur de laquelle apparaît une cavité. Pour Metschnikoff, la concordance de toutes les parties du pneumatophore et de la cloche natatoire est totale et il conclut que ces deux formations sont homologues. La cavité du pneumatophore correspondrait à la cavité sous-ombrellaire du nectophore, l'ectoderme aérifère, au manubrium d'une méduse tandis que les cavités gastro-vasculaires tapissées d'endoderme qui entourent les formations ectodermiques du pneumatophore seraient l'équivalent des canaux d'une cloche natatoire.

Il est difficile de réfuter les conclusions de Metschnikoff en se basant sur la seule morphologie des ébauches du pneumatophore et d'une cloche natatoire. Mais l'histologie a montré que le pneumatophore d'*Halistemma rubrum* se forme à partir de l'invagination de quelques cellules ectodermiques, tandis que la cloche natatoire, qui apparaît au même stade du développement, se différencie à partir d'une lame ombrellaire isolée par délamination de l'ectoderme. Par ailleurs, le bourgeon qui se développe au sein du pneumatophore n'est pas, comme dans le cas d'un manubrium de méduse, une évagination ecto-endodermique, mais une prolifération de cellules ectodermiques formant un massif inorganisé. Enfin, la cavité primaire du pneumatophore pourrait être considérée comme l'homologue de la cavité sous-ombrellaire d'une méduse mais il ne peut pas en être de même pour la cavité définitive remplie de gaz qui apparaît intérieurement par rapport à l'assise de chitine, au sein des cellules de l'ectoderme aérifère.

Il est intéressant de noter que la première cloche natatoire et l'ébauche du pneumatophore ont, chez la jeune siphonula, des positions analogues et que c'est seulement chez la larve âgée que le flotteur devient le sommet morphologique.

Conclusion

Ce travail nous a permis de confirmer et de compléter les résultats de notre étude sur le développement de *Nanomia bijuga*. Nous pensons que nos conclusions concernant les premiers stades de ces deux développements peuvent être étendues à l'ensemble des Siphonophores Physonectes et nous envisageons de poursuivre cette étude sur des représentants des Siphonophores Calyphores.

Zusammenfassung

Beim Studium über die Entwicklung von Siphonophore Physonecte *Halistemma rubrum* (Vogt, 1852) haben wir das von Woltereck (1905) beschriebene Siphonulastadium nicht beobachten können, aber wir bestätigen die ausgezeichnete morphologische Beschreibung der von Metschnikoff (1874) gegebenen Entwicklung.

Das histologische Studium der Hauptstadien Larvenstadien zeigt, dass die Segmentierung zu einer Blastula eines besonderen Typus führt, welche sich zu einer Gastrula entwickelt durch primäre Delamination.

Im Planulastadium gibt eine ektodermale Einstülpung die Anlage des Pneumatophorus, während neben diesem Organ sich durch Delamination vom Ektoderm, eine Schwimmglocke differenziert.

Der Autor vergleicht die Entwicklung des Pneumatophorus mit der des Nectophorus und schieft daraus, dass diese beiden Organ verschiedene Differenzierungsmodi haben, welche eine Homologisierung nicht erlauben.

Summary

Metschnikoff (1874) and Woltereck (1905) gave two contradictory descriptions of the morphology of the development of the Siphonophora Physonectae *Halistemma rubrum* (Vogt, 1852). The author confirms the observations of Metschnikoff and studies the histology of the main larval stages. He shows that segmentation does not lead to a morula, contrary to general opinion, but to a blastula of a particular type which changes into a gastrula by a primary delamination. At the planula stage an ectodermal invagination gives the bud of pneumatophore which in the neighbourhood of this organ, a swimming bell develops from a medusal nodule, isolated by delamination of the ectoderm.

The author compares development of the pneumatophore with that of the nectophore and concludes that these two organs have different modes of differentiation which preclude any homology between them.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BOUILLON, J., 1966. — Cellules glandulaires des Hydroïdes et Hydroméduses. Leur structure et la nature de leurs sécrétions. *Cah. Biol. Mar.*, 7, pp. 157-205, 8 fig., 18 pl.
- CARRÉ, D., 1969. — Etude histologique du développement de *Nanomia bijuga* (Chiaje, 1841). *Cah. Biol. Mar.*, 10, pp. 325-341, 7 fig., 4 pl.
- DAWYDOFF, C., 1928. — Traité d'Embryologie comparée des Invertébrés, XIV, 930 pp. 509 fig., Paris.
- FEWKES, W., 1885. — On the development of Agalma. Studies from the Newport Marine Laboratory. *Bull. Mus. Comp. Zool. Harv.*, 11, pp. 232-275.
- GARSTANG, W., 1946. — The morphology and relations of the Siphonophora. *Quart. J. micr. Sci.*, 87, pp. 103-193, 57 fig.
- LELOUP, E., 1954. — A propos des Siphonophores. Volume jubilaire Victor Van Straelen, Bruxelles, 2, pp. 643-699, 12 fig.
- METSCHNIKOFF, E., 1870. — Contribution à la connaissance des Siphonophores et des méduses (en russe). *Mem. Soc. Amis Sci. nat. Moscou*, 8, pp. 295-370, 6 pl.
- METSCHNIKOFF, E., 1874. — Studien über die Entwicklung der Medusen und Siphonophoren. *Zeit. Wiss. Zool.*, 24, pp. 15-83, 10 pl.
- TOTTON, A.K., 1965. — A synopsis of the Siphonophora. London, British Mus. (Natural History), VIII, 230 pp., 153 fig., 40 pl.
- WEILL, R., 1934. — Contribution à l'étude des Cnidaires et de leurs nématocystes. 1. Recherche sur les nématocystes (morphologie, physiologie, développement). 2. Valeur taxonomique du cnidome. *Trav. St. Zool. Wimereux*, 10 (11), pp. 1-701, 432 fig.
- WOLTERECK, R., 1905. — Beiträge zur Ontogenie und Ableitung des Siphonophorenstocks mit einem Abhang zur Entwicklungsphysiologie der Agalmiden. III. *Z. Wiss. Zool.*, 82, pp. 611-637, 21 fig.

STUDY OF THE DEVELOPMENT OF *HALISTEMMA RUBRUM* (Vogt, 1852)

Danièle Carré

Cahiers de Biologie Marine **12**, 77-93; 1971

Summary

Metschnikoff (1974) and Woltereck (1905) gave two contradictory descriptions of the morphology of the development of the physonect siphonophore *Halistemma rubrum* (Vogt, 1852). The author confirms the observations of Metschnikoff and studies the histology of the main larval stages. She shows that segmentation does not lead to a morula, contrary to general opinion, but to a blastula of a particular type which changes into a gastrula by primary delamination. At the planula stage an ectodermal invagination gives rise to the bud of the pneumatophore, while in the neighbourhood of this organ, a swimming bell develops from a medusoid nodule, isolated by delamination of the ectoderm.

The author compares development of the pneumatophore with that of the nectophore and concludes that these two organs have different modes of differentiation which preclude any homology between them.

INTRODUCTION

The development of *Halistemma rubrum* was studied for the first time by Metschnikoff in 1874. That author described a young siphonula larva provided with a pneumatophore, several swimming bells but no bracts. In 1905, Woltereck reprised this study and gave a different description of the siphonula of *Halistemma rubrum*. According to this author, it does not have swimming bells that differentiate on the side of the pneumatophore, but a large apical larval bract.

Since then no other work has been carried out on this subject and, owing to the contradictory statements, it seemed interesting to us to follow the principal stages of development; concentrating more particularly on the histological aspects so far neglected.

Material and culture

We have collected from the sea, at the entrance to the rade de Villefranche-sur-Mer, close to the surface, a colony of *Halistemma rubrum* measuring about one metre in length. Large colonies, with some mature gonophores, are found only rarely. The specimen was placed in a tank, and we have collected the male and female gonophores in proportion to their liberation.

The eggs, then the larvae, have been cultured in cooled chambers, on a rocking table and the water of the Petri dish renewed constantly.

The morphological study has been carried out beginning with the living specimens observed under the microscope and photographed. In addition, after fixation in aqueous Bouins or Champy solution [?], then inclusion in paraffin, the principal stages have been cut up in serial sections of 5µm thickness and stained. The stains most employed have been: Prenant trichromatic, "glychémaulun de Mayer" [?] and picro-indigo-carmin, Feulgen, Hotchkiss MacManus (PAS).

List of abbreviations used in the legends of the Plates and Figures.

A.: anisorhizas; **Br.:** bract; **C.O.:** umbrella cavity; **C.Pn.:** definitive cavity of pneumatophore; **C.Pr.:** primary cavity; **Ch.:** chitin; **Cn.:** cnidoband; **Eb.C.Pn.:** bud of the definitive cavity of the pneumatophore; **Eb.N₁:** bud of the first nectophore; **Eb.N₂:** bud of the second nectophore; **Eb.N₃:** bud of the third nectophore; **Eb.Pn.:** bud of the pneumatophore; **Ect.:** ectoderm; **Ect.A.:** aeriform ectoderm; **End.:** endoderm; **F.T.:** terminal filament; **G.:** female gonophore; **G.:** male gonophore; **Gr.:** granulations; **L.O.:** umbrella lamella; **M.:** mesogloea; **N.:** nucleus; **N₁:** larval nectophore; **N₂:** second nectophore; **N.ect.:** ectodermal nucleus; **N.end.:** endodermal nucleus; **N.M₁:** medusoid nodule of larval nectophore; **N.M₂:** medusoid nodule of second nectophore; **N.M₃:** medusoid nodule of third nectophore; **P.N₁:** peduncle of larval nectophore; **Pn.** Pneumatophore; **S.:** secretions; **St.:** stenotele; **Vit.:** vitellus; **Z. cort.:** cortical zone.

The egg and segmentation

The female gonophores of *Halistemma rubrum* form one or two pedunculate clusters, inserted in the mid region of each cormidium (Pl. I, I). Each gonophore is made up of a small medusoid of which the manubrium, deprived of a mouth, encloses a single, voluminous egg (600 µm in diameter), which occupies the entire subumbrella. The maturation of the egg occurs before release and the polar globules appear in position almost constantly close to the distal pole. Then, the female medusoid is detached from the stolon and is maintained entirely in water for several hours, thanks to the batteries of cilia on the ectodermal umbrella, until the manubrium is detached, liberating the egg into the seawater. At the moment of release, the egg is surrounded by an extremely fine membrane, of which we have not been able to characterise its nature, and which can lack the emplacement of some polar globules. It shows a granular cortical zone and an internal region of which the network contains the vitelline vesicles.

Immediately after release, some spermatozoa assemble around the egg, particularly at the point where the polar globules have been emitted and it is probable that fertilisation is effected in this zone.

It is convenient to note the small number of larvae obtained as part of the fertilisation of numerous eggs of *Halistemma rubrum*. Only some of the eggs fertilised in the minutes following their release from the manubrium have developed normally. The others remained non-segmented or have begun too segment, with each division followed by a disassociation of the two blastomeres formed. It seems that the eggs of *Halistemma rubrum* are very fragile and it is possible that the existence of the fine membrane around the egg represents an obstacle to fertilisation as has already been signalled for *Hippopodius hippopus* (Metschnikoff, 1874).

Segmentation begins a dozen minutes after fertilisation. The first plane of cleavage, meridional, appears at the pole of maturation; it divides the egg into two equal blastomeres, united only by a fine cytoplasmic peduncle. Then these two blastomeres approach each other and sit side by side before the outline of the second plane of division, in an equatorial position, appears. [?] The third divisions is effected following a plane perpendicular to the former ones and leads to two quartets of identical blastomeres.

The 16-blastomere stage is formed by two layers representing eight superimposed cells, and the passage to the 32-blastomere stage is made by a series of more or less synchronous mitoses of which all the axes are parallel to the surface of the larva. Some histological sections made at such a stage show that the embryo is made up of a single layer of blastomeres, all identical, but possessing a very

heterogeneous structure. The cortical region of these cells, where the nucleus is found, is granulose and highly stainable, while the internal pole of the vacuolar structure is filled with vitellus (Fig. 1). This larva does not seem to us to correspond to the definition of a true morula, and we style it a sterroblastula, as we have already designated the same stage in *Nanomia bijuga* (Carré, D., 1969). Up to this stage, the segmentation can be perhaps qualified as total and equal. In the following development, only the ectoplasm situated at the periphery of the larva divides at the same time as the nuclei, while the cytoplasmic internal mass, which is filled with the vitelline reserves, seems no longer concerned with mitoses. This results in the formation of a peripheral layer distinct from the vitelline mass and the sterroblastula stage is succeeded by the periblastula stage.

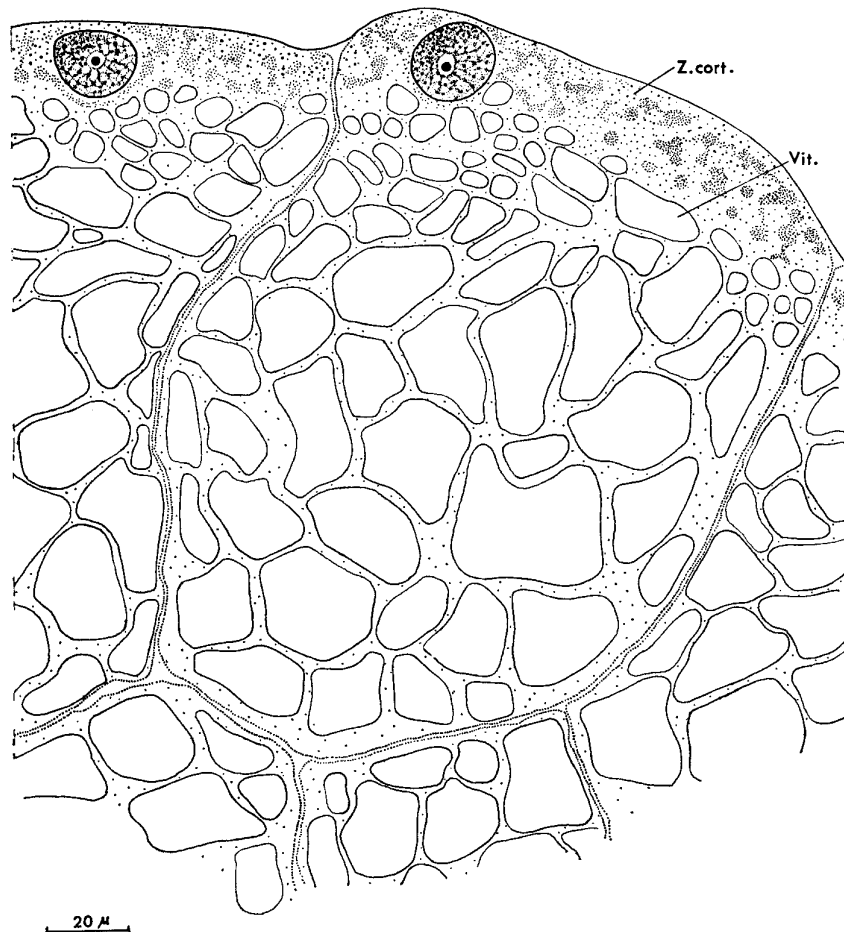


Fig. 1. Segmentation of *Halistemma rubrum*.
Figure showing the duality of structure of blastomeres at the sterroblastula stage.

The gastrula

Gastrulation is an indistinct phenomenon which can begin at the 32 blastomere stage but which, most often, is carried out in the periblastula. We have been able to follow this process in some histological sections. Certain nuclei of the embryo divide, following a perpendicular or oblique plane in relation to the surface of the larva. Hence the differentiation of a superficial layer, which forms the ectoderm,

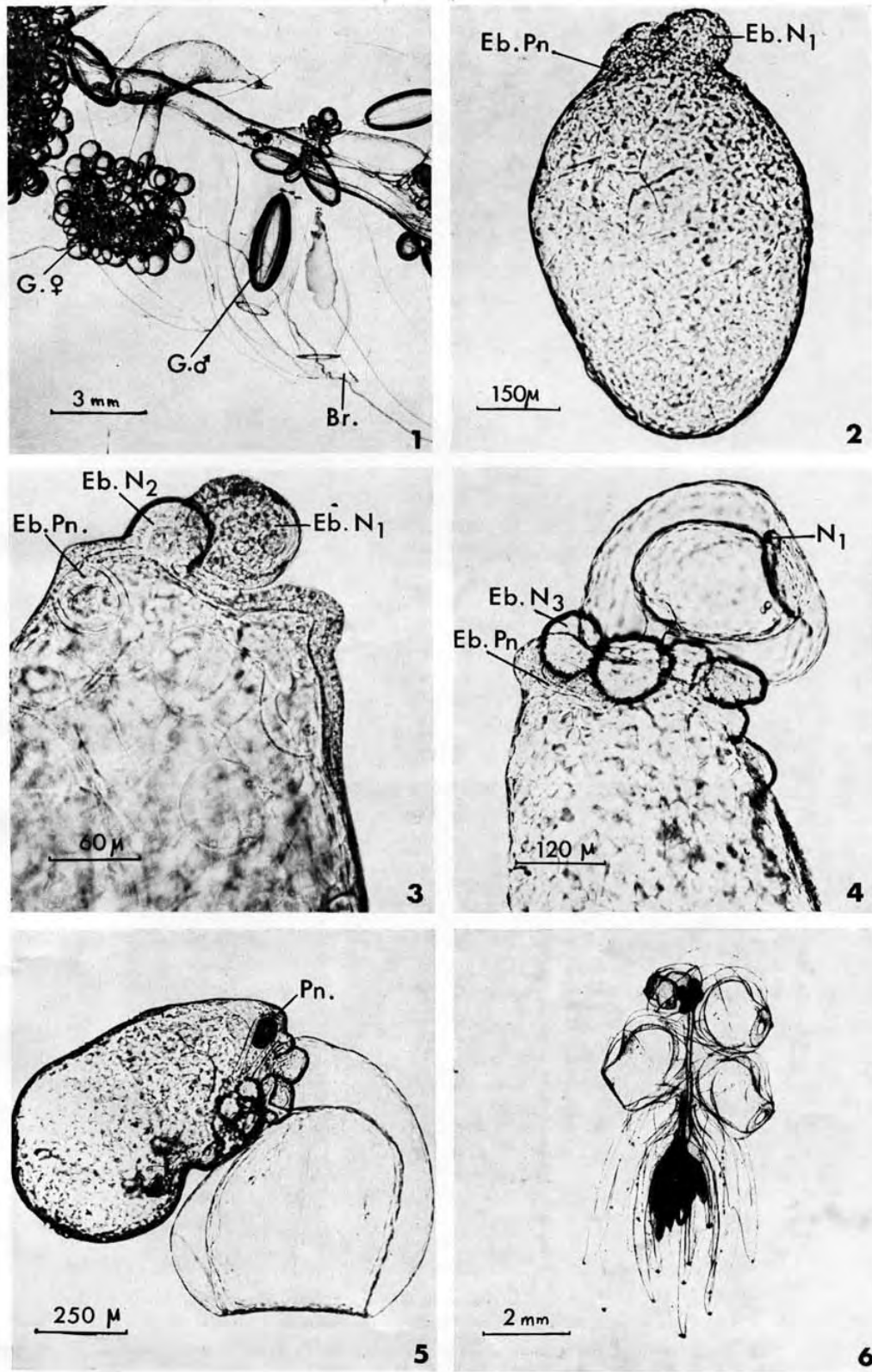


Plate I. Development of *Halistemma rubrum*.

1. Portion of the stolon with gonophores; 2. 2.5 day old planula; 3. 3 day old planula; 4. six day old siphonula; 5. week old siphonula; 6. young colony.

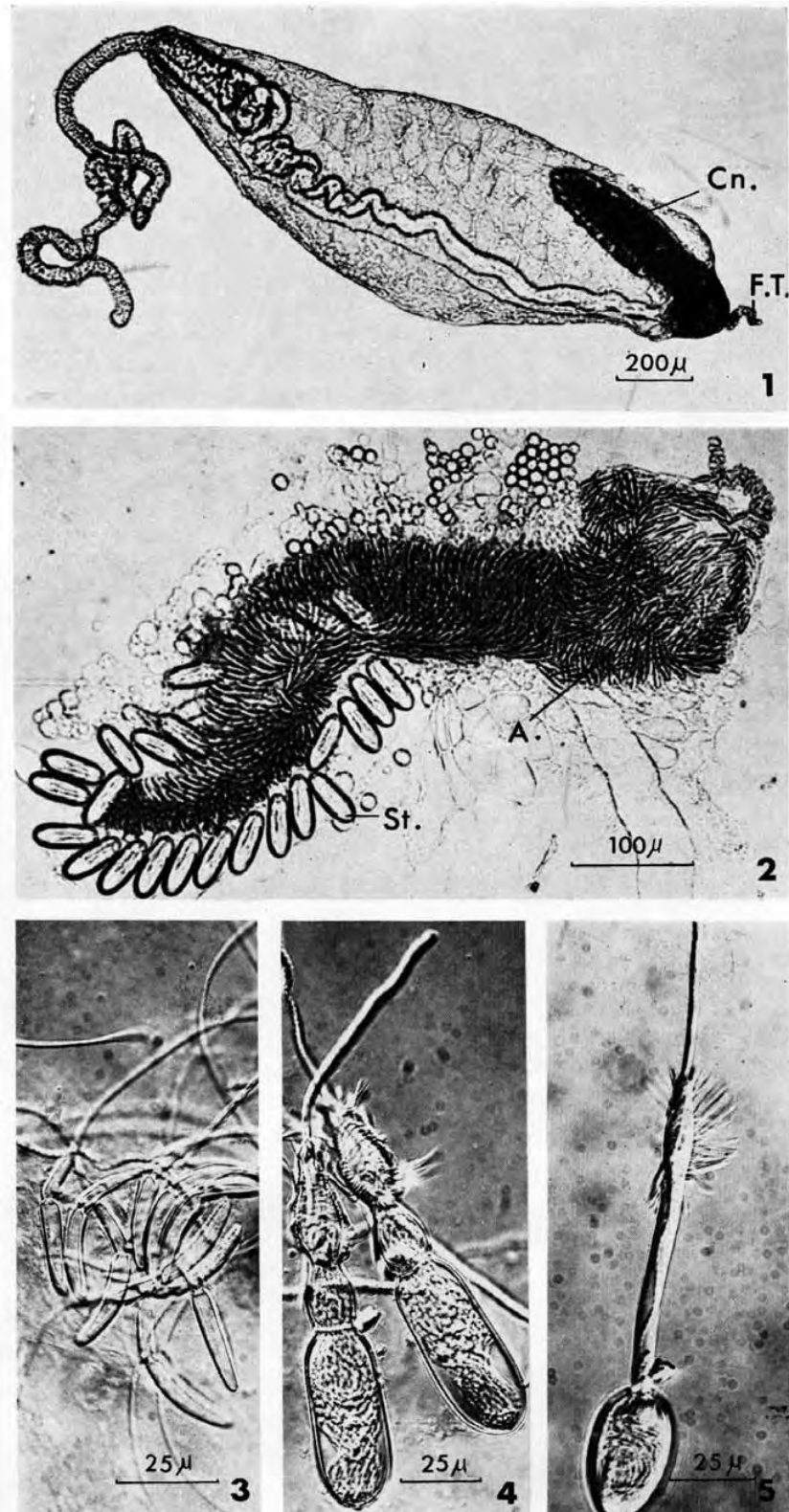


Plate II. Larval cnidome of *Halistemma rubrum*.

1. Larval tentillum; 2. cnidoband of a larval tentillum; 3. anisorhizas of a larval tentillum; 4. stenoteles of a larval tentillum; 5. euryteles of a larval bract.

and the outline of the endodermal layer is represented, at this stage, by the nuclei situated under the ectodermal layer, at the periphery of the vitellus. (Fig. 2).

We think that this mode of formation of the endoderm perhaps qualifies, following the definitions given by Dawydoff, as gastrulation by primary delamination.

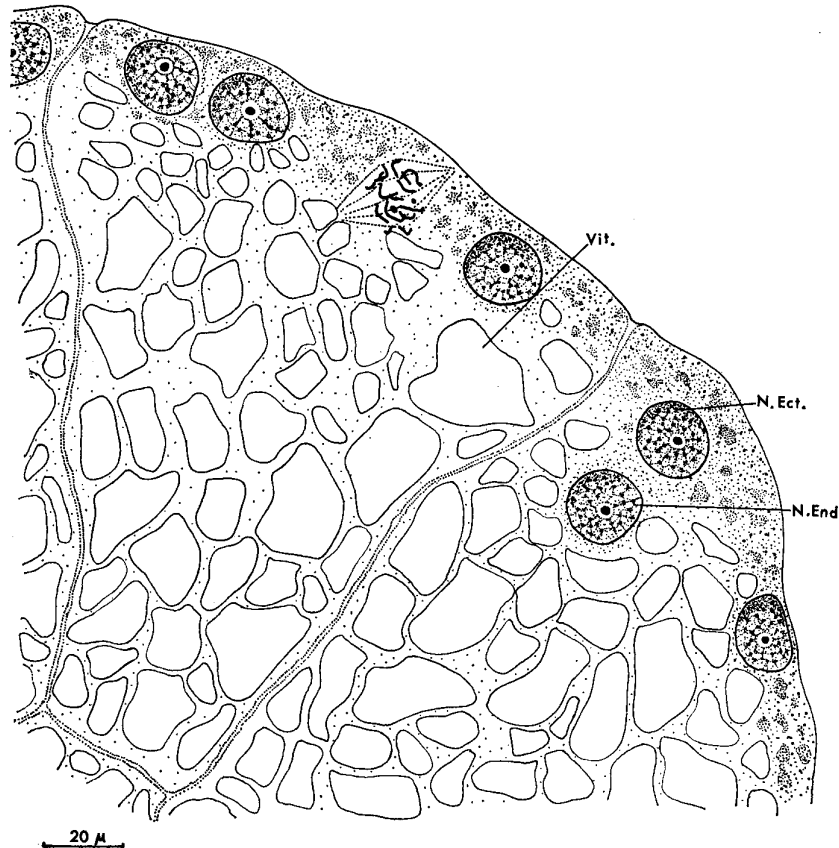


Fig. 2. Gastrulation at the periblastula stage.

The planula.

The gastrula stage is very fleeting and, a day after the release, the Petri dishes contained some small ovoid planulae, 750 μm in length, which swam in circles by themselves.

The young planula:

At the apical pole of the embryo, the ectoblastic cells divide and form a thick monostratified layer, without notable cytological differentiations. In this region, the endoblastic nuclei, isolated after gastrulation, remain, for the most part, against the internal face of the ectoderm where they multiply and give rise to a continuous coating of large, cubical cells.

In the mid region and at the posterior pole of the larva, the ectoderm is constituted by large flattened cells, slightly divided [?], against which one observes, from place to place, some large endodermic nuclei.

The interior of the planula, occupied by the still important vitelline reserves, shows some endodermic nuclei. The nuclei, which have migrated after gastrulation

between the vesicles of the vitellus, never appear pycnotic [?]; they can multiply and frequently groups of three or four adjacent nuclei are observed. We think that these are some elements of reserve which participate, at a more or less precocious stage, to the formation of the endodermal lining of the embryo.

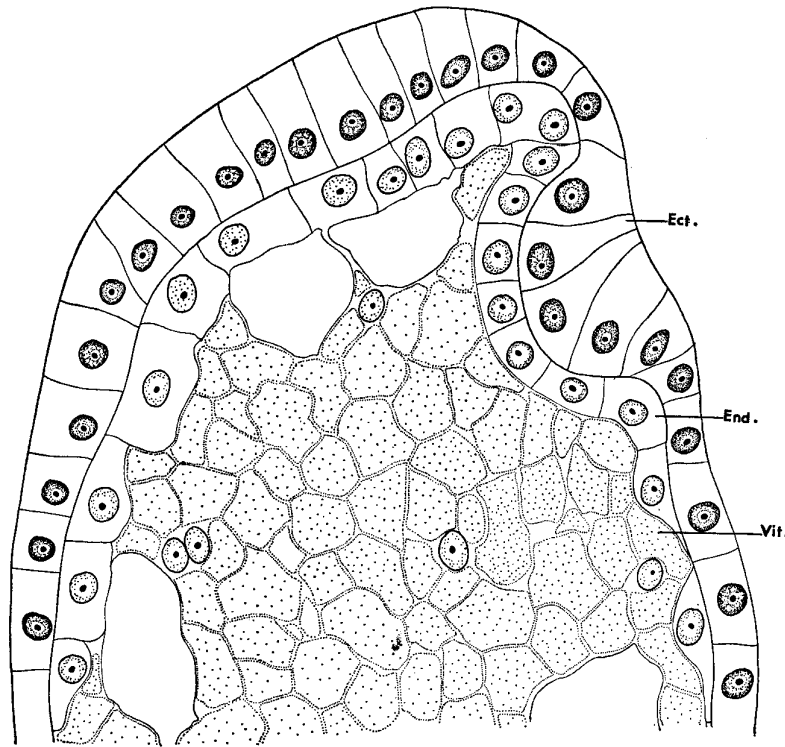


Fig. 3. Differentiation of the pneumatophore of *Halistemma rubrum*.
Invagination of the ectoderm at the anterior pole of the planula (longitudinal section).

The planula aged 2.5 day:

At this stage, an orange coloration appears on the ventral surface while at the apical pole the outlines of the pneumatophore and the first nectophore are differentiated (Pl. I, 2).

Pneumatophore: In the dorso-apical region, some cells have divided following planes perpendicular to the surface of the larva and are organised into a small nodule which is the bud of the pneumatophore (Fig. 3). Gradually, this bud elongates and invaginates into the embryonic body thanks to some tangential divisions of these cells which are arranged regularly around a very narrow cavity; the primary cavity of the pneumatophore (Fig. 4,5). Then, while the ectoderm reunites above the invagination zone, two or three cells of the nodule proliferate and form a small mass which invades all of the primary cavity. The ectodermic bud of the pneumatophore is then made up of a peripheral layer of epithelial structure and an internal mass which represents the aeriform ectoderm; between these two formations a fine layer of chitin is secreted (Fig. 6).

Larval nectophore At the same time as the differentiation of the pneumatophore one sees, in the ectoderm which becomes very thick in the ventro-apical region, some cells that have divided following the plane tangential to the surface of the larva. This delamination isolates a small ectodermic lamella covered by the general ectoderm,

which is the bud of the first nectophore (Fig. 4). Gradually, this bud comes to project from the exterior, while the cells of the ectodermal lamella multiply and are organised into a typical medusoid nodule, in the midst of which appears the subumbrella cavity (Pl. I, 3 and Fig. 7)¹. This medusoid nodule retains only a small zone of contact with the ectoderm of the planula; elsewhere it is enveloped by the endoderm which forms the umbrella lamella.

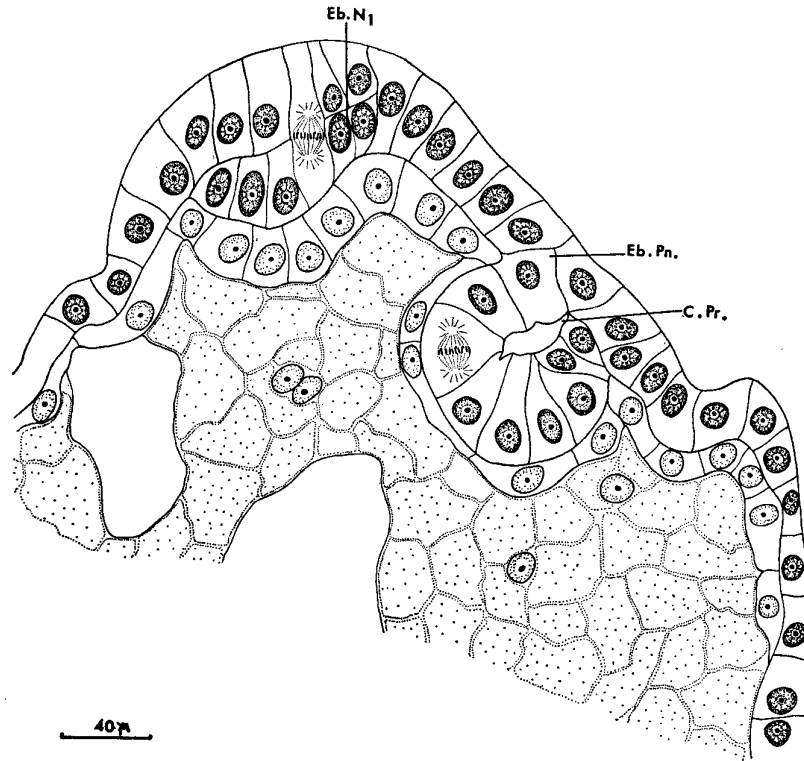


Fig. 4. Differentiation of the pneumatophore and larval nectophore of *Halistemma rubrum*.

Ectodermal delamination isolates the outline of the first nectophore and formation of the primary cavity of the pneumatophore (longitudinal section).

The embryo obtained three days after fertilisation measures 800 μm in length; it is characterised by the presence of two buds which we will come to describe. In the course of the following days, the pneumatophore becomes functional while the new nectophores bud and in the posterior region of the embryonic body is differentiated a gastrozoid. The larva then goes under the name siphonula and we describe the achievement of its principal structures.

The siphonula

The pneumatophore: In the midst of the aeriform tissue, appears, in the five day old larva, a cavity at first narrow and sinuous, that straightens out gradually to occupy all of the apical part of the float (Fig. 7). It is the definitive cavity of the pneumatophore. Its formation is accompanied by the regression of the aeriform tissue whose the cells

¹ The first stages of the differentiation of three first nectophores budding on the siphonula have been shown to be the same; we have illustrated the development of the larval swimming bell in the figures concerning the first, the second or the third nectophore.

seem to no longer divide. Six days after fertilisation, the pneumatophore appears as a very elongate ectodermal nodule and situated obliquely in relation to the axis of the embryo (Pl. I, 4). It is well included in the embryonic body. Then, some gas begins to be secreted and the float comes to project from the surface and becomes the apex of the larva (Pl. I, 5,6). Around it, the ectoderm and endoderm of the embryonic body form a double envelope separated from the endoderm surrounding the ectodermal nodule by a cavity connected to the gastrovascular cavity of the colony (Fig. 8). At this stage, the aeriform ectoderm is concentrated in the lower quarter of the pneumatophore where it forms a ring of large cells with granular cytoplasm and shows a strong affinity for staining. It has disappeared from the apical part of the float and is reduced to a fine layer in the basal region.

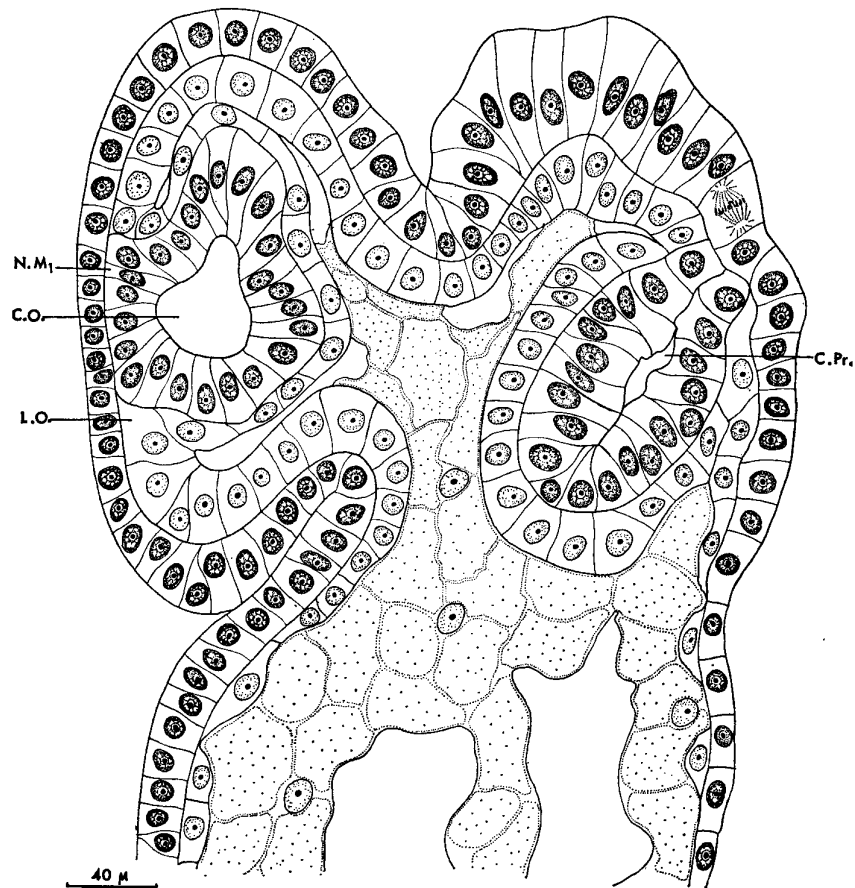


Fig. 5. Differentiation of the pneumatophore and larval nectophore of *Halistemma rubrum*.

Anterior region of a young siphonula (longitudinal section).

The differentiation of the pneumatophore is achieved by the formation of endodermic longitudinal septa; these septa, six in number in the young colonies which we have studied histologically, join together the two endodermic envelopes of the pneumatophore. They are comparable with the septa encircling the pharynx of some polyps of Alcyonarians (Fig. 9).

The nectophores: In the young siphonula, while the bud of the first bell is transformed into a small well differentiated nectophore, one sees, between this bell and the

pneumatophore, the outline of the second and then the third nectophore following an identical process to that which we have already described (Pl. I, 3,4).

The first swimming bell becomes functional in the one week old larva and its morphology is different from that of that of the adult nectophores of *Halistemma rubrum*. The four radial canals are straight, not sinuous, the exumbrella has neither ridges, nor wings and the hydroecial gutter is very shallow. These characters allow us to identify the first nectophore of the larva and it is probable that it represents a caducous organ because we have never found it amongst the post-larvae and the young colonies collected in the plankton (Pl. I, 6). In contrast, the following nectophores show all the characters typical of adult nectophores (Totton, 1965).

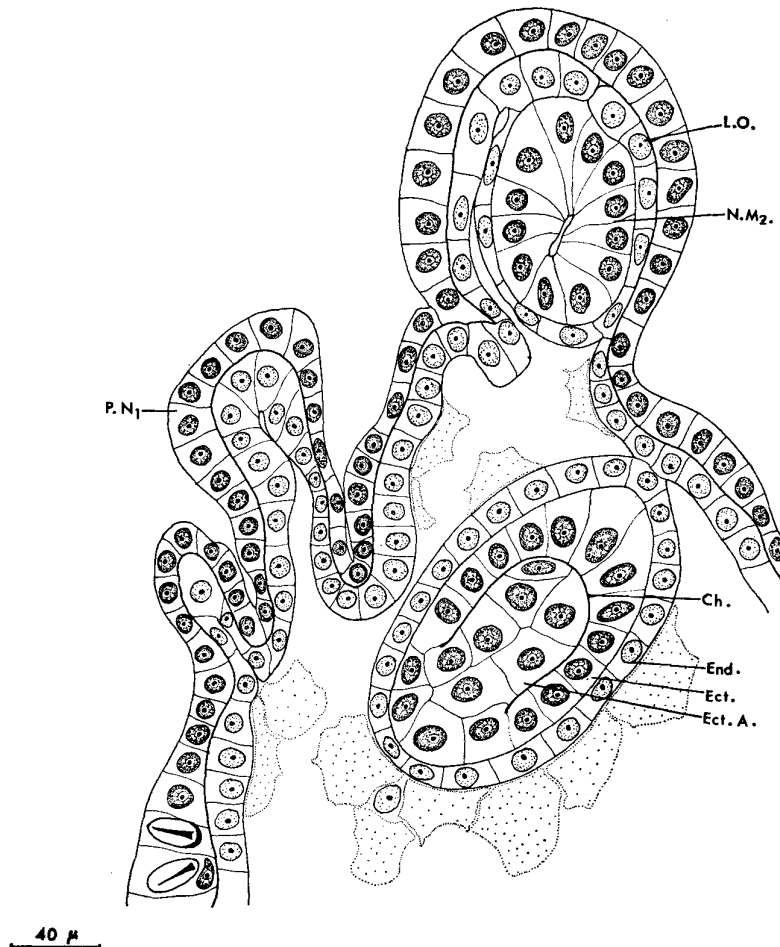


Fig. 6. Differentiation of the pneumatophore and some nectophores of *Halistemma rubrum*.

Formation of aeriform tissue.

In the older siphonula, the zone of budding of the nectophores elongates into a hollow axis, first bud of stolon of the colony, which shows, on a single generative line, some nectophores at various stages of development. Then this axis is subjected to a torsion that leads to the arrangement of the swimming bells onto two opposed generative lines.

Primary gastrozoid: During the course of differentiation of the pneumatophore and some swimming bells, the vitelline reserves have been utilised and, in their place, a

gastrovascular cavity has appeared. This cavity, in a ten day old larva, occupies all the middle and posterior region of the embryonic body whose walls differentiate into a primary gastrozoid while the mouth is pierced at the posterior pole of the larva.

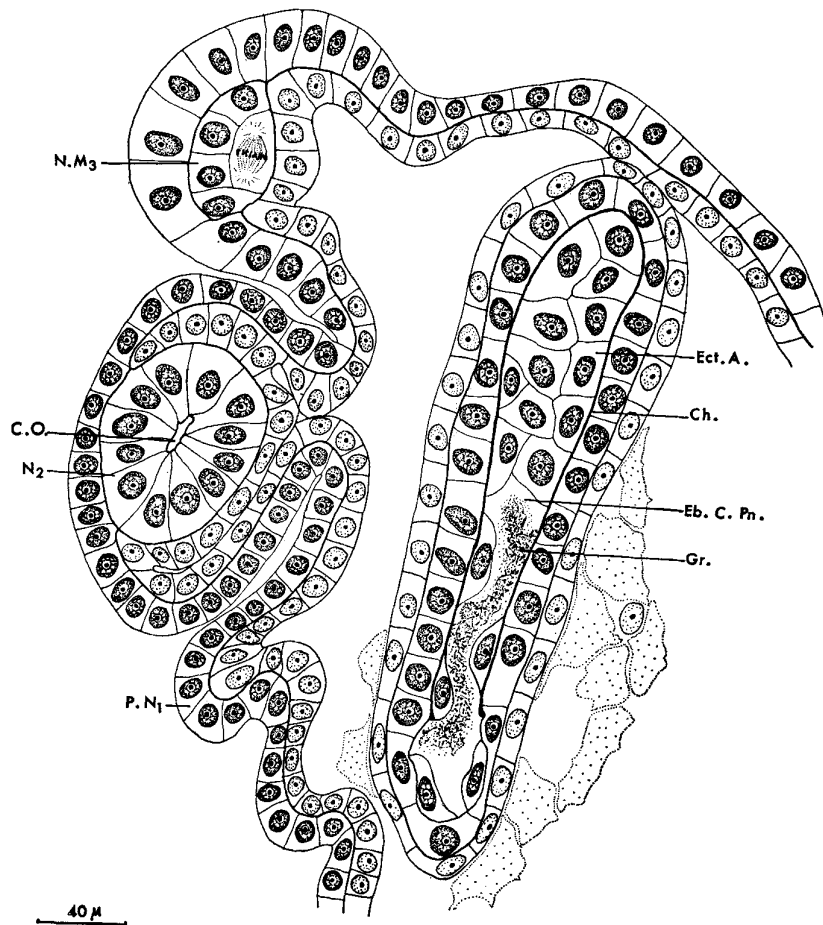


Fig. 7. Differentiation of the pneumatophore and some nectophores of *Halistemma rubrum*.

Formation of the medusoid nodule of three larval nectophores and the appearance of the definitive cavity of the pneumatophore.

The endodermal cells of the gastrozoid are small and all identical, except in the buccal region where they differentiate some glandular elements of spumose and spherulose type, characterised by their flattened shape. The external pole of the not numerous spumose cells is formed by a very fine network which encloses some large vacuoles whose contents are clear and homogeneous. The spherulose cells show, in their external regions six to eight particles of secretion. At the time of contact with a prey, the secretions of these cells spread out on the external surface of the buccal region.

In the endoderm of the gastrozoid, one sees some interesting cytological differentiations. In addition to the very numerous spumose cells, localised around the mouth and in the mid region and identical to those which we have described in *Nanomia bijuga*, three types of spherulose cell are visible. At the periphery of the mouth, these cells are very high and very narrow; their secretions form a dense mass of very small granules localised at the apical pole of the cell (Pl. III, 1). It is

convenient to note for this category of glandular elements of the spherulose type, that their position around the buccal orifice does not permit to establish with certitude their appurtenance to the endodermic layer. The second type of hypostomial spherulose cells is represented by a large cell of which the cytoplasm of the apical region enlarges and invades some small vacuoles arranged one against the next and filled with some particles of secretion (Pl. III, 2). Finally, in the mid region of the gastrozoid there exists a third category of spherulose endodermic cells characterised by the presence, at their apical pole, of four to six very large particles of secretion (Pl. III, 3).

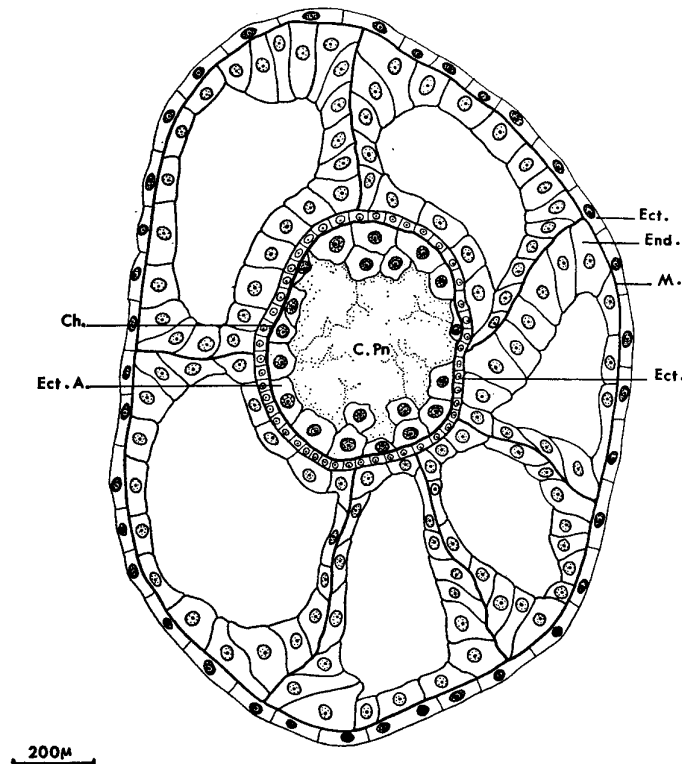


Fig. 8. Pneumatophore of a young colony of *Halistemma rubrum*. (Longitudinal section).

The gastrozoids of the adult colonies measure more than a centimetre in length. Their structure is complicated by the formation of the longitudinal endodermal swellings ("hepatic stripes" of some authors) bearing glandular elements.

Larval tentacle: At the base of the primary gastrozoid, a didermic hollow bud appears in the young siphonula, which develops into a very contractile tentacle on which are differentiated the larval tentilla characteristic of *Halistemma rubrum* (Pl. II, 1). These tentilla are made up of a closed, fusiform sac, borne on a peduncle and terminated by a filament. The sac, which is crossed by an elastic band, contains, in its distal part, a cnidoband. The cnidoband of each tentillum is made up essentially by numerous rows of anisorhizas and by two rows of about a dozen stenoteles (Pl. II, 2).

Characteristics of the two type of nematocysts:

- Anisorhizas: capsule banana-shaped, larger at the summit, measuring $26 \times 2 \mu\text{m}$ (Pl. II, 3).

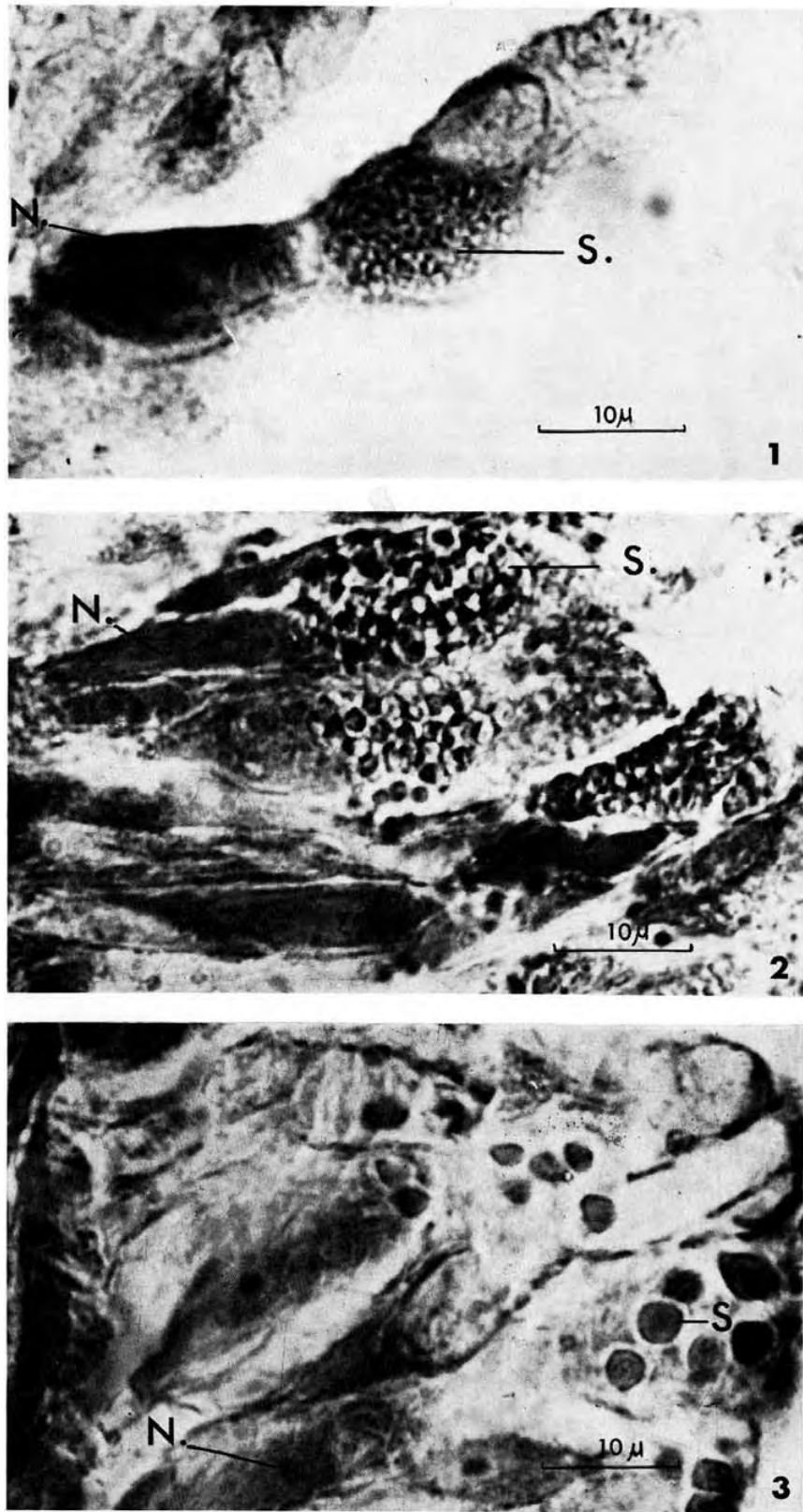


Plate III. Spherulose cells of the gastrozoid of *Halistemma rubrum*.
1. Buccal spherulose cell; 2. Hypostomial spherulose cell; 3. Gastric spherulose cell.

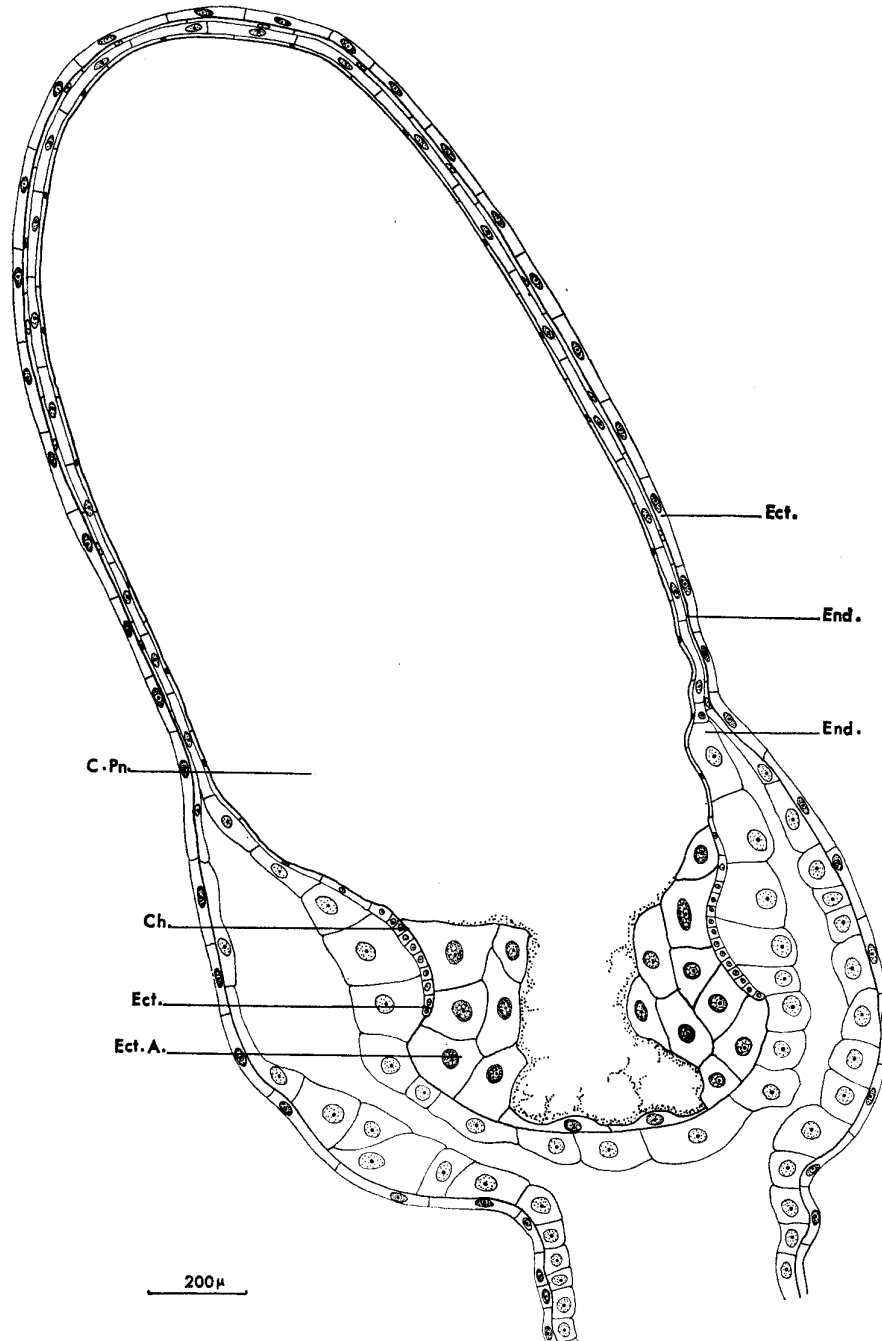


Fig. 9. Pneumatophore of a young colony of *Halistemma rubrum*. (Transverse section).

- Stenoteles: subcylindrical capsule measuring $54 \times 20 \mu\text{m}$: hampe measuring $50 \times 14 \mu\text{m}$, constricted at mid-length and of which the distal part is armed with stylets and spines (Pl. II, 4).

Bracts: The bud of the first bract appears, in the siphonula, in the form of an ecto-endodermal evagination. Very quickly, this bud is transformed into a foliaceous lamella of which the ectoderm, made up of some large flattened cells, is separated

from an endodermic bracteal canal by a thick layer of mesogloea. In the post-larva, several other larval bracts are developed and cover the first cormidium (Pl. I, 6). The apex of these bracts is armed with a dozen nematocysts of a particular type not yet signalled in physonect siphonophores: they are microbasic euryteles which we have equally observed in the larval bracts of *Agalma elegans*. Their capsule is ovoid measuring $40 \times 25 \mu\text{m}$, the long hampe of $90 \mu\text{m}$ is inflated in its distal part, which bears an armature of spines (Pl. II, 5).

The young colony

The small number of larvae obtained by artificial fertilisation and the necessity to fix the principal larval stages has not allowed us to rear them as far as achieving young colonies. The post-larval development has been observed in some specimens collected in the plankton. We have thus been able to follow the budding, above the primary gastrozoid, of a dactylozoid, then some new cormidia; while, in the proximal region of the stolon, to pursue the development of the nectosome. (Pl. I, 6).

Discussion

The study of this development allows us to re-examine the stages described by Metschnikoff. It is probable that the siphonula shown by Woltereck corresponds to an aberrant form or to a poor interpretation but, his figure has been re-used by certain authors, it has been interesting to make a comparison. In addition, Metschnikoff, having not obtained an old siphonula, could not bring any precision to the morphology and the nature of the first nectophore nor to the structure of the larval tentilla. The observations that we have made allow us to consider the first swimming bell as a caducous larval organ (which leads to some comparisons with the larval nectophore of most calycophorans) and to describe the tentilla of the larval tentacle of which the particular morphology makes it easy to identify the larvae of *Halistemma rubrum*.

The histological study of the first stages allow us to conclude that the segmentation in *Halistemma rubrum*, at first total and equal, then partial and superficial, leads to a larva of which the duality of the structures is evident and we have identified it as a “periblastula”. In *Nanomia bijuga* and certain larvae of *Halistemma rubrum*, the segmentation only becomes partial and superficial at the moment of gastrulation, which we are brought to define as a sterroblastula stage. We think that the term “true morula”, employed by all authors who have studied the development of siphonophores, is not convenient to designate the stage preceding gastrulation. The confusion caused by these authors is easily understandable to the extent that their studies have been carried out on living material without being completed by histological studies. We have followed the numerous segmentations under the microscope and verify that, in spite of the transparency of the larvae of siphonophores, this method of investigation is insufficient.

Gastrulation is effected by primary delamination. It sometimes begins at the sterroblastula stage but, most often, it is only at the periblastula stage that one sees the first divisions following tangential planes in relation to the surface of the larva. At the beginning of gastrulation, and whatever the stage at which it commences, one obtains a larva made up of an external layer, forming the ectoderm, a mass of enucleate vitellus and some large nuclei, close up against the ectoderm, which are the beginnings of the endodermal layer. At the time of the passage to the planula stage, certain endodermic nuclei remain with regard to where they were formed and multiply, others, surrounding a small piece of cytoplasm, migrate to the interior of the

vitellus in a way comparable to the decline [?] of the endodermal elements to the interior of the blastocoel in a coeloblastula.

Our observations lead us to think that it does not form, as one has believed for a long time, a transitory primary endoderm containing the reserves, then a definitive endoderm (Dawydoff, 1928), but is a single endodermic generation.

Another interesting fact and particular to this species is the simultaneous differentiation, at the planula stage, of the pneumatophore and swimming bell which allows a comparison of the mode of formation of these two organs. Metschnikoff, in his memoir on the siphonophores and medusae (1870), has undertaken this comparison. He writes that, for a long time, he could not determine, in studies of the development of *Hippopodius hippopus*, if he was dealing with a pneumatophore or a swimming bell. He gave some figures perfectly illustrating the resemblance of these organs. In the two cases, he noted the existence of a duplication in the shape of the vesicle in the walls of the interior body in which appeared a cavity. For Metschnikoff, the concordance of all the parts of the pneumatophore and the swimming bell is total and he concluded that these two formations are homologues. The cavity of the pneumatophore corresponding to the subumbrella cavity of the nectophore, the aeriform ectoderm to the manubrium of a medusa while the gastrovascular cavities lined by endoderm which surrounded the ectodermal formations of the pneumatophore would be equivalent to the canals of the swimming bell.

It is difficult to refute these conclusions of Metschnikoff on the basis of the singular morphology of the buds of the pneumatophore and of the swimming bell. But histology has shown that the pneumatophore of *Halistemma rubrum* is formed as a part of the invagination of some ectodermal cells, while the swimming bell, which appears at the same stage of development, is differentiated as part of an umbrella lamella isolated by delamination of the ectoderm. In addition, the bud which develops in the midst of the pneumatophore is not, as in the case of the medusoid manubrium, and ecto-endodermal invagination, but a proliferation of ectodermal cells forming an unorganised mass. Finally, the primary cavity of the pneumatophore can be considered as a homologue of the subumbrella cavity of a medusa, but it cannot be the same for the definitive cavity filled with gas which appears internally in proportion to the layer of chitin, in the midst of the aeriform ectodermal cells.

It is interesting to note that the first swimming bell and the bud of the pneumatophore have, in the young siphonula, analogous positions and that it is only in the older larva that the float becomes the morphological summit.

Conclusion

This work has allowed us to confirm and complete the results of our studies on the development of *Nanomia bijuga*. We think that our conclusions regarding the first stages of these two developments can be applied to the ensemble of physonect siphonophores and we envisage to follow up these studies with some representatives of calycophoran siphonophores.

BIBLIOGRAPHY

- Bouillon, J. 1966. Cellules glandulaire des Hydroides et Hydroméduses. Leur structure et la nature de leurs secretions. *Cah. Bio. Mar.* **10**, 157-205, 8 fig. 18 pl..
- Carré, D. 1969. Etude histologique de développement de *Nanomia bijuga* (Chiaje), 1841). *Cah. Bio. Mar.* **10**, 325-341, 7 fig., 4 pl.

- Dawydoff, C. 1928. *Traité d'Embryologie comparée des Invertébrés*. Masson & Co., Paris. 930 pp.
- Fewkes, W. 1885. Studies from the Newport Marine Laboratory. XV. On the development of *Agalma*. *Bull. Mus. Comp. Zool. Harv.* **11**, 232-275.
- Garstang, W. 1946. The morphology and relations of the Siphonophora. *Quarterly Journal of the Microscopical Society*, **87**, 103-193
- Leloup, E. 1954. A propos des Siphonophores. *Volume jubilaire Victor van Straelen* **2**, 643-699
- Metschnikoff, E. 1870. Contributions to the knowledge of siphonophores and medusae. *Mem. Soc. Amis Sci. nat. Moscou* **8**, 295-370 (In Russian)
- Metschnikoff, E. 1874. Studien über die Entwicklung der Medusen und Siphonophoren. *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie* **24**, 15-83.
- Totton, A.K. 1965. *A Synopsis of the Siphonophora*. London: British Museum (Natural History).
- Weill, R. 1934. Contribution a l'étude des Cnidaires et de leurs nématocystes. I. Recherches sur les nématocystes (Morphologie - Physiologie - Développement). II. Valeur taxonomique du cnidome. *Travaux de la Station Zoologique de Wimereux* **11**, 1-701.
- Woltereck, R. 1905. Beiträge zur Ontogenie und Ableitung des Siphonophorenstocks. III. Planktologische Mitteilung aus der Zoologischen Station in Villefranche s. m. ? ?, 611-637.