

**ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT LARVAIRE
DE DEUX SIPHONOPHORES :
LENSIA CONOIDEA (CALYCOPHORE)
ET *FORSKALIA EDWARDSI* (PHYSONECTE).**

par

Danièle Carré

Laboratoire de Zoologie, Paris et Station zoologique, Villefranche-sur-mer.
Faculté des Sciences de Paris.

Résumé

Les développements larvaires du Siphonophore Calycophore *Lensia conoidea* et du Siphonophore Physonecte, *Forskalia edwardsi* ont été obtenus par élevage. Ils sont décrits d'après les observations faites sur le vivant et d'après des coupes histologiques.

Ces deux développements sont semblables jusqu'au stade planula dont la face ventrale bourgeonne les différentes ébauches larvaires.

Chez *Lensia conoidea*, ce bourgeonnement aboutit à une calyconula typique par différenciation d'une cloche natatoire larvaire caduque.

Chez *Forskalia edwardsi*, la suite du développement est caractérisée par la formation d'un pneumatophore et de bractées larvaires.

La cloche natatoire de *Lensia conoidea* et le pneumatophore de *Forskalia edwardsi* apparaissent dans la même région antéro-ventrale de la planula mais leurs modes de formation diffèrent dès le début. La cloche natatoire se développe à partir d'un nodule médusaire, tandis que le pneumatophore a pour origine une invagination précoce de quelques cellules ectodermiques.

Cette étude a permis de discuter les interprétations données jusqu'ici, concernant le mode de formation, la structure des différents organes larvaires des Siphonophores et les homologues possibles entre ces organes.

INTRODUCTION.

Nous avons étudié, par élevage, les développements larvaires d'un Siphonophore Calycophore, *Lensia conoidea* (Kefferstein et Ehlers, 1860) et d'un Siphonophore Physonecte, *Forskalia edwardsi* Kölliker, 1853.

Les larves ont été fixées aux différents stades de leur développement afin de nous permettre de compléter par une étude histologique les observations morphologiques faites sur le vivant.

Il nous a semblé que la connaissance du mode de formation des différentes structures des Siphonophores, entre autres du pneumatophore, des bractées et des cloches natatoires, pourrait aider à la compréhension de la colonie adulte et de la phylogénèse des Siphonophores.

Récolte du matériel et élevage.

Au printemps, avec un maximum au mois de mars, les échantillons de plancton pêchés dans la rade de Villefranche-sur-Mer, contiennent des eudoxies matures de *Lensia conoidea*. Les eudoxies mâles et femelles ont été isolées dans des cristallisoirs d'eau de mer puisée au large. Les œufs, sitôt pondus (moins d'un jour après la pêche en général) ont été placés dans de l'eau de mer propre et fécondés en dilacérant un gonophore mâle mûr.

Pendant toute la durée du développement, les cristallisoirs ont été maintenus en chambre fraîche (13° C) sur le plateau d'une berceuse. L'eau en a été renouvelée tous les jours et des algues unicellulaires (*Dunaliella*, *Isochrysis*), puis des nauplius d'*Artemia*, ont servi de nourriture aux larves.

Les spécimens de *Forskalia edwardsi* ont été récoltés pendant le mois d'avril, en surface ou à de faibles profondeurs. Ils ont pu être maintenus en bon état en chambre fraîche (14° C) jusqu'à libération des œufs et des spermatozoïdes.

L'élevage des planulas, puis des larves de *Forskalia edwardsi* a été en tous points identique à celui décrit pour *Lensia conoidea*.

Techniques utilisées.

Observations sur le vivant.

Les différents stades de la segmentation et du développement larvaire ont été suivis au microscope. Cette observation a été facilitée par le peu d'opacité du matériel.

Techniques histologiques.

Les différents stades larvaires, fixés après une anesthésie dans du chlorure de magnésium isotonique à l'eau de mer, ont subi la double inclusion celloïdine-paraffine, puis ont été débités en coupes sérieées de 5 μ d'épaisseur.

Les colorations histologiques les plus employées ont été : trioxy-hématéine - phloxine - vert lumière, fuchsine paralaldéhyde de Gabe, Azan, trichromique de Masson.

DÉVELOPPEMENT DE *LENSIA CONOIDEA*.

L'œuf et la segmentation.

L'eudoxie de *Lensia conoidea* est relativement grande (7 mm) et ne porte qu'un seul gonophore bien développé, soit mâle, soit femelle (Fig. 1, 1). Les œufs, au nombre de 8 à 10, sont libérés simultanément. Ils sont transparents, volumineux (500 à 550 μ de diamètre) et se maintiennent en pleine eau. En coupe, ils présentent une zone corticale mince, riche en granules phloxinophiles, entourant la masse des granules vitellins inclus dans de petites vacuoles. Le noyau est généralement rejeté à la périphérie.

Le temps qui sépare la fécondation de l'œuf du début de sa segmentation, semble pouvoir varier de quelques heures à 12 heures pour une température de l'eau de 13° C.

La première segmentation débute à l'un des pôles et progresse vers le pôle opposé divisant l'œuf en deux parties réunies seulement par un très fin pont de cytoplasme (Fig. 1, 2). Puis les deux blastomères, de taille sensiblement égale, se rapprochent et s'accolent avant l'apparition du second sillon de segmentation. Celui-ci s'ébauche au même pôle que le premier et, chez la plupart des œufs observés, dans un plan qui n'est pas tout à fait perpendiculaire au premier plan de clivage.

Trente minutes après le début de la segmentation, on observe, suivant un plan perpendiculaire aux précédents, la troisième division qui conduit à deux quartettes de blastomères sensiblement superposés.

Les divisions se poursuivent, toujours à un rythme rapide, mais, à partir du stade à 16 blastomères, il devient difficile de les suivre dans le détail.

Cette segmentation totale et égale conduit, un jour après la fécondation, à une morula vraie de 550 μ de diamètre, légèrement ovoïde, d'aspect bosselé.

La gastrula.

La gastrulation s'effectue par délamination secondaire. Au terme de ce réarrangement cellulaire, la morula s'est transformée en une gastrula chez laquelle on distingue des cellules périphériques de petite taille, aplaties, riches en granules phloxinophiles, constituant l'ectoderme et, au centre, un massif de grandes cellules bourrées de vitellus, possédant de très gros noyaux. Cette masse centrale est l'endoderme provisoire ou primaire.

La planula.

A la fin de la gastrulation, la larve est devenue nettement bipolaire ; elle a acquis une ciliature externe uniforme.

Cette larve, âgée de 2 jours, qui nage activement, est une planula.

a) La jeune planula.

La jeune planula, de 800 μ de longueur, est transparente. L'endoderme primaire y est bien représenté. Ses noyaux sont arrondis, très rarement pycnotiques et souvent groupés par deux ou par quatre.

Ce stade est de courte durée et, au bout de deux à trois heures, apparaît l'endoderme définitif qui se dépose contre la face interne de l'ectoderme sous forme de petits îlots de quelques cellules. Dans la région qui deviendra la région ventrale de la calyconula, les formations d'endoderme définitif sont plus importantes et constituent une calotte tapissant tout l'ectoderme (Fig. 1, 3).

L'observation de groupes de noyaux endodermiques primaires et la grande ressemblance qui existe entre ces noyaux et ceux de l'endoderme définitif, nous conduisent à penser, comme Dawydoff (1928) que l'endoderme définitif dérive de l'endoderme provisoire ou d'ébauches contenues dans ce dernier.

b) Transformation de la planula.

Sur le vivant, on observe au microscope, du côté ventral, une opacité de plus en plus marquée du matériel cellulaire. Dans cette zone, les cellules endodermiques s'individualisent nettement et s'organisent en une lame monostratifiée qui double l'ectoderme. C'est dans la région antérieure de cette zone que s'ébauche la cloche natatoire larvaire sous forme d'une légère boursouflure qui refoule l'endoderme.

Des larves de *Lensia conoidea* ont été fixées aux différents stades du développement du nectophore larvaire et ont fait l'objet d'une étude histologique qui nous a permis de suivre de façon plus détaillée le mode de formation et l'évolution du nodule médusaire.

A l'origine, un petit nombre de cellules ectodermiques, une dizaine au maximum, entrent en division (Fig. 2, 1). Elles forment un massif de cellules agencées de façon désordonnée avec toutefois une plus grande densité de noyaux dans la région profonde de l'ébauche qui ne fait pas saillie à l'extérieur mais repousse l'endoderme secondaire.

Au cours des heures suivantes, les cellules situées en profondeur continuent à se diviser tandis que celles restées en surface ne pré-

FIG. 1
Développement de *Lensia conoidea*.

1 : eudoxie femelle ; 2 : premiers stades de la segmentation ; 3 : planula âgée de deux jours en vue latérale droite ; 4 : planula âgée de deux jours, en vue latérale droite, avec un nodule médusaire différencié ; 5 : calyconula âgée de deux jours et demi, en vue latérale droite ; 6 : calyconula âgée de trois jours, en vue latérale droite.

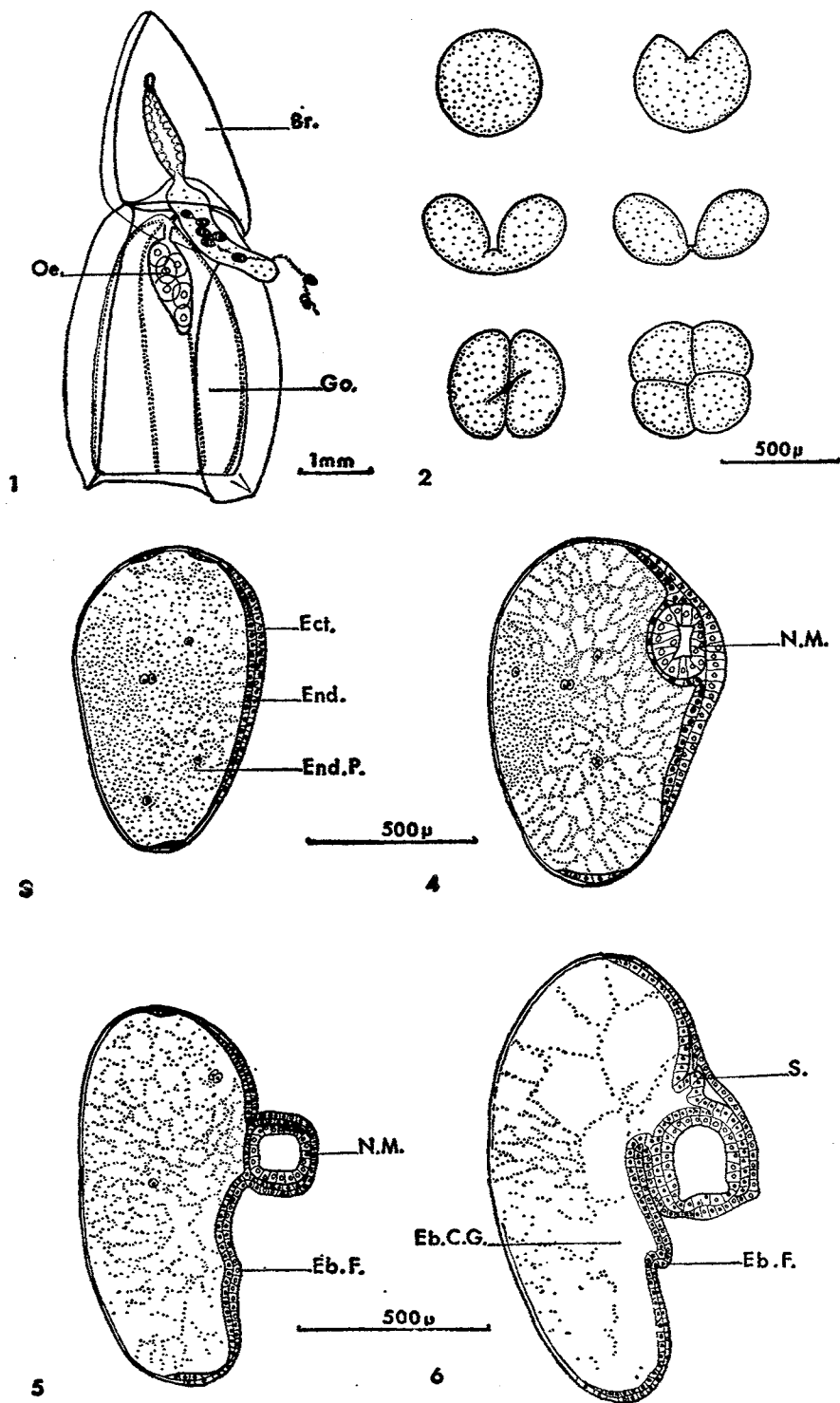


FIG. 1

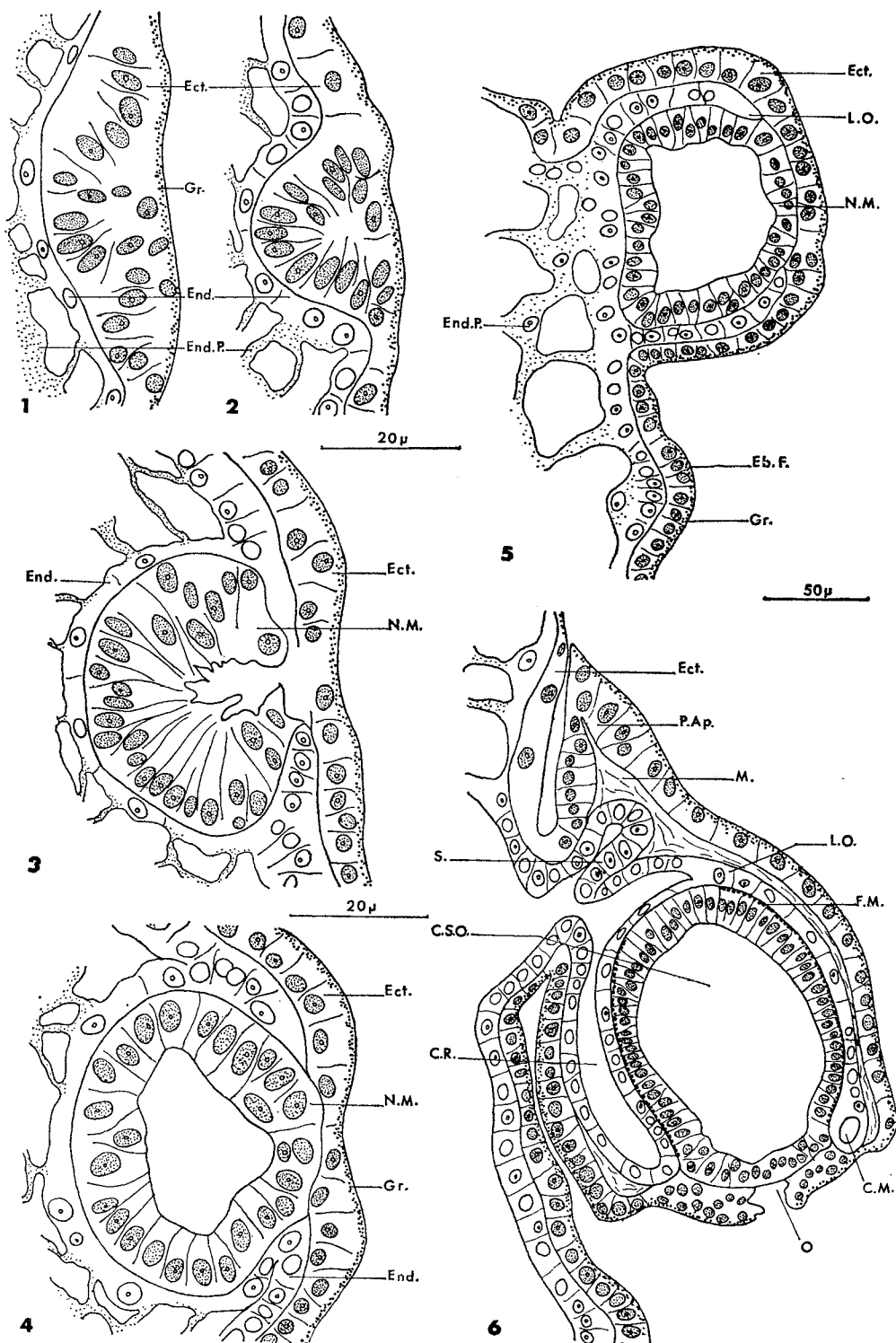


FIG. 2

sentent qu'exceptionnellement des figures de division. Ainsi, il se différencie :

— une assise superficielle semblable à l'ectoderme ventral de la planula (Fig. 2, 2) ;

— un massif cellulaire plein, hémisphérique, en continuité avec l'assise précédente, formé de cellules hautes et doublé, vers l'intérieur, d'une assise d'endoderme secondaire.

Dans la suite du développement (Fig. 2, 3), la continuité qui existait entre l'assise superficielle et le massif sous-jacent, disparaît. En résumé, à ce niveau, l'ectoderme a proliféré pour former un massif cellulaire interne ou nodule médusaire.

Une fois isolé de l'ectoderme, le nodule médusaire subit une double évolution : d'hémisphérique il devient sphérique et il se creuse d'une cavité (Fig. 2, 4). Ces deux transformations s'effectuent grâce à des divisions tangentielles des cellules et s'accompagnent d'une croissance importante du nodule qui commence à faire saillie à l'extérieur en repoussant l'ectoderme (Fig. 1, 4).

La larve, maintenant âgée de 2 jours et demi, est une jeune calyconula.

La calyconula.

Pendant les quatre à cinq jours suivants, la jeune calyconula se transforme en une larve calyconula typique. Cette évolution est caractérisée par la croissance considérable de la cloche natale et par la différenciation du gastrozoïde primaire et de son filament pêcheur.

a) Transformation de la jeune calyconula.

Cette larve (Fig. 1, 5 ; Pl. I, 1), mesurant 1 mm, se déplace sans cesse en tournant sur elle-même grâce aux battements des cils ectodermiques.

Le petit nodule médusaire de 0,1 mm, chez la larve âgée de 2 jours et demi, double rapidement de taille. Il est formé de cellules agencées en une assise bien individualisée et fait nettement saillie à l'extérieur (Fig. 2, 5). Il ne conserve qu'une petite zone de contact avec l'ectoderme superficiel, celle où se percera l'ostium. Ailleurs, il est entouré par la lame ombrellaire formée par l'endoderme secondaire.

Au-dessous de l'ébauche du nectophore, le filament pêcheur commence à bourgeonner sous forme d'une évagination de l'ectoderme doublé de l'endoderme définitif (Fig. 1, 5 ; Pl. I, 1).

On note, à ce stade, une nette régression des réserves de l'endo-

FIG. 2
Développement de *Lensia conoidea*.

1, 2, 3, 4 : formation d'un nodule médusaire chez une planula âgée de deux jours ; 5 : ébauche du nectophore larvaire d'une calyconula âgée de deux jours et demi ; 6 : nectophore larvaire d'une calyconula âgée de trois jours.

derme provisoire, mais sans que l'on puisse encore distinguer une cavité gastrique.

Au cours des heures suivantes, la cloche natatoire continue à grandir. La région supérieure de la future ombrelle croît plus rapidement que la région inférieure. Cela entraîne un changement dans l'orientation de la cloche dont l'axe devient parallèle à celui de l'ancienne planula (Pl. I, 2). A l'endroit où s'ouvrira l'ostium, l'ectoderme, formé de nombreuses petites cellules, paraît pluristratifié. Il est toujours cilié et riche en granules phloxinophiles. La lame ombrellaire forme une assise continue autour du nodule médusaire dans lequel se différencient des fibres musculaires circulaires (Fig. 2, 6).

Au niveau de l'insertion de la cloche sur le corps embryonnaire, bourgeonne un diverticule endodermique, le somatocyste (Pl. I, 2) dont la cavité est encore virtuelle.

L'endoderme primaire est de plus en plus réduit et une cavité gastrique nette apparaît dans la région ventrale (Fig. 1, 6) de la calyconula âgée de 3 jours.

Chez la larve âgée de 3 jours et demi environ (Pl. I, 3), les canaux radiaires sont bien visibles et on observe une modification importante, le percement de la cloche natatoire (Fig. 2, 6). La calyconula continue à se déplacer en tournant sur elle-même, grâce à sa ciliature ectodermique et, de temps à autre, la nage s'effectue maintenant par des contractions brusques de la cloche.

Au cours de la différenciation du nectophore larvaire, les réserves vitellines ont été peu à peu utilisées. Chez la calyconula âgée de 4 jours, il ne reste que quelques granules vitellins épars dans les derniers vestiges de l'endoderme provisoire. Alors s'ébauche la différenciation de la région moyenne et postérieure du corps embryonnaire en un gastrozoïde primaire qui devient fonctionnel quelques jours plus tard.

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

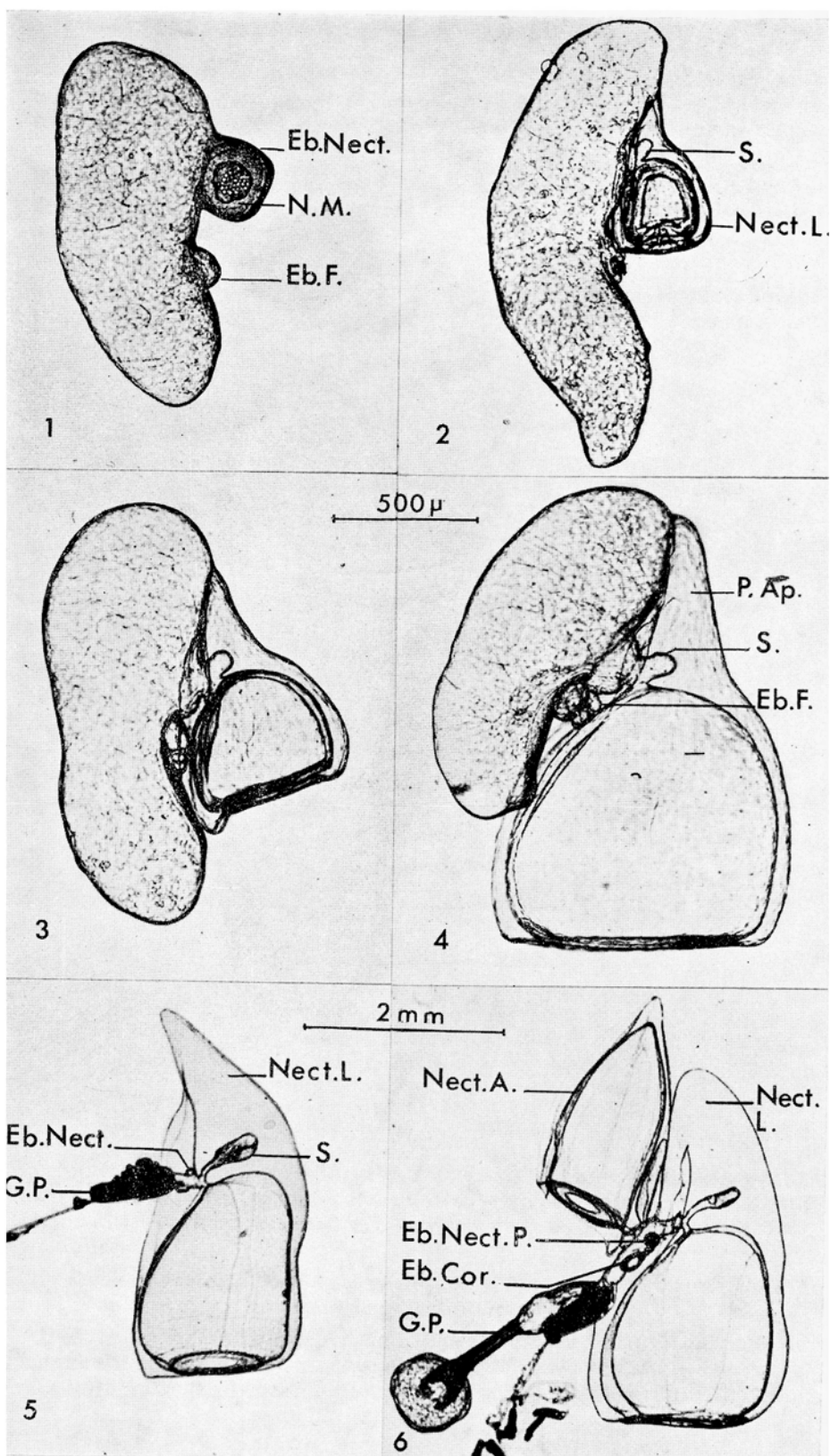
B.U. : bourrelet urticant ; Br. : bractée ; C.Br. : canal de la bractée ; C.G. : cavité gastrique ; C.M. : canal marginal ; C.Pn. : cavité définitive du pneumatophore ; C.Pr. : cavité primaire du pneumatophore ; C.R. : canal radiaire ; C.S.O. : cavité sous-ombrellaire ; Ch. : chitine ; Eb.Br. : ébauche des bractées ; Eb.C.G. : ébauche de la cavité gastrique ; Eb.Cor. : ébauche de la première cormidie ; Eb.F. : ébauche du filament pêcheur ; Eb. Nect. : ébauche du nectophore larvaire ; Eb.Nect.A. : ébauche du nectophore antérieur ; Eb.Nect. P. : ébauche du nectophore postérieur ; Eb.Pn. : ébauche du pneumatophore ; Ect. : ectoderme ; Ect.A. : ectoderme aérifère ; End. : endoderme secondaire ; End.P. : endoderme primaire ; F. : filament pêcheur ; F.M. : fibres musculaires ; G.P. : gastrozoïde primaire ; Gl.Sp.H. : cellules glandulaires spumeuses hypostomiales ; Gl.Sph.G. : cellules glandulaires sphéruleuses gastriques ; Gl.Sph.H. : cellules glandulaires sphéruleuses hypostomiales ; Go. : gonophore ; Gr. : granules ectodermiques phloxinophiles ; L.O. : lame ombrellaire ; M. : mésogée ; Nect.A. : nectophore antérieur ; Nect.L. : nectophore larvaire ; Ném. : nématocyste ; N.M. : nodule médusaire ; O. : ostium ; Oe. : œuf ; P.Ap. : processus apical ; Pn. : pneumatophore ; Pig. : pigment ; S. : somatocyste ; T. : tentille.

PLANCHE I

Lensia conoidea.

Vue latérale droite d'une calyconula :

1 : âgée de deux jours et demi ; 2 : âgée de trois jours ; 3 : âgée de trois jours et demi ; 4 : âgée de quatre jours ; 5 : âgée de dix jours ; 6 : âgée de trois semaines.



Toute la paroi du gastrozoïde est didermique (Fig. 3), ses deux feuillets étant séparés par une mince couche de mésoglée. Les structures de l'ectoderme et de l'endoderme sont variables suivant la région considérée.

Dans la région buccale, l'ectoderme est peu épais, cilié ; l'endoderme, fortement cilié, est formé de cellules hautes parmi lesquelles on distingue des cellules spumeuses hypostomiales, des cellules sphéruleuses hypostomiales et des cellules sphéruleuses gastriques.

Dans la région moyenne du gastrozoïde, l'ectoderme reste mince sur la face dorsale, mais, ventralement, sous la zone d'insertion du

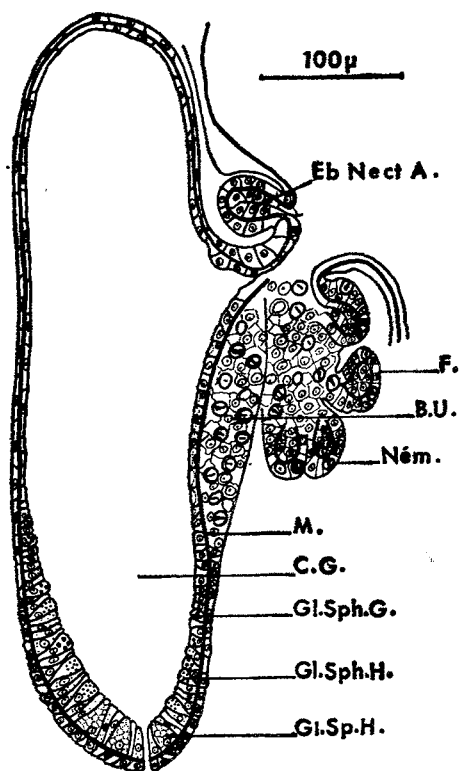


FIG. 3
Coupe longitudinale dans le gastrozoïde primaire
d'une calyconula de *Lensia conoidea* âgée de six jours.

nectophore, il forme un bourrelet très épais au sein duquel, à partir du cinquième jour, se différencient les premiers nématocystes. Cette région du bourrelet urticant est doublée d'un endoderme mince, très vacuolisé.

Dans la région aborale du gastrozoïde, l'ectoderme et l'endoderme sont réduits à deux minces assises cellulaires.

A la fin de sa différenciation, le gastrozoïde mesure 0,9 mm de longueur. Il se présente comme un petit diverticule de la cloche natatoire qui s'est considérablement développée et mesure 3,5 mm

de hauteur (Pl. I, 5). Le somatocyste a envahi le processus apical du nectophore. Il est creusé d'une cavité en relation avec la cavité gastro-vasculaire (Fig. 2, 5).

A la base du gastrozoïde, le filament pêcheur s'est allongé et a bourgeonné des tentilles.

b) Chute du nectophore larvaire.

Le nectophore larvaire est réuni au gastrozoïde par un petit axe didermique creux, première ébauche du stolon (Pl. I, 5). C'est sur cet axe que se développent les cloches natatoires adultes successives et les cormidies.

La première de ces ébauches est un petit bourgeon qui apparaît chez la calyconula âgée d'une dizaine de jours (Pl. I, 5).

Ce bourgeon est à l'origine du nectophore antérieur. Son développement est d'abord lent, puis très rapide. Chez la larve âgée de 21 jours on observe un nectophore antérieur de 2,2 mm, situé en position supérieure par rapport à la cloche natatoire larvaire et pourvu d'un somatocyste digitiforme (Pl. I, 6).

Nous n'avons pas pu poursuivre les élevages de *Lensia conoidea* au-delà de ce stade. Toutefois, nous avons trouvé, dans le plancton, des larves plus âgées possédant un nectophore antérieur plus grand que la cloche larvaire. Cette dernière est caduque et est remplacée, chez les larves arrivées au terme de leur développement, par le deuxième nectophore adulte qui est dépourvu de somatocyste et se forme en position inférieure par rapport au premier. En même temps, le stolon, dans sa région distale, bourgeonne des cormidies et on observe, à ce stade, deux gastrozoïdes bien développés.

On a alors un stade polygastrique typique, avec ses deux cloches natatoires et un stolon qui continuera à s'allonger par acquisition de nouvelles cormidies.

Conclusions.

L'observation du développement de *Lensia conoidea* et l'étude histologique des différents stades larvaires nous amènent aux conclusions suivantes :

1. la segmentation de l'œuf totale et égale, conduit à une morula vraie ;
2. la gastrulation s'effectue par délamination morulaire ;
3. la gastrula se transforme en une planula en subissant deux différenciations :
 - l'apparition de cils ectodermiques qui lui permettent de nager,
 - la formation des premières cellules de l'endoderme définitif ;
4. l'endoderme secondaire forme une calotte continue sur une face de la planula. Dans cette zone, l'ectoderme prolifère et isole un petit nodule médusaire. La larve prend alors le nom de calyconula ;

5. au cours du développement de la calyconula on observe :
 - la croissance de la cloche natatoire qui acquiert quatre canaux radiaires, un canal marginal, un somatocyste creux endodermique et qui se perce d'un ostium ;
 - une régression de l'endoderme primaire qui se creuse d'une cavité gastrique et la différenciation des régions moyenne et postérieure de la planula en un gastrozoïde primaire ;
6. le court stolon réunissant la cloche natatoire larvaire au gastrozoïde bourgeonne le nectophore antérieur et des cormidies ;
7. lorsque le nouveau nectophore est bien développé, la cloche natatoire larvaire tombe et un second nectophore apparaît en position inférieure par rapport au premier.

DÉVELOPPEMENT DE FORSKALIA EDWARDSI.

L'œuf et la segmentation.

Forskalia edwardsi est un Physonecte dont le stolon peut atteindre 2 à 3 m de longueur. On le rencontre parfois, pendant le mois d'avril, dans les eaux superficielles de la rade de Villefranche-sur-Mer.

Les éléments reproducteurs sont groupés en gonodendrons qui sont formés par l'association, sur un même pédoncule, de 3 à 4 palpons, d'une grappe dense de gonophores femelles et, distalement, d'une dizaine de gonophores mâles.

Chaque gonophore femelle est sphérique, de 420 μ de diamètre. Il est formé par une petite méduse dont toute la cavité sous-ombrelle est occupée par un œuf unique, volumineux, de 370 μ de diamètre, qui s'est développé au sein du manubrium. Au moment de la ponte, l'œuf traverse l'ostium et est libéré dans l'eau de mer.

Les gonophores mâles sont opaques, allongés, de 3 mm de longueur.

Les œufs mis en élevage ont été recueillis le matin, sitôt après leur ponte. La segmentation a débuté 8 à 10 heures plus tard.

Le premier plan de clivage partage l'œuf en 2 blastomères restant unis par un pédoncule cytoplasmique. Puis les 2 blastomères se rapprochent avant que ne s'ébauche le deuxième plan de clivage qui apparaît au même pôle que le premier, trente minutes après le début de la segmentation. La troisième division est équatoriale.

Les divisions sont régulières jusqu'au stade 16. Ensuite, le synchronisme des mitoses disparaît, ce qui entraîne une disposition anarchique des blastomères. Ceux-ci, 12 heures après la ponte, constituent un massif cellulaire plein, d'aspect bosselé : une morula vraie. Dès ce stade, la larve a perdu sa forme sphérique, elle est ovoïde, de 400 μ de longueur.

La gastrula.

La gastrulation s'effectue par délamination morulaire. Au cours de ce réarrangement cellulaire, se constituent une assise périphérique monostratifiée et un massif interne. L'assise périphérique est formée de petites cellules plates possédant quelques granules phloxinophiles. Elle forme l'ectoderme de la gastrula. Le massif interne est composé de grandes cellules bourrées de vitellus et à gros noyaux. Ce sont les cellules de l'endoderme primaire.

Le stade gastrula est très fugitif. 24 heures après la ponte, les cristallisoirs contiennent de petites planulas de 500 μ de longueur, dont les cellules ectodermiques sont ciliées.

La planula.

a) *La jeune planula.*

La jeune planula âgée d'un jour nage en tournant sur elle-même grâce aux battements des cils ectodermiques. Sur la face interne de l'ectoderme, commence à apparaître l'endoderme définitif sous forme de quelques cellules localisées dans une même région de la larve, celle qui deviendra la face ventrale (Pl. II, 1).

Pendant les 2 jours suivants, d'autres cellules endodermiques se différencient et constituent peu à peu une assise continue sur toute la face ventrale.

b) *Transformation de la planula.*

C'est dans l'ectoderme ventral, doublé de l'endoderme secondaire, que s'observent, chez la planula âgée de 4 jours, les premières ébauches (Pl. II, 2). Dans la région antéro-ventrale, 5 à 6 cellules s'organisent en une coupe repoussant l'endoderme qui s'amincit (Fig. 4, 1). Ce petit nodule ne présente pas de cellules de recouvrement. Il paraît formé par l'ectoderme superficiel dont les noyaux, à cet endroit, semblent avoir émigré au pôle distal des cellules devenues plus hautes et agencées en éventail. Cette ébauche est la première étape de la formation du pneumatophore. Au même stade, sur la face ventrale, dans la région moyenne de la planula, l'ectoderme, toujours doublé de l'endoderme définitif, commence à s'évaginer en donnant l'ébauche des bractées larvaires. Plus postérieurement, apparaît une autre évagination ecto-endodermique qui correspond au bourgeon du filament pêcheur. Dans l'endoderme de cette ébauche, s'observe la différenciation des premiers nématoblastes fortement colorables par le vert lumière.

Chez la larve âgée de 5 jours, l'ébauche du pneumatophore s'est enfoncée, repoussant de plus en plus l'endoderme secondaire (Fig. 4, 2). Elle se présente alors comme une sphère d'une dizaine de cellules et garde une petite zone de contact avec l'extérieur. Tout autour de cette zone, elle est recouverte par l'ectoderme ventral tandis que, du côté interne, une mince assise d'endoderme l'enveloppe. Au-dessous du pneumatophore, l'évagination des bractées larvaires et celle du filament

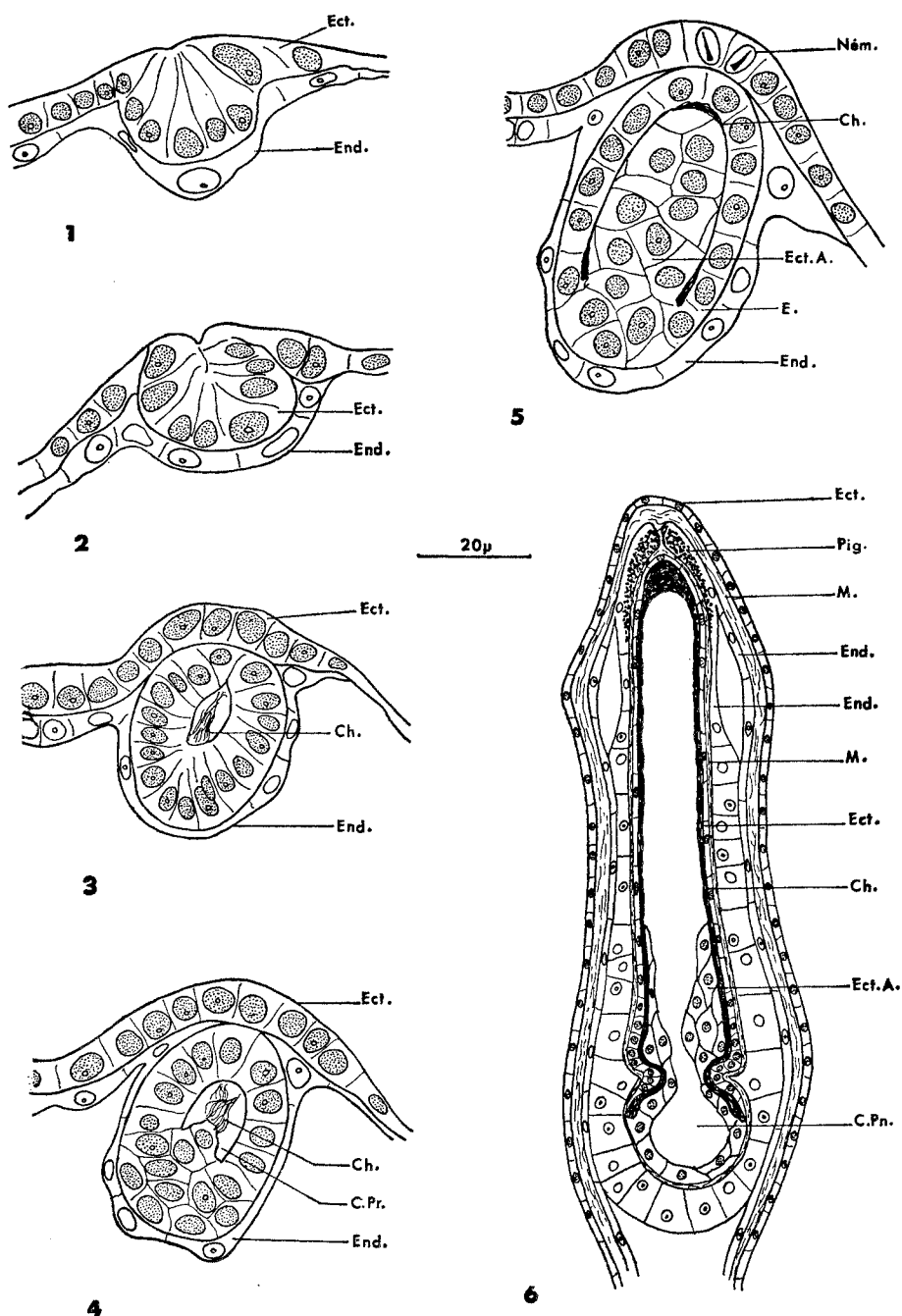
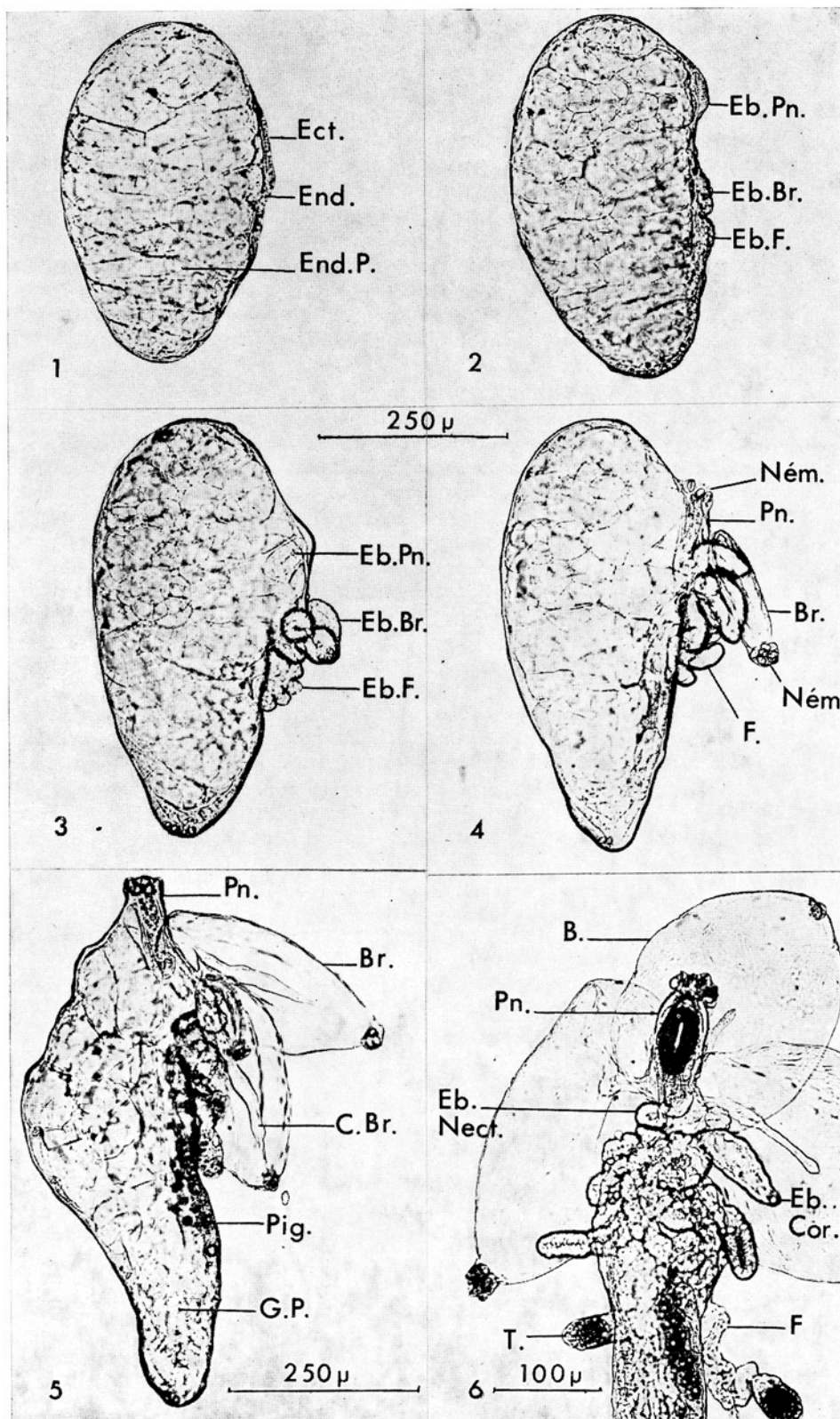


FIG. 4

Développement de *Forskalia edwardsi*.

1, 2, 3 : premiers stades de la différenciation du pneumatophore ; 4 : ébauche du pneumatophore d'une larve âgée de six jours ; 5 : ébauche du pneumatophore d'une larve âgée de sept jours ; 6 : ébauche du pneumatophore d'une siphonula âgée de quatorze jours.



pêcheur se poursuivent. On note, à ce stade, une nette régression de l'endoderme primaire et l'apparition d'une cavité gastrique située ventralement.

Au cours des 24 heures suivantes, le pneumatophore fait légèrement saillie à l'extérieur en repoussant l'ectoderme ventral qui le recouvre maintenant entièrement (Pl. II, 3). La cavité primaire se creuse au sein des cellules du nodule ectodermique agencées en une assise monostratifiée (Fig. 4, 3). On note, à ce stade, les premiers dépôts de chitine, sous forme de fibres enchevêtrées, dans la cavité primaire. Puis, une à deux cellules de la région basale du pneumatophore se divisent et sont à l'origine d'un petit massif cellulaire (Fig. 4, 4). Chez cette larve âgée de 6 jours (Pl. II, 3), les bractées, au nombre de trois, se présentent encore comme de simples replis externes de la paroi ventrale de la planula. Elles sont dépourvues de mésoglée et montrent, dans leur région distale, des nématoblastes en formation dans l'endoderme. Au-dessous des bractées, l'ébauche du filament pêcheur a perdu sa forme sphérique et présente plusieurs digitations dans lesquelles s'observent aussi de gros nématoblastes. Au pôle postérieur de la planula, on trouve encore des cellules urticantes localisées dans l'ectoderme qui est formé de cellules hautes. Dans cette région, l'endoderme est très épais.

Agée de 7 jours, la planula mesure encore 560 μ de longueur et elle diffère de celle décrite au stade précédent. Seule, l'ébauche du pneumatophore a évolué (Fig. 4, 5). Les cellules du petit massif basal ont proliféré, envahissant peu à peu toute la cavité primaire. Les dépôts de chitine, refoulés par cette poussée, sont agencés en une couche fine, continue, en forme de calotte, qui sépare, dans le nodule, une assise périphérique et un ectoderme aérifère.

Au cours des heures suivantes, la larve grandit et sa longueur atteint rapidement 600 μ . L'ébauche du pneumatophore fait de plus en plus saillie à l'extérieur, repoussant l'ectoderme superficiel et entraînant l'endoderme secondaire (Pl. II, 4). Cette larve, obtenue 8 jours après la fécondation des œufs, prend le nom de siphonula.

La siphonula.

La jeune siphonula évolue en quelques jours en une larve siphonula achevée, apte à bourgeonner des cormidies et des cloches nataires. Cette évolution, très rapide, est caractérisée par l'achèvement du pneumatophore, la croissance des ébauches des bractées larvaires et la différenciation du corps embryonnaire en un gastrozoïde primaire pourvu d'un filament pêcheur.

PLANCHE II

Forskalia edwardsi.

Vue latérale droite d'une planula :

1 : âgée de deux jours ; 2 : âgée de quatre jours ; 3 : âgée de six jours ; 4 : âgée de huit jours ; 5 : vue d'une siphonula âgée de neuf jours et demi ; 6 : vue de la région antérieure d'une siphonula âgée de quatorze jours.

a) *ACHÈVEMENT DU PNEUMATOPHORE.*

Chez la siphonula, le pneumatophore n'est plus inclus dans la larve, mais fait saillie à l'extérieur. D'abord ventral, il devient apical du fait de la régression du pôle antérieur de l'ancienne planula (Pl. II, 5). Il mesure 160 μ chez la siphonula âgée de 14 jours (Pl. II, 6 ; Fig. 4, 6) et est limité, extérieurement, par l'ectoderme général qui a formé peu à peu une enveloppe en doigt de gant autour de l'ébauche du pneumatophore. L'endoderme ventral de la planula a suivi, à ce niveau, la même évolution que le feuillet ectodermique et constitue la deuxième assise du pneumatophore. Cette assise est accolée à une autre lame d'endoderme définitif, celle qui, depuis le début de sa formation, enveloppe le nodule d'ectoderme interne. Ce nodule est toujours différencié en deux zones, séparées par la calotte de chitine. La zone interne, ou ectoderme aérifère, est formée par une quinzaine de grandes cellules polygonales, granuleuses, qui possèdent de gros noyaux présentant un ou, plus souvent, deux nucléoles. C'est au sein de ces cellules que se forme la cavité définitive du pneumatophore. Il apparaît d'abord des méats entre les cellules qui ne se divisent plus, tandis que le pneumatophore continue à croître. Ces méats confluent et bientôt les cellules de l'ectoderme aérifère sont groupées en un petit amas à la base du flotteur, tandis que tout le reste de la cavité limitée par l'assise de chitine est rempli de gaz.

b) *DÉVELOPPEMENT DES BRACTÉES.*

Chez la siphonula, les bractées perdent leur aspect digitiforme et deviennent de grandes expansions foliacées (Pl. II, 5 et 6). Au terme de leur croissance, les bractées larvaires mesurent 400 à 500 μ de longueur. Elles possèdent un ectoderme très mince, séparé du canal endodermique par une épaisse couche de mésoglée. Ce sont des formations caduques ; après leur chute, les bractées définitives de la colonie apparaissent.

c) *DIFFÉRENCIATION DU GASTROZOÏDE PRIMAIRE ET DE SON FILAMENT PÊCHEUR.*

Le pôle antérieur du corps embryonnaire régresse peu à peu tandis que la région moyenne et le pôle postérieur se différencient en un gastrozoïde primaire (Pl. II, 5). En coupe histologique, on observe dans l'endoderme des cellules spumeuses hypostomiales et des cellules sphéruleuses. Dans la région ventrale du gastrozoïde, sous la zone de bourgeonnement des bractées, l'ectoderme présente une pigmentation rouge et des granules réfringents.

L'ébauche du filament pêcheur se développe en même temps que le gastrozoïde primaire. Elle s'allonge en une formation ecto-endodermique très contractile sur laquelle apparaissent de petits mamelons qui sont à l'origine des tentilles (Pl. IV, 6). Celles-ci sont formées par un pédoncule terminé par une tête urticante.

d) *FORMATION DE LA PREMIÈRE CORMIDIE.*

Elle apparaît au-dessous de la zone d'insertion des bractées larvaires, aux dépens d'un bourgeon formé par évagination de la paroi.

Ce bourgeon donne d'abord naissance à un gastrozoïde et à son filament pêcheur (Pl. II, 6).

e) *Bourgeonnement des cloches natatoires.*

Chez la siphonula âgée, la région de la larve située sous le pneumatophore s'allonge peu à peu en un axe creux, didermique, qui est le stolon de la jeune colonie. Le long de ce stolon et sur une seule génératrice, apparaissent les ébauches des cloches natatoires (Pl. II, 6).

Les élevages de *Forskalia edwardsi* nous ont permis d'obtenir de jeunes colonies possédant seulement des ébauches de cloches natatoires, mais nous avons rencontré, dans les échantillons de plancton du mois de juin, des exemplaires plus âgés, présentant une ou deux petites cloches bien différenciées.

Conclusions.

L'étude du développement de *Forskalia edwardsi* nous amène aux conclusions suivantes :

- 1) la segmentation de l'œuf, totale, égale, conduit à une morula vraie ;
- 2) la gastrulation s'effectue par délamination morulaire ;
- 3) la gastrula se transforme en planula, en subissant deux transformations :
 - l'apparition d'une ciliature ectodermique,
 - la formation des premières cellules de l'endoderme secondaire ;
- 4) sur la face ventrale et antérieurement, un nodule ectodermique interne, première ébauche du pneumatophore, s'isole. Au-dessous de cette ébauche commencent à bourgeonner les bractées larvaires et le filament pêcheur. La larve porte alors le nom de siphonula ;
- 5) le développement de la siphonula se caractérise par :
 - la croissance du pneumatophore qui s'extériorise et devient apical ;
 - le développement des ébauches des bractées larvaires ;
 - la différenciation des régions moyenne et postérieure du corps embryonnaire en un gastrozoïde primaire et le bourgeonnement de tentilles sur le filament pêcheur ;
- 6) chez la siphonula arrivée au terme de sa croissance, les bractées larvaires tombent, la région de la larve située sous le pneumatophore s'allonge en un axe creux : le stolon, sur lequel apparaissent les ébauches des premières cloches natatoires et des premières cormidies ;
- 7) le nectophore se développe et devient fonctionnel. A ce stade le développement larvaire de *Forskalia edwardsi* est achevé : on a alors une jeune colonie qui continuera à s'allonger en bourgeonnant de nouvelles cloches natatoires et de nouvelles cormidies.

DISCUSSION.

Jusqu'au stade planula, les développements de *Lensia conoidea* et de *Forskalia edwardsi* présentent les mêmes modalités, que Dawydoff (1928) a étendues à l'ensemble des Siphonophores.

Après ce stade, la différenciation conduit, chez *Lensia conoidea*, à une larve calyconula possédant une cloche natatoire larvaire et, chez *Forskalia edwardsi*, à une siphonula pourvue d'un pneumatophore et de bractées larvaires.

Plusieurs auteurs, notamment Chun et Woltereck, ont tenté d'établir une homologie entre la cloche natatoire larvaire des Calycophores et le pneumatophore des Physonectes.

Dawydoff, s'appuyant sur l'étude histologique de la formation du flotteur d'*Agalma elegans*, faite par Woltereck (1905), pense que ce flotteur provient d'un nodule médusaire qui se creuse d'une grande cavité — homologue de la cavité sous-ombrelle des Hydroméduses — au sein de laquelle fait saillie une formation conique qu'il considère comme l'équivalent morphologique d'un manubrium. Ce manubrium envahit peu à peu toute la cavité, puis régresse, la masse centrale de ses cellules se détruisant avec production de gaz.

L'étude du développement de *Forskalia edwardsi* permet de revoir cette interprétation de Dawydoff.

Le terme de nodule médusaire, qui désigne une structure particulière comme celle décrite, par exemple, dans l'étude du développement de la cloche natatoire de *Lensia conoidea* (Fig. 3, 1 et 2), ne convient pas pour désigner la première ébauche du pneumatophore (Fig. 4, 1 et 2). Dans ce cas, en effet, un petit massif de cellules ectodermiques s'isole, mais ce massif est d'abord externe, ne présentant pas de cellules de recouvrement, contrairement à ce qui est observé au cours de la différenciation de la cloche natatoire larvaire de *Lensia conoidea*. D'autre part, de la chitine est sécrétée par l'ectoderme du pneumatophore. Or, on sait que chez les Hydraires, les formations chitineuses sont toujours produites par de l'ectoderme externe. Ce fait est un argument en faveur des observations précédentes quant à la nature ectodermique externe de la première ébauche du pneumatophore.

Par ailleurs, au sein de cette ébauche, se développe une cavité et, comme l'indique Dawydoff, « la paroi du fond de cette cavité forme un épaississement conique » qui la remplit peu à peu (Fig. 4, 5). Mais cette formation est uniquement ectodermique, ce qui la différencie du manubrium d'une Hydroméduse.

Par leur origine, par leur structure, la cloche natatoire larvaire des Calycophores et le pneumatophore des Physonectes apparaissent donc comme deux structures particulières entre lesquelles il semble hasardeux d'établir des homologies. Quelques auteurs ont été amenés à la même conclusion mais, selon eux, le nectophore larvaire des

Calycophores et le pneumatophore des Physonectes ne peuvent être homologues car ils apparaissent dans des régions embryonnaires différentes. Après l'étude de *Forskalia edwardsi*, il est difficile de retenir cet argument.

D'autres auteurs, notamment Moser (1925) ont homologué la cloche natatoire larvaire des Calycophores à la bractée des Physonectes car ces deux organes naissent ventralement. L'étude histologique du mode de formation des bractées, très différent de celui d'une cloche natatoire, n'appuie pas cette opinion. D'autre part, la présence d'une bractée larvaire chez le Siphonophore Calycophore *Abylopsis tetragona* dont le développement a été étudié récemment (C. Carré, 1967) fait repartir sur des bases nouvelles la discussion de Moser, et permet aussi de reconsidérer l'hypothèse émise par Garstang (1946), selon laquelle la bractée larvaire des Physonectes, dégénérissante, aurait été incorporée au nectophore larvaire des Calycophores pour former le processus apical avec son somatocyste.

CONCLUSION.

Cette étude a permis d'observer des différences entre les premiers stades du développement du pneumatophore de *Forskalia edwardsi* et ceux de la cloche natatoire larvaire de *Lensia conoidea*.

Toutefois, les deux ébauches étant constituées par un très petit nombre de cellules, les différences notées sont fines et il serait utile d'entreprendre l'étude histologique du développement d'autres Siphonophores, avant de pouvoir généraliser ces résultats.

Summary

Larvae of the Siphonophore Calycophore *Lensia conoidea* and of the Siphonophore Physonecte, *Forskalia edwardsi* were hatched and reared in the laboratory. Larval development in both species was observed in living specimens, and by studying histological sections.

Development is similar in both organisms until the planula stage. During the latter, different larval buds appear on the ventral surface.

In *Lensia conoidea*, a typical calyconula is finally produced by differentiation of a caducous larval swimming bell, while in *Forskalia edwardsi*, a pneumatophore and larval bracts are formed.

The swimming bell in *Lensia conoidea* and the pneumatophore in *Forskalia edwardsi* appear in the same antero-ventral region of the planula but their modes of formation differ. The swimming bell develops from a medusal nodule; the pneumatophore originates in a precocious invagination of some of ectodermal cells.

Current interpretations of the genesis and structure of larval organs in Siphonophores, and of homologies among these organs, are discussed in the light of this study.

Zusammenfassung

Es ist gelungen die Larven von *Lensia conoidea*, Siphonophoren der Familie Calyphorae, sowie diejenigen von *Forskalia edwardsi*, Siphonophoren der Familie Physonectae im Laboratorium aufzuzüchten. Die Entwicklung der Larven wird in beiden Arten auf Grund der Lebendbeobachtung und des Studiums histologischer Präparate beschrieben.

Die Embryonalentwicklung der beiden Arten ist dieselbe bis zum Planulastadium; nachher treten ventral verschiedene larvale Knospen auf.

Bei *Lensia conoidea* entwickelt sich eine typische Calyconula durch die Differenzierung einer temporären larvalen Schwimmglocke, während sich bei *Forskalia edwardsi* ein Pneumatophor und larvale Deckblätter bilden.

Die Schwimmglocke von *Lensia conoidea* und der Pneumatophor von *Forskalia edwardsi* bilden sich in derselben anteroventralen Region der Planula, aber die Modalität ihrer Morphogenese ist von Anfang an verschieden. Die Schwimmglocke entwickelt sich aus einem Medusenknoten, während der Pneumatophor aus einer sehr früh gebildeten Invagination einiger ektodermaler Zellen hervorgeht.

Diese Untersuchung führt zur Diskussion der bisherigen Deutungen des Entwicklungsmodus, der Struktur der larvalen Organe der Siphonophoren, sowie der möglichen Homologie dieser Organe.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- CARRÉ, C., 1967. — Etude du développement larvaire d'*Abylopsis tetragona* Otto, 1823 (Siphonophore, Calyphore, Abylidae). *Cah. Biol. Mar.*, VIII, pp. 185-193.
- CHUN, C., 1882. — Über die cyclische Entwicklung und die Verwandtschaftsverhältnisse der Siphonophoren. *S.B. preuss. Akad. Wiss.*, pp. 1155-1172, 1 pl.
- CLAUS, C., 1863. — Neue Beobachtungen über Struktur und Entwicklung der Siphonophoren. *Zeit. wiss. Zool.*, 12, pp. 536-563, 2 pl.
- DAWYDOFF, C., 1928. — Traité d'Embryologie comparée des Invertébrés. *Paris (Masson)*, 930 p., 509 text-fig.
- 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 (2), pp. 103-193.
- GEGENBAUR, C., 1853 b. — Beiträge zur näheren Kenntniss der Schwimmpolypen (Siphonophoren). *Zeit. Wiss. Zool.*, 5, pp. 285-344, 3 pl.
- LELOUP, E., 1954. — A propos des Siphonophores. *Volume jubilaire Victor van Straelen, Bruxelles*, 2, pp. 643-699.
- LOCKMANN, L., 1914. — Zur Entwicklungsgeschichte der Siphonophoren. *Zeit. Wiss. Zool.*, 108, pp. 258-289, 1 pl.
- METSCHNIKOFF, E., 1874. — Studien über die Entwicklung der Medusen und Siphonophoren. *Zeit. Wiss. Zool.*, 24, pp. 15-83, 10 pl.
- RUSSEL, F.S., 1938. — On the development of *Muggiaea atlantica* Cunningham. *J. Mar. biol. Ass. U.K.*, 22, pp. 441-446, 6 fig.
- TOTTON, A.K., 1965. — A synopsis of the Siphonophora. *Trustees of the Brit. Museum, London*, 227 pp., 40 pl.
- WOLTERECK, R., 1905. — Bemerkungen zur Entwicklung der Narcomedusen und Siphonophoren. II. *Verh. Deutsch. Zool. Ges.*, pp. 106-122.
- WOLTERECK, R., 1905 a. — Beiträge zur Ontogenie und Ableitung des Siphonophorenstocks mit einem Anhang zur Entwicklungsphysiologie der Agalmiden. III. *Zeit. wiss. Zool.*, 82, pp. 611-637, fig. 1-21.

STUDY ON THE LARVAL DEVELOPMENT
OF TWO SIPHONOPHORES:
LENSIA CONOIDEA (CALYCOPHORAE) AND
FORSKALIA EDWARDSI (PHYSONECTAE).

Daniëlle Carré

Cahiers de Biologie Marine **8**, 233-251; 1967

Summary

The larval developments of the calycophoran siphonophore *Lensia conoidea* and the physonect siphonophore *Forskalia edwardsi* have been obtained in culture. They are described based on some observations made on the living animals and on histological sections.

These two developments are similar up to the planula stage whose ventral face buds off the different larval buds.

In *Lensia conoidea*, this budding gives rise to a typical calyconula by the differentiation of a caducous larval nectophore.

In *Forskalia edwardsi* the course of development is characterised by the formation of a pneumatophore and of larval bracts.

The nectophore of *Lensia conoidea* and the pneumatophore of *Forskalia edwardsi* appear in the same antero-ventral region of the planula but their mode of formation differs right from the start. The nectophore is developed beginning with a medusoid nodule, while the pneumatophore has its origins in a precocious invagination of some ectodermal cells.

This study has allowed a discussion of the interpretations given previously, with regard to the mode of formation, and the structure of the different larval organs of siphonophores and the possible homologies between these organs.

INTRODUCTION

We have studied, in culture, the larval developments of a calycophoran siphonophore, *Lensia conoidea* (Keferstein and Ehlers, 1860) and a physonect siphonophore, *Forskalia edwardsi* Kölliker, 1853.

The larvae have been fixed at various stages of their development in order to allow us to complete, by a histological study, the observations made on the living organisms.

It seems to us that the knowledge of the formation of some different structures of siphonophores, amongst others the pneumatophore, bracts and nectophores, can help to comprehend the adult colony and the phylogeny of siphonophores.

Collection of material and culture

In springtime, with a maximum in the month of March, the plankton net collections in the rade of Villefranche-sur-Mer, contain mature eudoxids of *Lensia conoidea*. The male and female eudoxids have been isolated into Petri dishes with plenty of seawater. The eggs, as soon as they are released (less than a day after capture, in general) have been placed in clean seawater and fertilised by laceration of a mature male gonophore.

Throughout the duration of development, the Petri dishes have been maintained in a chilled chamber (13°C) on a rocking table. The seawater has been

renewed constantly and the unicellular algae (*Dunaliella*, *Isochrysis*), then some nauplii of *Artemia*, have served to nourish the larvae.

Specimens of *Forskalia edwardsi* have been collected during the month of April, at the surface or at shallow depths. They can be maintained in a good state in a chilled chamber (14°C) as far as the liberation of the eggs and spermatozoa.

The culture of the planulae, then the larvae of *Forskalia edwardsi* has been in all ways identical to that described for *Lensia conoidea*.

Techniques utilised

Observations on the living organism: The different stages of segmentation and of larval development have been followed under the microscope. These observations have been facilitated by the only slight opacity of the material.

Histological techniques: The different larval stages, fixed after anaesthetising with isotonic magnesium chloride in seawater, have undergone double celluloid-paraffin inclusion, then have been cut up into serial sections of 5 µm thickness.

The histological stains mostly used have been: trioxo-haematin-phyloxin-light green, Gabe's fuchsin paraldehyde, Azan, Masson's trichromic [?].

DEVELOPMENT OF *LENSIA CONOIDEA*

The egg and segmentation.

The eudoxid of *Lensia conoidea* is relatively large (7 mm) and carries only a single well developed gonophore, either male or female (Fig. 1, 1). The eggs, 8 to 10 in number, are released simultaneously. They are transparent, voluminous (500 to 550 µm in diameter) and have been maintained in copious water. In section, they show a thin cortical zone, rich in phloxinophilic granules, surrounding a mass of vitelline granules included within small vacuoles. The nucleus generally is pushed out to the periphery.

The time between the fertilisation of the egg and the start of its segmentation varies from a few to twelve hours at a water temperature of 13°C.

The first segmentation begins at one of the poles and progresses toward the other pole dividing the egg in two parts united only by a very thin bridge of cytoplasm (Fig. 1, 2). Then the two blastomeres, of practically equal size, approach each other and join together before the appearance of the second groove of segmentation. This originates at the same pole as the first and, in the majority of eggs observed, in a plane that is not quite perpendicular to the first plane of cleavage.

Thirty minutes after the start of segmentation, one observes, following a plane perpendicular to its predecessors, the third division which leads to two quartets of approximately superimposed blastomeres.

The divisions continue, always with a rapid rhythm, but, at the beginning of the 16 blastomere stage, they become difficult to follow in detail.

This total and equal segmentation leads, a day after fertilisation, to a true morula of 550 µm diameter, slightly ovoid, with a bunched appearance.

The gastrula

Gastrulation is effected by secondary delamination. At the end of this cellular rearrangement, the morula is transformed into a gastrula in which one distinguishes some flattened peripheral cells, of small size and rich in phloxinophilic granules, that constitutes the ectoderm and, in the middle, a mass of large cells packed with vitellus, possessing some very large nuclei. This central mass is the provisional or primary endoderm.

The planula.

At the end of gastrulation, the larva has become definitely bipolar; it has acquired a uniformly ciliated exterior.

This larva, two days old, which swims actively, is a planula.

a) *The young planula.*

The young planula, 800 μm in length, is transparent. The primary endoderm is well represented. Its nuclei are rounded, very rarely pycnotic and often grouped into twos or fours.

This stage is of short duration and, after two to three hours, the definitive endoderm appears which is disposed against the internal face of the ectoderm in the form of small islets of a few cells. In the region that will become the ventral region of the calyconula, definitive endodermal formations are more important and constitute a cap carpeting the whole of the ectoderm (Fig. 1, 3).

Observations on groups of primary endodermal nuclei and the great resemblance that exists between these nuclei and those of the definitive endoderm, lead us to think, like Dawydoff (1928), that the definitive endoderm is derived from the provisional endoderm or some outlines are contained within the latter.

b) *Transformation to the planula.*

In the living organisms, one observes under the microscope, on the ventral side, a more and more marked opacity of cellular material. In this zone, the endodermal cells are clearly individualised and organised into a monostriated lamella which doubles the ectoderm. It is in the anterior region of this zone that the larval nectophore is budded in the form of a slight swelling which pushes back the endoderm.

Some larvae of *Lensia conoidea* have been fixed at different stages of the development of the larval nectophore and have been the object of a histological study that has allowed us to follow in more detail the mode of formation and the evolution of the medusoid nodule.

At the start, a small number of ectodermal cells, a dozen at maximum, enter into division (Fig. 2, 1). They form a mass of cells grouped in a disorderly fashion with nevertheless a greater density of nuclei in the deeper region of the bud which is not able to project to the exterior but pushes back the secondary ectoderm.

During the following hours, the cells situated at depth continue to divide while the cells remaining at the surface show only exceptionally some forms of division. So it differentiates:

- a superficial layer resembling the ventral ectoderm of the planula (Fig. 2, 2).
- a full, hemispherical cellular mass in continuity with the preceding layer, formed of high cells and doubled, towards the interior, by a layer of secondary endoderm.

In the sequence of development (Fig. 2, 3), the continuity that exists between the superficial layer and the subjacent mass disappears. In short, at this level, the ectoderm has proliferated to form an internal cellular mass or medusoid nodule.

Once the ectoderm is isolated, the medusoid nodule undergoes a double evolution; hemispherical it becomes spherical and it is hollowed by a cavity (Fig. 2, 4). These two transformations are effected thanks to some tangential divisions of the cells and accompanied by an important growth of the nodule which begins to make a projection at the exterior by pushing back the ectoderm (Fig. 1, 4).

The larva, now 2.5 days old, is a young calyconula.

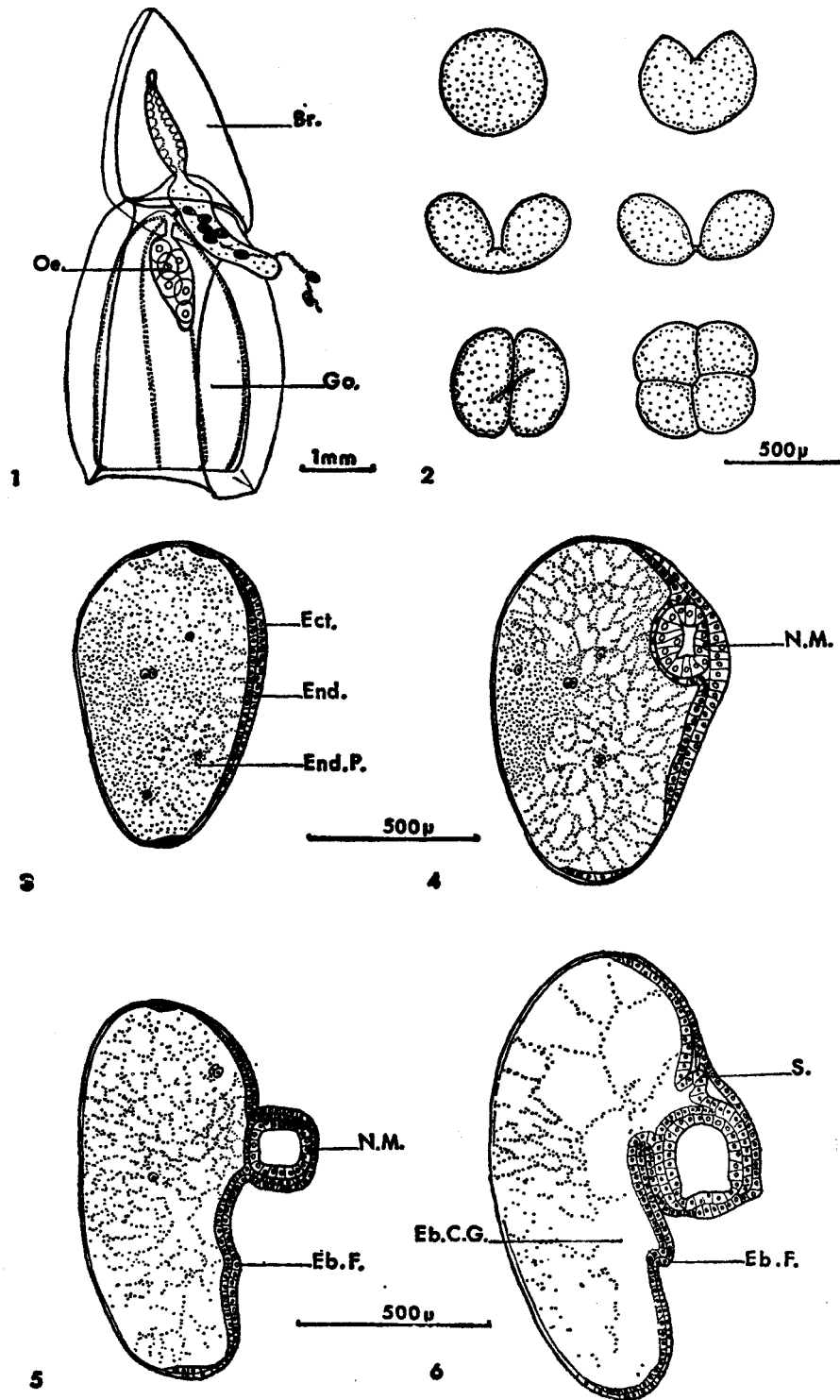


Fig. 1. Development of *Lensia conoidea*.

1: female eudoxid; 2: first stages of segmentation; 3: 2-day old planula in right lateral view; 4: 2-day old planula, in right lateral view, with a differentiating medusoid nodule; 5: 2½ day old calyconula, in right lateral view; 6: 3 day old calyconula, in right lateral view.

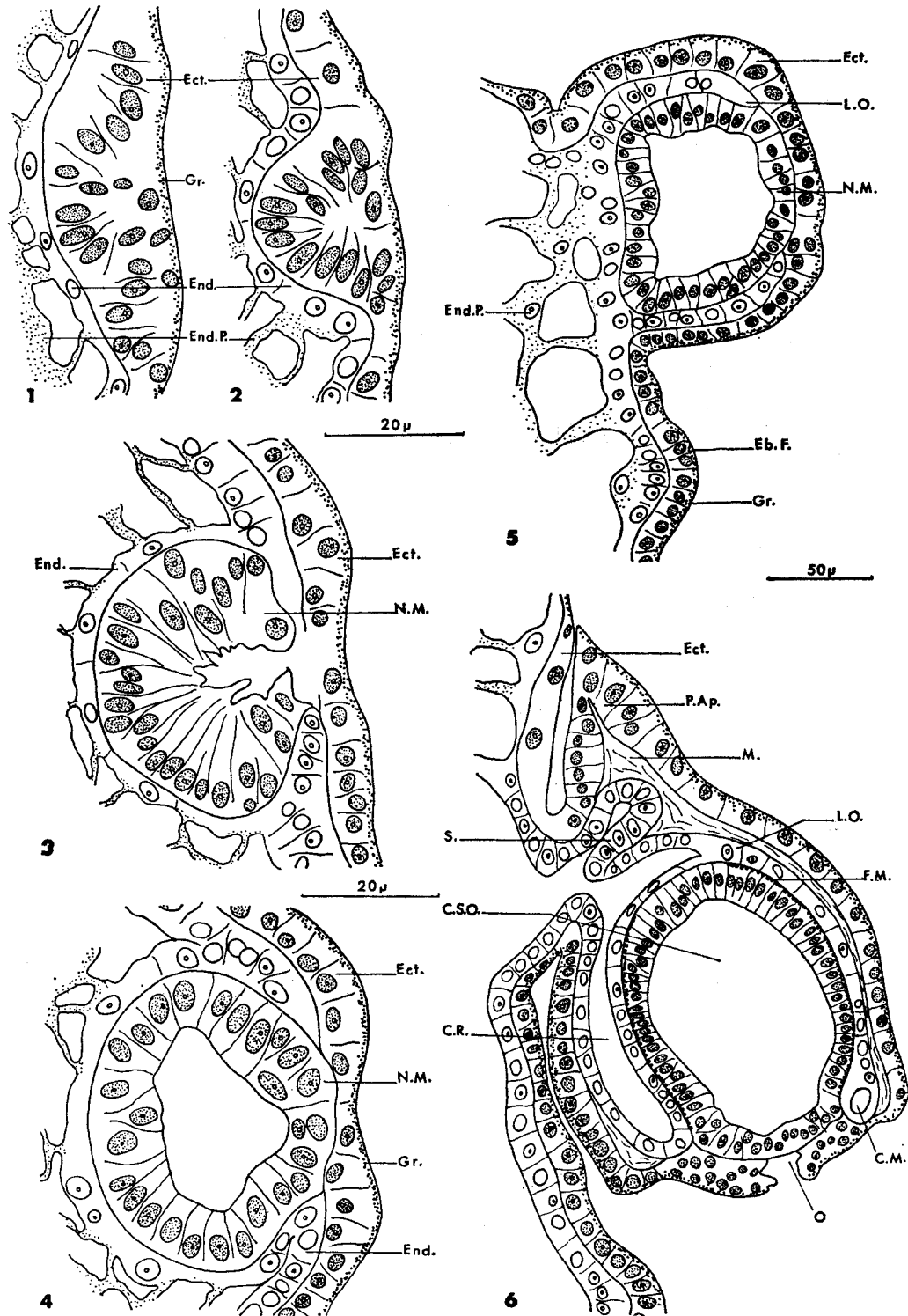


Fig. 2. Development of *Lensia conoidea*.

1, 2, 3, 4: formation of a medusoid nodule in a 2 day old planula; 5: bud of larval nectophore of 2½ day old calyconula; 6: larval nectophore of a 3 day old calyconula

The calyconula

During the following four to five days, the young calyconula is transformed into a typical calyconula larva. Its development is characterised by the considerable growth of the nectophore, and by the differentiation of the primary gastrozoid and its tentacle.

a) Transformation of the young calyconula.

This larva (Fig. 1, 5; Pl. I, 1), measuring 1 mm, moves about incessantly in rotation by means of batteries of ciliated ectoderm.

The small medusoid nodule of 0.1 mm, in the 2.5 day old larva, rapidly doubles in size. It is made up of cells arranged into a well individualised layer and can distinctly project from the surface (Fig. 2, 5). It preserves only a small zone of contact with the superficial ectoderm, that is where the ostium will be pierced. Elsewhere it is surrounded by the umbrella lamella formed by the secondary endoderm.

Below the bud of the nectophore, the tentacle begins to bud in the form of an evagination of the ectoderm doubled by the definitive endoderm (Fig. 1, 5; Pl. I, 1).

One notes, at this stage, a distinct regression in the reserves of the provisional endoderm, but without one being able to distinguish a gastric cavity.

Over the next hours, the nectophore continues to enlarge. The superior region of the future umbrella grows more rapidly than the inferior region. This brings about a change in the orientation of the bell whose axis becomes parallel to that of the old planula (Pl. I, 2). At the place where the ostium will open, the ectoderm, formed by numerous small cells, appears multistratified. It is always ciliated and rich in phloxinophilic granules. The umbrella lamella forms a continuous layer around the medusoid nodule in which are differentiated some circular muscle fibres (Fig. 2, 6).

At the level of the insertion of the nectophore onto the embryonic body, buds an endodermic diverticulum, the somatocyst (Pl. I, 2) whose cavity is yet potential.

The primary endoderm is more and more reduced and a distinct gastric cavity appears in the ventral region (Fig. 1, 6) of the 3 day old calyconula.

In the 3.5 day old larva (Pl. I, 3), the radial canals are clearly visible and one observes an important modification, the opening of the nectophore (Fig. 2, 6). The calyconula continues to move about by turning on itself, thanks to its ciliated ectoderm and, at other times, the swimming is now effected by the rapid contractions of the nectophore.

In the course of the differentiation of the larval nectophore, the vitelline reserves have gradually been used up. In the 4 day old calyconula, there remain only some vitelline granules scattered amongst the last vestiges of the provisional endoderm. Then begins the differentiation of the middle and posterior parts of the embryonic body with a primary gastrozoid that becomes functional some days later.

All the walls of the gastrozoid are didermic (Fig.3), these two cell layers being separated by a thin layer of mesogloea. The structures of the ectoderm and endoderm are variable according to the region under consideration.

In the buccal region, the ectoderm is slightly thick, ciliated; the endoderm, strongly ciliated, is formed by high cells amongst which one distinguishes some hypostomial spumose cells and some spherulose gastric cells.

In the middle region of the gastrozoid, the ectoderm remains thin on the dorsal surface, but, ventrally, below the zone of insertion of the nectophore, it forms a very thick swelling in the midst of which, from the fifth day on, are differentiated the primary nematocysts. This region of the stinging swelling is doubled by a thin, very vacuolar endoderm.

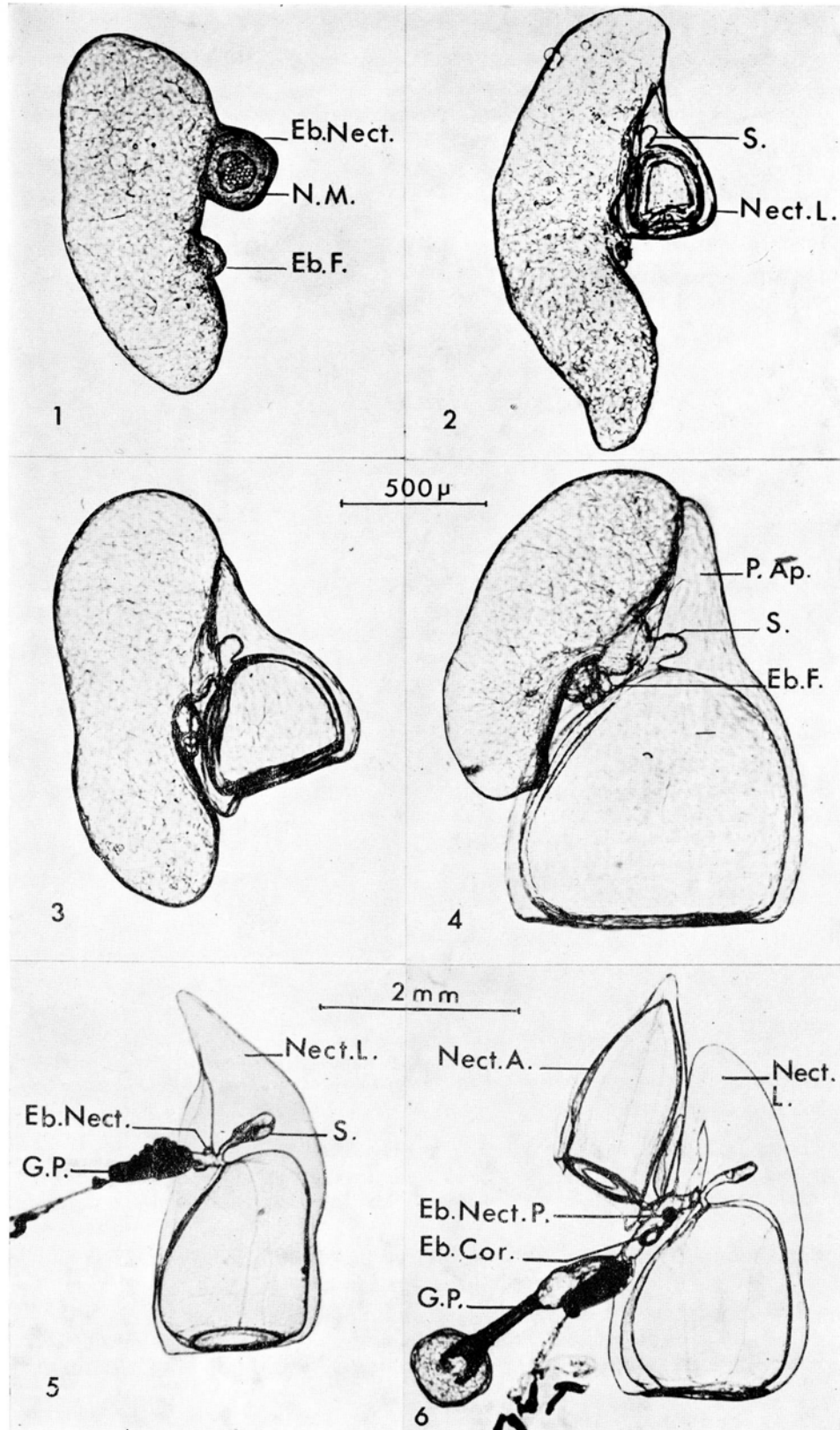


Plate I *Lensia conoidea*.

Right lateral view of a calyconula.

1: aged 2½ days; 2: aged 3 days; 3: aged 3½ days; 4: aged 4 days; 5: aged 10 days; 6: aged 3 weeks.

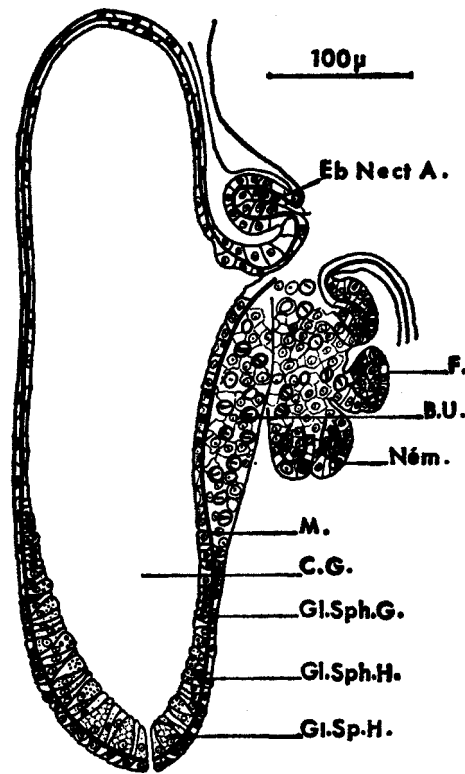


Fig. 3

Longitudinal section of the primary gastrozoid of a calyconula aged 6 days.

In the aboral region of the gastrozoid, the ectoderm and endoderm are reduced to two thin layers of cells.

At the end of its differentiation, the gastrozoid measure 0.9 mm in length. It appears like a small diverticulum of the nectophore which itself is developed considerably and measures 3.5 mm in height (Pl. I, 5). The somatocyst has invaded the apical process of the nectophore. It is hollowed into a cavity in connection with the gastrovascular cavity (Fig. 2, 5).

At the base of the gastrozoid the tentacle elongates and buds off some tentilla.

b) Detachment of larval nectophore.

The larval nectophore is united with the gastrozoid by a small, didermic, hollow axis, the first outline of the stolon (Pl. I, 5). It is on this axis that are developed successive adult nectophores and the cormidia.

The first of these buds is a small bud which appears in the dozen or so days old calyconula (Pl. I, 5).

This bud is the origin of the anterior nectophore. Its development is at first slow, then very rapid. In the 21 day old larva one sees an anterior nectophore of 2.2 mm situated in a superior position in relation to the larval nectophore and provided with a digitiform somatocyst (Pl. I, 6).

We have not been able to follow the culture of *Lensia conoidea* beyond this stage. However, we have found in the plankton, some older larvae having an anterior nectophore much larger than the larval one. The latter is caducous and is replaced, in the larvae reaching the end of their development, by the second adult nectophore, which is deprived of a somatocyst and is placed in an inferior position with regard to

the first. At the same time the stolon, in the distal region, buds some cormidia and one observes, at this stage, two well developed gastrozooids.

One has then a typical polygastric stage, with two nectophores and a stolon which continues to elongate with the acquisition of new cormidia.

Conclusions

The observation of the development of *Lensia conoidea* and the histological study of the different stages has brought us to the following conclusions:

1. The total and equal segmentation of the egg, leads to a true morula;
2. gastrulation is effected by morular delamination;
3. the gastrula transforms into a planula by undergoing two differentiations:
 - the appearance of the ciliated ectoderm that allows it to swim,
 - the formation of the first cells of the definitive endoderm;
4. the secondary endoderm forms a continuous cap on one face of the planula. In this zone, the ectoderm proliferates and isolates a small medusoid nodule. The larva can then be called a calyconula;
5. during the course of development of the calyconula one observes:
 - the growth of the nectophore which acquires four radial canals, a marginal canal, a hollow endodermic somatocyst, and which is opened by an ostium.
 - a regression of the primary endoderm which is hollowed into the gastric cavity and the differentiation of the middle and posterior regions of the planula into a primary gastrozoid;
6. the short stolon uniting the larval nectophore with the gastrozoid buds off the anterior nectophore and some cormidia;
7. when the new nectophore is well developed, the larval nectophore falls off and a second nectophore appears in an inferior position with regard to the first.

DEVELOPMENT OF *FORSKALIA EDWARDSI*.

The egg and segmentation.

Forskalia edwardsi is a physonect whose stolon can attain lengths of 2-3 m. One encounters them occasionally, during the month of April, in the superficial waters of the rade of Villefranche-sur-Mer.

The reproductive elements are grouped into gonodendra that have been formed by the association, on the same peduncle, of 3-4 palpons, a dense raceme of female gonophores and, distally, a dozen or so male gonophores.

Each female gonophore is spherical, 420 μm in diameter. It is comprised of a small medusa whose entire subumbrella is occupied by a single, voluminous egg, 370 μm in diameter, which is developed in the midst of the manubrium. At the moment of release, the egg passes through the ostium and is liberated into the seawater.

The male gonophores are opaque, elongate, of 3 mm in length.

The eggs kept in culture have been collected in the morning, soon after their release. Segmentation begins about 8-10 hours later.

The first plane of cleavage divides the egg into two blastomeres united by a cytoplasmic peduncle. The 2 blastomeres reapproach before the outline of the second plane of cleavage appears at the same pole as the first, thirty minutes after the beginning of segmentation. The third division is equatorial.

The divisions are regular as far as stage 16. After that the synchrony of mitoses disappears, which results in a random disposition of the blastomeres. These, 12 hours after release, constitute a solid cell mass, with a bunched appearance: a true

morula. From this stage the larva has lost its spherical shape, it is ovoid, 400µm in length.

The gastrula.

Gastrulation is effected by morular delamination. In the course of the rearrangement of the cells, it is comprised of a monostratified peripheral layer and an internal mass. The peripheral layer is made up of small cell plates having some phloxinophilic granules. They form the ectoderm of the gastrula. The internal mass is composed of large cells, swollen with vitellus, and with a large nucleus. These are the primary endodermal cells.

The gastrula stage is very fleeting. 24 hours after release, the Petri dishes contain some small planulae, 500 µm in length, whose ectodermal cells are ciliated.

The planula.

a) *The young planula*: The young planula aged one day swims by turning on itself thanks to batteries of ectodermal cilia. On the internal face of the ectoderm, the definitive endoderm begins to appear in the form of some cells localised in the same region of the larva that will become the ventral face (Pl. II, 1).

During the following 2 days, other endodermal cells are differentiated and gradually constitute a continuous layer all over the ventral face.

b) *Transformation to the planula*: It is in the ventral ectoderm, doubled by the secondary endoderm, that is observed, in the 4 day old planula, the first buds (Pl. II, 2). In the antero-ventral region, 5-6 cells are organised into a section, pushing back the endoderm which thins (Fig. 4, 1). This small nodule does not show covering cells. It appears to be formed by the superficial ectoderm whose nuclei, at this point, seem to have migrated to the distal pole of the cells which become higher and arranged into a fan. This bud is the first stage of formation of the pneumatophore. At the same stage, on the ventral surface, in the middle region of the planula, the ectoderm, always doubled by the definitive endoderm, begins to evaginate and to give rise to the bud of the larval bract. More posteriorly, appears another ecto-endodermal evagination which corresponds to the bud of the tentacle. In the endoderm of this bud, one observes the differentiation of the first nematocysts, strongly stainable by 'light green' [?].

In the 5 day old larva, the bud of the pneumatophore is sunk down, pushing back more and more the secondary endoderm (Fig. 4, 2). It looks then like a sphere of a dozen or so cells and retaining a small zone of contact with the exterior. All around this zone, it is covered by ventral ectoderm while, on the inner side, a thin layer of endoderm envelops it. Under the pneumatophore, the evagination of larval bracts and that of the tentacle continues. One notes, at this stage, a clear regression of the primary endoderm and the appearance of a gastric cavity situated ventrally.

Over the next 24 hours, the pneumatophore begins to slightly project from the exterior by pushing back the ventral ectoderm that now covers it entirely (Pl. II, 3). The primary cavity is hollowed in the midst of some cells of the ectodermal nodule arranged in a monostratified layer (Fig. 4, 3). One notes, at this stage, the first deposits of chitin, in the form of entangled fibres, in the primary cavity. Then, one to two cells in the basal region of the pneumatophore divide and are the origin of a small cellular mass (Fig. 4, 4). In this 6 day old larva (Pl. II, 3), the bract, numbering three, still appear like simple external folds of the ventral wall of the planula. They are deprived of mesogloea and show, in their distal region, some nematocysts forming in the endoderm. Below the bracts, the bud of the tentacle has lost its spherical shape

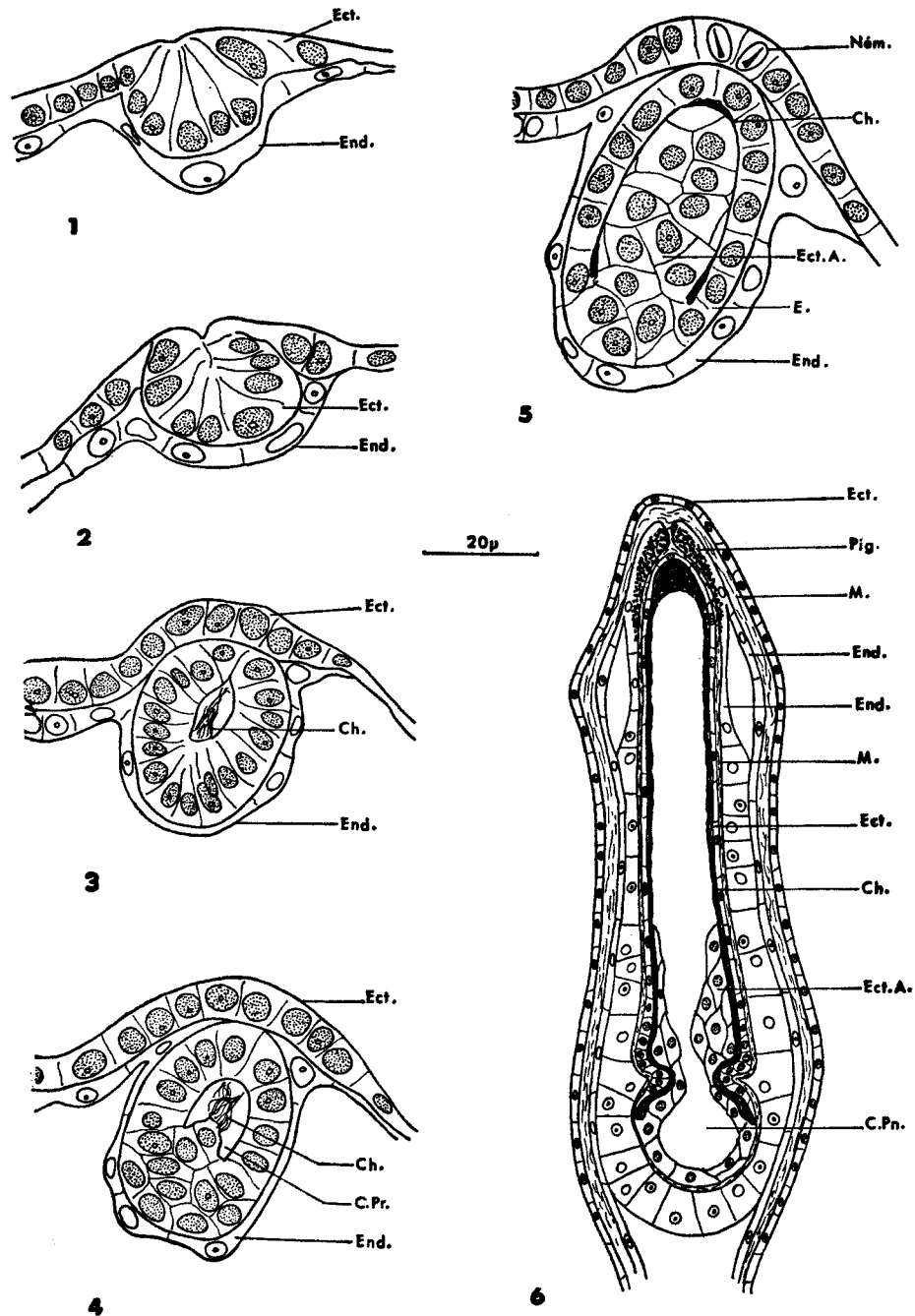


Fig. 4 Development of *Forskalia edwardsi*.

1, 2, 3: first stages of the differentiation of the pneumatophore; 4: bud of pneumatophore of a 6 day old larva; 5: bud of pneumatophore of a 7 day old larva; 6: bud of pneumatophore of a 14 day old siphonula.

and shows several digitations in which are also seen some large nematocysts. At the posterior pole of the planula, one finds also some urticant cells localised in the ectoderm which is formed of high cells. In this region the endoderm is very thick.

The 7 day old, the planula measures about 560 μm in length and it differs from that described at the previous stage. Singly, the bud of the pneumatophore has evolved (Fig. 4, 5). The cells of the small basal mass have proliferated, gradually invading the entire primary cavity. The deposits of chitin, pressed back by this thrust,

are arranged in a fine, continuous, cap-shaped layer, which separates, in the nodule, a peripheral layer and an aeriform ectoderm.

Over the following hours, the larva enlarges and lengths rapidly attained 600 μm . The bud of the pneumatophore projects more and more from the exterior, pushing back the superficial ectoderm and entraining the secondary endoderm (P. II, 4). This larva, obtained 8 days after fertilisation of the eggs, is given the name siphonula.

The siphonula.

The young siphonula evolves in a few days into a full siphonula larva, suitable for budding some cormidia and some nectophores. This very rapid evolution is characterised by the completion of the pneumatophore, the growth of the buds of the larval bracts and the differentiation of the embryonic body into a primary gastrozoid provided with a tentacle.

a) *Completion of the pneumatophore.* In the siphonula, the pneumatophore is no longer included in the larva, but comes to project from the exterior. At first ventral, it becomes apical due to the regression of the anterior pole of the original planula (Pl. II, 5). It measures 160 μm in the 14 day old siphonula (Pl. II, 6; Fig. 4, 6) and is limited, externally, by the general ectoderm which gradually forms an envelope, like the finger of a glove, around the bud of the pneumatophore. The ventral endoderm of the planula has followed, at this level, the same evolution as the ectodermal layer and constitutes the second layer of the pneumatophore. This layer is joined to another lamella of definitive endoderm, that which, since the start of its formation, envelops the internal ectodermal nodule. This nodule is always differentiated into two zones, separated by the cap of chitin. The internal zone, or aeriform ectoderm, is formed by about fifteen large, granulose, polygonal cells, which possess some large nuclei having one, or more often two, nucleoli. It is in the midst of these cells that the definitive cavity of the pneumatophore is formed. It appears at first as some vacuoles between the cells which no longer divide, while the pneumatophore continues to grow. These vacuoles unite and soon the cells of the aeriform ectoderm are grouped into a small mass at the base of the float, while all the remainder of the cavity, delimited by the layer of chitin, is filled with gas.

b) *Development of bracts:* In the siphonula, the bracts lose their digitiform appearance and become large foliaceous expansions (Pl. II, 5 and 6). At the end of their growth, the larval bracts measure 400-500 μm in length. They possess a very thin ectoderm, separated from the endodermal canal by a thick layer of mesogloea. These are caducous formations; after their loss, the definitive bracts of the colony appear.

c) *Differentiation of the primary gastrozoid and its tentacle:* The anterior pole of the embryonic body regresses gradually, while the middle region and the posterior pole differentiate into a primary gastrozoid (Pl. II, 5). In histological section, one observes in the endoderm some spumose hypostomial cells and some spherulose cells. In the ventral region of the gastrozoid, under the budding zone of the bracts, the ectoderm shows a red pigmentation and some refractive granules.

The bud of the tentacle is developed at the same time as that of the gastrozoid. It elongates as a very contractile ecto-endodermal formation on which appear some small papillae which are the origins of the tentilla (Pl. IV, 6). The latter are made up of a peduncle terminated by a stinging head.

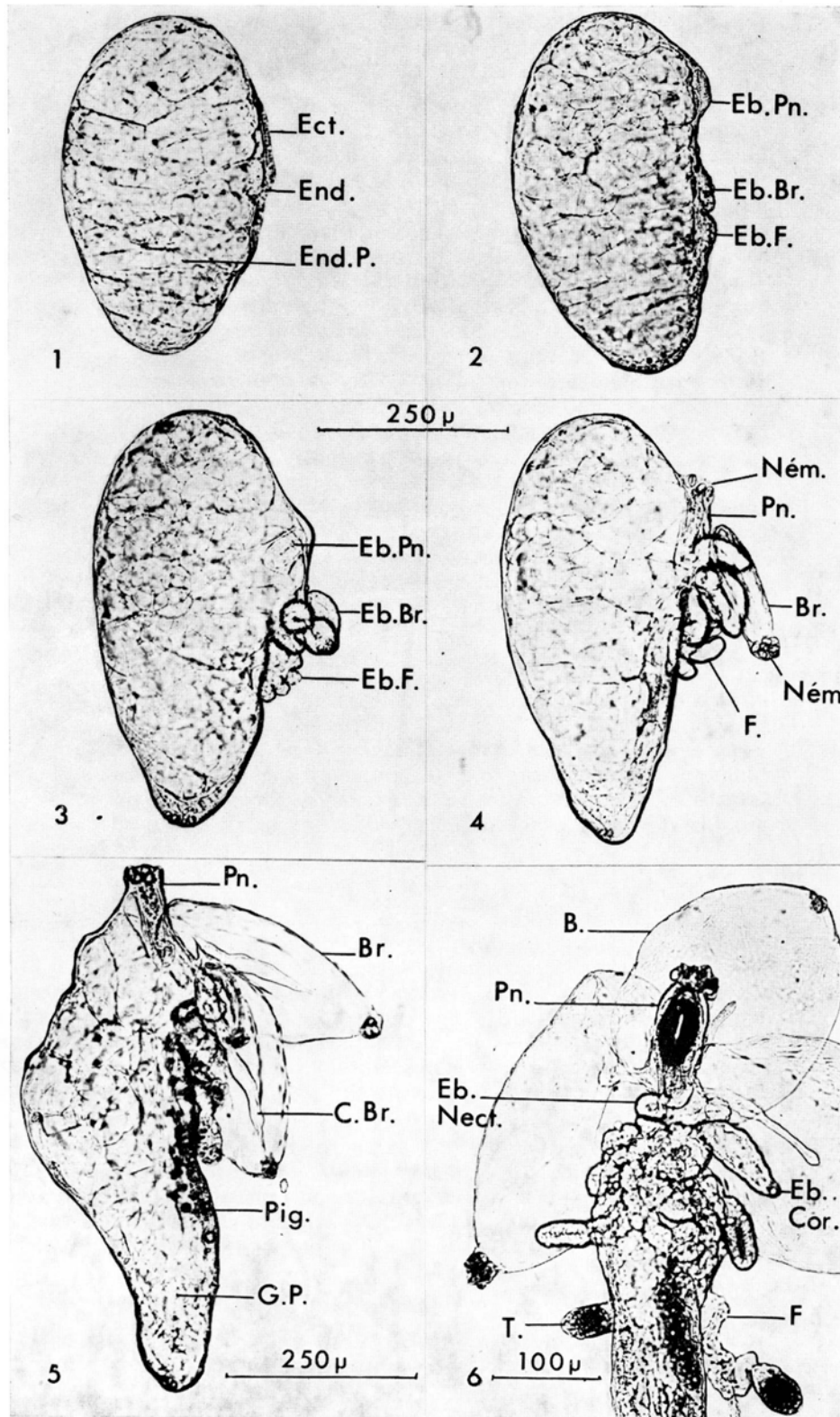


Plate II. *Forskalia edwardsi*

Right lateral view of a planula: 1: aged 2 days; 2: aged 4 days; 3: aged 6 days; 4: aged 8 days; 5: view of a siphonula aged 9½ days; 6: view of the anterior region of a siphonula aged 14 days.

d) *Formation of the first cormidium*: It appears below the zone of insertion of the larval bracts, at the expense of a bud formed by evagination of the wall. This bud gives rise, at first, to a gastrozoid and its tentacle (Pl. II, 6).

e) *Budding of the nectophores*: In the older siphonula, the region of the larva situated under the pneumatophore elongates gradually into a hollow didermic axis, which is the stolon of the young colony. Along this stolon and on one single generative line, appear the buds of the nectophores (Pl. II, 6).

The culture of *Forskalia edwardsi* has allowed us to obtain some young colonies possessing only some buds of nectophores, but we have encountered, in plankton collections made in the month of June, some older examples, showing one or two well differentiated small nectophores.

Conclusion

The study of the development of *Forskalia edwardsi* leads us to the following conclusions;

- 1) The total and equal segmentation of the egg leads to a true morula;
- 2) Gastrulation is effected by morular delamination;
- 3) The gastrula is transformed into a planula, by undergoing two transformations:
 - the appearance of a ciliated epithelium,
 - the formation of the first cells of the secondary endoderm;
- 4) On the ventral face and anteriorly, an internal ectodermal nodule, the first bud of the pneumatophore, is isolated. Beneath this bud begins the budding of the larval bracts and the tentacle. The larva is then called a siphonula;
- 5) The development of the siphonula is characterised by:
 - the growth of the pneumatophore which becomes external and apical,
 - the development of the buds of the larval bracts,
 - the differentiation of the middle and posterior regions into a primary gastrozoid, and the budding of tentilla on the tentacle;
- 6) In the siphonula at the end of its growth, the larval bracts fall off, the region of the larva situated under the pneumatophore elongates into a hollow axis: the stolon, on which appear the buds of the first nectophores and some primary cormidia;
- 7) The nectophore is developed and becomes functional. At this stage the larval development of *Forskalia edwardsi* is completed: one then has a young colony that continues to elongate by budding some new nectophores and some new cormidia.

DISCUSSION

As far as the planula stage, the developments of *Lensia conoidea* and *Forskalia edwardsi* show the same modalities, which Dawydoff (1928) has extended to the ensemble of siphonophores.

After this stage, differentiation leads, in *Lensia conoidea*, to a larval calyconula possessing a larval nectophore and, in *Forskalia edwardsi*, to a siphonula provided with a pneumatophore and some larval bracts.

Several authors, notably Chun and Woltereck, have attempted to establish an homology between the larval nectophore of the calycophores and the pneumatophore of the physonects.

Dawydoff, supported by the histological study of the formation of the float in *Agalma elegans*, made by Woltereck (1905), thought that the float came from a

medusoid nodule which is hollowed into a large cavity – homologous with the subumbrella cavity of Hydromedusae – in the midst of which comes to project a conical formation which he considered as the morphological equivalent of the manubrium. This manubrium gradually invades all the cavity, then regresses, the central mass of these cells is destroyed with the production of gas.

The study of the development of *Forskalia edwardsi* allows this interpretation of Dawydoff to be reviewed.

The term medusoid nodule, which designates a particular structure like that described, for example, in the study of the development of the nectophore of *Lensia conoidea* (Fig. 3, 1 and 2), is not convenient for designating the first bud of the pneumatophore (Fig. 4, 1 and 2). In that case, in effect, a small mass of ectodermal cells is isolated, but this mass is at first external, not showing some covering cells, contrary to that which is observed in the course of the differentiation of the larval nectophore of *Lensia conoidea*. On the other hand, the chitin is secreted by the ectoderm of the pneumatophore. But, one knows that in the Hydrozoa, the chitinous formations are always produced by the external ectoderm. This fact is an argument in favour of the preceding observations with regard to the external ectodermal nature of the first budding of the pneumatophore.

In addition, in the midst of this bud, is developed a cavity and, as indicated by Dawydoff “the wall at the depth of this cavity forms a conical thickening” which fills gradually (Fig. 4, 5). But this formation is uniquely ectodermal, which is the difference from the medusa of a Hydromedusa.

By their origin, by their structure, the larval nectophore of calycophores and the pneumatophore of physonects appear then as two special structures between which it seems hazardous to establish any homologies. Some authors have been led to the same conclusion but, according to them, the larval nectophore of calycophores and the pneumatophore of physonects cannot be homologous because they appear in different embryonic regions. After the study of *Forskalia edwardsi*, it is difficult to retain this argument.

Some other authors, notably Moser (1925), have homologised the larval nectophore of the calycophores with the bract of physonects, because these two organs are developed ventrally. The histological study of the mode of formation of the bracts, very different from that of the nectophore, does not support that opinion. On the other hand, the presence of a larval bract in the calycophoran siphonophore *Abylopsis tetragona* whose development has been studied recently (C. Carré, 1967) causes a rethink on new bases of the discussion of Moser, and allows also the hypothesis given by Garstang (1946), according to which the larval bract of physonects, degenerative, would have been incorporated into the larval nectophore of calycophores to form the apical process with its somatocyst.

CONCLUSION

This study has allowed the observation of the differences between the first stages of development of the pneumatophore of *Forskalia edwardsi* and that of the larval nectophore of *Lensia conoidea*.

However, the two buds are constituted by a small number of cells, the differences noted are small and it will be useful to undertake histological studies of other siphonophores, before being able to generalise these results.

REFERENCES

- Carré, C. 1967. Le développement larvaire d'*Abylopsis tetragona* Otto 1823 (Siphonophore, Calycothore, Abylidae). *Cahiers de Biologie Marine* **8**, 185-193.
- Chun, C. 1882. Über die cyklische Entwicklung und die Verwandtschaftsverhältnisse der Siphonophoren. *Sitzungsberichte der Königlich Preussischen Akademie der Wissenschaften* for **1882**, 1155-1172, 1 pl.
- Claus, C. 1863. Neue Beobachtungen über die Structur und Entwicklung der Siphonophoren. *Zeit. Wiss. Zool.* **12**, 536-563.
- Dawydoff, C. 1928. *Traité d'Embryologie comparée des Invertébrés*. Masson & Co., Paris. 930 pp.
- Fewkes, J.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.
- Gegenbaur, C. 1853. Beiträge zur näheren Kenntniss der Schwimmpolypen (Siphonophoren). *Zeit. fur Wiss. Zool.*, **5**, 285-344 + 3 pls.
- Leloup, E. 1954. A propos des Siphonophores. *Volume jubilaire Victor van Straelen* **2**, 643-699.
- Lochmann, L. 1914. Zur Entwicklungsgeschichte der Siphonophoren. *Zeit. Wiss. Zool.* **108** 258-289, 1 pl.
- Metschnikoff, E. 1874. Studien über die Entwicklung der Medusen und Siphonophoren. *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie* **24**, 15-83.
- Russell, F.S. 1938. On the development of *Muggiæa atlantica* Cunningham. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **22**, 441-446.
- Totton, A.K. 1965. *A Synopsis of the Siphonophora*. London: British Museum (Natural History).
- Woltereck, R. 1905. Bemerkungen zur Entwicklung der Narcomedusen und Siphonophoren. II. *Verh. Deutsch. Zool. Ges.* pp. 106-122
- Woltereck, R. 1905a. Beiträge zur Ontogenie und Ableitung des Siphonophorenstocks mit einem Anhang zur Entwicklungsphysiologie der Agalmiden. II. *Zeit. Wiss. Zool.* **82**, 611-637.

List of abbreviations in the legends of plates and figures.

B.U.: stinging pad; Br.: bract; C.Br.: bracteal canal; C.G.: gastric cavity; C.M.: marginal canal; C.Pn.: definitive cavity of pneumatophore; C.Pr.: primary cavity of pneumatophore; C.R.: radial canal; C.S.O.: sub-umbrella cavity; Ch.: chitin; Eb.Br.: bud of bracts; Eb.C.G.: bud of gastric cavity; Eb.Cor.: bud of primary cormidium; Eb.F.: bud of tentacle; Eb.Nect.: bud of larval nectophore; Eb.Nect.A.: bud of anterior nectophore; Eb.Nect.P.: bud of posterior nectophore; Ect.: ectoderm; Ect.A.: auriferous ectoderm; End.: endoderm; End.P.: primary endoderm; F.: tentacle; F.M.: muscular fibres; G.P.: primary gastrozoid; Gl.Sp.H.: hypostomial, spumose, glandular cells; Gl.Sph.G.: glandular, spherical gastric cells; Gl.Sph.H.: hypostomial, glandular, spherical cells; Go.: gonophore; Gr.: phloxinophilic ectodermic granules; L.O.: umbrella lamella; M.: mesogloea; Nect.A.: anterior nectophore; Nect.L.: larval nectophore; Nem.: nematocyst; N.M. medusoid nodule; O.: ostium; Oe.: egg; P.Ap.: apical process; Pn.: pneumatophore; Pig.: pigment; S.: somatocyst; T.: tentillum.