

Les soies et les cellules associées chez deux Annélides Polychètes

Étude en microscopie photonique à contraste de phase et en microscopie électronique

Y. BOULIGAND

Laboratoires de Zoologie, de Botanique et de Microscopie électronique de l'E.N.S., 24 rue Lhomond, Paris 5ème (France)

Manuscrit reçu le 27 Décembre 1966

Summary. Chaetae of *Haplosyllis depressa* and *Sabella pavonina* (very young specimens) have been studied electron microscopically. The results are on follows:

1. longitudinal fibrillar structure of the chitin and protein material,
2. frequent existence of very thin canals in the outer layer of the chaetae,
3. the non-ciliary character of the basal striation made of microvilli,
4. the non-syncytial organization of chaetal follicle,
5. the regular extracellular situation of chaetae in all the observed stages,
6. the probable rôle of the most proximal of the lateral cells in the process of secretion.

Résumé. Les soies de *Haplosyllis depressa* et de *Sabella pavonina* (exemplaires très jeunes) ont été examinées au microscope électronique. Nous avons pu mettre en évidence sur ce matériel:

1. la structure fibrillaire longitudinale chitino-protéique,
2. la présence fréquente de canaux très fins dans l'écorce,
3. la nature non ciliaire de l'appareil basal constitué de villosités,
4. l'organisation non plasmodiale des follicules sétigères,
5. la disposition toujours extracellulaire des soies aux stades examinés,
6. le rôle vraisemblable des cellules latérales les plus proximales dans le processus de sécrétion.

Introduction

L'étude des Annélides Polychètes tient une place importante dans l'ensemble des travaux sur les ultrastructures biologiques; les muscles, les pigments respiratoires, les organes des sens et les neurosécrétions ont été l'objet des principales publications dans ce domaine; cependant aucune recherche n'a été entreprise sur les soies, dont la présence constitue l'un des caractères les plus importants utilisés dans la définition de cette classe de Vers marins.

Les Annélides Polychètes sont des Vers marins annelés dont les segments successifs portent des soies chitino-protéiques plus ou moins tannées (cf. revue de cette question dans DENNELL, 1949; LOTMAR et coll., 1950; et JEUNIAUX, 1963), parfois calcifiées (SCHEPOTIEFF, 1903; BOBIN, 1944, 1948) et groupées dans des zones précises des parapodes; rappelons que ces derniers sont des prolongements latéraux de tous les segments, à l'exception des quelques premiers et du dernier ou telson.

Les soies constituent de précieux repères systématiques parce que leur morphologie est étonnamment diversifiée dans l'ensemble des espèces; les soies des Polychètes présentent souvent des ornements très fins dont certains ne sont pas

observables par la seule microscopie optique; d'une manière très générale, au sein d'une même espèce, la forme des soies est définie avec une précision géométrique.

Il nous a semblé intéressant d'examiner, en microscopie électronique, les soies et les cellules impliquées dans le dépôt d'une structure aussi finement architecturée.

Matériel et Méthodes

Les problèmes de fixation et d'inclusion ont été facilités en choisissant des spécimens de petite taille; nous avons utilisé de très jeunes *Sabella pavonina* longues de 1 à 2 cm, fixées après extraction de leur tube et des *Haplosyllis depressa*¹ s. sp. *chamaeleon* recueillies régulièrement sur une Gorgone méditerranéenne; cette espèce a été redécrite dans un travail récent de LAUBIER (1960). Certains exemplaires ont été fixés dans le Bouin alcoolique (cf. LANGERON, 1942, p. 391) et ont servi à la confection de coupes de 10 μ d'épaisseur, qui ont été étudiées par les méthodes classiques de l'histologie; d'autres exemplaires non fixés et conservés dans l'alcool à 70° ont été éclaircis soit par l'acide lactique, soit par des mélanges tels que celui dont la formule a été préconisée par Marc André (cf. LANGERON, 1942, p. 930); ces montages ont été utilisés pour l'observation en contraste de phase.

L'étude des ultrastructures a été réalisée sur du matériel fixé dans l'acide osmique à 2%, tamponné par du véronal sodique à pH 7,3 pendant une heure; nous avons également utilisé le glutaraldéhyde à 5% dans le tampon cacodylate au même pH pendant dix minutes, opération suivie ou non d'une post-fixation dans le mélange osmié pendant une heure.

Les inclusions faites dans l'araldite ont été pratiquées selon la méthode de LUFT (1961); les coupes obtenues avec des couteaux de verre, montés sur microtomes Porter-Blum et Reichert, ont été contrastées, soit par immersion dans une solution à 2% environ d'acide phosphotungstique dans l'alcool additionné de 5% d'acétone, soit par flottage sur une solution de citrate de Plomb selon la méthode de REYNOLDS (1963); nous avons souvent fait précéder cette coloration par une séjour des coupes sur une solution fraîche et presque saturée de $MnO_4 K$, selon un procédé défini par THIÉRY (1965).

Résultats

Nous allons préciser tout d'abord quelques données morphologiques sur les divers types de soies que possèdent les deux espèces étudiées.

¹ Dans un récent travail sur les *Syllidae* du Japon, l'espèce *Haplosyllis depressa* AUGENER vient d'être revue d'après les holotypes conservés au Musée de Hambourg, IMAJIMA, M.: Publ. Seto. mar. biol. Lab. 14, 219—252 (1966). IMAJIMA pense que la matériel étudié par AUGENER est à placer dans le genre *Trypanosyllis*. La forme trouvée sur les *Paramuricea* appartient bien au genre *Haplosyllis* et devra constituer une espèce *H. depressa* LAUBIER (correspondance IMAJIMA-LAUBIER, 1966).

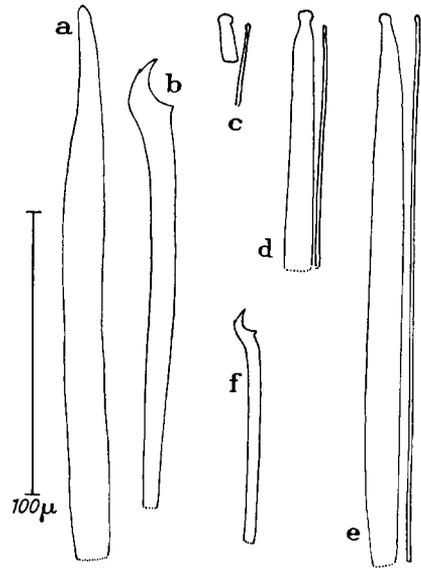


Fig. 1. Etude morphologique en microscopie optique de quelques soies de *Haplosyllis depressa*; a acicule à terminaison irrégulière dans un segment du milieu du corps; b soie simple à crochet (milieu du corps); c acicule à bouton terminal et jeune soie capillaire dans l'un des derniers segments précédant le telson; d acicule à bouton et soie capillaire dans le métamère qui précède de huit segments celui renfermant l'acicule figure en c; e acicule à bouton et soie capillaire dans un segment du milieu du corps; f soie à crochet dans le même parapode que l'acicule figure en d

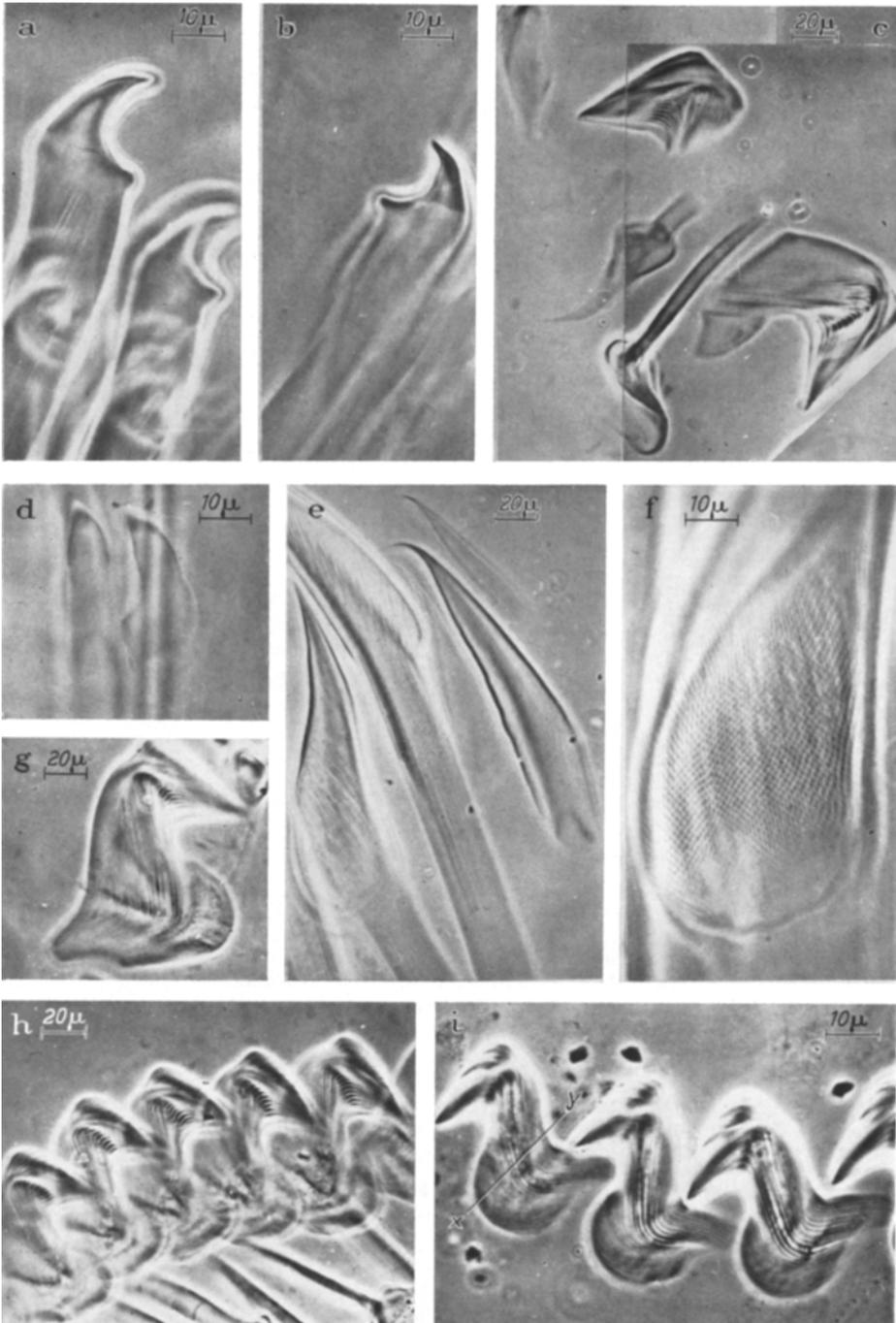


Fig. 2a—i. Etude des soies de *Haplosyllis depressa* (a, b, d) et de jeunes exemplaires de *Sabella pavonina* (c, e, f, g, h, i) en microscopie à contraste de phase; a extrémités de soies simple à crochet; observer les canaux médullaires dans la soie de gauche; b extrémité d'une soie simple

Les acicules sont des soies entièrement enfermées dans les parapodes, où elles constituent des éléments de soutien (voir FAUVEL, 1959); chez les *Haplosyllis*, les 20 à 30 premiers segments contiennent en général trois acicules épais de 15 μ et longs de 0,2 mm et un acicule très fin ou soie capillaire de même longueur et large de 2 μ (Fig. 1 a, e); l'un des acicules épais possède un petit renflement distal ou bouton terminal (Fig. 1 e); la soie capillaire présente également cette caractéristique; les deux autres acicules épais ont une extrémité de forme irrégulière (Fig. 1 a); les segments suivants ne contiennent qu'un seul acicule à terminaison irrégulière et les derniers n'en contiennent plus du tout; dans tous les segments (sauf les derniers qui précèdent le telson), on trouve dans chaque parapode un acicule boutonné et une soie capillaire (LAUBIER, 1960). Chez certains spécimens, il n'y a qu'un seul acicule à terminaison irrégulière dès les premiers parapodes. On observe, parfois, que certains acicules présentent une dépression ou gouttière longitudinale bien repérable auprès de leur base et où l'acicule voisin se trouve plus ou moins engagé.

Les soies proprement dites des deux espèces étudiées sont simples, c'est à dire qu'elles ne sont pas constituées de deux éléments réunis par une articulation (cf. BOBIN et coll., 1954; FAUVEL, 1959); ce sont de petites baguettes qui font saillie au niveau des bulbes sétigères; les soies simples des *Haplosyllis* ont des dimensions comparables aux acicules (Fig. 1 b), (mais un peu plus étroites cependant) et sont terminées par un crochet pointu (LAUBIER, 1960); chez les Sabelles, au contraire, les extrémités des soies sont élargies en une sorte de limbe (Fig. 2 e, f).

Les Sabelles possèdent des *uncini* ou *crochets aviculaires*; ce sont des soies courtes, robustes, terminées par un rostre en forme de bec d'oiseau (Fig. 2 g, h, i; Fig. 3) les autres parties d'un uncinus s'appellent la garde et le manubrium (Fig. 3), les uncinus sont alignés sur une crête charnue dorso-ventrale ou tore uncinigère; on distingue chez les Sabelles une région thoracique dont les segments présentent des tores uncinigères ventraux par rapport aux soies simples et une région abdominale où c'est l'inverse; dans les parapodes thoraciques, des *soies en forme de pioche* (Fig. 2 c, h) (dont le limbe est aplati dans un plan perpendiculaire à l'allongement de la soie) sont intercalées régulièrement entre les uncinus (cf. BOBIN, 1944; FAUVEL, 1959).

Observation des soies en microscopie à contraste de phase

1. *Morphologie.* L'examen des acicules et des soies simples, montés dans un baume éclaircissant, permet d'observer de nombreux canaux longitudinaux (Fig. 2 a, e). On peut reconnaître en général une zone corticale où l'on ne distingue

et son revêtement contrasté; c uncinus et soies en pioche en cours de formation dans un parapode thoracique; observer les profils isochrones des uncinus; il est clair que la jeune soie en pioche est moins contrastée que les parties homologues d'une soie déjà plus grande; d jeunes soies simples à crochet bien moins contrastées que celle représentées en a et b; e jeunes soies terminées en limbe au début de leur croissance; le contraste des structures apparaît progressivement; f détail du limbe d'une soie simple; g observation d'un uncinus thoracique; observer la disposition des canaux et la variation de leurs distances mutuelles; h série de six uncinus thoraciques et les soies en pioche correspondantes; observer la gradation des tailles; i quatre uncinus abdominaux: observer à ce plus fort grandissement (d'uncinus plus petits que sur le cliché précédent) les diaphragmes qui interrompent les canaux médians; le trait de coupe x y correspond à la micrographie électronique de la Fig. 5 c

pas de canaux et une zone médullaire où ils sont bien visibles (Fig. 2g, h, i); parfois, à certains niveaux des soies, il n'y a pas de zone corticale différenciée; l'inverse peut se produire dans des zones où la constitution de la soie paraît homogène.

Les micrographies montrent clairement qu'à un même niveau transversal, le diamètre des canaux est très variable (Fig. 2a, g, h, i); le diamètre d'un même canal varie également d'un bout à l'autre d'une soie (Fig. 2g, i). La distance qui sépare les axes de canaux contigus peut présenter les mêmes variations; les canaux peuvent être interrompus par de petits diaphragmes présentant quelquefois une concavité dirigée vers la base de la soie (Fig. 2i). On observe très souvent des plans de striation transversale et ceci plus particulièrement dans les soies simples de *Haplosyllis*.

Le crochet des soies de *Haplosyllis* est recouvert d'un fin revêtement réfringent et il est dépourvu de canalicules (Fig. 2a, b); le limbe des soies simples des Sabelles est orné de nombreuses denticulations rangées régulièrement (Fig. 2f).

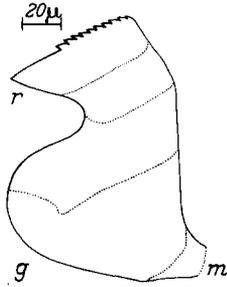


Fig. 3. Contour d'un uncinus d'un jeune exemplaire de *Sabella pavonina* sur le quel on a représenté cinq profils isochrones successifs; g garde; m manubrium; r rostre

2. *Croissance*. L'examen d'un grand nombre de bulbes sétigères ou de tores uncinigères permet de suivre la croissance des soies proprement dites et des uncini; les soies et les uncini se forment dans une zone génératrice très bien définie morphologiquement dans chaque bulbe sétigère et dans chaque tore uncinigère, ce qui assure le remplacement des soies disparues par chute naturelle ou par un mécanisme différent.

Les soies grandissent par leur base; l'extrémité distale est donc formée la première; une soie observée au cours de son dépôt est donc à peu près identique à une portion distale de soie achevée; une soie en développement est limitée à sa base par une surface qui correspond à des structures déposées simultanément; ces surfaces *isochrones* sont planes dans le cas des soies proprement dites, de type simple, mais compliquées pour les uncini (Fig. 2c); nous avons reporté, sur un dessin d'uncinus de Sabelle, les profils de surfaces isochrones successives (Fig. 3); les striations transversales que l'on observe parfois sur les soies simples visualisent ces profils isochrones.

Nous avons observé, d'une manière régulière, que les dernières structures déposées dans une soie en croissance, sont moins réfringentes que les structures correspondantes d'une soie identique un peu plus développée (Fig. 2c, d, e); ceci revient à dire que les structures déposées, à un moment déterminé, au niveau d'une surface isochrone, seront remaniées ultérieurement; de même, les pointes qui terminent les soies apparaissent très peu contrastées au tout début du développement et leur réfringence augmente progressivement au cours des étapes suivantes de la croissance.

Les soies présentes dans un même bulbe sétigère ou les uncini d'un même tore uncinigère ont terminé leur croissance pour le plus grand nombre; leur taille est donc pratiquement acquise; si l'on compare, chez les Sabelles, les dimensions des différentes soies achevées en présence dans un même parapode, on constate une

croissance régulière, chaque nouvelle soie formée étant plus grande que la précédente; cette progression est très visible par exemple sur une série de cinq uncini d'un même parapode de Sabelle (Fig. 2h, i); cette observation est à rapprocher du fait, bien entendu, que les jeunes individus ont en moyenne des soies plus petites que ceux de plus grande taille; dans la zone génératrice des bulbes ou des tores, chaque nouvelle soie est déposée en ayant directement ses dimensions définitives légèrement supérieures à celles des soies précédentes.

Les acicules ne sont pas renouvelés ou remplacés au cours du développement; ceci les distingue des soies proprement dites et des uncini; il n'y a pas de zone génératrice où pourraient se former de nouveaux acicules; dans les segments terminaux des *Haplosyllis*, les acicules boutonnés n'ont pas atteint leur taille maximum mais leur renflement distal a déjà les dimensions de celui des acicules achevés (Fig. 1c, d, e); dans ces mêmes segments terminaux, les soies ont des crochets dont les dimensions sont, elles, nettement inférieures à celles des crochets des segments antérieurs (Fig. 1f); ceci tient à ce que les soies sont remplacées, au cours du développement, par des soies nouvelles et plus grandes, contrairement aux acicules.

Il y a trois à sept soies saillantes par parapode chez les *Haplosyllis*; leurs longueurs sont comparables à celles des acicules; il existe également deux ou trois soies de tailles nettement inférieures et non saillantes. Sur des *Haplosyllis* entiers, éclaircis et montés entre lame et lamelle sans déranger la disposition des soies, il est possible de mesurer la distance entre la base des acicules et les extrémités des soies à crochet; les fréquences des distances observées se groupent autour de deux maximum correspondant respectivement aux distances de 75 μ et 200 μ . Ce résultat montre que les soies non saillantes situées à la base des bulbes sétigères des *Haplosyllis* ne sont probablement pas en croissance: ce sont des soies de remplacement; les soies de taille intermédiaire sont plutôt rares; ceci nous suggère que leur croissance doit être assez rapide, déterminée probablement par la disparition d'une soie du même parapode; nous avons donc assez peu de chances, en microscopie électronique, d'observer des soies en cours de sécrétion sur les coupes fines, faites au hasard. (cf. l'étude statistique sur les longueurs des soies Fig. 4).

Observations en microscopie électronique

1. *Ultrastructure des soies.* On reconnaît bien, sur coupes transversales ou obliques, la zone axiale ou moelle et la zone périphérique ou écorce (Fig. 5a, b); il y a des soies où la moelle est absente à certains niveaux (Fig. 5d); dans certains cas, l'écorce peut être absente au moins localement (Fig. 5c); les uncini des Sabelles constituent un exemple où ces deux particularités sont présentes (Fig. 5c, Fig. 6b). La moelle est parcourue par de nombreux canaux parallèles, séparés par un mince dépôt de substance de nature fibrillaire, orientée longitudinalement comme les canaux.

L'écorce peut présenter des structures assez diverses.

a) L'écorce peut être constituée comme la moelle par un matériel fibrillaire ménageant des canaux longitudinaux, dont le diamètre est toutefois plus étroit, la distance séparant les axes des canaux contigus n'étant que faiblement diminuée par rapport à la moelle (Fig. 5a); la proportion du matériel fibrillaire se trouve

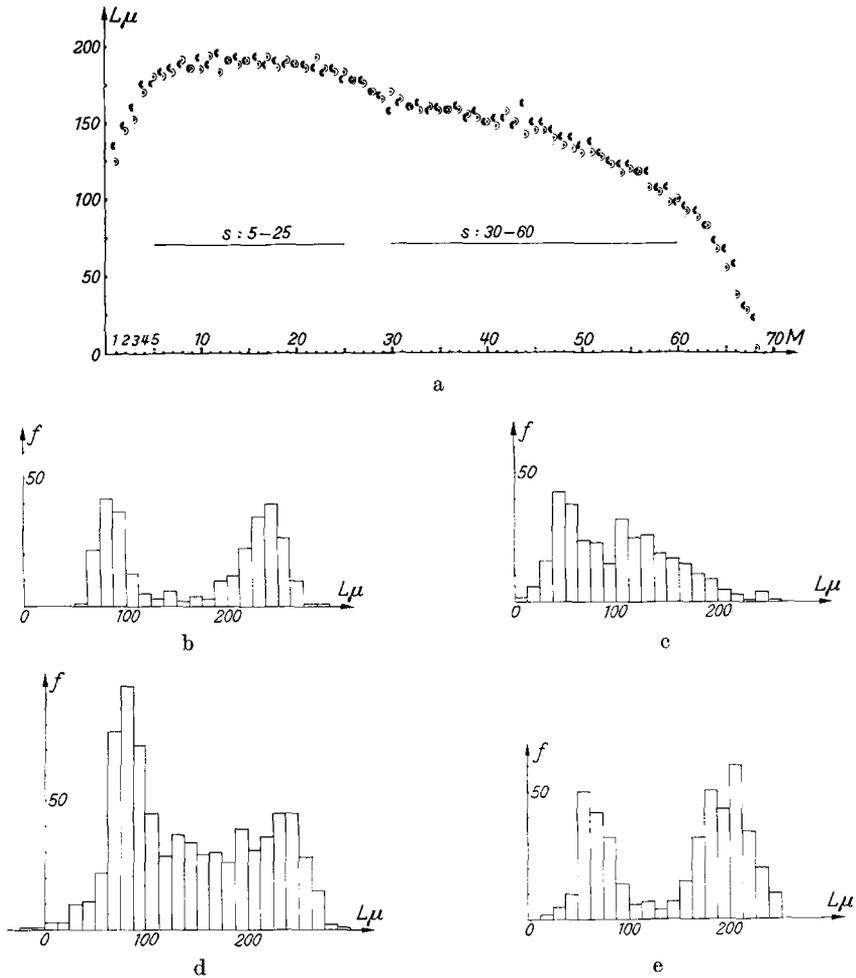


Fig. 4 a—e. Etude de la longueur des soies de *Haplosyllis depressa* — a longueurs en microns de l'acicule à bouton du parapode gauche (demi-cercle à gauche) et de son homologue symétrique (demi-cercle à droite) en fonction du numéro d'ordre du métamère chez un individu; L longueur de l'acicule; M numéro du métamère; S 5—25 représente l'ensemble des métamères, du cinquième au vingt-cinquième compris, sur lesquels porte la statistique de la Fig. 4 b; le segment S : 30—60 représente l'ensemble de métamères du trentième au soixantième compris sur lequel porte la statistique de la Fig. 4 c; b: étude statistique faites sur les segments 5 à 25 compris de l'individu analysé Fig. 4 a; sur cet intervalle, la longueur des acicules est pratiquement constante; on a porté en abscisse la distance L exprimée en microns, mesurée parallèlement aux acicules, entre la base de ceux-ci et l'extrémité des soies à crochets; la mesure de la longueur des soies à crochet est difficile parce que leur base est souvent délicate à observer; cependant, la distance de la base des acicules aux extrémités des soies donne un bon repérage de leur état de croissance et cette mesure s'effectue aisément; tous les acicules ont leur base au même niveau dans un parapode; en ordonnée, on a porté les fréquences obtenues dans des classes d'amplitude $12,5 \mu$; chaque classe est comprise entre deux valeurs L_1 et L_2 telles que $L_2 - L_1 = 12,5 \mu$ et la fréquence établie correspond à des soies vérifiant $L_1 < L \leq L_2$; la courbe obtenue est nettement bimodale; la taille des soies se groupe autour de deux valeurs; certaines soies ont pratiquement fini leur croissance et font saillie à l'extérieur, pendant que d'autres, internes, correspondent à des soies d'attente; les soies qui ont des valeurs

donc beaucoup plus élevée dans l'écorce que dans la moelle; il n'y a pas de limite nette entre les écorces de ce type et les zones médullaires qu'elles renferment; on trouve souvent, dans la région limite, des canaux de diamètre intermédiaire entre ceux de la moelle et ceux de l'écorce (Fig. 5c); les soies simples des *Haplosyllis* et des *Sabella* présentent très généralement ce type d'écorce (Fig. 5).

b) L'écorce peut être dépourvue de canaux; la substance fibrillaire longitudinale qui la constitue ne diffère pas morphologiquement de la substance déposée entre les canaux de la moelle; ce cas s'observe à certains niveaux dans les soies des *Haplosyllis* et dans les uncini des *Sabellas* (Fig. 5c, Fig. 6a, b).

c) L'écorce est du type a ou b, mais présente une couche externe qui est généralement moins dense aux électrons que la substance fibrillaire et dont l'aspect est plutôt granuleux (Fig. 5a, Fig. 6); cette couche granuleuse est parfois assez finement stratifiée (Fig. 6c); ce revêtement est surtout localisé à l'extrémité des soies (Fig. 6b).

Il existe donc deux types d'écorce qui diffèrent par leur nature fibreuse longitudinale (que nous désignerons par e_1 sur les figures) ou granuleuse (e_2). Une même soie peut présenter les divers aspects que nous venons de décrire suivant les niveaux de coupe.

Nous avons observé à la base des uncini et des soies en pioche, dont la sécrétion était achevée, que le matériel fibrillaire longitudinal est stratifié en couches concentriques autour des canaux (Fig. 14a, b); ces dépôts cylindriques peuvent se présenter sous forme de tubes disjoints au point de départ de ces soies (Fig. 14c).

2. *L'organisation du follicule sétigère.* La base de chaque soie est enfermée dans une seule cellule relativement volumineuse appelée cellule basale ou chétoblaste (PRUVOT, 1913) (Fig. 7a, b); les soies sont entourées également par de nombreuses cellules latérales; on désigne en général par follicule sétigère le sac constitué par la cellule basale et les cellules latérales d'une soie (Fig. 7a); les cellules des follicules sétigères sont caractérisées assez souvent par des noyaux de dimensions supérieures à la moyenne. Les cellules folliculaires sont bien individualisées et nous n'y avons jamais observé de structure syncytiale (Fig. 8a).

Le follicule sétigère est appliqué sur la base des soies au niveau du chétoblaste et des cellules latérales les plus proximales; les soies et les uncini achevés ou en formation sont séparés des autres cellules latérales par une lacune (Fig. 7a, Fig. 8a); il n'y a pas de telle lacune autour des acicules (Fig. 9). Le parallélisme parfois rigoureux entre le profil des soies et le contour extérieur des lacunes correspondantes suggère que les cellules latérales peuvent se décoller au cours de

de L intermédiaires sont probablement en croissance, mais sont très peu nombreuses; c histogramme de même principe qu'en b mais portant sur les segments 30 à 60 compris du même individu; d histogramme de même principe portant sur l'ensemble des métamères du même individu; certaines distances négatives portées sur ce graphique correspondent à quelques jeunes soies apparaissant dans des zones plus profondes que la base des acicules; e histogramme de même principe portant sur un autre individu qui a régénéré, après coupure, quelques segments et un telson; les acicules de ce spécimen ont des longueurs très comparables. On comprendra que ces statistiques mettent d'autant mieux en évidence le caractère bimodal de ces distributions, que les métamères utilisés pour les mesures sont à des degrés comparables de développement

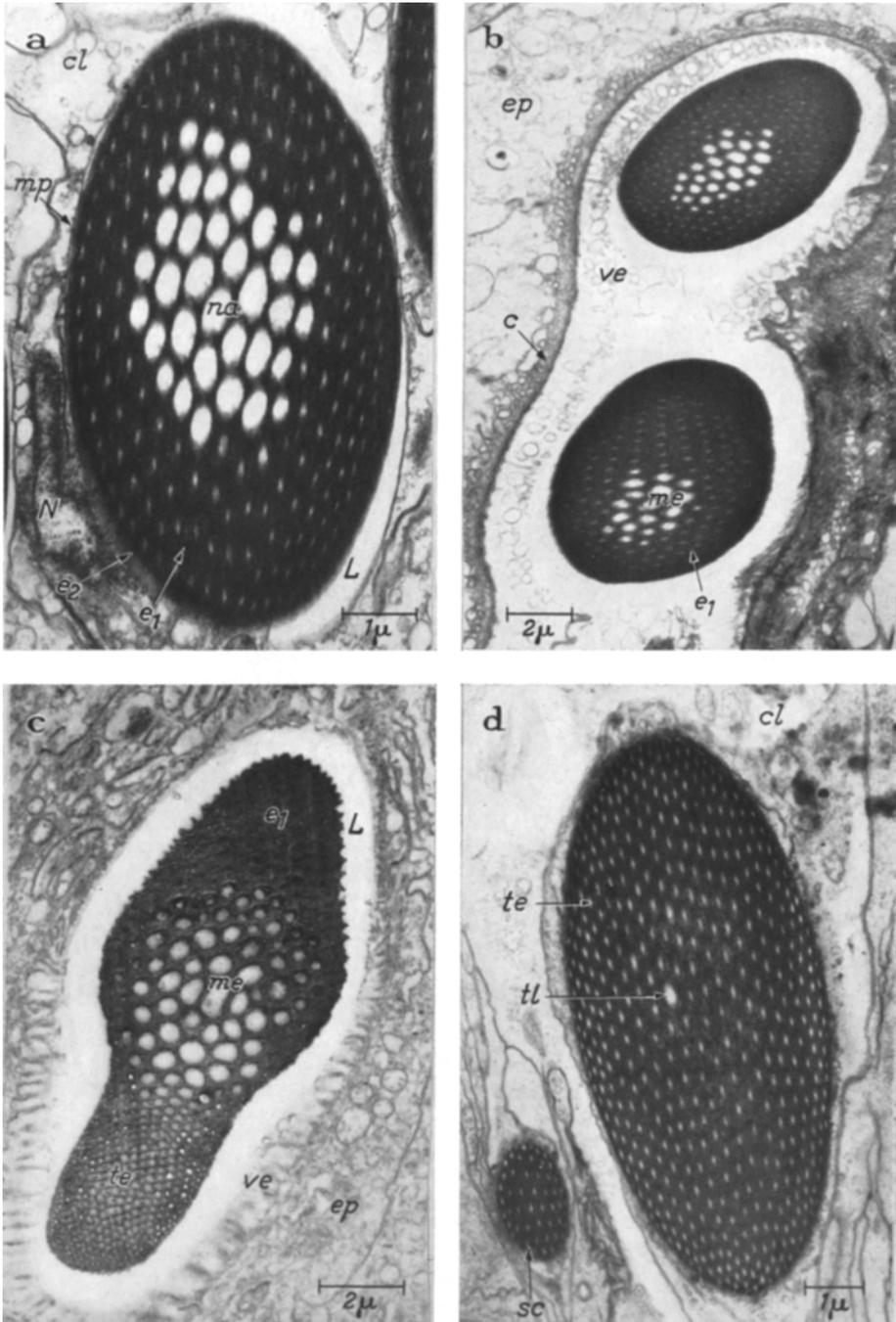


Fig. 5a—d. Structures des soies, des uncini et des acicules dans leur partie moyenne (a, b: glutaraldéhyde, OsO_4 , citrate de plomb; c: OsO_4 , acide phosphotungstique, d: OsO_4 , citrate de plomb); a coupe légèrement oblique d'une soie de *Haplosyllis depressa*; la zone médullaire est caractérisée par sa disposition en nid d'abeille; les canaux de la zone corticale

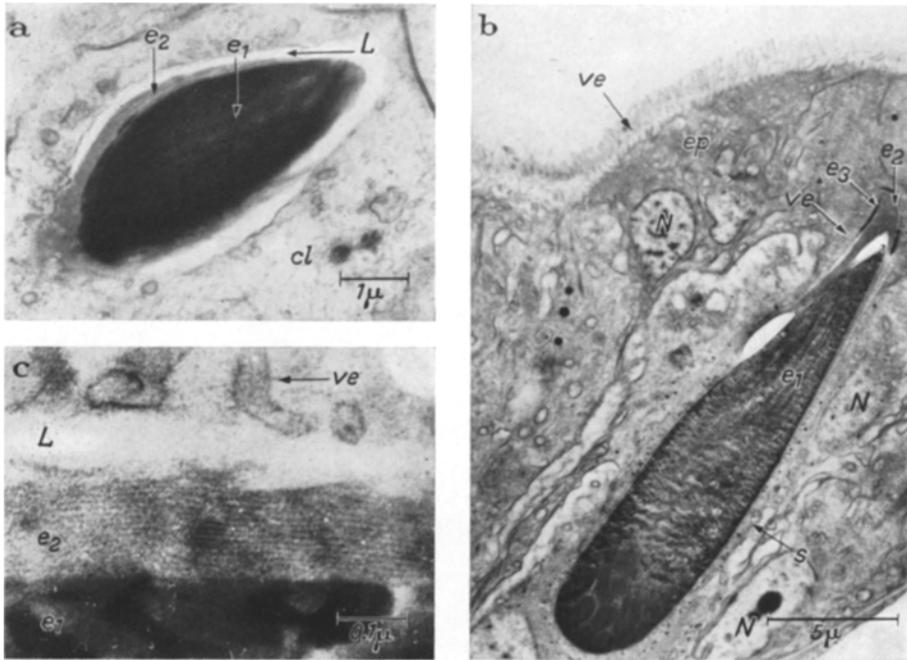


Fig. 6a—c. Structures distales des soies (OsO_4 , a contrasté par le citrate de plomb; b et c non contrastés). a coupe oblique de l'extrémité d'une soie de *H. depressa*; il n'y a pas de zone médullaire différenciée; on distingue une zone centrale très dense aux électrons (e_1) et un dépôt cortical moins dense (e_2); b coupe sublongitudinale de l'extrémité d'un uncinus de *Sabella pavonina*; on n'observe pas de zone médullaire différenciée à ce niveau; on distingue également un constituant dense aux électrons (e_1) et une couche superficielle moins dense particulièrement développée à l'extrémité de l'uncinus; c agrandissement d'une portion de la Fig. b, la couche corticale e_2 est granuleuse et finement stratifiée (*S. pavonina*); *cl* cytoplasme d'une cellule latérale; e_1 : zone corticale dense aux électrons; e_2 zone corticale peu dense aux électrons; e_3 couche supplémentaire très dense aux électrons; *ep* cellules épidermiques; *L* lacune; *N* noyau; *s* grain de sécrétion; *ve* microvillosités épidermiques

sont très étroits; on observe localement un mince liseré peu dense aux électrons (e_2); la soie est séparée localement des cellules latérales par une lacune; b coupe de deux soies de *H. depressa* au niveau où elles font saillie à l'extérieur du parapode; en ce point précis, l'épiderme présente une dépression et les soies sont entourées par la cuticule en section; celle-ci est caractérisée par ses microvillosités et de nombreuses vésicules; c coupe transversale d'un uncinus thoracique de *Sabella pavonina*; ce type de soie en forme de crochet est représenté sur la Fig. 2i; le trait de coupe xy donne approximativement le type de section correspondant à cette micrographie; les uncini sont parcourus par des tubes de diamètre fort divers; ceux-ci sont particulièrement fins au niveau de la «poitrine» (si l'uncinus est comparé par sa forme à un oiseau); il n'y a pas d'écorce et de zone médullaire dans cette région alors que ces deux structures sont bien délimitées dans la zone corticale de l'uncinus; d coupe oblique d'un acicule et d'une soie capillaire; à ce niveau, il n'y a pas de différenciation de zone médullaire; un canal possède cependant un diamètre nettement plus large que celui des autres; *c* cuticule; *cb* chétoblaste; *cl* cellule latérale; e_1 écorce fibreuse longitudinale, zone dense aux électrons; e_2 liseré cortical peu dense aux électrons; *ep* épiderme parapodial; *L* lacune; *m* zone médullaire; *mp* membrane plasmique limitant une cellule latérale; *N* noyau; *na* structure en nid d'abeille de la zone médullaire; *sc* soie capillaire; *te* tube étroit; *tl* tube large; *v* villosités; *ve* microvillosités épidermiques et vésicules

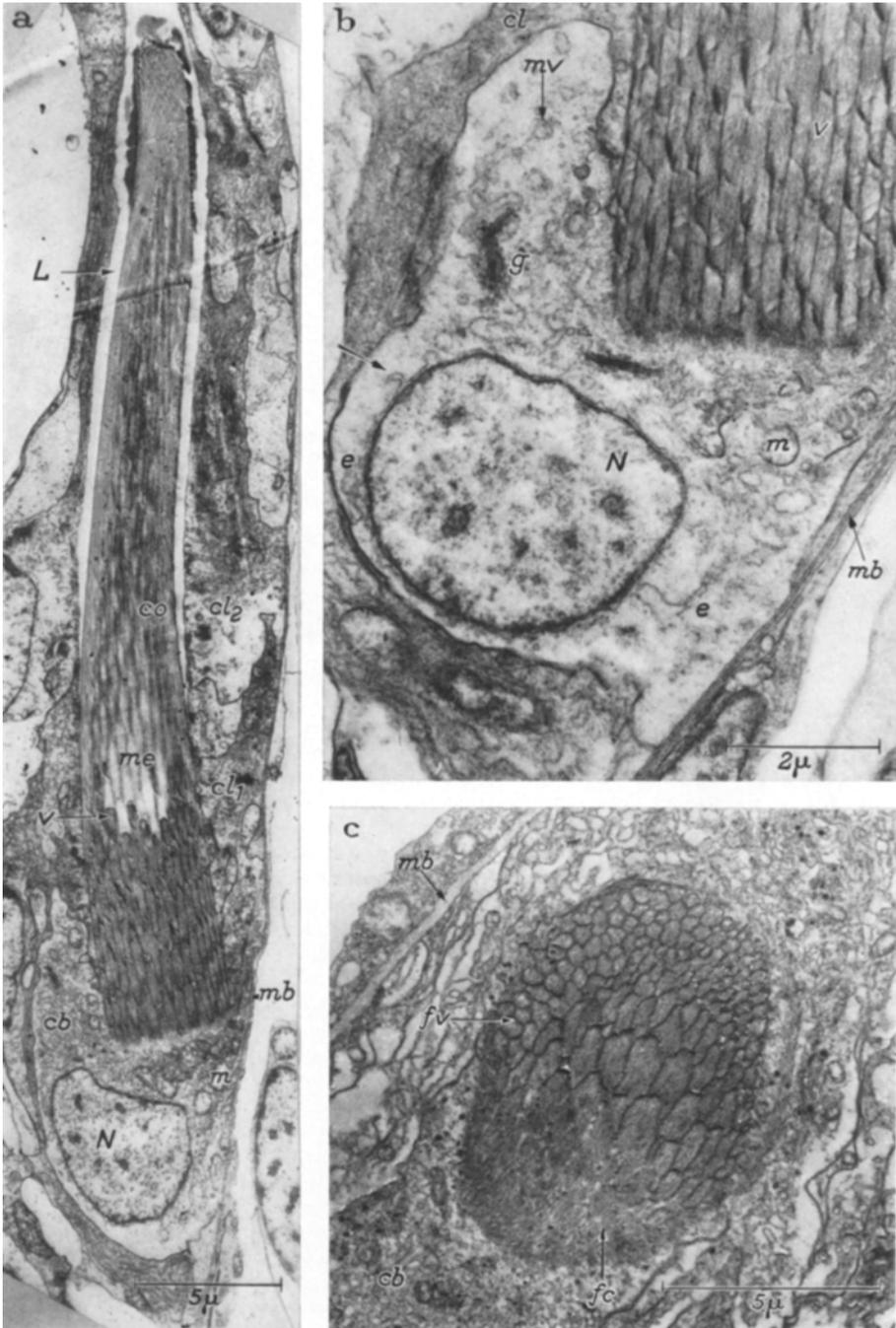


Fig. 7a—c. Principaux éléments des soies et des cellules associées; OsO₄, APT. a coupe longitudinale d'une soie simple de *Haplosyllis depressa* avec sa cellule basale et l'ensemble des cellules latérales; la cellule basale ou chétoblaste possède une plage de villosités qui guident la sécrétion; les cellules latérales contiguës au chétoblaste sont adjacentes à la soie; les autres

la fixation (Fig. 7 a); en fait, s'il y a décollement, on ne doit pas l'attribuer nécessairement à la fixation: on peut reconnaître, en effet, l'existence de ces lacunes autour d'un certain nombre de soies examinées avec un objectif à immersion sur des *Haplosyllis* vivants, montés entre lame et lamelle; la petite taille des individus et leur transparence relative permettent cette observation. On doit noter également que l'épiderme forme une petite dépression autour de chaque soie simple qui fait saillie à l'extérieur (Fig. 5 b); de même, chaque uncinus est entouré par un petit entonnoir creusé dans le tore uncinigère; nous avons observé souvent que cette dépression peut être en continuité avec la lacune qui entoure une soie ou un uncinus (Fig. 5 c); l'épiderme est caractérisé sur toute la surface du corps, et en particulier sur les parapodes, par sa cuticule traversée par de nombreuses villosités (Fig. 6 b); la cuticule s'amincit et les villosités disparaissent dans la zone de jonction entre lacune et dépression (Fig. 5 c); ce passage ne s'effectue pas forcément à la limite séparant deux cellules et on trouve, à ce niveau, certaines cellules dont on ne peut décider de l'appartenance au follicule ou au tégument.

Aux stades où nous avons étudié les soies, nous n'avons jamais observé de telles lacunes au niveau du chétoblaste (Fig. 7 a, b, Fig. 8 a). Les follicules sétigères sont souvent bordés extérieurement, sur l'une de leurs faces, par une membrane basale assez épaisse, de 1000 Å au moins (Fig. 7 a, b).

3. *Le chétoblaste.* Les observations les plus satisfaisantes ont été réalisées sur *Haplosyllis depressa* (Fig. 7 a, b). La cellule basale possède un noyau assez volumineux, limité par une membrane, dont le feuillet externe présente de nombreux replis (Fig. 7 b); le cytoplasme renferme des cytomembranes limitant des sacs plus ou moins aplatis; des communications peuvent exister entre ces sacs et les replis de la membrane nucléaire; ces structures de faible densité aux électrons sont souvent mal résolues. Le cytoplasme contient parfois de nombreux granules qui sont probablement des ribosomes (Fig. 10 a, b); ces granules peuvent être groupés en chaînettes de cinq à dix éléments; il s'agit, peut-être, de polyribosomes. Le cytoplasme contient de nombreuses mitochondries, des corps de Golgi, des corps multivésiculaires et des vésicules de nature et de taille assez diverses (Fig. 7 b, Fig. 8 a, Fig. 10 a, b); certaines de ces vésicules ne renferment aucun matériel dense aux électrons avant ou après usage de contrastant; d'autres vésicules renferment au contraire un matériel assez dense avec ou sans contrastant; la coloration au citrate de plomb met en évidence des constituants très bien contrastés dans une grande proportion de vésicules golgiennes ou cytoplasmiques (Fig. 10 a).

A la base de chaque soie, la surface du chétoblaste est différenciée en une sorte de plateau strié constitué par de nombreuses microvillosités (Fig. 7 à 12). L'ensemble est désigné habituellement sous le nom d'appareil basal; à l'origine de chaque canal se trouve l'une de ces microvillosités; de telles microvillosités existent

cellules latérales en sont séparées par une lacune; b coupe d'un chétoblaste de *H. depressa*; observer les replis de la membrane nucléaire (flèche); c coupe oblique de la base d'une soie simple de jeune *Sabella pavonina*; *cb* chaetoblaste; *cl*₁ cellule latérale adjacente à la soie et au chétoblaste; *cl*₂ cellule latérale séparée de la soie par une lacune; *co* zone corticale de la soie; *e* ergastoplasme ou réticulum endoplasmique; *fc* prolongements dans le cytoplasme du matériel fibrillaire des villosités; *fv* matériel fibrillaire des villosités; *g* corps de Golgi; *L* lacune; *m* mitochondrie; *mb* membrane basale du follicule sétigère; *mv* corps multivésiculaire;

N noyau; *v* villosités

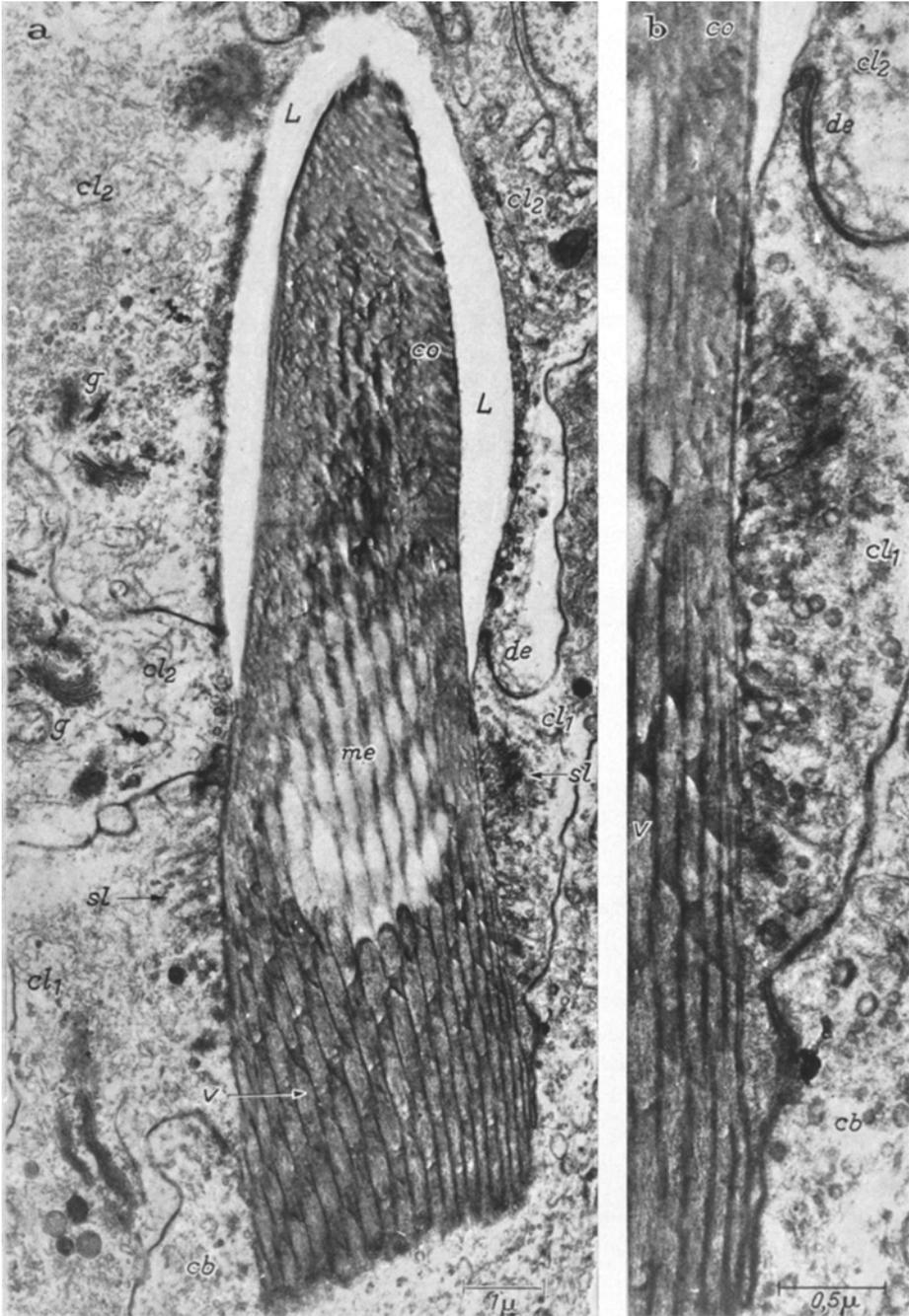


Fig. 8a et b. Coupe sublongitudinale d'une soie de *Haplosyllis depressa* (OsO₄, ATP). a la soie, ses villosités et ses zones latérales de sécrétion; b détail de la zone latérale de sécrétion située sur la partie droite de la figure précédente; *cb* cytoplasme du chétoblaste; *cl*₁ cytoplasme des cellules latérales de la soie, adjacentes par ailleurs au chétoblaste; *cl*₂ cytoplasme des autres cellules latérales; *co* zone corticale; *de* desmosome; *g* corps de Golgi; *L* lacune séparant la soie du follicule sétigère; *me* zone médullaire dont les tubes contigus donnent en section un réseau en nid d'abeille; *sl* zone de sécrétion latérale; *v* microvillosités

également à la base de la zone corticale, mais il ne leur correspond que des canaux étroits (Fig. 8a, b) ou pas de canaux du tout. Les canaux sont manifestement les traces des microvillosités dont le dessin reste comme gravé dans la soie au cours de son dépôt (Fig. 8a, Fig. 11).

Les microvillosités sont le plus souvent tassées les unes contre les autres à leur base, ce qui leur donne une forme prismatique de section généralement hexagonale; parfois, ces hexagones sont festonnés chez les soies très jeunes (Fig. 13c); à partir d'une certaine distance de la base, les villosités sont cylindriques dans les soies et coniques dans les acicules que nous avons étudiés et dont la croissance était achevée (Fig. 9, Fig. 11a). Les microvillosités ont un diamètre compris entre le cinquième et la moitié d'un micron; leur longueur varie entre cinq et douze microns; les villosités de la zone corticale sont toujours de plus faible diamètre que celles de la zone médullaire, mais par contre, elles peuvent être plus longues (Fig. 8a).

Les microvillosités sont limitées par une membrane plasmique simple et contiennent un matériel fibrillaire orienté longitudinalement (Fig. 8, Fig. 12); ces fibrilles présentent peu de prolongements dans le cytoplasme de la cellule basale (Fig. 12c, d); nous avons observé cependant quelques rares chétoblastes chez *Haplosyllis* pourvus de ces prolongements jusque dans des zones profondes du cytoplasme.

La comparaison d'un grand nombre de coupes permet de penser que la longueur, la forme et la densité des fibrilles des microvillosités sont susceptibles de varier avec l'état fonctionnel du chétoblaste (Fig. 7a, b, Fig. 8, Fig. 9, Fig. 10a, Figs. 11—14). Les microvillosités présentent souvent à leur extrémité un petit sac dépourvu de fibrilles (Fig. 12b). Il est parfois difficile de distinguer la membrane plasmique qui limite les microvillosités lorsque celles-ci sont parfaitement adjacentes aux parois des canaux (Fig. 10a); cette éventualité, assez rare chez les *Haplosyllis*, nous a semblé être une règle générale chez les Sabelles; il apparaît également chez ces dernières que les structures fibrillaires des microvillosités des soies simples se prolongent profondément dans le cytoplasme des cellules basales (Fig. 7c). De plus, on peut observer, sur ce matériel, l'extrême réduction des microvillosités à la base des uncini et des soies en pioche, dont la croissance est terminée (Fig. 14a, b, c); ces villosités ne sont guère plus longues que larges; elles sont généralement déprimées et entourées de nombreuses vésicules assez denses aux électrons.

De nombreuses vésicules se trouvent dans le cytoplasme sous le plateau strié; elles ne renferment aucun constituant dense aux électrons, même après usage des contrastants cités plus haut (Fig. 12c); certaines d'entre elles sont en communication avec l'espace intermembranaire qui est très réduit et sépare les microvillosités contiguës; ces rapports de continuité existent à la base de toutes les soies aussi bien achevées que non complètement développées (Fig. 12a, c, d).

Nous avons observé des dépôts fibrillaires entre les microvillosités, à la base des plateaux striés des acicules (Fig. 12d), des soies en pioche et des uncini achevés (Fig. 14); dans les soies dont le développement n'est pas terminé, la matière fibrillaire longitudinale, qu'elle soit médullaire ou corticale, est déposée seulement entre les extrémités des microvillosités (Fig. 10a, Fig. 11b, Fig. 12a, c, Fig. 13a).

Lorsqu'une soie est achevée, le chétoblaste dégénère et son noyau disparaît (BOBIN, 1944). Nous donnons une micrographie d'un acicule dont la croissance est

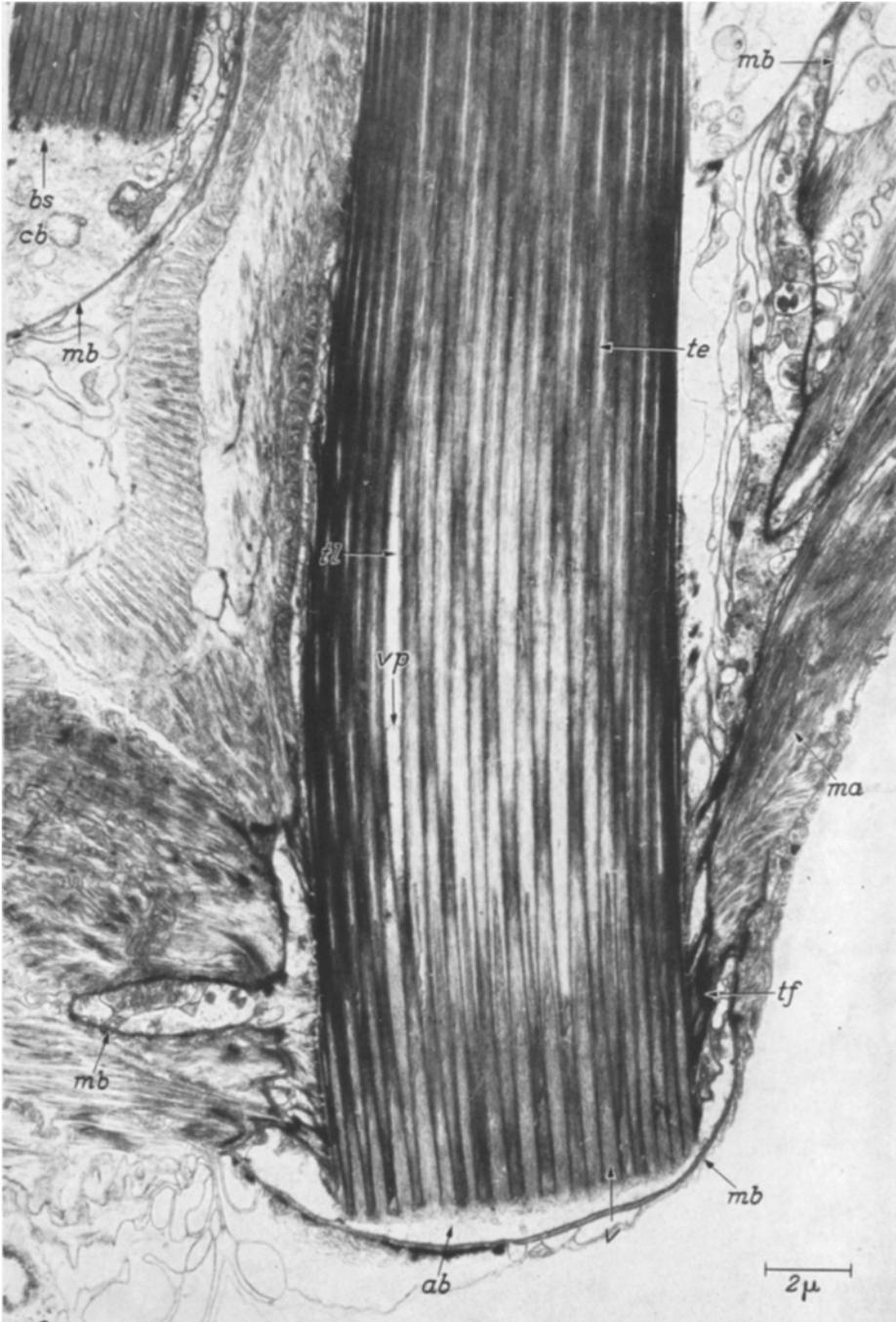


Fig. 9. Coupe longitudinale d'un acicule de *Haplosyllis depressa*, (glutaraldéhyde, OsO_4 , citrate de plomb); la cellule basale est réduite à une lame de cytoplasme pratiquement dépourvue de structures; la différenciation en zones corticale et médullaire est bien visible; les villosités subsistent après la fin de la croissance; l'une des villosités est particulièrement

très probablement terminée et dont la base est enfermée dans une mince lame cytoplasmique pauvre en structures (Fig. 9); les microvillosités subsistent après la fin du développement.

4. *Les cellules latérales des soies.* Ces cellules sont très comparables au chétoblaste par la nature et l'aspect des organites qu'elles renferment; les noyaux sont assez volumineux; on retrouve dans le cytoplasme les mêmes organites: mitochondries, corps de Golgi, corps multivésiculaires et plusieurs types de vésicules, dont certaines renferment un contenu particulièrement dense aux électrons après coloration au plomb (Fig. 8, Fig. 10, Fig. 11 b, Fig. 13 a, b, d). Il y a lieu de distinguer les cellules latérales adjacentes au chétoblaste des cellules qui ne le sont pas et se trouvent séparées habituellement de la soie par une lacune (Fig. 8).

Les cellules latérales les plus proximales renferment, dans le domaine cytoplasmique situé au bord de la soie, une grande quantité de vésicules qui restent claires aux électrons avec ou sans usage de contrastant (Fig. 8, Fig. 10, Fig. 11 b, Fig. 13 d); ces vésicules sont généralement alignées en files subperpendiculaires à la membrane plasmique bordant la soie; ces files peuvent être séparées par une substance finement granuleuse, disposée en travées et ayant la même direction (Fig. 8 b). Certaines des vésicules rentrent en communication avec l'espace qui sépare la soie de la membrane qui l'enveloppe (Fig. 8 b, Fig. 10 a, c, Fig. 13 a).

La membrane plasmique de ces cellules latérales proximales peut être différenciée dans certains cas en une structure en nid d'abeille qui délimite des compartiments prismatiques dans le cytoplasme pariétal (Fig. 13 b).

Les autres cellules latérales du follicule renferment le même type de vésicules groupées en grand nombre au bord de la lacune qui les sépare de la soie (Fig. 8 a); dans ces cellules plus distales, nous n'avons jamais observé d'arrangement particulier des vésicules.

Les acicules sont liés par leur base et leur extrémité, à des muscles parapodiaux; les attaches musculaires sont différenciées dans certaines des cellules latérales (Fig. 9); les éléments figurés qui assurent ces liaisons sont les tonofilaments dont les groupements plus ou moins bien individualisés constituent les tonofibrilles (Fig. 15). Nos documents qui intéressent les attaches basales des acicules montrent qu'il s'agit, dans ce cas, de différenciations cytoplasmiques entre lesquelles sont présentes, en général, de nombreuses vésicules limitées par une membrane plasmique. La jonction des tonofibrilles et des soies est assurée par de petits épaississements de la membrane plasmique qui sépare l'acicule des cellules latérales. Ces fragments épaissis sont des relais aux quels sont attachés d'un côté les tonofibrilles et de l'autre des filaments très fins liés à la matière même des soies (Fig. 15); à l'autre extrémité, les tonofibrilles sont attachées à la membrane basale épaisse d'au moins 1000 Å, frontière entre les cellules musculaires et les cellules à tonofibrilles (Fig. 15 a).

allongée; l'acicule est lié par de nombreuses tonofibrilles aux muscles aciculaires; en haut à gauche, on observe la base d'une soie; on distingue une membrane basale qui sépare les cellules adjacentes de l'acicule, des muscles aciculaires; les follicules sétigères des soies simples sont également réunis sous une membrane basale; *ab* cytoplasme de la cellule basale de l'acicule; *bs* base d'une soie; *cb* chétoblaste; *ma* muscle aciculaire; *mb* membrane basale; *te* tube

étroit; *tf* tonofibrilles; *tl* tube large; *v* villosité; *vp* villosité particulière

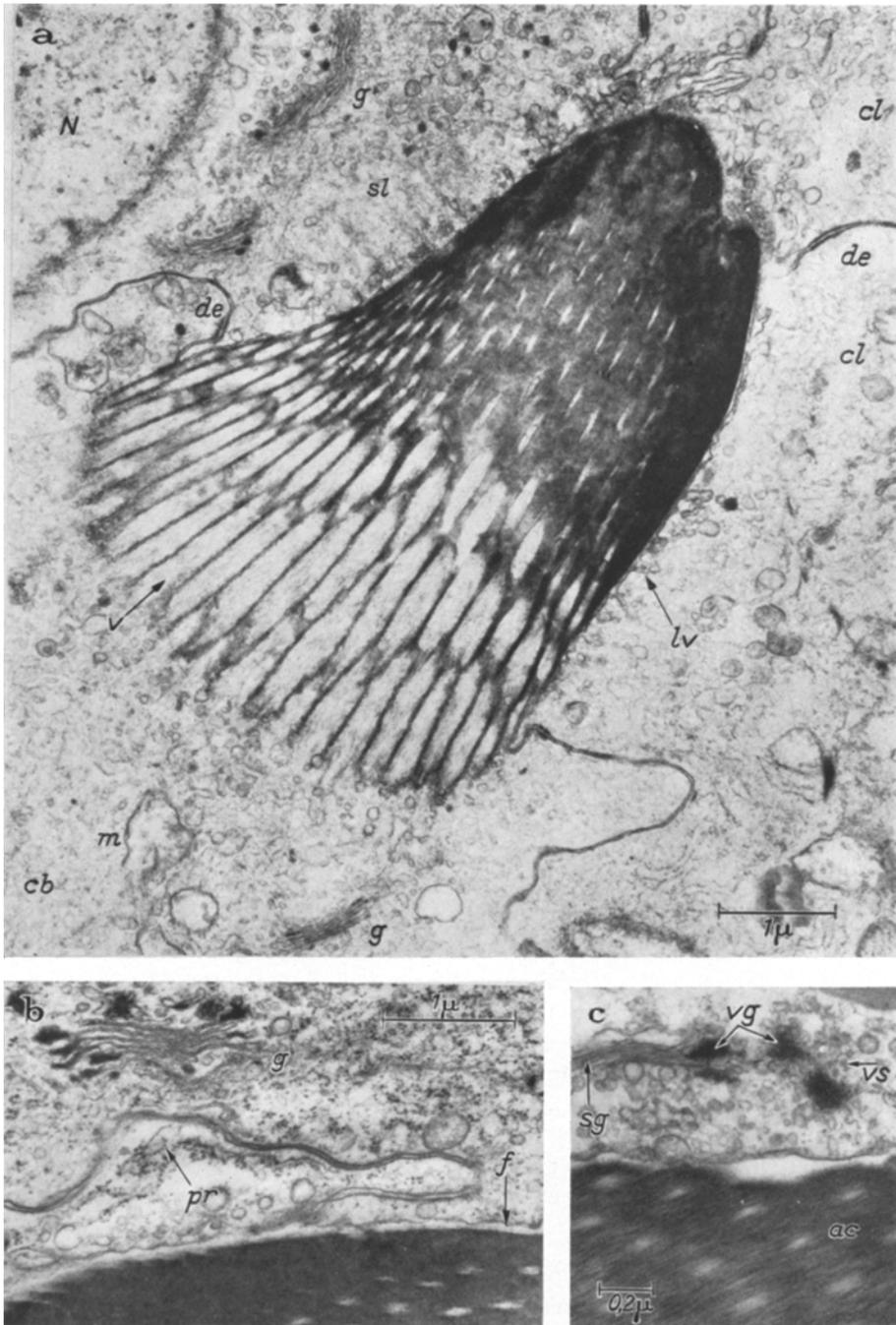


Fig. 10a—c. Observations sur les cellules latérales des soies de *Haplosyllis depressa*. (a glutaraldehyde, OsO_4 ; b, c OsO_4 seul; les Figs. a, b, c contrastées par le citrate de plomb). a coupe sublongitudinale d'une jeune soie; b cytoplasme appartenant à deux cellules latérales d'une soie coupée obliquement; on observe les corps de Golgi et des granules plus ou moins

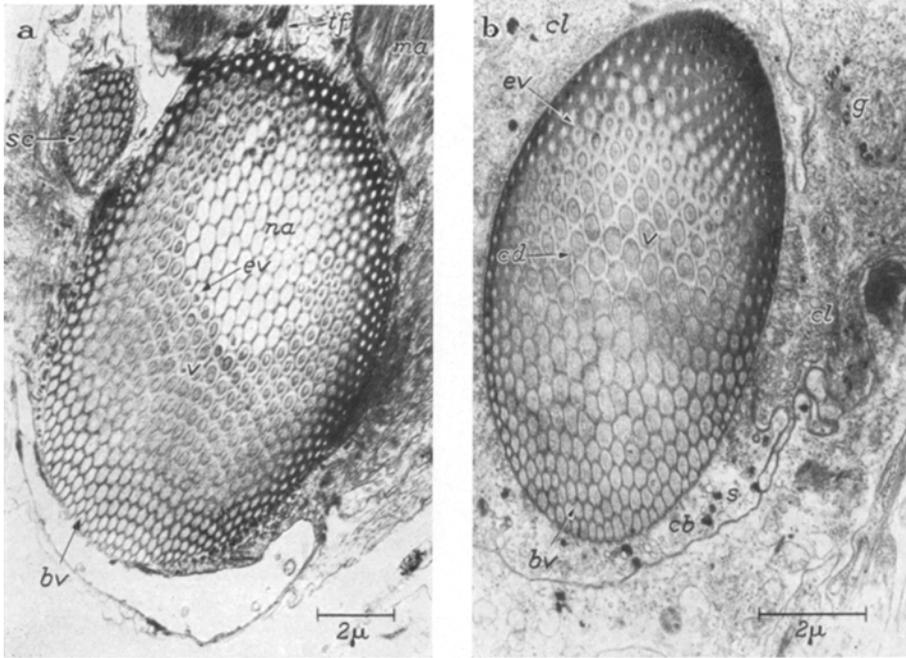


Fig. 11 a et b. Coupes obliques des bases d'un acicule et d'une soie chez *Haplosyllis depressa*. OsO₄, citrate de plomb; a on distingue une zone médiane constituée d'un dépôt en nid d'abeille qui caractérise la moelle; on observe la base des microvillosités dans la partie inférieure gauche de la micrographie; les microvillosités sont plus longues à la périphérie de l'acicule qu'en son centre; en dehors de ce secteur, les alvéoles périphériques de l'acicule sont épaissies et constituent une écorce qui est bien différenciée à partir de l'extrémité des villosités; en haut à gauche de la figure, coupe d'une soie capillaire; b les zones médiane et corticale sont également différenciées dans cette soie; la partie inférieure de la section coupe les villosités à un niveau voisin de leur base; la partie supérieure atteint les extrémités des villosités; entre celles-ci, un matériel fibrillaire est déposé et se trouve particulièrement dense à la périphérie, en y constituant la zone corticale; ce matériel n'acquiert une haute densité aux électrons qu'à une certaine distance des villosités comme si ces dernières empêchaient cette transformation; bv bases des villosités; cb chétoblaste; cl cellule latérale; col colonette dense aux électrons située à égale distance de trois villosités; ev extrémités des villosités; g corps de Golgi; ma muscles aciculaires; na structure en nid d'abeille de la zone médullaire; s grain de sécrétion; sc soie capillaire en coupe oblique; tf tonofibrilles; v villosités

Les soies également peuvent être munies de nombreuses tonofibrilles, c'est le cas des soies simples, des uncini et des soies en pioche des Sabelles (Fig. 14); la liaison des tonofibrilles aux soies se fait de la même manière au niveau de petits fragments épaissis de la membrane plasmique pariétale. A la base des soies en

disposés en chaînettes (peut-être des polyribosomes); c couple d'un acicule où l'on observe la fibrillation du matériel chitinoprotéique; la cellule latérale, dont on voit l'un des corps de Golgi, est riche en petites vésicules claires très nombreuses autour des vésicules golgiennes opaques aux électrons; ac acicule, cb chétoblaste; cl cellules latérales; de desmosome; f filament entre soie et membrane plasmique; g Golgi; lv vésicules communiquant avec la membrane plasmique entourant la soie; m mitochondrie; N noyau; pr polyribosomes présumés; sg saccule golgien; v villosités; vg vésicules golgiennes; vs petites vésicules claires

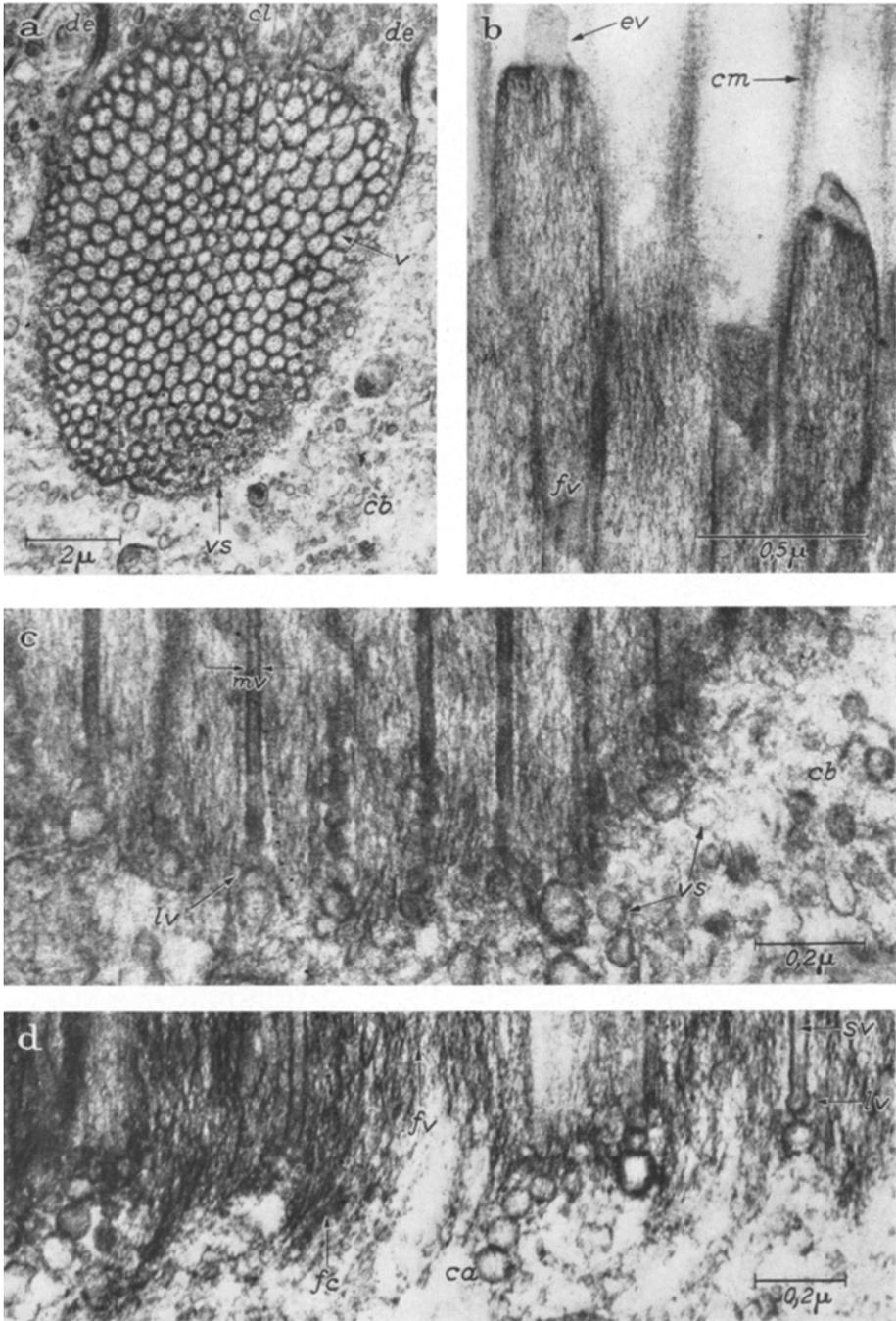


Fig. 12a—d. Ultrastructure des microvillosités de la base des soies chez *Haplosyllis depressa* (OsO_4 , a contrastée au citrate de plomb; b, c, d APT). a coupe transversale de la base des villosités d'une soie; les vésicules du cytoplasme de la cellule basale confluent avec l'espace séparant les villosités; la cellule dont on voit le cytoplasme dans la partie supérieure de

pioche et des uncini dont la croissance est achevée, on peut constater l'identité morphologique des structures fibrillaires des villosités et des tonofibrilles (Fig.14).

Discussion

L'architecture des soies

Les premières études approfondies sur les soies des Oligochètes et des Polychètes furent entreprises par SCHEPOTIEFF (1903, 1904); cet auteur utilisait diverses méthodes de dessiccation permettant une bonne résolution des canaux présents dans la zone axiale des soies; celles-ci étaient mises à sécher 24 à 48 h à l'étuve à 45° C; une méthode plus efficace consistait à imbiber les soies de xylol après les avoir déshydratées par l'alcool absolu, puis à les passer sous vide. SCHEPOTIEFF a donné ainsi quelques descriptions auxquelles nos recherches ultrastructurales n'apportent guère de précisions. Plusieurs travaux, dont le plus récent à notre connaissance est celui de EBLING (1945), ne mentionnent pas cette méthode de travail et laissent entendre que SCHEPOTIEFF aurait décrit les canaux de la zone axiale comme remplis de gaz dans les conditions naturelles; en fait, SCHEPOTIEFF donne la preuve de la présence d'une phase liquide dans les canaux des soies, en observant que celles-ci, écrasées avec force entre deux lames porte-objet, se remplissent de chapelets de bulles d'air lorsqu'on relâche la pression; si on appuie alors plus ou moins fort sur la lame supérieure, on peut faire aller et venir les bulles dans les canaux. SCHEPOTIEFF rapporte l'existence de bulles dans certaines soies n'ayant pas subi les traitements de dessiccation, mais il précise qu'en dehors des Vers de terre, il ne possédait pas de matériel frais et les Polychètes qu'il a étudiées étaient conservées dans l'alcool depuis plusieurs années. Certaines localisations privilégiées de bulles permettent à cet auteur de décrire les striations transversales qui résultent probablement de quelques discontinuités au cours de la croissance; de telles striations ont été observées également en microscopie optique par LIPPERT et GENTIL (1962) dans les soies irisées de *Aphrodite aculeata*; nos résultats confirment ces données.

Chez de nombreuses espèces, certains types de soies peuvent être cloisonnés transversalement par des petits diaphragmes disposés régulièrement dans la zone médiane; PRUVOT (1913) a décrit le processus de sécrétion de ces diaphragmes par les chétoblastes.

la micrographie est une cellule latérale liée au chétoblaste par des desmosomes; b coupe longitudinale des extrémités de quelques villosités; les cloisons de séparation des canaux médullaires sont déposées dans l'espace séparant les villosités contiguës; les microvillosités renferment un matériel fibrillaire longitudinal et présentent souvent une vésicule terminale; c coupe longitudinale de la base d'une soie montrant les rapports entre les vésicules cytoplasmiques de la cellule basale et l'espace séparant les microvillosités; d coupe longitudinale de la base d'un acicule achevé; *ca* cytoplasme basal de l'acicule; *cb* cytoplasme du chétoblaste; *cl* cytoplasme d'une cellule latérale; *cm* cloison de la zone médullaire; *de* desmosome; *ev* vésicule de l'extrémité d'une microvillosité; *fc* prolongements cytoplasmiques des filaments d'une microvillosité; *fv* filaments à l'intérieur d'une microvillosité; *lv* liaison entre vésicule et espace séparant deux microvillosités contiguës; *mv* membranes des microvillosités en apposition et définissant un étroit espace extracellulaire; *sv* sécrétion entre les villosités en continuité avec les cloisons séparant les canaux de l'acicule

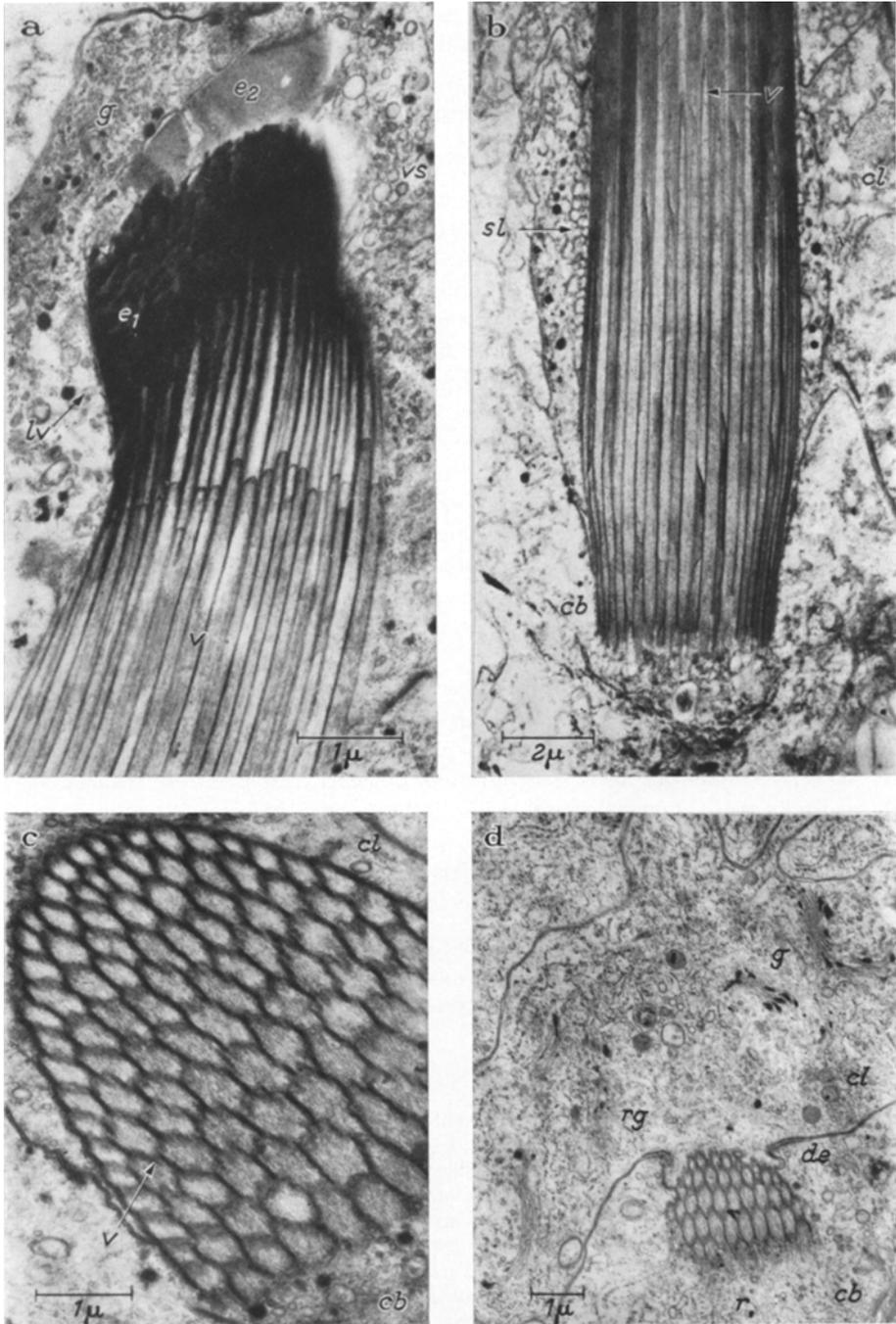


Fig. 13a—d. Aspects divers des villosités et du cytoplasme latéral des jeunes soies de *Haplosyllis depressa*. a glutaraldéhyde et postosmication; b, c, d OsO_4 seul; contraste obtenu avec le citrate de plomb en a, b, c, d). a dépôt irrégulier de la couche corticale e_2 ; certaines vésicules du cytoplasme confluent avec la membrane plasmique séparant la soie du cytoplasme;

Les micrographies électroniques de LIPPERT et GENTIL (1962) nous apprennent que les soies irisées des *Aphrodite aculeata* peuvent présenter des architectures fort diverses : l'épaisseur de l'écorce est très variable et la moelle peut être constituée de canaux contigus ou séparés; la cohérence des soies à tubes disjoints est assurée par des structures fibreuses décelables en coupe transversale. Nous avons observé également ces disjonctions des canaux, à la base des uncini et des soies en pioche des Sabelles; la stratification cylindrique du matériel fibrillaire autour des villosités suggère que la sécrétion est organisée progressivement autour de chacune d'elles et il semble naturel que, si les villosités sont assez distantes les unes des autres, les soies aient leurs zones médianes constituées de tubes disjoints.

LIPPERT et GENTIL (1962) ont observé une hétérogénéité ultrastructurale très nette entre les constituants de l'écorce des soies irisées des Aphrodites et la matière fibrillaire déposée entre les canaux de la zone médullaire; cette écorce, de nature finement granuleuse, est probablement comparable au fin revêtement généralement peu dense aux électrons, parfois stratifié et localisé surtout aux extrémités des soies que nous avons étudiées. De plus, ces auteurs ont mis en évidence des inclusions denses aux électrons dans l'écorce de certaines de ces soies irisées; nous pensons devoir rapprocher ce résultat d'une observation de SCHEPOTIEFF (1903) sur le même matériel, dont il décrit l'aspect parfois granuleux de l'écorce, en observation photonique.

Les soies des Polychètes sont souvent irisées; c'est le cas des soies des *Haplosyllis* observées en fond noir; l'étude physique de ce phénomène a été entreprise chez *Aphrodite aculeata* par LIPPERT et GENTIL (1962). La structure fibrillaire longitudinale, que nous avons observée aux forts grossissements est certainement responsable en grande partie de la biréfringence des soies; BOBIN et MAZOUÉ (1944) ont montré en effet que la biréfringence totale des soies d'*Aphrodite aculeata* comporte une contribution importante de la biréfringence de forme impliquée par la présence d'éléments fibreux.

PICKEN et LOTMAR (1950) ont étudié les soies d'*Aphrodite* et de *Hermione*; elles sont constituées essentiellement de chitine et de protéine; les produits de l'extraction par la potasse à 10% donnent les réactions colorées de certains acides aminés; on peut mettre en évidence le tryptophane et l'arginine; il n'y a pas d'acide aminé soufré et, en conséquence, on n'observe pas de pont disulfure; il n'y a pas non plus de liaison saline; les protéines des soies sont tannées par des composés phénoliques (le test de Millon, de même que les réactions argentaffine et diazo sont positives à la base des soies). Les mesures de biréfringence permettent de s'assurer que les chaînes de chitine sont orientées longitudinalement; ces auteurs (1950) et, plus

les microvillosités sont très longues, arrondies à leur extrémité et leur matériel fibrillaire peu dense; b coupe longitudinale d'une soie; les microvillosités sont très longues et effilées; les zones de sécrétion latérale sont plus ou moins organisées en nid d'abeille; c coupe oblique de la base d'une soie dont les villosités présentent en section des bords festonnés; cette disposition suggère des variations possibles du diamètre de la base des soies par gonflement ou rétraction transversale des villosités; d coupe oblique de jeune soie montrant la richesse des cellules latérales en ribosomes et corps de Golgi; cb chétoblaste; cl cellule latérale; de desmosome; e₁ structure corticale dense aux électrons; e₂ structure corticale moins dense; g corps de Golgi; r ribosomes; rg ribosomes groupés; sl zone de sécrétion latérale; v villosité; vs vésicules cytoplasmiques des cellules latérales du follicule sétigère

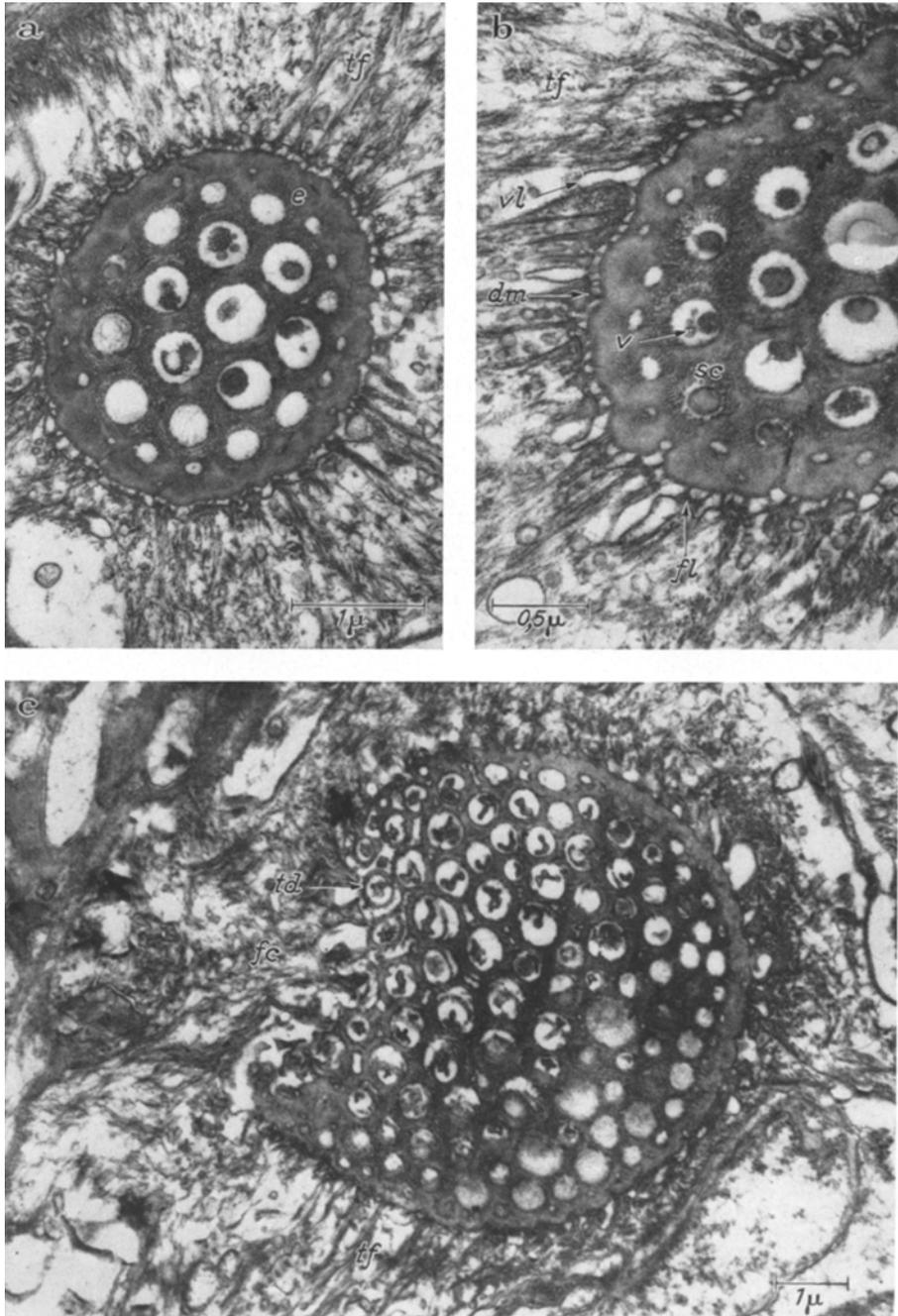


Fig. 14a—c. Coupes transversales de soies en pioche (a, b) et d'uncinus (c) dont les sécrétions sont achevées; *Sabella pavonina*, OsO₄, APT. a les zones corticale et médullaire existent mais ne sont pas nettement délimitées; les villosités sont très courtes et souvent déprimées; on observe en outre quelques vésicules à leur contact; le matériel chitino-protéique est stratifié en couches cylindriques à la périphérie des canaux; le cytoplasme renferme de nombreuses tonofibrilles; b coupe comparable à la précédente mais plus agrandie; les tonofibrilles sont attachées au niveau d'épaississements doubles de la membrane plasmique qui entoure la soie;

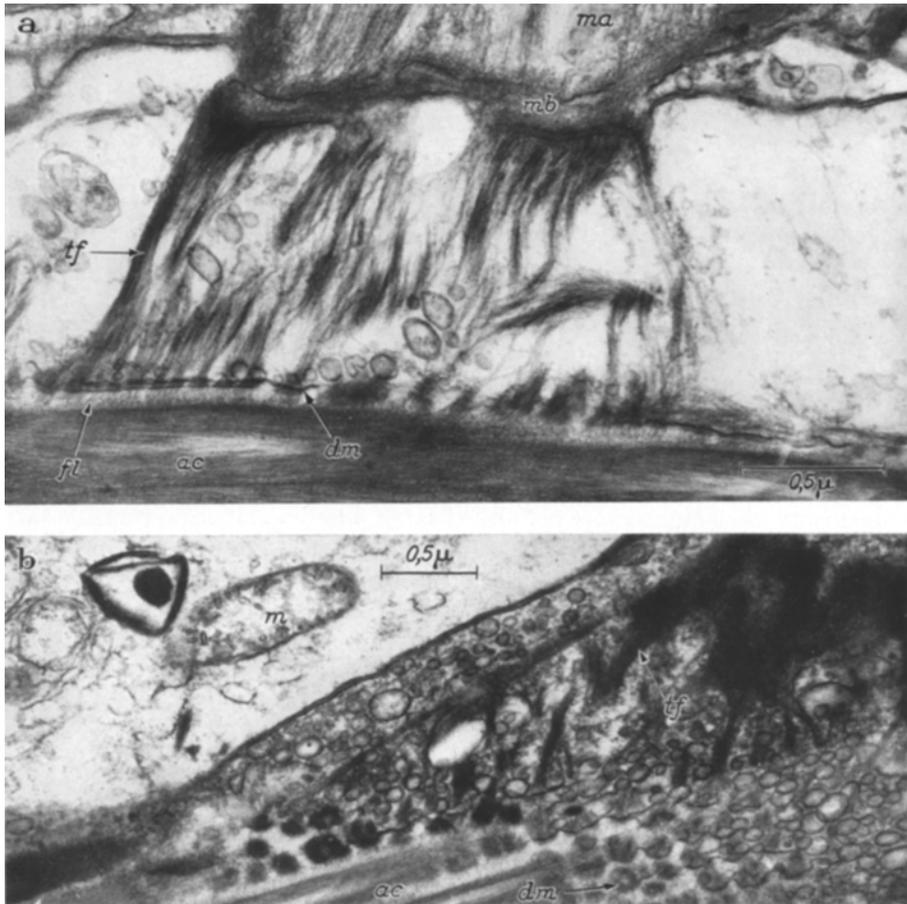


Fig. 15a et b. Structures tonofibrillaires associées aux acicules de *Haplosyllis depressa* (glutaraldéhyde, OsO_4 , citrate de plomb). a coupe méridienne d'un acicule dont on observe la fibrillation longitudinale; les tonofibrilles sont des groupements de tonofilaments qui relient l'acicule et les cellules musculaires; elles sont insérées sur des épaissements doubles de la membrane plasmique qui entoure l'acicule; elles sont attachées également à la membrane basale qui sépare les cellules musculaires des cellules latérales de l'acicule; b coupe à peu près tangentielle de l'insertion des tonofibrilles; *ac* acicule; *dm* épaissement double de la membrane plasmique entourant l'acicule; *fl* filaments de liaison entre l'acicule et la membrane plasmique adjacente; *m* mitochondries; *ma* muscles aciculaires; *mb* membrane basale; *tf* tonofibrilles

ces formations sont elles-mêmes reliées à la soie par de fins tractus; c sur cette coupe d'uncinus achevé, effectuée exactement au niveau de la base, le matériel chitinoprotéique est déposé sous forme de cylindres localement disjoints; les microvillosités sont très déprimées et leurs fibrilles se prolongent dans le cytoplasme de la cellule basale; elles ont un aspect comparable à celui des tonofibrilles. *dm* épaissement double de la membrane plasmique séparant le cytoplasme à tonofibrilles de la soie sur laquelle elles s'attachent; *e* écorce; *fc* prolongements dans le cytoplasme des fibrilles des villosités; *fl* filaments groupés d'une manière plus ou moins régulière, reliant les épaissements doubles et la soie; *td* tubes chitinoprotéiques disjoints; *tf* tonofibrilles; *vt* vésicule liée à l'espace séparant la soie et la membrane plasmique qui l'entoure; *vs* vésicule au voisinage d'une villosité

récemment, RUDALL (1963) ont étudié les spectres donnés pas les rayons X sur des soies d'*Aphrodite* avant ou après extraction des protéines; ils ont montré que les constituants protéiques ont des orientations d'autant plus précises que la proportion des protéines tannées est plus élevée.

La nature de l'appareil basal

PRUVOT (1913) décrit les cellules basales des soies des Néréis et crée pour les désigner le nom de chétoblaste; il écrit à propos de l'appareil basal que celui-ci est «formé de petits bâtonnets effilés, un peu inégaux, serrés les uns contre les autres...», comme de véritables cils d'après leur forme et leur colorabilité; cet appareil ciliaire est considéré comme le guide de la sécrétion de la soie; cet auteur suppose en outre qu'une certaine mobilité ciliaire imprime dans la sécrétion les détails de la morphologie.

BOBIN (1935—1954), tout en adoptant la conception ciliaire définie par PRUVOT, montre que la mobilité des cils est «minime» ou même inexistante et que la forme des soies compliquées (telles que les uncini, par exemple) est due à des mouvements du chétoblaste et non des cils. Cet auteur compare certains groupements de bâtonnets, visibles à la base de certaines soies, aux membranelles très caractéristiques chez divers Infusoires Ciliés tels que les Stentors. La formation d'une soie d'Annélide est mise en parallèle avec la sécrétion du pédoncule ou scopula chez certains Ciliés Pérित्रiches du genre *Epistylis*; il faut reconnaître que la ressemblance est frappante; pour ce Protozoaire, FAURÉ-FRÉMIET et coll. (1962) ont montré que la sécrétion est effectivement guidée par un ensemble de cils qui laissent leurs traces dans le pédoncule sous forme de canaux longitudinaux.

Au terme d'un travail sur les soies operculaires de *Sabellaria alveolata*, EBLING (1945) ne voit aucune raison particulière de décider de la nature ciliaire de la striation observable à la base des soies. Ce point de vue est également défendu par ALVORADO (1955) lors d'une étude sur les soies des Sabelles; il est vrai que le seul pouvoir de résolution optique ne permet pas de définir clairement les formations ciliaires lorsqu'elles ne sont pas vibratiles; au contraire, en microscopie électronique, la reconnaissance d'un complexe de neuf systèmes tubulaires périphériques et deux centraux en constitue le meilleur indice (FAWCETT, 1958). Nous venons de décrire le plateau strié comme un ensemble de microvillosités où nous n'avons jamais observé trace de filament axonématique; nous ajouterons que d'autres faits sont difficilement conciliables avec la conception ciliaire actuelle, dégagée des recherches ultrastructurales: les microvillosités peuvent présenter des variations de diamètre parfois importantes, comme en témoignent par exemple les dessins de bases d'acicules de *Lagisca* observées par BOBIN (1944); de même, les parties latérales des plateaux striés basaux de *Haplosyllis depressa* (Fig. 8) et de *Sabella pavonina* (Fig. 7c) sont constituées de microvillosités de diamètre plus faible que les microvillosités axiales; chez la même espèce, à la base des acicules, les microvillosités ont une forme régulièrement effilée qui s'accorde peu avec une origine ciliaire; cette forme effilée avait été également observée par PRUVOT (1913) et BOBIN (1944) dans divers matériels.

Les «racines ciliaires» décrites par BOBIN (1944) correspondent à des prolongements au sein du cytoplasme, des filaments que renferment les microvillosités. Les dessins d'appareils basaux des soies d'espèces appartenant aux genres *Sabella*,

Eulalia et *Euphrosyne*, publiés par BOBIN (1944, 1948), de même que les figures données par PRUVOT (1913) pour les acicules de *Nereis*, font état sous chaque microvillosité d'un renflement bulbaire, petit corps chromatique, relié par une pièce intermédiaire à un corpuscule basal plus profond et chromatique également; ces corpuscules forment deux liserés transversaux sous le plateau strié. Nous n'avons pas retrouvé ces structures à la base des soies proprement dites des Sabelles, ni en microscopie électronique, ni en microscopie optique, en observant des coupes colorées à l'hématoxyline ferrique, ou en utilisant le contraste de phase; de toute façon, les matériels étudiés ne sont pas directement comparables puisque, pour des raisons d'inclusion, nos recherches n'ont porté que sur de très jeunes spécimens; on doit noter que BOBIN (1935—1954) n'a observé et représenté de tels corpuscules que chez très peu d'espèces.

La correspondance exacte entre les microvillosités et les canaux implique, dans le cas des uncini, étant donné leur morphologie, que le nombre des microvillosités d'un même chétoblaste est variable au cours de la sécrétion; il faut admettre, comme l'indique BOBIN (1944), qu'il y a différenciation et dédifférenciation des microvillosités dans certains secteurs privilégiés du plateau strié; les dispositions des canaux dans les soies sont donc très instructives; il existe en particulier dans la partie moyenne des uncini une zone de divergence avec apparition d'un certain nombre de canaux dans le sens proximal-distal; (Fig. 2g, i); ceci doit correspondre, au cours du développement de l'uncinus, à la disparition progressive d'une plage médiane de microvillosités dans l'appareil basal; il doit se produire au contraire une différenciation de microvillosités juste après la sécrétion du rostre dans la région convexe de la garde de l'uncinus; ces microvillosités disparaîtront au début de la sécrétion du manubrium; le grand écartement des canaux médians des uncini au niveau de la garde (Fig. 2i) montre que les microvillosités peuvent s'écarter momentanément dans certains secteurs privilégiés du plateau strié; nous regrettons de ne pas avoir eu l'occasion de suivre ces faits à l'échelle ultrastructurale.

Plusieurs auteurs ont admis que les soies avaient une origine intracytoplasmique (BOBIN, 1944; ALVORADO, 1948, 1955); selon BOBIN (1944), les soies prendraient naissance dans une lacune ou vacuole enfermée dans le cytoplasme du chétoblaste; la paroi vacuolaire se différencierait localement en plateau strié alors que débiterait la sécrétion. La valeur de cette hypothèse nous paraît très discutable, parce que, sur notre matériel, les soies sont des éléments squelettiques extracellulaires, à tous les stades de croissance que nous avons observés; en outre, cette hypothèse a été conçue d'après des observations de microscopie optique; le repérage des limites cellulaires est incertain dans ces conditions et c'est probablement pour cette raison que l'on a attribué une nature plasmodiale à la plupart des follicules sétigères (SCHEPOTIEFF, 1903; PRUVOT, 1913; BOBIN, 1944); sur nos micrographies au contraire, les membranes des cellules basales et latérales sont parfaitement définies; sans nier l'existence éventuelle des follicules de nature syncytiale, une plus ample information nous semble nécessaire dans ce domaine. Il nous paraît donc bien difficile d'affirmer l'origine intracellulaire d'une lacune et de la soie qui s'y développera, si l'on a déjà quelque peine à reconnaître les limites cellulaires. Nous observerons également que toutes les formations en plateau strié connues jusqu'à ce jour sont exclusivement des différenciations des membranes plasmiques externes des cellules.

Remarques sur la sécrétion des soies

Les coupes de soies simples de *Haplosyllis* montrent que la substance fibrillaire longitudinale constituant l'écorce et les cloisons de la moelle est totalement absente à la base des microvillosités. Dans le cytoplasme des cellules folliculaires, nous n'avons jamais observé de structures fibrillaires comparables à la substance des soies; cependant, ces cellules sont riches en vésicules optiquement vides aux électrons et nombre d'entre elles sont en communication soit avec l'intervalle défini entre la soie et la membrane plasmique qui lui est pratiquement adjacente, soit avec l'espace séparant les bases des microvillosités; il nous paraît donc raisonnable de penser que la substance fibreuse des soies provient de la condensation de composés solubles et clairs aux électrons contenus dans ces vésicules.

L'observation au contraste de phase nous a montré que, d'un strict point de vue morphologique, une soie en cours de développement est identique à une portion distale de soie terminée; toutefois, la dernière fraction déposée sur une longueur de quelques microns, est beaucoup moins réfringente que le secteur correspondant de soie achevée; cette réfringence est acquise au cours de la sécrétion des quelques microns suivants. On observe, en microscopie électronique, que cette zone basale de moindre réfringence correspond à peu près aux trois quarts inférieurs du plateau strié et que les structures corticales fibreuses n'y sont pas différenciées (Fig. 10a; Fig. 12c). Ce sont donc, selon toute vraisemblance, le chétoblaste et les cellules latérales les plus proximales qui sont impliquées dans le processus de sécrétion. Il est en effet, difficile de considérer le chétoblaste comme seul responsable de la sécrétion d'une soie; étant donné la disposition de cette cellule par rapport à la soie, cela signifierait que la sécrétion se produirait exclusivement à la base des microvillosités; lorsque l'écorce fibreuse est bien développée, cette hypothèse supposerait une sécrétion beaucoup plus intense entre les microvillosités corticales; cependant, nos micrographies ne révèlent pas de différence importante de structure entre les zones médiane et périphérique de l'appareil basal: il n'y a pas d'accumulation particulière de vésicules cytoplasmiques sous les microvillosités corticales; les microvillosités sont généralement plus étroites et nombreuses à la périphérie, mais non dans des proportions qui expliqueraient le dépôt préférentiel dans la zone corticale; il faudrait admettre un acheminement plus rapide des substances sécrétées dans les parties latérales de l'appareil basal; nous ne pouvons pas écarter définitivement l'hypothèse du rôle exclusif du chétoblaste dans la sécrétion, mais nous voyons que celle-ci nécessiterait des différences fonctionnelles entre les diverses microvillosités d'un même appareil basal alors que l'étude cytologique n'en révèle pas de considérables.

La présence d'une écorce fibreuse plus ou moins développée peut donc être rapportée à un fonctionnement plus ou moins intense des cellules latérales au cours de la croissance. On observe souvent que les acicules ne présentent pas d'écorce différenciée dans leur tiers inférieur; la structure des acicules est alors entièrement médullaire à ce niveau et l'épaisseur des cloisons séparant les canaux est pratiquement la même dans l'ensemble d'une section transversale; il est vraisemblable, dans ce cas, qu'il n'y ait pas d'apport latéral et que toute la sécrétion doit être attribuée au chétoblaste.

D'une manière plus générale, on voit que l'on comprendrait mal la différenciation en écorce et en moelle si les soies ne résultaient des apports conjugués de la

cellule basale et des cellules latérales les plus proximales. Le chétoblaste et les cellules folliculaires qui lui sont adjacentes peuvent donc participer dans des proportions variables au dépôt de certaines substances peu denses aux électrons qui seraient transformées en fibrilles chitino-protéiques par une réaction de condensation intervenant au niveau des extrémités des microvillosités. Dans le cas des uncini, la présence des courbures implique l'existence de secteurs privilégiés de sécrétion, aussi bien de la part du chétoblaste, que des cellules latérales proximales.

Il existe d'autres exemples où des vésicules sans contenu dense aux électrons interviennent très probablement dans la sécrétion de structures squelettiques; de telles vésicules se rencontrent dans les cellules épidermiques des Crustacés supérieurs au cours de la sécrétion de la cuticule préexuviale (observation personnelle); la cuticule postexuviale n'a pas encore été étudiée à ce point de vue; des ultrastructures comparables apparaissent de manière transitoire dans le cytoplasme des écailles de Papillon lorsque se prépare la métamorphose imaginale (DESCIMON, 1966).

Au terme d'un travail sur les soies operculaires de *Sabellaria alveolata*, EBLING (1945) se résume ainsi: «Around the primary core secreted by the basal cell, other cells of the sac secrete a secondary layer». L'auteur observe que la zone axiale sécrétée par la cellule basale prend le vert lumière alors que le dépôt latéral est coloré par la fuchsine acide; celui-ci se présente en masses disjointes à proximité de la cellule basale, mais forme un revêtement continu et beaucoup plus épais dans les régions plus distales; cette couche externe, encore mince à l'extrémité des soies en début de sécrétion, est plus importante à l'extrémité de celles qui ont déjà une certaine taille. BOBIN (1944) a décrit un prolongement translucide à l'extrémité des jeunes palées de *Sabellaria*, qui disparaît sur les soies achevées. Cette structure semble être celle dont EBLING (1945) a étudié la sécrétion; elle correspond probablement au revêtement granuleux, peu dense aux électrons, réparti sur les extrémités des uncini des Sabelles et des soies à crochet de *Haplosyllis*; cette conception reste à vérifier. L'étude de notre matériel ne nous a pas fourni de nombreux renseignements sur la formation de cette couche secondaire; elle résulte probablement de l'activité des cellules latérales du follicule; leur membrane plasmique forme souvent des invaginations à l'intérieur de ce dépôt secondaire (Fig. 13a); mais nous en ignorons la signification. GOODRICH (1896) avait observé que les soies du Ver de terre, traitées successivement par des solutions concentrées et bouillantes de potasse et d'acide chlorhydrique, étaient entièrement dissoutes, sauf une petite structure distale formant une coiffe dont la nature particulièrement résistante pouvait être comparée à l'épicuticule des Insectes; ce revêtement a probablement un rôle protecteur et correspond sans doute à la substance finement granuleuse que nous avons souvent examinée à l'extrémité des soies.

Les soies et les uncini sont très colorables par les teintures histologiques (fuchsine acide, hématoxyline ferrique) dans leur partie proximale engagée dans le parapode; ce caractère est toutefois moins prononcé à la base des soies; les zones les plus distales, en contact direct avec le milieu extérieur ne sont pas du tout colorables en général; cependant, on constate, au niveau des cassures dues à la confection des coupes, que, dans ces zones très peu colorables, la partie médiane des soies garde une certaine affinité pour les colorants. De telles observations ont été rapportées par plusieurs auteurs (BOBIN, 1944; EBLING, 1945) et tout se passe

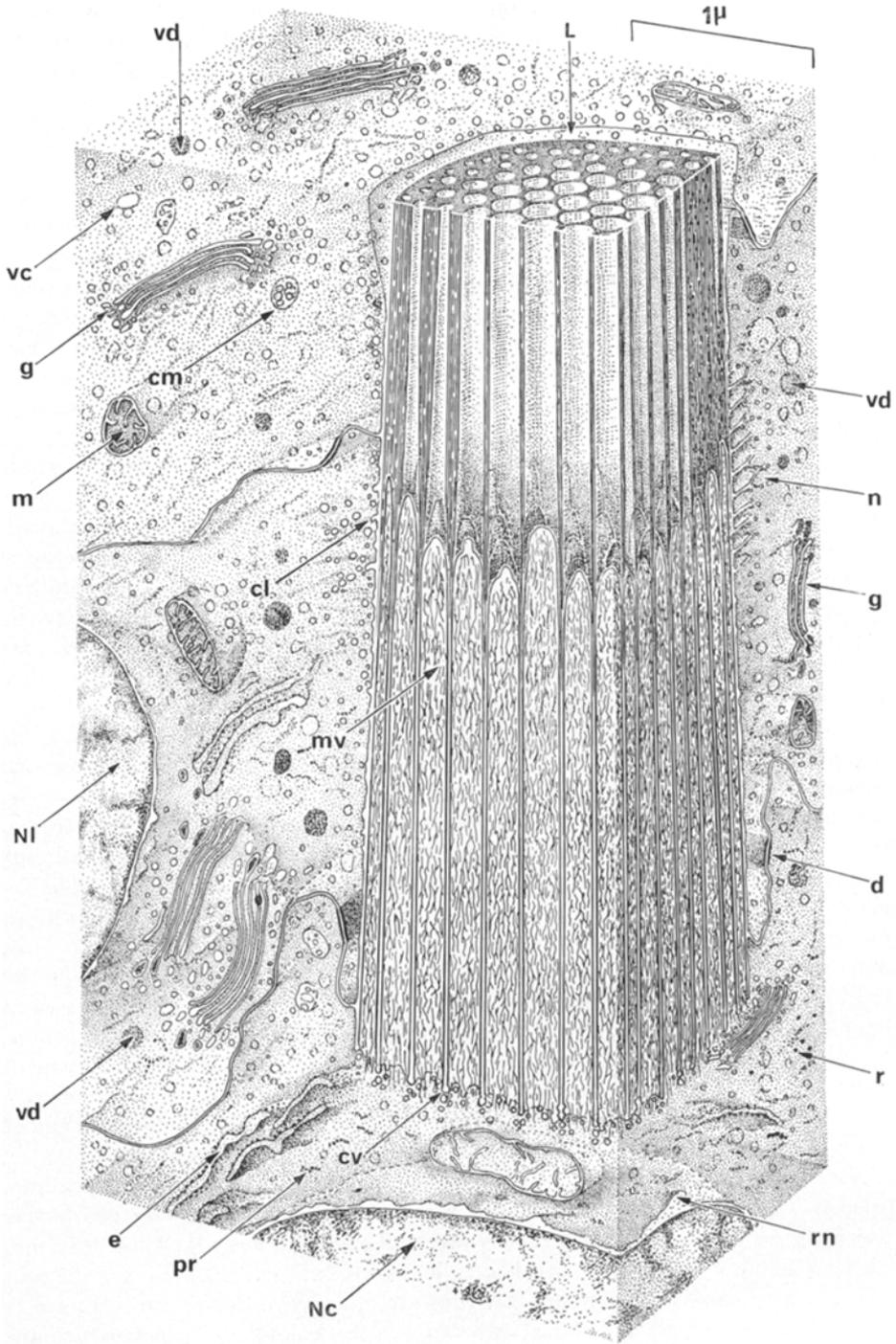


Fig. 16 (Légende p. 361)

comme si l'écorce des soies évoluait en vieillissant, en perdant ainsi tout caractère chromatique et constituait une barrière s'opposant à la pénétration des teintures capables de colorer la moelle. D'une manière plus précise, DENNELL (1949) a montré chez le Ver de terre que les soies sont tannées dans leur partie distale par une orthoquinone; à ce point de vue, une portion distale de soie peut être comparée chimiquement à une exocuticule d'Insecte.

Comparaison des soies à d'autres structures tégumentaires et squelettiques

Il a été montré que les bulbes sétigères et les tores uncinigères proviennent de la transformation d'un massif cellulaire épidermique ayant migré à une certaine profondeur dans les parapodes (MALAQUIN, 1893; SCHEPOTIEFF, 1903; BOBIN, 1944); les soies sont donc d'origine épidermique; cependant, leur constitution les distingue nettement de la cuticule.

Les microvillosités cuticulaires sont des différenciations de la membrane plasmique externe des cellules épidermiques; plusieurs caractères les séparent des villosités de l'appareil basal des soies: leur forme en trompette chez les Sabelles et en massue chez les *Haplosyllis*, l'absence de contenu fibrillaire; en outre, les villosités ne sont pas contiguës comme dans un appareil basal, mais elles ménagent entre elles la place pour le dépôt de nombreuses fibrilles réunies par un ciment homogène; ces fibrilles dont on connaît la nature collagène chez le Ver de terre (cf. COGGESHALL, 1966) sont parallèles au plan de la cuticule et sont orientées suivant deux directions pratiquement perpendiculaires entre elles et faisant 45° avec l'axe du corps; Nous avons obtenu ce résultat très net chez les Sabelles en tenant compte de l'orientation des coupes par rapport aux principaux repères morphologiques. PICKEN et coll. (1947) étaient parvenus aux mêmes conclusions en étudiant au microscope polarisant la cuticule des vers de terre. Chez les *Haplosyllis* et plus particulièrement au niveau des parapodes, ces orientations quadrangulaires ne sont plus nettement réalisées; au contraire, lorsqu'une telle ordonnance est clairement définie, on peut observer localement des superpositions de ces couches alternantes et l'ensemble rappelle la structure d'un contreplaqué; une

Fig. 16. Représentation spatiale de la base d'une soie de *Haplosyllis depressa* et des structures cellulaires associées; le domaine observé est limité par deux plans longitudinaux perpendiculaires entre eux et un plan de coupe transversale. La base de la soie est enfermée dans le chétoblaste, dont on observe partiellement le noyau au bas de la figure; l'appareil basal est formé par de nombreuses microvillosités; les canaux des soies sont constitués à partir des extrémités des microvillosités; les limites cellulaires sont très nettes; on distingue sur la figure les cellules latérales proximales (adjacentes au chétoblaste) et les cellules latérales qui sont séparées de la soie par une lacune. Ce schéma donne un état moyen des ultrastructures observées; les micrographies montrent que bien des variations sont possibles et cette illustration ne peut pas en rendre compte. *cl* communication entre une vésicule et l'espace séparant la soie de la membrane adjacente; *cm* corps multivésiculaire; *co* zone corticale; *cv* communication entre une vésicule et l'espace séparant deux microvillosités contiguës; *d* desmosome; *e* ergastoplasme; *f* filaments à l'intérieur des microvillosités; *g* corps de Golgi; *L* lacune séparant la soie et les cellules latérales du follicule; *m* mitochondrie; *me* zone médullaire; *mv* microvillosité; *na* structure en nid d'abeille; *Nc* noyau du chétoblaste; *Nl* noyau d'une cellule latérale proximale; *pr* polyribosome; *r* ribosome; *rn* replis de la membrane nucléaire; *vc* vésicule claire aux électrons; *vd* vésicule dense aux électrons (certainement de plusieurs types)

couche ne comporte en épaisseur qu'un seul niveau de fibrilles; les villosités cuticulaires sont donc perpendiculaires aux structures fibrillaires de la cuticule et non parallèles comme c'est le cas pour un appareil basal. On peut observer directement la discontinuité de structure entre les soies et la cuticule aux niveaux où celle-ci repose sur l'extrémité en bouton de certains acicules.

Des formations très voisines des soies des Annélides ont été observées par SCHEPOTIEFF (1903) chez les Lingules (Brachiopodes) et par PRENANT (1923) chez les Chitons (Amphineures); une étude comparée plus approfondie serait à entreprendre dans ce domaine, étant donné l'intérêt phylétique qui s'y rattache.

Conclusions

Les soies d'Annélides sont le résultat d'une sécrétion rapide, susceptible d'être interrompue (dans le cas des soies de remplacement); les produits de la sécrétion sont en partie acheminés entre les microvillosités de l'appareil basal et en partie déposés directement par les cellules latérales; ils sont élaborés en une substance fibrillaire longitudinale au niveau des extrémités des villosités; celles-ci ne présentent aucune ultrastructure permettant de les rattacher à des formations ciliaires. Nous retracerons nos principaux résultats cytologiques en donnant une vue d'ensemble (Fig. 16) de l'appareil basal et des principaux organites des cellules associées; cependant, on doit garder présent à l'esprit que ces différentes structures sont certainement variables avec l'état fonctionnel et que les organites représentés peuvent évoluer par le nombre ou la forme au cours des étapes qui vont de l'initiation à l'achèvement d'une soie; on retiendra plus particulièrement de ce schéma que les cellules du follicule sétigère ont des limites parfaitement définies, que les soies sont des éléments qui semblent toujours extracellulaires et que pour ce type très particulier de sécrétion, divers organites tels que polysomes, ergastoplasme, corps de Golgi, corps multivésiculaires, vésicules denses aux électrons etc... sont certainement impliqués dans l'élaboration des constituants squelettiques ainsi que dans leurs remaniements ultérieurs comme le durcissement; cependant, nous ne pouvons pas attribuer de rôle précis à chacun de ces divers organites.

Remerciements. Toute ma reconnaissance va à Mademoiselle N. CARASSO et Monsieur L. LAUBIER pour leurs conseils éclairés et amicaux.

Bibliographie

- ALVORADO, S.: Formation des soies capillaires des Polychètes. C.R. 13ème Congrès Intern. Zool. Paris, p. 452—453 (1948).
- Estudios histológicos y fisiológicos sobre los Anelidos. VI. Organogenia de los quetopoxios uncinigeros y sus diferenciaciones quetosas en los Sabelidos. Bol. Soc. Esp. Hist. Nat., Secc. Biol. **54**, 11—26 (1955).
- BOBIN, G.: Etude des soies simples et de leurs bulbes sétigères chez deux Sabelliens. Trav. Stat. Biol. Roscoff. **13**, 155 (1935).
- Morphogénèse des soies chez les Annélides Polychètes. Ann. Inst. Océan. **22**, 1—106 (1944).
- Histologie et cytologie des bulbes sétigères d'*Euphrosine foliosa* AUDOUIN et M. EDWARDS (Annélide Polychète). Arch. Zool. exp. gén., Notes et Revue **85**, 138—150 (1948).
- , et M. L. BAUCHOT-BOUTIN: Modifications hétéronéridiennes chez *Périnéreis cultrifera* GRUBE (Annélide Polychète). Arch. Anat. micr. Morph. exp. **43**, 137—162 (1954).
- , et H. MAZOUÉ: Topographie, histologie, caractères physiques et chimiques d'*Aphrodite aculeata* L. (Annélide Polychète). Bull. Soc. Zool. France **69**, 125—134 (1944).

- BOULIGAND, Y.: Plages de microvillosités dans la formation du squelette chez certains Invertébrés. *J. Microscopie* **3**, 25—26 (1964).
- Etude ultrastructurale des soies et des cellules associées chez une Annélide Polychète *Haplosyllis depressa*. *C.R. Acad. Sci. (Paris)* **263**, D, 378—381 (1966).
- COGGESHALL, R. E.: A fine structural analysis of the epidermis of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. *J. Cell Biol.* **28**, 95—108 (1966).
- DENNELL, R.: Earthworm chaetae. *Nature (Lond.)* **164**, 370 (1949).
- DESCIMON, H.: Communication personnelle (1966).
- EBLING, F. J.: Formation and nature of the operculate chaetae of *Sabellaria alveolata*. *Quart. J. micr. Sci.* **85**, 153—176 (1945).
- FAURE-FREMIET, E., P. FAVARD et N. CARASSO: Etude au microscope électronique des ultrastructures d'*Epistylis anastatica* (Cilié Péritriche). *J. Microscopie* **1**, 287—312 (1962).
- FAUVEL, P.: Classe des Annélides Polychètes dans: *Traité de Zool., Anat., Syst., Biol.* (publ. par P.-P. GRASSÉ), vol. 5, p. 13—196. Paris: Masson & Cie 1959.
- FAWCETT, D. W.: Structural specializations of the cell surface dans: *Frontiers in cytology*, (1 vol. publ. par S. L. PALAY). New Haven: Yale Univ. Press p. 19—41 (1958).
- GOODRICH, E. S.: Note on Oligochaetes with the description of a new species. *Quart. J. micr. Sci.* **39**, 51—69 (1896).
- JEUNIAUX, C.: *Chitine et Chitinolyse*, 1 vol., 182 p. Masson & Cie. Paris: 1963.
- LANGERON, M.: *Précis de Microscopie*, 6ème éd., 1 vol., 1340 p. Paris: Masson & Cie. 1942.
- LAUBIER, L.: Une nouvelle sous-espèce de Syllidien: *Haplosyllis depressa* AUGENER ssp. nov. *chamaelon*, ectoparasite sur l'Octocoralliaire *Muricea chamaeleon* von Koch. *Vie et Milieu* **11**, 75—87 (1960).
- LIPPERT, W., u. K. GENTIL: Über den Feinbau der Schillerhaare des Polychaeten *Aphrodite aculeata* L. *Z. Morph. Ökol. Tiere* **53**, 22—28 (1962).
- LOTMAR, W., and L. E. R. PICKEN: A new cristallographic modification of chitin and its distribution. *Experientia (Basel)* **6**, 58—59 (1950).
- LUFT, J. H.: Improvements in epoxy-resin embedding methods. *J. biophys. biochem. Cytol.* **9**, 409—414 (1961).
- MALAUQUIN, A.: Recherches sur les Syllidiens. Morphologie, anatomie, reproduction, développement. *Mém. Soc. Sci. Arts de Lille L. Danel* 1—477 (1893).
- PICKEN, L. E. R., and W. LOTMAR: Oriented protein in chitinous structures, *Nature*, **165**, 599—600 (1950).
- PICKEN, L. E. R., M. G. M. PRYOR, and M. M. SWANN: Orientation of fibrils in natural membranes. *Nature (Lond.)* **159**, 434 (1947).
- PRENANT, M.: Remarques sur les processus de formation des spicules cylindriques chez les Chitons. *Bull. Soc. Zool. France* **48**, 150—156 (1923).
- PRUVOT, G.: Sur la structure et la formation des soies de «Nereis». 9ème Congrès Intern. Zool. Monaco, p. 348—355 (1913).
- REYNOLDS, E. S.: The use of lead-citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208—211 (1963).
- RUDALL, K. M.: The chitin/protein complexes of insect cuticules. In: *Advances in insect physiology*, vol. 1, p. 257—313. London and New York: Academic Press 1963.
- SCHEPOTIEFF, A.: Untersuchungen über den feineren Bau der Borsten einiger *Chätopoden* und *Brachiopoden*. *Z. wiss. Zool.* **74**, 656—698 (1903).
- Untersuchungen über die Borstentaschen einiger Polychäten. *Z. wiss. Zool.* **77**, 586—605 (1904).
- THIERY, J. P.: Double coloration et post-fixation sur coupe. *J. Microscopie* **4**, 165 (1965).

Y. BOULIGAND

Laboratoires de Zoologie, de Botanique et de Microscopie électronique de l'E.N.S.
24 rue Lhomond, Paris 5 ème/France