

Morphogenesis of the larval and juvenile tunic in *Halocynthia papillosa*

B. LUBBERING and G. GOFFINET

Institut de Zoologie, Laboratoire de Biologie générale et de Morphologie ultrastructurale, Université de LIEGE (Belgique)

The highly organized adult tunic of the ascidian *Halocynthia papillosa* (VAN DAELE, 1990) calls for a study elucidating the formation of such complex structures. In order to survey tunic morphogenesis from the onset of tunic secretion it is necessary to rear embryos, larvae and juvenile ascidians under confined experimental conditions. Since the reproductive cycle of *Halocynthia papillosa* has not yet been described, the maturation of the gonad was monitored for a whole year. During their main breeding season (September, October) adult animals were collected in the vicinity of the Marine Biological Station at Banyuls (France, Mediterranean Sea). Individuals were kept in separate tanks supplied with running seawater.

Spawning of gametes is light-controlled. Under natural light conditions, it takes place shortly after sunset. Naturally spawned eggs were fertilized with non-self sperm and reared in filtered seawater at 14-15°C. Embryogenesis was completed within 42h. Although the tadpole larvae failed to attach to all offered substrata, they started metamorphosis after a short free-swimming period. Juveniles were kept until they reached the age of three months.

Until tunic secretion is initiated at the early tail-bud stage, the embryos have a smooth epidermis. Then, patches of tunic material are seen on the embryonic surface. In TEM micrographs, these patches appear as a fine discontinuous ribbon which gives rise to the outer cuticle of the larval tunic. Soon after, the embryo is completely covered by the larval tunic and the test cells settle onto the tunic. By the middle tail-bud stage, when melanin is synthesized in the sensory vesicle, a ventral, a dorsal and a short caudal fin have developed. At this stage, the larval tunic consists of the outer cuticle, a rigid fibrous sheet of medium electron density, and the outer compartment. Patches of dark-staining material are irregularly distributed over the tunic surface. This material has a fibrous appearance in SEM micrographs and seems to be associated with test cells. Seconds only before the larva hatches, the test cells detach from the larval tunic. A second fibrous sheet then develops above the apical epidermal membrane of the trunk, the inner cuticle. Some hours later, the trunk tunic consists of the outer cuticle, the outer compartment, the inner cuticle and the inner compartment while the tail epidermis is enveloped only by the outer cuticle and the outer compartment. The outer and inner compartments are composed of granular and fibrous material embedded in a hydrated ground matrix. SEM shows a swimming larva with a few small fins around the trunk and bigger fins, one dorsal and one ventral, lining the tail. Most striking is the hexagonal pattern of the trunk tunic.

Radical metamorphosis starts with elongation of the anterior part of the trunk, retraction of the adhesive papillae, immobilization of the larva, and retraction of the tail. During tail retraction, the first cells pass through the epidermis and enter the inner compartment of the tunic. This process is confined to a small region just anterior to the sensory vesicle. Once the tail is retracted, gaps form between the inner cuticle and the outer compartment. In the following three days the outer cuticle and the outer compartment of the trunk tunic as well as the tail tunic are shed. Only two days after the onset of metamorphosis, the tunic forms the first spines, a feature characteristic of the adult tunic. In the course of tunic morphogenesis, the cuticle forms plates, each carrying a spine. Once the juvenile has lost the outer layer of the larval tunic, the tunic consists of a thin fibrous cuticle and a fundamental layer. There is only very little fibrous material distributed throughout the whole fundamental layer. Some intratunical cells lie directly underneath the cuticle. They all belong to the same cell type. As tunic morphogenesis proceeds, the ultrastructural complexity increases. The diffuse net of fibrous material is progressively replaced by fibres oriented parallel to the epidermal surface except in regions where spines have developed. There, bundles of fibres form the core, supporting the spines. At least one new cell type is then found in the fundamental layer of the tunic. Observations with the light microscope show that intratunical cells are motile.

In juveniles three months old, the tunic has yet not attained the structural complexity of the adult tunic.

REFERENCE

VAN DAELE Y., 1990.- Organisation du tégument des ascidies *Halocynthia papillosa* Gun. et *Phallusia mammilata* Cuv. (Urochordata, Ascidiacea). Morphogénèse, ultra-structure et composition chimique de la tunique en relation avec ses propriétés physiques. *Extr. Bull. Soc. Roy. Sci. Liège* 59 (5), 1-93.

This work was supported by the Belgian Joint Basic Research Fund (FRFC, convention n° 2.4527.89).

Biomasse et Production primaire du picoplancton phototrophe en Mer Méditerranée

Giuseppe MAGAZZU* et Franco DECEMBRINI**

*Dipartimento di Biologia, Università di LECCE (Italie)

** Istituto Sperimentale Talassografico di MESSINA (Italie)

Plus de dix ans se sont écoulés depuis que l'on a reconnu l'importance que le picoplancton photosynthétique, et en particulier la classe des Cyanobactéries, revêt pour l'écosystème marin. Au cours de cette période, l'intérêt des biologistes marins pour ces organismes de petites dimensions (2.0-0.2 µm) distribués de façon abondante dans toutes les mers et tous les océans, s'est accru.

Les premières indications sur la présence et l'activité photosynthétique du picophytoplancton en mer Méditerranée ont été fournies en 1983 au cours de la IV Conférence de l' "European Society for Comparative Physiology and Biochemistry" (Taormina, 5-8 septembre 1983) et concernent deux zones particulières de la mer Méditerranée, le Déroit de Messine (MAGAZZU *et al.*, 1986) caractérisé par un haut dynamisme et les eaux oligotrophiques du Bassin Oriental au large des côtes israéliennes (AZOV, 1986).

Toutefois, contrairement à ce qui s'est passé pour les autres mers et pour les océans, les informations sur la distribution, l'abondance, la physiologie et la biochimie de ces organismes et, en définitive, sur leur rôle dans la chaîne alimentaire marine en mer Méditerranée sont encore très limitées.

Dans cette note, nous rapportons les résultats relatifs à la biomasse et à la production primaire de la fraction phytoplanctonique comprise entre 2.0-0.2 µm obtenus en mer Tyrrhénienne du Nord et Méridionale, en Adriatique du Nord, en mer Ionienne, dans le Canal de Sicile et dans le Déroit de Messine. Ils englobent les milieux côtiers et le large (DECEMBRINI et MAGAZZU, 1990).

Dans les zones examinées, l'apport du picophytoplancton à la biomasse exprimée en chlorophylle active (dosage spectrofluorimétrique, dans extrait acétonique à 90%) et en ATP (dosage par voie enzymatique luciférase-luciférase) s'est révélé très semblable pour ces deux paramètres avec une moyenne respectivement de 62% et de 54% (Tab.1) du total. Les valeurs moyennes de biomasse picoplanctonique par zone ont oscillé d'un minimum de 0.04 µg/l à un maximum de 0.35 µg/l avec une moyenne générale de 0.20 µg/l pour la CHLa et d'un minimum de 0.001 µg/l à un maximum de 0.045 µg/l avec une moyenne générale de 0.019 µg/l pour l'ATP. Suite à une analyse plus approfondie des données, il ressort que la fraction picoplanctonique comprise entre 1.0-0.2 µm, attribuable fort probablement aux Cyanobactéries, est celle qui a une incidence majeure sur la biomasse avec des pourcentages de 50% et de 39% du total respectivement pour la chlorophylle active et l'ATP.

L'assimilation du C14 associée aux organismes de dimension inférieure à 2.0 µm (méthode décrite récemment MAGAZZU et DECEMBRINI, 1990) donne un résultat compris entre 42% et 80%, les valeurs les plus élevées obtenues en milieu oligotrophique et au large. Le pourcentage moyen pour l'ensemble des zones étudiées donne une valeur de 69% du total, très voisine à celle de la biomasse (CHLa), qui apparaît fortement influencée par les mesures effectuées en milieux côtiers où, dans des conditions de plus grande concentration en sels nutritifs, la composante phytoplanctonique de dimension > 2.0 µm domine. Les organismes de dimensions comprises entre 1.0-0.2 µm, ont également une incidence considérable sur la production primaire étant donné qu'ils fournissent à eux seuls 61% de la production totale.

Dans un milieu saumâtre côtier eutrophisé, la Lagune de Faro près de Messine, l'apport du picoplancton autotrophe, étudié pendant un cycle annuel entier le long d'une colonne d'eau, s'est révélé nettement inférieur par rapport à celui des eaux marines adjacentes. En effet, la biomasse est comprise respectivement entre 11% et 24% du total pour la chlorophylle active et l'ATP, alors que l'assimilation du carbone de cette fraction < 2.0 µm a donné un résultat de 42% (MAGAZZU *et al.*, 1989).

Le rapport C14/CHLa relatif au picoplancton autotrophe se révèle généralement plus élevé dans toutes les zones examinées à celui obtenu pour le plancton total, ce qui indique par conséquent une efficacité photosynthétique plus grande de la fraction plus petite. Le même rapport présente des valeurs basses dans les milieux côtiers, où les organismes > 2.0 µm dominent, et il augmente considérablement dans les milieux pélagiques où l'incidence picophytoplanctonique est majeure.

TAB.1 - Biomasse et assimilation du C14 dans les différentes zones étudiées.

Milieu	Total			% 2.0-0.5 µm			C14/CHLa	
	CHLa	ATP	C14	CHLa	ATP	C14	> 2.0	2.0-0.5
	µg/l		µgC/l/h					
mer Tyrrhénienne	0.51	0.06	1.04	70.2	68.8	70.9	2.1	2.0
mer Adriatique			3.75			54.0		
mer Ionienne	0.36	0.00	1.08	65.7	50.6	75.3	1.1	3.9
Canal de Sicilie	0.05		0.77	67.3		80.0	11.1	16.8
Déroit de Messine	0.46	0.03	1.41	45.4	43.2	67.0	1.0	6.4
Lac de Faro	14.25	0.67	7.28	11.1	24.0	41.8	0.3	1.9
Milieux côtiers	0.56	0.03	2.25	52.8	43.2	61.8	3.0	4.4
Milieux du large	0.32	0.05	0.89	67.8	64.3	75.4	5.5	12.7

REFERENCES

AZOV Y., 1986. - Seasonal patterns of phytoplankton productivity and abundance in nearshore oligotrophic waters of Levantine Basin (Mediterranean). *J. Plankton Res.* 8: 41-43.
 DECEMBRINI F., MAGAZZU G. E., 1990. - Clorofilla, Numero di Assimilazione e ATP del picoplancton fotosintetico nei mari italiani. *Oebalia XVI-I*. 443-456.
 MAGAZZU G., BRUNI V., PICCIONE A., PLATT, IRWIN B. and SUBBA RAO D. V., 1986. - Picoplancton: contribution to phytoplankton production in the Strait of Messina. *Marine Ecology* . 8: 21-31.
 MAGAZZU G., DECEMBRINI F. e PUBLICANO G., 1989. - Andamento temporale della biomassa e della produzione primaria del picofitoplancton nel complesso lagunare di Faro e Ganzirri (Messina). *Nova Thalassia*. 10: 135-155.
 MAGAZZU G. e DECEMBRINI F., 1990. - Produzione del Picofitoplancton. In: *Metodi nell'Ecologia del Plancton Marino. Nova Thalassia*. 11: 245-249.