

VOLUME 130 (1)

Mathias DANHO, Eric HAUBRUGE, Charles GASPAR and Georges LOGNAY
Sélection des grains-hôtes par Prostephanus truncatus (Coleoptera, Bostrychidae) en présence de grains préalablement infestés par Sitophilus zeamais (Coleoptera, Curculionidae)

Frank FIERS and Véronique GHENNE
Cryptozoic copepods from Belgium : diversity and biogeographic implications

Rui DIOGO and Michel CHARDON
Anatomie et fonction des structures céphaliques associées à la prise de nourriture chez le genre Chrysichthys (Téléostei: Siluriformes)

Jordi SERRA-COBO, Franz UIBLEIN and Juan Pablo MARTÍNEZ-RICA
Variation in sexual dimorphism between two populations of the Pyrenean salamander Euproctus asper from ecologically different mountain sites

Wim BERT and Etienne GERAERT
Nematode species of the order Tylenchida, new to the Belgian Nematofauna with additional morphological data

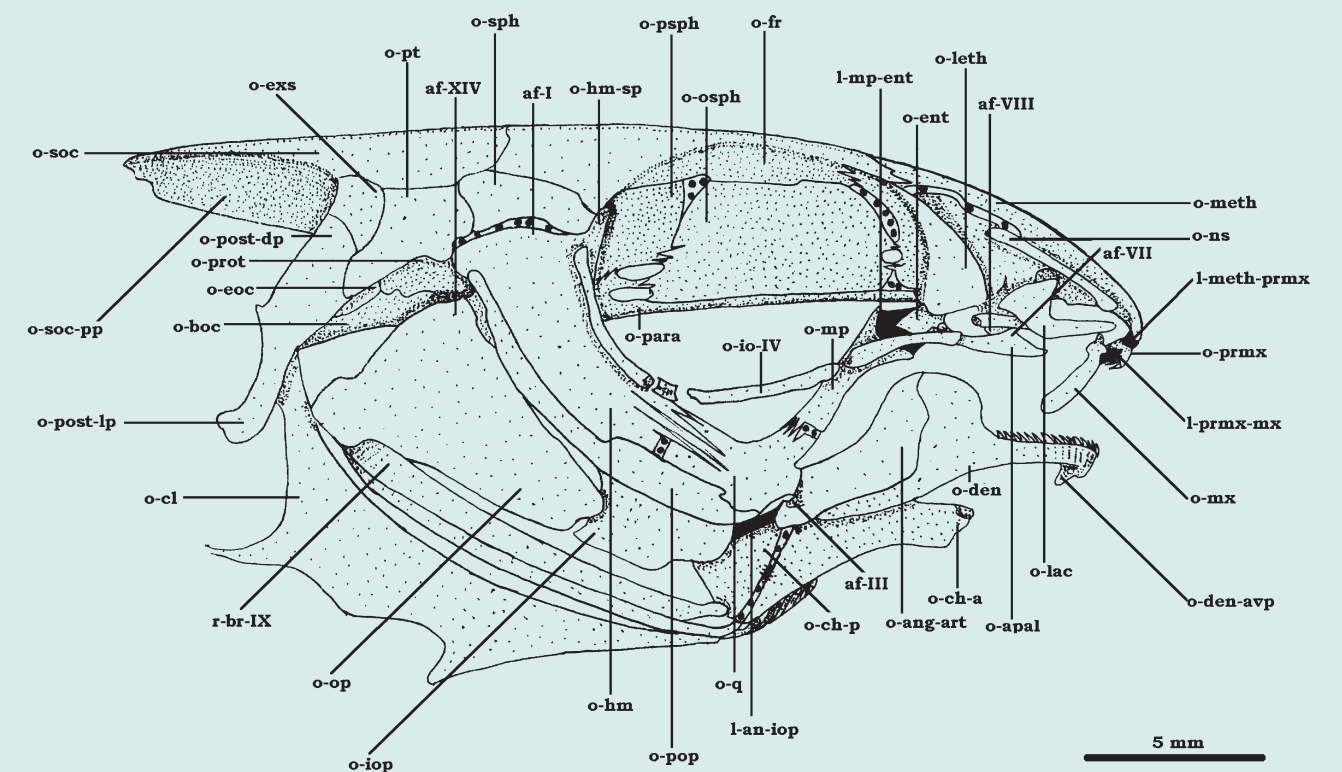
Nicolas MANLIUS
Biogéographie et Ecologie historique de l'hippopotame en Egypte

Marc CALLEBAUT, Emmy VAN NUETEN, Fernand HARRISON and Hilde BORTIER
Mechanisms of caudocephalic axis formation in the avian germ disc

BJZ Belgian Journal of Zoology

AN INTERNATIONAL JOURNAL PUBLISHED BY
 THE ROYAL BELGIAN SOCIETY FOR ZOOLOGY

Volume 130 (1) – January 2000



The *Royal Zoological Society of Belgium* and its *Belgian Journal of Zoology* continue in a long scientific tradition devoted to the promotion of zoology and to the publication of research in zoology. This tradition goes back to 1863, when the “Société malacologique de Belgique” was founded in Brussels and began to publish the “Annales de la Société malacologique de Belgique”. Name changes took place in 1903 (“Annales de la Société royale malacologique et zoologique de Belgique”), and 1923 (“Annales de la Société Royale Zoologique de Belgique”). With the internationalisation of the editorial board in 1989, the journal was opened to the international scientific community, and the name “Belgian Journal of Zoology” was chosen. The Belgian Journal of Zoology is now distributed to the about 400 Belgian and international members of the Society, to bookshops, and is accessible, through an active exchange policy, in 230 libraries of various institutions in more than 50 countries in the world.

The Belgian Journal of Zoology publishes, in English or French, original papers and notes in all fields of zoology, reviews or original points of view on topics of general interest or current. Short notes, not exceeding two printed pages (including figures and tables) with new findings of temporary importance, comments, new records on (e.g.) the Belgian fauna, etc. will be published in the next issue whenever possible. All manuscripts (including short notes) are peer reviewed by at least two referees. Authors benefit from a waiver of page charges for up to 8 printed pages, and will receive 50 reprints free of charge. The Belgian Journal of Zoology appears in two regular issues per volume (January and July) and occasional special issues.

Subscription Information

Membership of the Royal Belgian Society of Zoology is open to all professional biologists. Annual dues for regular members are 1000 BEF (25 EURO or 25 U.S. Dollars), which can be paid by (inter)national money order or by simple transfer via Master Card or Visa after the card holder’s name, card number and expiry date have been communicated to the treasurer.

Annual subscription price for non-members is 2000 BEF or 50 EURO. Payments are accepted only in these currencies by cheque via a Belgian Bank or via an international money order directed to “Royal Belgian Society of Zoology, B-1000 Brussels” on account number 000-0049113-31.

Intermediary bookshops receive a significant reduction on the net price. Issues are sent directly to clients, and postage and handling are charged.

Back issues/volumes and a price list are available on request to the treasurer (frankfiers@kbinirsnb.be). For large orders a substantial reduction can be offered.

Membership and subscription:

Dr. Frank Fiers
Royal Belgian Institute of
Natural Sciences
Vautierstraat, 29
B-1000 BRUSSEL
Belgium
e-mail: frankfiers@kbinirsnb.be

Exchange and library matter:

Prof. Dr. Jean Deligne
Université Libre de Bruxelles
CP 160/11
50, Av. Roosevelt,
B-1050 BRUXELLES
Belgium
e-mail: jdeligne@ulb.ac.be

Public relations and all other matter:

Prof. Dr. J.-P. Vandewalle
Université de Liège
Institut de Zoologie
22, Quai Van Beneden
B-4020 LIEGE
Belgium
e-mail: p.vandewalle@ulg.ac.be

The Belgian Journal of Zoology is published with the financial support of the “Direction générale de l’Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique” and of the “Universitaire Stichting van België/Fondation Universitaire de Belgique”.

General information on the Society and on the Journal can be found on <http://kbvd-www.uia.ac.be/kbvd>.

The Belgian Journal of Zoology publishes, in English or French, original papers, reviews and notes in all fields of zoology. Papers in French must include English translations of the title and of the abstract.

Manuscripts must contain significant new findings and must not have been published elsewhere nor be simultaneously under consideration for any other publication outlet. Single-species descriptions will not be accepted unless they have broader relevance such as implications for phylogeny or biogeography.

Authors benefit from a waiver of page charges for up to eight printed pages. Additional pages are charged to authors at cost price. Authors will receive 50 reprints free of charge. Additional reprints can be ordered using the form (with price list), accompanying proofs.

Preparation

The page size of the Belgian Journal of Zoology is 17 x 24.6 cm, in two columns of 8,2 cm. Please keep this in mind, particularly with regard to the size of figures and tables.

Manuscript must be submitted in three copies, double spaced, with numbered pages and margins of at least 2.5 cm. Three quality copies of figures must be provided, as well as the originals. Figures and tables should be kept separate from the text. Overseas authors can submit their manuscript by e-mail.

Papers should be written in clear, concise language and consist of an abstract (summarizing the essential results and conclusions), introduction, material and methods, results and discussion. Sections and sub-sections should not be numbered, but authors may suggest a printing format to give structure to the article. The title must be sufficiently informative. Please provide a short running title and (additional) key words (separated by commas). The full first name and the address of each author should be given. Provide, also, the e-mail address of the first or the corresponding author to allow fast communication with the editor. This e-mail address also appears on the first page of the printed article.

Figures. Hand made drawings should be in black ink (clearly readable after reduction to page width, column width or in between). Photographs should be mounted and clearly labelled, with label size adequate after reduction. A scale bar should give the magnification. Indicate in pencil, on the reverse side of each figure, the number of the figure, the name of the author(s) and the title of the paper. Photocopies of photographs or figures are not acceptable. Indicate the preferred location of each figure in the margin of the manuscript. Electronic versions of graphs are acceptable, as are high quality scans of drawings (but see below!). Figures are referred to in the texts by “Fig. n” (capital F and full stop) or “Figs n-m” (no full stop). The legends to the figures are provided on a separate sheet. Colour prints are at the author’s expences.

Tables. The sizes of tables should take account of page width and length, or column width. Tables are referred to in the text by “Table n” (with capital T). The legend to a table is given on top of the table. Indicate the preferred location of each table in the margin of the manuscript.

Electronic version. An electronic version of at least the text of the final version should be provided, exclusively by e-mail as an attached file (MSWord or rft file). Figures and tables should be separated and sent separately from the text file. Please contact the editor before sending files exceeding 1MB. All file names should have an unambiguous name and should begin with the MS number once it has been allocated after submission (see below).

Species names. Species names and the names of genera should be in italics. Names of species (and names of higher taxa in taxonomic papers) should be followed, on the first occasion of use, by the name of the author who described the species or introduced the taxon name (in lower case) and the year. This rule does not apply for names of plants. If a table of all the species names used in the text is provided, the author names can be mentioned there. Do not use the genus name to indicate a species or individuals of a species!

References. Author names in text citations should be in small capitals and in the following format: NAVAS (1996), LAUDER & LIEM (1980) for two authors, or WILSON et al. (1987) for more than two authors. Consecutive references must be in chronological order and separated by a semicolon (;). All authors quoted in the text should be found in the reference list.

Examples of literature citations:

Paper in a journal: NAVAS, C.A. (1996). Implications of microhabitat selection and pattern of activity on the thermal ecology of high elevation neotropical anurans. *Oecologia*, 108: 617-626. (abbreviation of the journal according to the “World list of Scientific Periodicals”.)

Paper in a book: MALLEFET, J., P. VANHOUTTE & F. BAGUET (1992). Study of *Amphipholis squamata* luminescence. In: ALERA-LIACI & CANICATTI (eds), *Echinoderm Research*, L. Balkema, Rotterdam: 125-130.

Book: BELLAIRS, R., (1991). *Egg incubation: its effects on an embryonic development in birds and reptiles*. Cambridge University Press, Cambridge.

Unpublished reports, master theses, etc... are not considered publications and should be referred to as “unpublished data” or “personal communication” in the text. A report can be given in a footnote. Ph.D. theses are accepted in the reference list. Author names that only appear in the text after a taxon, do not appear in the reference list.

Short notes. Short notes do not exceed two printed pages (incl. figures and tables). They are the appropriate form for new findings of temporary importance, comments on papers published in the journal, important new records for (e.g.) the Belgian fauna, curiosa, etc. They should be written as a continuous text without the various divisions of regular papers (and without an abstract). References for notes must be indicated in the text by numbers, and listed and numbered in the order of their appearance in the text. Short notes will be reviewed as normal papers.

Processing

Manuscripts should be sent to the editor. On receipt of the manuscript, the corresponding author is notified by e-mail, and will receive the number under which the manuscript has been registered. Please mention this MS# **first** in the subject of e-mails and in the names of all files subsequently sent to the editor. The MS is then sent to two referees, and a reply may be expected six to eight weeks after receipt. If the MS is accepted, the author is requested to prepare the final version, taking into account the remarks of the referees. One hard copy **and** the electronic version are then sent to the editor. Only one galley proof is sent, to the corresponding author, along with the order form and the price list for additional reprints. The proof must be carefully corrected and sent back without delay. Overseas authors will receive the printed version as a PDF file and corrections are expected by e-mail.

Publication delay is between three and nine months, but is highly dependent of the willingness of the referees and the collaboration of the authors. The present rejection rate is about 30%.

BJZ

Belgian Journal of Zoology

Published by the
“KONINKLIJKE BELGISCHE VERENIGING VOOR DIERKUNDE —
SOCIÉTÉ ROYALE ZOOLOGIQUE DE BELGIQUE”

Volume 130 (1)

(January, 2000)

Editor:

Prof. Dr. E. Schockaert
Department SBG
Limburgs Universitair Centrum
B-3590 Diepenbeek (Belgium)

Editor (to whom manuscripts should be sent)

Ernest Schockaert (Belgium)
Limburgs Universitair Centrum
Dept. SBG
B-3590 DIEPENBEEK
Belgium

Associate Editors

Michel Chardon (Belgium), Walter Verraes (Belgium), Nikki Watson (Australia)

Editorial Board

P. Aerts (Belgium)
T. Backeljau (Belgium)
J. Balthazart (Belgium)
R. Barbault (France)
G. Boxhall (Great Britain)
V. Darras (Belgium)
A. De Ricqles (France)
D. Dindall (U.S.A.)
A. Dixon (Great Britain)
M. Jangoux (Belgium)
P. Kestemont (Belgium)
M. Kirsch-Volders (Belgium)
K. Klemmer (Germany)
P. Lebrun (Belgium)
P. Legendre (Canada)
J. Osse (The Netherlands)
H. Schminke (Germany)
A. Van Bruggen (The Netherlands)
M. Vincx (Belgium)

Sélection des grains-hôtes par *Prostephanus truncatus* (Coleoptera, Bostrychidae) en présence de grains préalablement infestés par *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae)

Mathias Danho¹, Eric Haubruge¹, Charles Gaspar¹ et Georges Lognay²

¹ Unité de Zoologie générale et appliquée,

² Unité de Chimie organique et générale; Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux,
Passage des Déportés, 2 B- 5030 Gembloux (Belgium)

RÉSUMÉ. Le choix des grains-hôtes par le grand capucin du grain, *Prostephanus truncatus*, dans un milieu contenant à la fois des grains de maïs sains et des grains préalablement infestés par le charançon du maïs, *Sitophilus zeamais* a été observé. L'étude de la sélection des grains-hôtes par *P. truncatus* estimée par le nombre d'insectes présents dans chaque situation et par la proportion de grains endommagés, montre que le grand capucin choisit de façon préférentielle les grains sains par rapport aux grains infestés. En présence de différentes densités d'œufs pondus par *S. zeamais* dans les grains-hôtes proposés à *P. truncatus*, en comparaison à des grains sains, on observe que les grains préalablement infestés par le charançon du maïs ont un effet dissuasif sur *P. truncatus*, mais la différence n'est pas significative. Deux hypothèses liées d'une part, à l'activité larvaire de *S. zeamais* et, d'autre part, à l'existence de substances dissuasives déposées sur les grains infestés par les charançons adultes ont été émises pour expliquer le comportement de *P. truncatus*. *P. truncatus*, mis en présence de grains sains et de grains infestés par des formes immatures de *S. zeamais* à différents stades de leur développement, attaque de préférence les grains infestés depuis moins de deux semaines, tandis qu'à partir de trois et quatre semaines après l'infestation par *S. zeamais* ce sont les grains sains qui sont préférés. Ces résultats indiquent une relation étroite entre le développement larvaire de *S. zeamais* à l'intérieur des grains de maïs et le choix du grain-hôte par *P. truncatus*. Pour tester la seconde hypothèse, les substances déposées sur les grains par *S. zeamais* ont été éliminées, au moyen de différents solvants organiques (n-hexane, éther-diéthylique et méthanol). Des adultes de *P. truncatus* mis en présence de grains sains et de grains infestés préalablement traités aux solvants organiques ne font pas de différence entre les grains infestés et les grains sains. Le phénomène de dissuasion constaté avec les grains infestés est éliminé lorsque les grains sont débarrassés des substances déposées à leur surface par les charançons adultes au cours de l'infestation initiale.

MOTS CLÉS: *Prostephanus truncatus*, *Sitophilus zeamais*, grain infesté, sélection du grain hôte, effet dissuasif.

Selection of grain-hosts by *Prostephanus truncatus* (Coleoptera, Bostrychidae) in the presence of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae) previously infested grains

ABSTRACT. The selection of grain-hosts by the larger grain borer *Prostephanus truncatus* was investigated in environments containing both uninfested maize grains and grains previously infested by the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. The grain-host selection preference of *P. truncatus* was reflected in the number of adults in each type of grain and the number of damaged grains. Results showed that *P. truncatus* individuals were significantly more attracted to uninfested grains than to infested grains. Several densities (according to egg density) of *S. zeamais* infested maize grains mixed together with uninfested grains were exposed to *P. truncatus*. The larger

grain borer damaged significantly more uninfested grains relative to infested ones. Infested grains seemed to have a deterrent effect on the larger grain borer. We hypothesised that this behaviour was due to larval activity and to deterrent substances deposited on maize by adults of the maize weevil. To verify the first hypothesis, adults of *P. truncatus* were placed with uninfested grains and infested grains bearing immature stages of *S. zeamais*. Results showed that the infested grains were preferentially damaged during the first two weeks, while three and four weeks after infestation with *S. zeamais* the uninfested grains were more damaged by *P. truncatus*. These observations indicated a close relationship between the development of *S. zeamais* larvae inside maize grains and the selection of grain-host by *P. truncatus*. To test the second hypothesis, adults of *P. truncatus* were placed together with uninfested maize grains, and with infested grains that had been cleaned of substances deposited by *S. zeamais* using different organic solvents (n-hexane, ether-diethylene and methanol). Results showed that the larger grain borer damaged indiscriminately both infested and uninfested grains. Therefore, the deterrent effect of *S. zeamais* against *P. truncatus* was also associated with the existence of substances deposited on the grain surface by adult weevils.

KEY WORDS: *Prostephanus truncatus*, *Sitophilus zeamais*, infested grain, grain-host selection, deterrent effect.

INTRODUCTION

En Afrique, la présence des populations d'insectes infestant les denrées entreposées dans les structures de stockage est fréquente et les espèces sont multiples. Les principales espèces nuisibles rencontrées sur le maïs stocké sous forme d'épis avec spathes ou de grains en vrac sont *Prostephanus truncatus* Horn, 1878 (Coleoptera, Bostrychidae) et *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae). Les pertes pondérales sont estimées entre 15 à 35% des récoltes après six à huit mois de stockage (TAYLOR, 1971; HODGES et al., 1983; GOLOB et al., 1985; HODGES, 1986). *P. truncatus*, encore appelé le grand capucin du grain, est un ravageur typique du maïs (HAUBRUGE & GASPARD, 1990). Il attaque les grains entiers en perçant les spathes ou en creusant une galerie principale à travers le grain pour y pénétrer. Les œufs sont déposés par les femelles dans des loges perpendiculaires aux galeries principales, creusées dans le grain, dans lesquelles se développeront les larves (BELL & WATTERS, 1982; HODGES, 1982). *S. zeamais*, communément appelé charançon du maïs, est également un ravageur primaire largement répandu sur le maïs en Afrique (TAYLOR, 1971). Les femelles creusent un trou dans le grain et y déposent un œuf. Elles rebouchent ensuite ces cavités à l'aide d'une substance mucilagineuse (MC LAGAN & DUNN, 1935). Le développement des stades larvaires et nymphal se fait à l'intérieur du grain, et l'infestation ne se manifestera que plus tard, lors de l'émergence des adultes.

Ces deux ravageurs primaires du maïs apparaissent fréquemment avec d'autres espèces de coléoptères comme *Rhizopertha dominica* Fabricius, 1792 (Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribolium castaneum* Herbst, 1775 (Coleoptera, Tenebrionidae) (HODGES, 1986). Les expériences effectuées par HODGES (1984), afin de mieux comprendre les relations entre ces espèces, ont montré une corrélation positive entre la présence de *P. truncatus* et le nombre de *T. castaneum*; les observations concernant les associations avec d'autres espèces n'ont pas permis de tirer de conclusions. Plus tard, les études de HAUBRUGE & VERSTRAETEN (1987) ont montré que le développement de *P. truncatus* est perturbé par la présence de *S. zeamais*. En effet, le nombre de grains endommagés par *P. truncatus* est moins élevé

lorsque les grains ont été infestés par le charançon du maïs. *P. truncatus* est capable de reconnaître des grains infestés par *S. zeamais* si bien que les femelles du grand capucin du grain pondent très peu d'œufs sur ces grains (HAUBRUGE & VERSTRAETEN, 1987). Ces observations suggèrent donc que les grains infestés influenceraient le choix des grains-hôtes par le grand capucin du grain.

Ces résultats nous ont poussés à aborder la problématique de reconnaissance des sites de nutrition et d'oviposition chez *P. truncatus* et l'interaction de cette espèce avec la présence d'autres ravageurs, comme *S. zeamais*. Tout d'abord, nous avons étudié l'influence de l'infestation préalable de *S. zeamais* et la présence des œufs de cette espèce sur la recherche et le choix des grains hôtes par les adultes de *P. truncatus*. Ensuite, nous avons abordé les effets de l'activité larvaire de *S. zeamais* et de la présence de substances dissuasives sur les grains infestés par cette espèce sur le choix de *P. truncatus*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Conditions expérimentales

Toutes les expérimentations (périodes d'incubation) et les élevages (de production des lots d'expérience) ont été réalisées dans des incubateurs maintenus à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ et $65 \pm 5\%$ d'humidité relative (HR). Dix répétitions ont été réalisées pour toutes les expériences.

Les souches de *P. truncatus* et de *S. zeamais* utilisées sont originaires du Togo et ont été mises en élevage, depuis 1994, à l'Unité de Zoologie générale et appliquée.

Le matériel végétal utilisé, comme substrat au cours des expérimentations, est constitué de grains de maïs de la variété "Plata" provenant du commerce. Des mesures ont été ensuite réalisées sur les grains (stockés dans des tonneaux en plastique de 60 litres) au moyen d'un thermohygromètre: humidité moyenne (H) = 13% et température moyenne (T) = 22°C . Avant d'être utilisés pour les bioessais, les grains sont laissés pendant au moins 48 heures dans un incubateur à 28°C et 65% HR.

Le terme “infesté” a été utilisé ici pour qualifier des grains contenant des oeufs, des larves, des fèces et diverses substances chimiques produites par les insectes (GHENT, 1963; HUGHES, 1982). Les grains de maïs infestés ont été obtenus en plaçant 150 adultes de *S. zeamais* (âgés de 3-10 semaines) dans des bocaux en verre d'une capacité de 1 litre remplis aux 2/3 de grains de maïs (environ 1200-1500 grains). Après une période de 14 jours d'infestation pour les deux premiers et dernier essais et de trois jours pour le troisième essai, les insectes ont été enlevés et les grains de maïs ont été utilisés pour les expériences. Les grains sains, sont des grains qui n'ont été en contact avec aucun insecte avant les expériences.

Les oeufs déposés par les femelles de *S. zeamais* ont été mis en évidence par une immersion des grains dans une solution fuchsine acide à 0,5 g/l (FRANKENFELD, 1948; SHARIFI, 1972). La méthode utilisée a été adaptée de celle décrite par HOLLOWAY (1985). Les grains ont été d'abord humidifiés par trempage dans un bain d'eau tiède agité (25-30°C). Ensuite, ceux-ci ont été immergés pendant 1-2 minutes dans la solution de fuchsine qui colore les bouchons mucilagineux en rouge cerise. Après un rinçage des grains à l'eau pour éliminer l'excès de colorant, le dénombrement des oeufs déposés sur chaque grain a été effectué par observation directe au microscope stéréoscopique.

Chez *P. truncatus*, la nutrition, l'accouplement et l'oviposition ont lieu à l'intérieur des grains (GUNTUP et al., 1996). Cette espèce, s'introduit à l'intérieur du grain en perçant superficiellement le péricarpe (HODGES, 1986). En conséquence, nous avons estimé que le choix des grains-hôtes par *P. truncatus* était assimilable au nombre d'individus présents dans chaque type de grains ou au nombre de grains présentant des trous de nutrition ou des galeries.

Les dispositifs expérimentaux

Dans des bacs en plastiques de 830 ml (20 cm de long, 15 cm de large et 4 cm de haut), nous avons mis deux lots de 70 grammes (environ 250 grains) de maïs grains disposés côte à côte; d'un côté des grains infestés au préalable par *S. zeamais* et de l'autre côté des grains sains. Les grains infestés et les grains sains ont été obtenus suivant la méthode décrite dans les conditions expérimentales. Quarante adultes de *P. truncatus* ont été déposés à distance égale (au milieu des bacs) de chacun des lots de grains. Après respectivement 1, 3 et 6 heures, les adultes de *P. truncatus* présents dans chaque lot de grains ont été dénombrés. La préférence est associée au nombre d'insectes retrouvés dans chaque lot, critère qui est utilisé pour la quantification.

Pour vérifier si la présence des oeufs de *S. zeamais* influençait le choix des grains-hôtes de *P. truncatus*, six catégories de grains infestés ont été sélectionnées, après coloration à la fuchsine, en fonction du nombre d'oeufs présents sur chaque grain (0, 1, 2, 3, 4 et 5 oeufs/grain). Les grains sains ont été également colorés avec la solution de fuchsine pour ne pas influencer le résultat. Pour chaque catégorie, 15 grains infestés et 15 grains

sains ont été placés dans des tubes en verre (90 x 25 mm) et mis en contact avec cinq adultes de *P. truncatus*. Les observations des grains attaqués par *P. truncatus* ont été effectuées trois et cinq jours après le dépôt des adultes.

Pour étudier l'effet de l'activité larvaire de *S. zeamais*, des grains infestés pendant trois jours, portant au moins deux oeufs, ont été mis en incubation en même temps que des grains sains. Après 1, 2, 3 et 4 semaines d'incubation, 15 grains infestés et 15 grains non infestés ont été mélangés, placés dans un tube en verre et mis en contact avec cinq adultes de *P. truncatus*. Les observations des grains attaqués par *P. truncatus* ont été effectuées trois et cinq jours après le dépôt des adultes.

Afin de vérifier si des substances dissuasives sont déposées sur les grains de maïs infestés par *S. zeamais*, 150 grains (infestés ou sains) ont été trempés à deux reprises pendant 1 minute dans 40 ml pour chaque solvant (n-hexane, éther diéthylique ou méthanol). L'objectif de ce trempage est d'éliminer les substances aromatiques éventuellement déposées sur les grains infestés par *S. zeamais*. Entre chaque extraction, les grains ont été séparés du solvant par filtration sur de la laine de verre extra-fine (11 µm, densité = 2,52 g/cm³). Les grains témoins (infestés par *S. zeamais* ou sains) ont été trempés dans l'eau. Après évaporation du solvant, les grains ont été séparés en dix lots de 15 grains et séchés à température ambiante, pendant 12 heures, dans des bacs en verre. Pour chaque extraction, le pourcentage d'infestation par les adultes de *P. truncatus* et l'observation des grains attaqués ont été réalisés suivant le protocole de l'expérience précédente.

Les résultats issus des observations ont été traités statistiquement par une analyse de la variance, au moyen du logiciel SYSTAT (WILKINSON et al., 1992). Auparavant, il a été procédé à une transformation angulaire des données (de chaque valeur obtenue), afin de stabiliser les variances, selon la formule relative aux proportions (DAGNELIE, 1994),

$$Y = 2 \arcsin \sqrt{\frac{y}{N}}$$
 avec :

y = nombre de grains de chaque type attaqué dans chaque tube,

N = nombre total de grains de chaque type dans un tube.

Ensuite, nous avons procédé à une comparaison des moyennes à l'aide du test de Newman et Keuls. Les résultats des tests statistiques sont considérés comme significativement différents, lorsque la probabilité de l'hypothèse nulle est inférieure ou égale à 5%.

Outre les tests statistiques, les histogrammes ont été obtenus, à l'aide du logiciel Excel, en faisant le pourcentage moyen des dix répétitions.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Influence de l'infestation préalable de *S. zeamais*

Les résultats (Fig. 1) montrent qu'un plus grand nombre de *P. truncatus* est présent dans les grains sains, quelle que

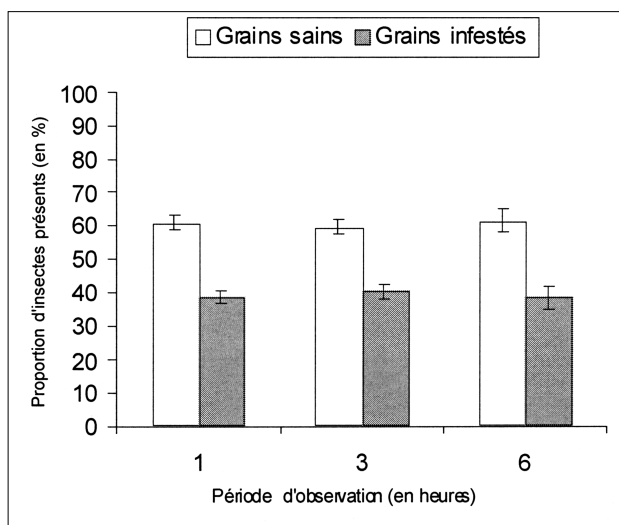


Fig. 1. Répartition des adultes de *Prostephanus truncatus*, en fonction des différents types de grains lors de la recherche des grains-hôtes, au cours du temps (Proportion \pm Ecart-type).

soit la période d'observation. Ces observations sont confirmées par l'analyse de la variance à deux critères de classification qui ne relève aucune différence significative ($P = 1 > 0,05$) dans la répartition des insectes à toutes les durées de séjour: 1 heure, 3 heures et 6 heures. Par contre, au niveau du type de grains, il existe une différence très hautement significative ($P = 0,0001 < 0,001$), ce qui indique que *P. truncatus* choisit de façon préférentielle les grains sains. On peut en déduire que les grains infestés préalablement par *S. zeamais* ont un effet dissuasif vis-à-vis du grand capucin du grain. Nous avons donc émis l'hypothèse que le choix de *P. truncatus* était influencé soit par l'activité larvaire de *S. zeamais* à l'intérieur des grains, soit par la présence d'un médiateur chimique lié à la présence des œufs de *S. zeamais* sur les grains infestés ou au séjour des adultes de cette espèce pendant la période de ponte.

Effet de l'activité larvaire de *S. zeamais*

Au niveau des grains infestés portant des œufs de *S. zeamais*, la dissuasion peut s'expliquer par les bruits émis par les larves lors de leurs déplacements ou de leurs prises de nourriture à l'intérieur du grain (ADAMS et al., 1953). Détectant ces vibrations, *P. truncatus* se dirigerait de préférence vers les grains sains. En effet, les grains infestés ont été en contact avec *S. zeamais* pendant une période de trois jours. Après une période d'incubation de cinq à six jours, les larves éclosent et se développent à l'intérieur des grains (SHARIFI & MILLS, 1971; LONGSTAFF, 1981).

Les résultats repris à la Fig. 2 montrent que les grains infestés et incubés pendant une et deux semaines sont attaqués de préférence par *P. truncatus*, alors qu'à partir de trois et quatre semaines d'incubation, ce sont les grains sains qui sont les plus endommagés. L'analyse de la variance indique qu'il existe une différence hautement significative ($P = 0,001$) au niveau de l'interaction entre les types de grains et les semaines; cette interaction tra-

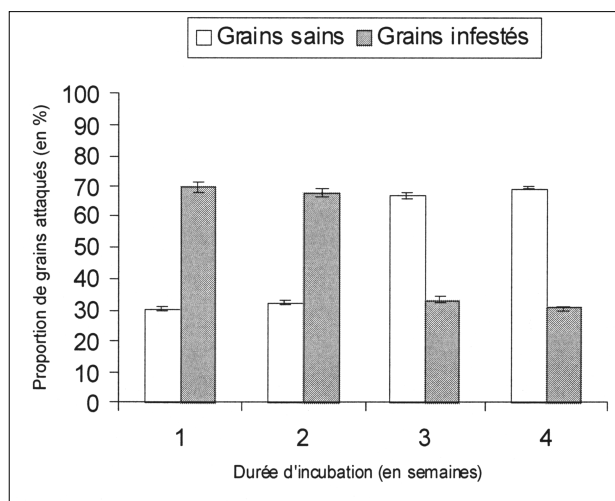


Fig. 2. Répartition des attaques de *Prostephanus truncatus*, en fonction du temps d'incubation des formes immatures de *Sitophilus zeamais* et des différents types de grains, après 5 jours d'infestation (Proportion \pm Ecart-type).

duit le changement de comportement du grand capucin du grain. Il n'existe pas de différence significative entre les semaines ($P = 0,597$) et les types de grains ($P = 0,813$). La comparaison des moyennes deux à deux à l'aide du test de Newman et Keuls nous indique que quelle que soit la période de deux semaines, le type de grain le plus attaqué est significativement différent de l'autre. Ces résultats nous permettent d'affirmer que le développement des larves de *S. zeamais* à l'intérieur du grain a un effet sur la sélection de l'hôte par *P. truncatus*. Pendant les deux premières semaines d'incubation, le cycle de développement de *S. zeamais* correspond au développement des œufs et à celui des larves du premier au troisième stade larvaire (SHARIFI & MILLS, 1971). Par contre, les deux dernières semaines correspondent aux périodes de développement de la larve du stade IV et de la nymphe. Les grains contenant ces derniers stades ne sont plus infestés, ce qui peut être en relation avec la présence de bruit. VICK et al. (1988) ont montré que chez *Sitophilus*, le grincement des mandibules à l'intérieur du grain produit des sons distincts. Ces bruits pourraient être détectés par *P. truncatus*, le dissuadant de percer des galeries dans ces grains infestés depuis plusieurs semaines. Le comportement de *P. truncatus* face aux grains incubés pendant les deux premières semaines va dans le sens contraire des observations obtenues lors de l'essai précédent. En réalité, la période d'infestation des grains par les charançons (adultes de trois semaines) était plus courte (trois jours) alors que pour le premier essai, la période d'infestation a duré 14 jours avec des adultes de *Sitophilus* âgés de 10 semaines. Nous avons donc entrepris des expériences sur l'influence de l'âge des adultes de *S. zeamais* et de la période d'infestation des grains, sur la sélection des grains-hôtes par *P. truncatus*. Les résultats (non publiés) montrent que l'effet dissuasif des grains infestés est encore plus marqué d'une part avec des adultes d'âge supérieur ou égal à trois semaines et d'autre part avec des grains, ne portant pas

d'œufs, infestés par *S. zeamais* pendant une période supérieure à trois semaines. L'existence de substances dissuasives sur les grains infestés par *S. zeamais* semble donc également probable.

Effet de la présence des œufs de *S. zeamais*

En présence de différentes densités d'œufs pondus par *S. zeamais* dans les grains infestés, proposés à *P. truncatus*, en comparaison à des grains sains, le grand capucin du grain attaque de préférence les grains infestés (Fig. 3). Une analyse de la variance à deux critères de classification nous indique qu'il y a une différence très hautement significative ($P < 0,001$) entre les types de grains.

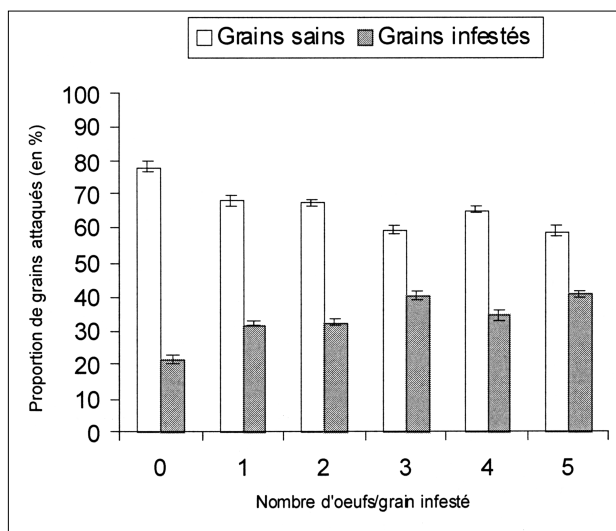


Fig. 3. Répartition du nombre de grains attaqués par *Prostephanus truncatus*, en fonction du nombre d'œufs/grain de *Sitophilus zeamais* et des différents types de grains, après 5 jours d'infestation (Proportion \pm Ecart-type).

Ces observations montrent que *P. truncatus* est capable de faire la discrimination entre des grains sains et des grains déjà colonisés par *S. zeamais*. Cette préférence pour les grains sains ne semble toutefois pas être liée à l'abondance des œufs de *S. zeamais* sur les grains infestés ($P = 0,952$). En effet, au niveau des grains infestés, mais ne portant pas d'œufs, nous observons un taux relativement faible d'infestation de 22% par le grand capucin du grain. L'œuf déposé par *S. zeamais* n'est certainement pas l'élément (le facteur) essentiel de la dissuasion constatée.

Détection de la présence de substances dissuasives sur les grains infestés par *S. zeamais*

Le nombre de grains attaqués par *P. truncatus* est presque identique au niveau des grains infestés et des grains sains traités avec le même type de solvant (Fig. 4). Par contre, pour les grains trempés seulement dans l'eau, le nombre de grains attaqués par *P. truncatus* est différent par rapport aux types de grains. Lorsque l'eau est utilisée comme solvant pour les extractions, *P. truncatus* attaque

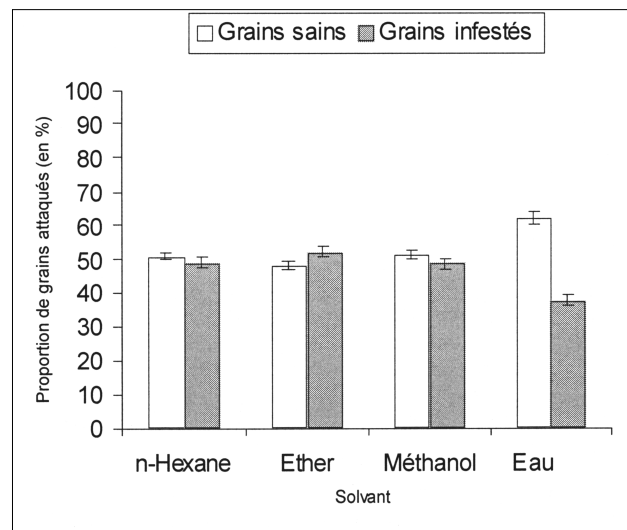


Fig. 4. Répartition du nombre de grains attaqués par *Prostephanus truncatus*, en fonction des différents types de solvants et des grains après extraction, et après 5 jours d'infestation (Proportion \pm Ecart-type).

davantage et de façon significative les grains sains par rapport aux grains infestés. Tout se déroule comme si les grains infestés avaient perdu leurs effets dissuasifs lorsque l'un des trois solvants autre que l'eau est utilisé. Ces observations confirment l'existence de substances dissuasives peu ou pas solubles dans l'eau sur les grains infestés par *S. zeamais*. Après extraction au moyen des trois solvants organiques, le grand capucin du grain ne distingue plus les grains préalablement infestés des grains sains. STUBBS & ABOOD (1983) ont remarqué que des extraits de grains contaminés par des adultes de *S. granarius*, appliqués sur le milieu de ponte, provoquent une diminution de l'oviposition de cette même espèce. Ils concluent donc que des substances répulsives émises par les femelles lors de la ponte, auraient pour effet d'empêcher la contamination du grain par d'autres insectes. *S. zeamais* perturberait de cette manière les attaques de *P. truncatus* et partant, la sélection des grains-hôtes de cette dernière espèce. Plusieurs substances secrétées par le charançon du maïs ont déjà été identifiées (PLARRE, 1998); notamment, la phéromone d'agrégation (WALGENBACH et al., 1983; PHILLIPS et al., 1985), (R, S)-5-hydroxy-4-methyl-3-heptanone qui est soluble dans ces trois solvants. Dans notre étude, il est possible que la dissuasion, du grand capucin du grain, soit liée à la perception de cette phéromone sur les grains infestés ou à d'autres substances chimiques déposées sur les grains infestés par les charançons adultes. La poursuite de cette étude passe par la caractérisation précise de ces substances dissuasives, ce qui pourrait déboucher sur une application pratique en protection des stocks de maïs contre le grand capucin.

CONCLUSION

Les résultats nous permettent de confirmer qu'il existe bien une véritable compétition interspécifique entre le

charançon du maïs et le grand capucin du grain. Les grains de maïs infestés par le charançon ont des effets dissuasifs sur *P. truncatus*, lorsque ce dernier est à la recherche des grains-hôtes pour la nutrition ou l'oviposition. Ces effets dissuasifs sont liés à une combinaison d'un ensemble de phénomènes physiques et chimiques. Ces phénomènes sont d'une part dus à la présence de substances dissuasives et d'autre part, à l'activité des larves à l'intérieur du grain. Des études concernant la compétition entre *P. truncatus* et *S. zeamais* ont montré que le charançon du maïs était le meilleur compétiteur et avait un effet suppressif sur le grand capucin du grain (COWLEY et al., 1980; GIGA & CANHAO, 1993). Toutefois, les mécanismes de cette compétition interspécifique sont peu connus et les résultats de nos études permettront certainement d'apporter des éléments de réponses à cette approche.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier Monsieur le Professeur J.J. Claustrioux, titulaire de l'Unité de Statistique et Informatique et Monsieur L. V. Belle, assistant, pour leurs conseils sur le choix des tests statistiques et leur aide dans l'analyse des résultats; ainsi que les correcteurs anonymes pour les commentaires qu'ils ont apportés sur le présent manuscrit. M. Danho est boursier de l'A.G.C.D. (Administration Générale de la Coopération au Développement).

BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS, R.E., J.E. WOLFE, M. MILNER & J.A. SHELLENBERGER, 1953. Aural detection of grain infested internally with insects. *Science*, 118: 163-164.
- BELL, R.J. & F.L. WATTERS, 1982. Environmental factors influencing the development and rate of increase of *Prostephanus truncatus* on stored maize. *J. Stored Prod. Res.*, 18: 131-142.
- COWLEY, R.J., D.C. HOWARD & R.H. SMITH, 1980. The effect of grain stability on damage caused by *Prostephanus truncatus* (Horn) and three other beetle pests of stored maize. *J. Stored Prod. Res.*, 16: 75-78.
- DAGNELIE, P., 1994. *Théorie et méthodes statistiques. Volume II: Les méthodes de l'inférence statistique*. Presses Agronomiques de Gembloux (463 pp).
- FRANKENFELD, J.C., 1948. *Staining methods for detecting weevils infestation in grain*. In: U.S. Department of Agriculture. Bureau of Entomology and Plant Quarantine, ET ser. 256: 1-4.
- GHEHT, A. W., 1963. Studies of behavior of the *Tribolium* flour beetles. I. Contrasting response of *T. castaneum* and *T. confusum* to fresh and conditioned flours. *Ecology*, 44: 269-283.
- GIGA, D.P. & S.J. CANHAO, 1993. Competition between *Prostephanus truncatus* (Horn) and *Sitophilus zeamais* (Motsch.) in maize at two temperatures. *J. Stored Prod. Res.*, 29: 63-70.
- GOLOB, P., P. CHANGIAROEN, A. AHMED & J. COX, 1985. Susceptibility of *Prostephanus truncatus* to insecticides. *J. stored Prod. Res.*, 21: 141-150.
- GUNTRIP, J., R.M. SIBLY & R.H. SMITH, 1996. A phenotypic and genetic of egg to adult life-history traits between and within two strains of the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae). *J. Stored Prod. Res.*, 32: 213-223.
- HAUBRUGE, E. & C. VERSTRAETEN, 1987. Interaction entre *Prostephanus truncatus* (Horn) et quatre espèces de coléoptères des denrées, ravageuses du maïs. *Med. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent*, 52: 241-245.
- HAUBRUGE, E. & C. GASPAR, 1990. Détermination en laboratoire des zones favorables au développement des populations du grand capucin du grain, *Prostephanus truncatus* (Horn), en Afrique. *L'Agronomie Tropicale*, 45: 251-258.
- HODGES, R.J., 1982. A review of the biology and control of the larger grain borer *Prostephanus truncatus*. *Trop. Stored Prod. Inf.*, 43: 3-9.
- HODGES, R.J., W.R. DUNSTAN, I. MAGAZINI & P. GOLOB, 1983. An outbreak of *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) in East Africa. *Prot. Ecol.*, 5: 183-194.
- HODGES, R.J., 1984. Field ecology and monitoring of *Prostephanus truncatus* Horn. In: GASGA-Workshop on the Larger Grain Borer, *Prostephanus truncatus* (Horn). Tropical Development Research Institute, Storage Department, Slough. GTZ, Eschborn, FRG: 32-48.
- HODGES, R.J., 1986. The biology and control of *Prostephanus truncatus*: A destructive storage pest with an increasing range. *J. Stored Prod. Res.*, 22: 1-14.
- HOLLOWAY, G.J., 1985. The effect increased grain moisture content on some life history characters of *Sitophilus oryzae* (L.) after staining egg plugs with acid fuchsin. *J. Stored Prod. Res.*, 21: 165-169.
- HUGHES, A. L., 1982. Attraction of adult *Tribolium confusum* to flour conditioned by male conspecifics. *Behavioral Processes*, 7: 247-253.
- LONGSTAFF, B.C., 1981. Biology of the genus *Sitophilus* (Coleoptera: Curculionidae): a critical review. *Prot. Ecol.*, 2: 83-130.
- MC LAGAN, D.S. & E. DUNN, 1935. The experimental analysis of the growth of an insect population. *Proc. Roy. Soc. Edinburgh*, 55: 126-139.
- PHILLIPS, J.K., C.A. WALGENBACH, J.A. KLEIN, W.E. BURKHOLDER, N.R. SCHMUFF & H.M. FALES, 1985. (R*,S*)-5-hydroxy-4-methyl-3-heptanone: a male produced aggregation pheromone of *Sitophilus oryzae* (L.) and *S. zeamais* Motsch. *J. Chem. Ecol.*, 11: 1263-1274.
- PLARRE, R., 1998. Pheromones and other semiochemicals of stored product insects. A historical review, current application, and perspectives needs. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft.*, 1-84.
- SHARIFI, S. & R.B. MILLS, 1971. Radiographic studies of *Sitophilus zeamais* Motsch. in wheat kernels. *J. Stored Prod. Res.*, 7: 195-206.
- SHARIFI, S., 1972. Oviposition site and egg plug staining as related to development of two species of *Sitophilus* in Wheat Kernels. *Z. Ang. Ent.*, 71: 428-431.
- STUBB, M. & F. ABOOD, 1983. Oviposition by *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) in insect contaminated wheat. *J. Stored Prod. Res.*, 19: 51-56.
- TAYLOR, T.A., 1971. Flight activity of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and some other grain-infesting beetles in the field and a store. *J. Stored Prod. Res.*, 6: 296.

-
- VICK, K.W., J.C. WEBB, B.A. WEAVER & C. LITZKOW, 1988. Sound detection of stored-product insects that feed inside kernels of grain. *J. Econ. Entomol.*, 81: 1489-1493.
- WALGENBACH, C.A., J.K. PHILLIPS, D.L. FAUSTINI & W.E. BURKHOLDER, 1983. Male-produced aggregation pheromone of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, and interspecific attraction between three *Sitophilus* species. *J. Chem. Ecol.*, 9: 831-841.
- WILKINSON, L., M. HILL & E. VANG, 1992. SYSTAT: Statistics, version 5.2 Edition. SYSTAT, Evanston, IL. (724 pp).

Received: February 11, 1999

Accepted after revision: October 18, 1999

Cryptozoic copepods from Belgium: diversity and biogeographic implications¹

Frank Fiers and Véronique Ghene

Royal Belgian Institute of Natural Sciences
Vautierstraat 29, B-1000 Brussels, Belgium

ABSTRACT. During an intensive survey of the presence and distribution of soil nematodes in Belgium, several samples were found to contain harpacticoid and cyclopoid copepods. Population characteristics could not be studied because the sampling methods were inadequate for the collection of copepods. We report here on the diversity, and discuss the habitat preferences, of those cryptozoic copepods. Four cyclopoid and 13 harpacticoid species were identified. One cyclopoid and eight harpacticoids have not been previously reported from Belgium. Species of Morariinae and Canthocamptinae were encountered in nearly every type of habitat. The presence of the hypogean cyclopoid *Graeteriella unisetigera* in leaf litter was unexpected and we discuss its distribution in Europe. Based on those observations, the concept of the importance of leaf litter in the dispersion of stygofauna and its population maintenance is advanced.

KEY WORDS: Copepoda, Cyclopoida, Harpacticoida, Cryptozoic copepods, Belgium.

INTRODUCTION

That free-living harpacticoid and cyclopoid copepods may form an important component of the cryptozoic microfauna in moist forest litter was first recognized at the end of the last century (DENDY, 1895: see REID, 1986). In comparison, however, with the multitude of studies on aquatic systems, the number of studies on copepods in terrestrial and semi-terrestrial habitats is rather limited. Most of the reports on cryptozoic copepods are from exotic places: New Zealand beech forest litter (HARDING, 1958), Australian forests (DENDY, 1895; PLOWMAN, 1979), a sedge meadow in the Canadian tundra (BLISS *et al.*, 1973), the Paramo region in the Colombian Andes (STURM, 1978), and a wet campo marsh in sub-tropical Brazil (REID, 1984).

KIKUCHI (1984) demonstrated that the occurrence of harpacticoids of the genus *Moraria* (Canthocamptidae) in forest litter in temperate and cool-temperate regions is not an occasional fact, but that these animals form a substan-

tial part of the soil fauna and are widely distributed in the Japanese forests on Hokkaido and the northern part of Honshu. In addition, the same author reported on harpacticoids that were collected in mountain forests under subarctic conditions. The species richness in humid leaf litter at higher altitudes was shown by DUMONT *et al.* (1988), who discovered five new species and a new genus in samples obtained between 1900 and 3800 m in forests of Nepal on the slopes of the Himalayas.

In Europe, with its long tradition in the study of Copepoda, the existence of this faunal component has been documented by GURNEY (1932), REMY (1932), SCOURFIELD (1939), KLIE (1943), BRUNBERG NIELSEN (1966) and DUMONT (1972). Thus far, eight different species have been identified in terrestrial samples from European localities. All these studies dealt only with descriptions of the species encountered in terrestrial samples, except for the work by BRUNBERG NIELSEN (1966), who studied several aspects of the biology of two species in Danish beech forests.

That copepods may constitute an important part of the cryptozoic assemblages in forest litter is generally known in studies of the soil fauna. While WALLWORK (1976) mentioned that harpacticoid copepods were "surprisingly abundant" in moist beech litter in southern England, studies by SCHAEFER (1991) and SCHAUERMANN (in SCHAEFER, 1991) revealed that densities of 3000 to 4000 specimens per

¹ Part of this article was presented as a poster by the same authors during the 4th Benelux Congress of Zoology (Utrecht, 14-15 November 1997) under the title: Evidence of the superficial distribution of the hypogean cyclopoid copepod: *Graeteriella unisetigera* (Graeter, 1908).

Corresponding author: F. Fiers, e-mail: frankfiers@kbiniirsnb.be

square meter in beech forests near Goettingen and Solling (Germany) are quite normal. Diversity, however, seems rather low. SCHAUERMANN (op. cit.) assumed that the copepod populations encountered in Solling were constituted by a single (unnamed) harpacticoid copepod.

It is evident that today, at the dawn of the 21st century, our knowledge about the diversity, density and distributional range of those free-living copepods occurring in terrestrial and semi-terrestrial habitats is quite scanty.

During an intensive sampling program in Belgium (1977-1981), as part of the "European Plant Parasitic Nematodes Survey", D. DE WAELE found harpacticoid and cyclopid copepods in 76 samples. This represents only a small fraction of the 2000 samples originally taken, but it became evident that the methodology used to quantify the nematode populations was inadequate to collect the copepods (see section on methodology). Because of these limitations, and the large differences between the number of sampled vegetation types, it is impossible to quantify the parameters of the copepod populations from these data. The aim of this paper is restricted to the presentation of the copepod diversity encountered in these terrestrial samples and some indication of their ecological preferences and distributional ranges, partly taken from the literature records.

MATERIAL AND METHODS

Soil samples were collected using a soil corer with a diameter of 2 cm, designed to collect soil nematodes. In each locality, 2 kg of soil was removed within a circle of 20 cm diameter at various depths, and assembled in a bag. The depth of the sample depended on the vegetation type, and ranged from surface samples to a depth of 40 cm. The samples were preserved overnight at 4°C upon arrival at the laboratory.

Samples were treated as follows: after homogenizing the sample, 100 g of soil (approximately 5% of the entire sample) was suspended in 300 ml distilled water; the mixture sieved on a 2 mm mesh size sieve, and the fraction smaller than 2 mm suspended in 4.5 l distilled water. This solution was sieved twice on a 38 µm mesh size sieve, after which the retained residue was fixed with a 4% formaldehyde solution (heated to 75°C). The fixed residue was twice centrifuged at 3000 rpm, once in distilled water, once in a 50% solution of Ludox® and water.

Animals were sorted under a stereo-microscope, and stored in 75% denatured ethyl alcohol. Copepod specimens (either preserved or dissected) were deposited in the Recent Invertebrate Collections at the Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Brussels.

The 2015 samples collected during the survey were subdivided according to the type of primary vegetation:

Type A: 341 samples from fields under intensive cultivation;

Type D: 526 samples from deciduous forest subdivided into seven families;

Type G: 1148 samples from pastures, roadsides, riversides, and fallow land.

In only 76 samples (4.5%) were copepods found (Fig. 1). This low number could be interpreted as an indication that copepods occur only occasionally in soil samples. However, it should be noted that the sampling and sorting methods used during this study were inadequate to collect micro-arthropods such as copepods. Copepods living in leaf litter occur in the layer of decaying leaves directly on top of the forest floor (BRUNBERG NIELSEN, 1966), and in the case of grass vegetation, under the herbs directly on the soil. In contrast, nematodes penetrate much deeper into the soil, requiring a method of collecting the deeper strata of the soil where copepods do not occur. Furthermore, while at each locality about 2 kg of sediment was collected, only 100 g were effectively sorted after the entire sample was homogenized. Evidently, the possibility of finding copepods in this small subsample is rather low.

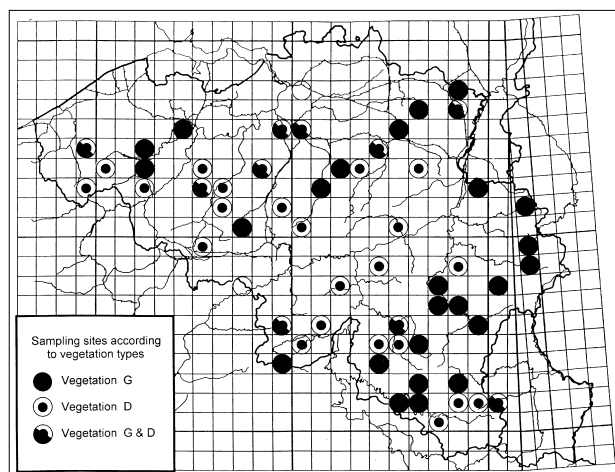


Fig. 1. – Localities where copepods were found, plotted on a UTM grid (10x10 km).

RESULTS

Species diversity (Table 1)

In the 76 samples studied, 17 different species were identified: four cyclopoids and 13 harpacticoids (Table I). Samples contained up to three different species, but in the majority (73.7%) only a single species could be detected. In 21% of the samples two different species co-occurred, and only 5.3% of the samples accommodated three different species.

Three out of the four cyclopoids were found only in a single locality. *Paracyclops fimbriatus* and *Diacyclops languidus* sensu lato were found in samples collected uphill along a riverside, while *D. crassicaudis* was detected in a sample taken in a humid *Populus* wood (Salicaceae). In both cases, the presence of a pure aquatic system nearby explains the occurrence of these three

species. Of more importance, however, is the presence in 13 localities (17%) of the hypogean cyclopoid *Graeteriella unisetigera* GRAETER, 1908. This small cyclopoid, in Belgium previously only known from the southern karstic region (LERUTH, 1939), was encountered in several terrestrial samples collected far from the typical karstic area (Fig. 3). A more detailed discussion of the distribution of this species is given in a separate section below. In seven samples *G. unisetigera* was the only copepod present, but in six samples this cyclopoid co-occurred with canthocamptid harpacticoids.

Only on two occasions were specimens of the genus *Nitocra* (Ameiridae) found. Unfortunately, they were juveniles (fifth copepodid stage), which could not be identified to species level.

In most of the samples (66 of 76, or 84.8%) one or more representatives of the family Canthocamptidae were identified. Representatives of the genera *Bryocamptus* and *Moraria* were most frequently detected, respectively, in 20 and 49 localities. Four other canthocamptids, *Attheyella crassa*, *Elaphoidella gracilis*, *Epactophanes richardi*, and the rare *Maraenobiotus vej dovskyi truncata*, were occasionally encountered (Table I).

TABLE 1

Copepod taxa encountered in terrestrial samples: Column 1: number of samples in which the species was encountered; Column 2: Vegetation types with G for grasslands, D for deciduous forest; Column 3: new records for the Belgian territory; Column 4: species previously reported from terrestrial habitats (1: including *Maraenobiotus v. tenuispina*).

TAXA	# of sites	vegetation type	new records	known from terrest.
ORDER CYCLOPOIDA				
Subfamily Eucyclopinae (Kiefer, 1927)				
Genus <i>Paracyclops</i> (Claus, 1893)				
<i>Paracyclops fimbriatus</i> (Fischer, 1853)	1	G		
Subfamily Cyclopinae (Kiefer, 1927)				
Genus <i>Diacyclops</i> (Claus, 1857)				
<i>Diacyclops languidus</i> sens. lat.	1	G		
<i>Diacyclops crassicaudis</i> (Sars, 1863)	1	D	*	
Genus <i>Graeteriella</i> (Brehm, 1926)				
<i>Graeteriella G. unisetigera</i> (Graeter, 1908)	13	D/G		
ORDER HARPACTICOIDA				
Family Ameiridae (Monard, 1927)				
Genus <i>Nitocra</i> (Boeck, 1864) <i>Nitocra</i> sp.				
	2	D/G		
Family Canthocamptidae (Sars, 1906)				
Subfamily Canthocamptinae (Chappuis, 1929)				
Genus <i>Bryocamptus</i> (Chappuis, 1928)				
<i>Bryocamptus pygmaeus</i> (Sars, 1863)	9	D/G		*
<i>Bryocamptus typhlops</i> (Mrázek, 1893)	6	D/G		
<i>Bryocamptus vej dovskyi</i> (Mrázek, 1893)	1	G	*	
<i>Bryocamptus weberi</i> (Kessler, 1914)	4	D/G	*	
Genus <i>Maraenobiotus</i> (Mrázek, 1893)				
<i>Maraenobiotus vej dovskyi truncata</i> (Mrázek, 1893)	1	D	*	*(1)
Genus <i>Attheyella</i> (Brady, 1880)				
<i>Attheyella A. crassa</i> (Sars, 1863)	5	G		
Genus <i>Elaphoidella</i> (Chappuis, 1928)				
<i>Elaphoidella gracilis</i> (Sars, 1863)	2	D/G	*	
Subfamily Morariinae (Borutzky, 1952)				
Genus <i>Moraria</i> (T. & A. Scott, 1863)				
<i>Moraria brevipes</i> (Sars, 1863)	7	D/G	*	
<i>Moraria pectinata</i> (Thiébaud & Pelosse, 1928)	1		*	
<i>Moraria poppei</i> (Mrázek, 1893)	17	D/G	*	
<i>Moraria varica</i> (Graeter, 1911)	26	D/G		*
Subfamily Epactophaninae (Borutzky, 1952)				
Genus <i>Epactophanes</i> (Mrázek, 1893)				
<i>Epactophanes richardi</i> (Mrázek, 1893)	3	D/G	*	*

Both *Bryocamptus* and *Moraria* were represented in the samples with four different species, but whereas on some occasions two species of *Moraria* co-occurred (four localities), no more than a single species of the genus *Bryocamptus* was ever observed in the same locality. In nearly half of the samples (35 localities, or 46%) species of the genus *Moraria* were the only copepods. In contrast, *Bryocamptus* was found only in six localities as the only copepod representative. In most cases, namely in 14 localities, *Bryocamptus* co-occurred either with *Moraria*, *Attheyella crassa*, *G. unisetigera*, or in combination with two of the three.

Thus far, eight harpacticoid species have been reported to occur in leaf litter and terrestrial samples in Europe (GURNEY, 1932; REMY, 1932; SCOURFIELD, 1939; KLIE, 1943; BRUNBERG NIELSEN, 1966; DUMONT, 1972). The presence of cyclopoid copepods has been reported only by DUMONT (1972), who found *Diacyclops bisetosus* (REHBERG), together with the rare harpacticoid *Attheyella (Mrazekiella) wulmeri* (DE KERHERVE), in the soil of an orchard, close to a temporary cattle pool. Besides the four species marked with an asterisk in Table 1, *Phyllognathopus viguieri* (MAUPAS), *Attheyella wulmeri* (DE KERHERVE), *Bryocamptus (B.) zschokkei* (SCHMEIL) and *Moraria frondicola* KLIE are the other four species that are known to occur in terrestrial habitats in Europe.

Several other harpacticoid species have been collected from semi-aquatic habitats such as mosses, liverworts, *Spagnum*, and tree-holes (OLOFSSON, 1918; LANG, 1931; GURNEY, 1932; SCOURFIELD, 1939; see REID, 1986 for review), but the present collection clearly demonstrates that quite a few other species that are generally known as typical aquatic animals have the capacity to maintain populations in moist leaf litter and moist soil under herbs.

To date, 71 copepod species have been reported from the territory of Belgium (DUMONT, 1989): 42 Cyclopoida, 22 Harpacticoida, and seven Calanoida. DUMONT (1989) estimated that 80% of the Belgian copepod fauna was reported. With the present collection we add nine species (one cyclopoid, eight harpacticoids) new for the Belgian fauna to this list (see Table 1). Most are widely distributed throughout central Europe (*Moraria brevipes*, *M. poppei*, *Epactophanes richardi*, *Bryocamptus weberi*, *B. vej dovskyi* and *Elaphoidella gracilis*) and were to be expected in Belgium. However, two harpacticoid species are rather rare, and show a strikingly disjunct distribution pattern within Europe.

Maraenobiotus vej dovskyi truncatus GURNEY, 1932 was originally described from woodland moss in Great Britain (North Wales, Norfolk, and Oxford) where it was detected in large numbers in early spring. Since then, this animal has been found only a few times: from leaf litter in Haute-Saône (France, KLIE 1943), the Carpathian Mountains in Slovakia (STERBA, 1964), from an undefined locality in Germany (JANETZKY et al., 1996), and more recently in the interstitia from a temporary riverflow and cave near L'Aquila (PESCE et al., 1994). Based on these few reports, it is evident that this animal is much

more common and has a much wider distribution than previously known, but its cryptic life in mosses and among leaf litter has generally impeded detection.

Upon the discovery of three adults and one juvenile specimen in interstitia from a temporary riverflow and cave near L'Aquila (Italy), PESCE et al. (1994) advanced some doubts about the validity of the subspecific status of *B. v. truncatus*. However, based on such a limited number of specimens, it seems too speculative to synonymize the subspecies *truncatus* with *B. v. vej dovskyi* (MRÁZEK), which displays a much wider distribution. After all, GURNEY (1932) observed hundreds of specimens from different localities in Great Britain and pointed out the specific habitat preferences of the three known subspecies.

Moraria pectinata (THIÉBAUD & PELOSSE, 1928) was long known only from its type-locality in the Ardèche (southern France). Only with the extensive studies of the stygobiotic realm in the French Pyrenees and Alps was this animal found again (ROUCH, 1968). Evidently, the presence of this animal in a much more northern locality indicates that this species has been largely overlooked because of its cryptic habit.

Habitat preferences

Comparisons between vegetation types (Table 2). Copepods were only found in samples taken in vegetation types D and G, and none was encountered in samples where agricultural activities are performed (type A). Half the samples yielding copepods (38) were collected in deciduous forest litter, and half in vegetation of type G. Roughly twice as many samples were originally gathered in type G than in type D, which seems to indicate that the probability of finding copepods in the former is somewhat less than half the probability of encountering them in forest litter.

Both vegetation types harboured a nearly equal number of species: 12 different species in type D, against 15 species in type G vegetation. Ten species were found to occur in both vegetation types (Table 1).

The faunal composition seemed fairly equal in both types on a family level. In 38 samples from type D vegetation, Canthocamptidae were encountered in 36 samples and Cyclopoida in eight samples. Only at one station was a juvenile ameirid encountered. Type G vegetation harboured Canthocamptidae in 32 samples, Cyclopoida in seven samples, and Ameiridae in one sample.

More striking were the differences in faunal composition on the sub-family level. On this level, type G vegetation had a more pronounced diversity than type D. In the latter the Morariinae occurred in the largest number of the samples (28 of 36), followed by the Cyclopinae and Canthocamptinae occurring in nine and eight stations, respectively. Only in one station were Epactophanidae and Ameiridae detected. A quite different picture was encountered in the G vegetation. In this type, the number

TABLE 2
Presence of copepod species according to vegetation type

	VEGETATION OF TYPE D								VEGETATION OF TYPE G (Grasses)				
	Acera.	Betu.	Capri.	Faga.	Rosa.	Salica.	Ulma.	Mix.	Fallow wood	Hedge	Pasture	Road	River
<i>P. fimbriatus</i>											•		
<i>D. languidus</i>													•
<i>D. crassicaudis</i>						•							
<i>G. unisetigera</i>		•		•		•			•			•	•
<i>Nitocra sp.</i>		•											•
<i>B. pygmaeus</i>						•			•	•	•	•	•
<i>B. typhlops</i>			•	•						•	•	•	•
<i>B. vejdoskyi</i>													•
<i>B. weberi</i>		•				•							•
<i>M. v. truncata</i>				•									
<i>At. A. crassa</i>										•	•	•	•
<i>El. gracilis</i>		•											•
<i>M. brevipes</i>		•			•				•	•			•
<i>M. pectinata</i>													•
<i>M. poppei</i>	•		•	•		•			•	•			•
<i>M. varica</i>	•	•		•		•	•	•	•			•	•
<i>Ep. richardi</i>				•								•	

of stations containing Morariinae was nearly equal to the number of stations with Canthocamptinae (18 and 17 stations, respectively). Cyclopinae were found in six stations, and Epactophaninae in two. Eucyclopinae and Ameirinae occurred only in a single locality.

Comparison between vegetation sub-types (Fig. 2). Vegetation type G was subdivided into five categories (with total number of sample sites in parentheses): fallow (44), hedges (54), pasture (503), roadsides (485) and riversides (62). Riverside samples far outnumbered all other types,

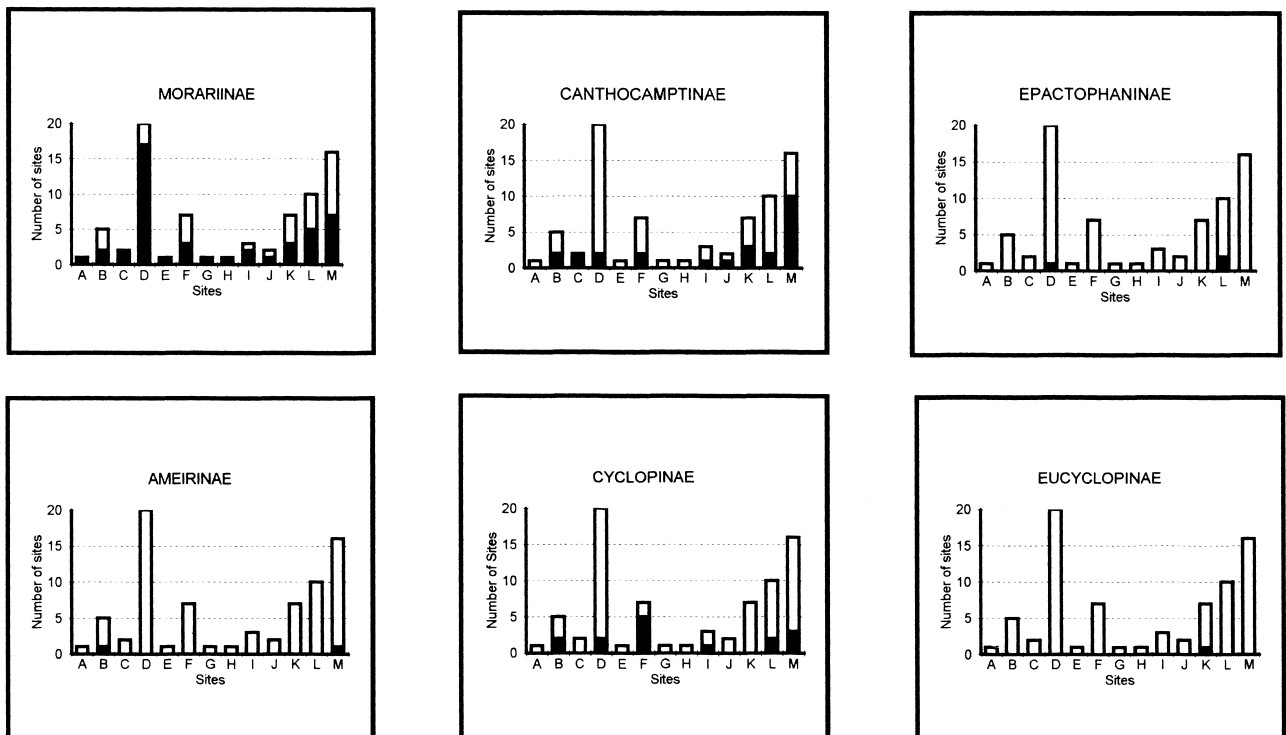


Fig. 2. – Presence of copepods of each subfamily in each habitat type. – A: Aceraceae; B: Betulaceae; C: Caprifoliaceae; D: Fagaceae; E: Rosaceae; F: Salicaceae; G: Ulmaceae; H: mixed foliage; I: Fallow; J: Hedges; K: Pasture; L: Roadsides; M: Riversides (A-H vegetation type D, I-M vegetation type G).

with copepods in 26% of the samples. Clearly, the particular environment of waterlogged supralittoral sediments favours the presence of copepod populations.

In three (6.8 %) of the samples taken from untreated or abandoned ground (fallow) copepods were found. The presence of copepods in the other vegetation types was far less significant. Copepods were found in only two samples under hedges (3.7%), in seven samples from pastures (1.4%), and in ten samples taken along roadsides (2%).

Vegetation type D was subdivided into 12 categories according to tree families, but only in the following eight categories were copepods found (with total number of sampled localities in parentheses): Aceraceae (19), Betulaceae (56), Caprifoliaceae (7), Fagaceae (266), Rosaceae (64), Salicaceae (101), Ulmaceae (4), and mixed wood (1).

Of the 19 samples taken under foliage of Aceraceae, only one yielded copepods. Six of 56 stations taken under Betulaceae contained copepods. All were found under *Alnus* sp. foliage. Soil of *Betula* or *Caprinus* did not harbour any copepods.

Two of seven stations under *Sambucus* (Caprifoliaceae), one of four stations under *Ulmus* (Ulmaceae), and a single sample taken under *Sorbus* (Rosaceae) yielded copepods.

Samples were collected under two tree species of the family Salicaceae: 87 samples under *Populus* and 14 under *Salix*. Copepods were found in 11 and two stations, respectively. Both tree species are in many cases encountered in rather humid terrestrial environments, with *Salix* often bordering small streams and rivulets. *Populus*, however, is often cultivated in groups on water logged soils. Whereas the foliage of *Salix* is rapidly dispersed, *Populus* foliage is often encountered in large quantities, creating a thick moist carpet at the base of the trees.

Among the Fagaceae, three samples were taken under *Castanea*, 104 under *Fagus*, and 159 under *Quercus*. Copepods were found in ten stations under *Fagus* and in 12 stations under *Quercus*. Thus, we found copepods in roughly 10% of the sites having a foliage carpet of these trees. Both deciduous tree species accumulate at their feet a thick continuous carpet of dead leaves. Decomposition of these leaves is apparently slow, as several layers in different stages of decomposition can be found in a cross-section of the leaf carpet. The moist environment within the leaf layer favours the presence of a multitude of terrestrial animals (SCHAEFFER, 1991) and even seems to form a suitable microhabitat for small aquatic animals such as copepods. Taking into account that the sampling technique used here proved to be largely inadequate to collect copepods, we may assume that a more specific sampling strategy would reveal that the presence of copepods in such foliage carpets is much more common than previously supposed.

A particular case: the cyclopoid *Graeteriella unisetigera*

The small, almost harpacticoid-shaped, cyclopoid *Graeteriella unisetiger* was described by the late Swiss

copepod researcher, Eduard Graeter in 1908 who discovered this animal in Grotte de Vert (Switzerland, Jura). In the years following, the species was detected in several caves and in affluents in karstic regions throughout Europe. The species is generally considered to be a strict stygobiont, highly specialized to explore intersticia and caves (PESCE, 1985).

In Belgium, LERUTH (1939) collected this animal in six caves and one well in the provinces Namur and Liège, both located in the southern part of Belgium (Fig. 3). The material was identified by the late German copepodologist Friedrich Kiefer, and still forms part of his collection in Karlsruhe (Germany, FRANKE, 1989). To our knowledge, *G. unisetigera* was never reported again from the Belgium territory, until now, when we encountered this species in 13 terrestrial samples located in central and southern Belgium (Fig. 3).

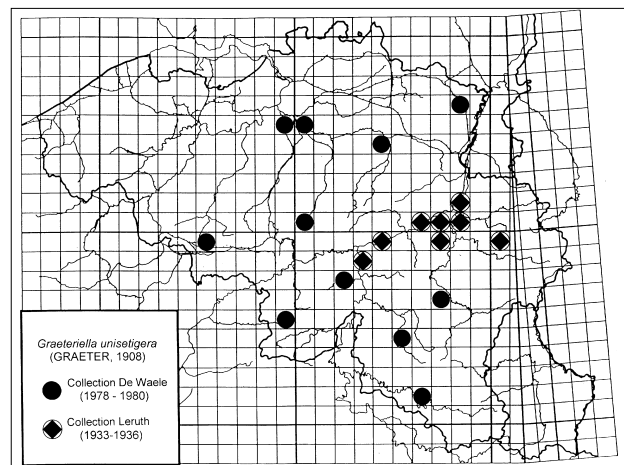


Fig. 3. – *Graeteriella unisetigera* (Graeter, 1908). – Distribution in Belgium. Map with UTM grid (10x10 km).

This animal has been frequently encountered in central Europe. Its distribution pattern apparently is closely related to the extent of the great river systems (Rhine, Meuse, Wezel, Rhone and Danube) (Fig. 4). Its absence from central and western France seems to be an anomaly, as this animal is known from the eastern part of the country, and from the adjacent countries (Great Britain (GURNEY, 1932) and central Belgium, present contribution). Apparently the virtual absence from western France results from inadequate sampling within this region.

Whereas the distribution of the species in central and northern Europe can be easily understood as a function of the extended south-north drainages of the major river basins, its presence south of the Pyrenees (northern Spain, KIEFER, 1937), south of the Alps (northern and central Italy, PESCE, 1985), and in the Balkans (PANDOURSKI, 1997) is more difficult to account for.

With the discovery of this animal in the leaf carpet of beech forests, a possible explanation for its southern distribution may be inferred from the European distribution of the beech forests. The striking coincidence between the distribution of *G. unisetigera* and the range of *Fagus sylvaticus* is depicted in Fig. 4.

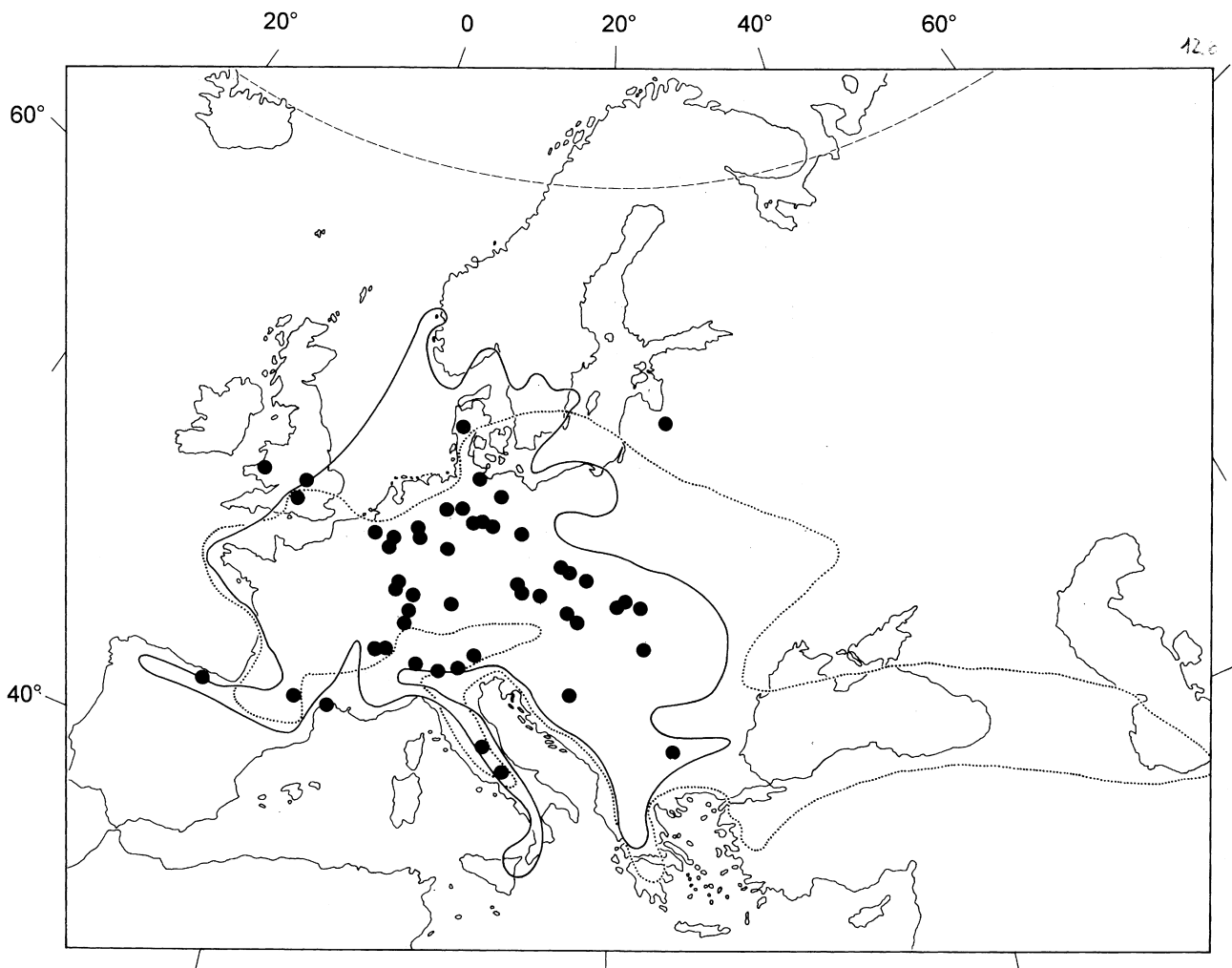


Fig. 4. – *Graeteriella unisetigera* (Graeter, 1908). – Distribution in Europe. Dots may indicate more than one locality. Solid contour line indicates range of beech (*Fagus sylvaticus*), dotted contour line indicates range of hornbeam (*Carpinus betulus*). Contours of trees after JAHN, 1991.

Fagus sylvatica formed local populations in submontane and montane regions in southern Europe about 10,000 year BP (Preboreal), from where it extended its range southwards and northwards. The vast forests formed by this tree – with the thick leaf carpet on the ground – seem to have facilitated the distribution of *G. unisetiger* on both sides of the great mountain ranges.

CONCLUSIONS

In recent years the study of biodiversity in all its aspects has received tremendous attention. However, basic estimations of diversity can only be of value if all possible habitats are sampled and adequate sample and extraction techniques are deployed. Copepod research in Belgium is now roughly 130 years old, and 71 copepod species were known to occur in Belgium (DUMONT, 1989). The results here presented demonstrate that this list is far from complete, as we succeeded in adding several species. Further research on commonly overlooked habitats may reveal the presence of quite a few more species, which are presently known only from central and southern Europe.

In the last decades, there has been much debate on aspects of colonization of the subterranean realm and dispersion of stygobionts (see BOTOSANEANU et al. 1991; NOTENBOOM, 1991; HOLSINGER, 1994). With the development of the concepts of marine transgression relicts and stranding models, stygobionts are ordered according to their origin as thalassostygobionts, sharing a marine ancestor, and limnostygobionts, which are descendants from a freshwater ancestor. All the species encountered in the terrestrial samples studied herein (with the possible exception of the ameirids) are descendants from freshwater ancestors (limnostygobionts). Several became adapted for living within caves and in the phreatic realm.

It is generally known that dispersion of stygobionts is strongly limited, and largely results from interaction between physical characteristics of the aquifer, availability of food resources, and quality of interstitial water (NOTENBOOM et al., 1996). The physical limitations of the environment are particularly evident for large macrofaunal elements (thermosbaenaceans, decapod natantids, isopods and amphipods) which consequently show a considerable level of endemism in karstic regions.

In contrast, however, typical hypogean harpacticoids and cyclopoids seem to occupy a much larger distribution area, as has been demonstrated herein for *Graeteriella unisetigera*, *Maraenobiotus vejdoskyi truncatus* and *Moraria pectinata*, and which is known for several other copepods (i.e. *Speocyclops*, many subterranean *Diacyclops* species, etc.). Evidently, the dispersion limitations (e.g. porosity) for these small animals (0.5 mm long adults) differ from those for macrofaunal elements, but this does not explain the wide distribution of these taxa.

As pointed out by BOTOSANEANU et al., 1991, stream capture has been largely overlooked in stygobiology as a phenomenon to transfer hyporheic associations from one river alluvium to another. Detailed geological research has demonstrated that such events have happened frequently. When a river starts to erode its interfluvium, it will break through the interfluvium limits, and will become a tributary from the other aquifer. For example, the river Moesel served for a long time (from the Late Miocene on) as an important tributary of the river Meuse until it changed its course and made contact with the River Rhine, some 300,000 years ago (GOOSSENS, 1984). Comparable scenarios for other riverine systems have been documented, but it should be clear that such drastic events evolved over long periods of time. Although this phenomenon can explain the introduction of a specialized hyporheic fauna within a riverine interfluvium, it inevitably raises two problems: (1) colonization towards the upper course of the newly acquired basin implies an active dispersion policy of the faunal components, and (2) the abrupt separation of the populations drastically reduces the gene-flow from the ancestral population, which should result in greater endemism.

Based on the observation that a considerable diversity of copepods lives in the particular microhabitat formed by decomposing tree leaves, the hypothesis is advanced here that the particular circumstances present in the moist leaf carpet (dixit SCOURFIELD, 1939) represent (1) a means of dispersion into uncolonized aquifers, and (2) a means of preventing genetic separation between the populations.

Although we are aware of the limitations of this study that result from the sample techniques used, we are confident that a more rigorous coordinated study of specific microhabitats could add valuable information to our understanding of the ecology, population characteristics and dispersion of this faunal element.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are highly indebted to Dr. D. De Waele (K.U.Leuven) who had the courage to sort out the copepods he encountered in his samples. We also wish to thank Dr. D. BROWN (Edinburg, Scotland) who provided us with the entire data set of the sample locations, stored in the Scottish Crop Research Institute, Nematology Department, Invergowrie, Dundee, Scotland. Sincere thanks also to Janet Reid (Washington) for her most valuable comments on the text.

REFERENCES

- BLISS, L.C., G.W. COURTIN, D.L. PATIE, R.R. RIEWE, D.W.A. WHITFIELD & P. WIDDEN (1973). Arctic tundra ecosystems. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 4: 359-399.
- BOTOSANEANU, L. & J.R. HOLSINGER, 1991. Some aspects concerning colonization of the subterranean realm – especially of subterranean waters: a response to Rouch & Danielopol (1987). *Stygologia*, 6: 11-40.
- DENDY, A. (1895). The cryptic fauna of Australia. *Australian and New Zealand Association for Advancements in Science*, 6th meeting (Brisbane): 99-119.
- BRUNBERG NIELSEN, L. (1966). Studies on the biology of Harpacticoida (Copepoda, Crustacea) in Danish beech leaf litter. *Nat. Jutlandica*, 12: 195-211.
- DUMONT, H.J. (1972). *Attheyella (Mrazekiella) wulmeri* (De Kerherve, 1914) and some other copepod species recently found in Belgium. *Biol. Jb. Dodonea*, 40: 198-202.
- DUMONT, H.J. (1989). The free-living fresh- and brackish water copepods of Belgium. In: WOUTERS, K. & BAERT, L. (Eds.) *Invertébrés de Belgique*. C. R. Sc. Nat. Belgique: 147-151.
- DUMONT, H.J. & S. MAAS (1988). Five new species of leaf litter harpacticoids (Crustacea, Copepoda) from Nepal. *Zool. Scripta*, 17: 55-68.
- FRANKE, U. (1989). Katalog zur Sammlung Limnischer Copepoden von Prof. Dr. Friedrich Kiefer. *Carolinea*, 5: 1-433.
- GOOSSENS, D. (1984). *Inleiding tot de Geologie en Geomorfologie van België*. Van de Berg, Enschede. 228 pp.
- GRAETER, E. (1908). Beiträge zur Kenntnis der schweizerischen Höhlenfauna. *Zool. Anz.*, 33: 45-49.
- GURNEY, R. (1932). *British Fresh-water Copepoda. Volume II. Harpacticoida*. Ray Society, London. 336 pp.
- HARDING, J.P. (1958). *Bryocamptus stouti* and *Goniocyclops silvestris*, two new species of copepod crustacean from forest litter in New Zealand. *Ann. and Mag. Nat. Hist.*, 13: 309-314.
- HOLSINGER, J.R., D.A. HUBBARD, JR. & T.E. BOWMAN (1994). Biogeographic and ecological implications of newly discovered populations of the stygobiont isopod crustacean *Antrolana lira* Bowman (Cirolanidae). *J. Nat. Hist.*, 28: 1047-1058.
- JAHN, G. (1991). *Temperate Deciduous Forests of Europe*. In: *Ecosystems of the World. Temperate Deciduous Forests*. Vol. 7. E. ROHRIG & B. ULRICH (Eds.). Elsevier: 377-525.
- JANETZKY, W., R. ENDERLE & W. NOODT (1996). *Crustacea: Copepoda: Gelyelloida und Harpacticoida*. In: J. SCHWOERBEL & P. ZWICK (Eds.), *Süßwasserfauna von Mitteleuropa*, 8(4) (2): 1-228. (Stuttgart).
- KIEFER, F. (1937). Cyclopiden (Crustacea, Copepoda) aus nordspanischen Höhlen. *Zool. Anz.*, 119: 321-327.
- KIKUCHI, Y. (1984). Morphological comparison of two terrestrial species of *Moraria* (Canthocamptidae, Harpacticoida) from Japan, with the scanning electron microscope. *Crustaceana*, suppl. 7: 279-285.
- KLIE, W. (1943). Harpacticoiden aus Fallaub. *Zool. Anz.*, 142: 183-191.
- LANG, K. (1931). Schwedische Süßwasser- und Moosharpacticiden. *Ark. Zool.*, 22A: 1-84.

- LERUTH, R. (1939). La Biologie du domaine souterrain et la faune cavernicole de la Belgique. *Mem. Mus. r. Hist. Nat. Belgique*, 87: 1-506.
- NOTENBOOM J.W. (1991). Marine regressions and the evolution of groundwater dwelling amphipods (Crustacea). *J. Biogeogr.*, 18: 437-454.
- NOTENBOOM, J., W. HENDRIX & A.-J. FOLKERTS (1996). Meiofauna assemblages discharged by springs from a phreatic aquifer system in the Netherlands. *Neth. J. Acq. Ecol.*, 30: 1-14.
- OLOFSSON, O. (1918). Studien über die Süßwasserfauna Spitzbergens. *Zool. B. Uppsala*, 6: 183-646, Pls.1-8.
- PANDOURSKI, I. (1997). Composition, origine et formation de la faune cyclopidienne stygobie de Bulgarie et définition du groupe d'espèces "kieferei" du genre *Acanthocyclops* (Crustacea, Copepoda, Cyclopoida). *Boll. Mus. Reg. Sc. Nat. Torino*, 15: 279-297.
- PESCE, G.L. (1985). The groundwater fauna of Italy: a synthesis. *Stygologia*, 1: 129-159.
- PESCE, G.L., D.P. GALASSI, F. STOCH (1994). Primo rinvenimento del genere *Maraenobiotus* Mrázek in Italia (Crustacea, Copepoda, Canthocamptidae). *Fragm. Ent.*, 25: 161-173.
- PLOWMAN, K.P. (1979). Litter and soil fauna of two Australian subtropical forests. *Austr. J. Ecol.*, 4: 87-104.
- REID, J.W. (1984). Semiterrestrial meiofauna inhabiting a wet campo in central Brazil, with special reference to the Copepoda (Crustacea). *Hydrobiologia*, 118: 95-111.
- REID, J.W. (1986). Some usually overlooked cryptic copepod habitats. Proceedings of the Second International Conference on Copepoda. *Syllogeus*, 58: 594-598.
- REMY, P. A. (1932). Sur la faune d'étricole des forêts. *C. R. Hebdom. Séanc. Ac. Sc.*, Paris, 194: 127-129.
- ROUCH, R. (1968). Contribution à la connaissance des harpacticides hypogés (Crustacés – Copépodes). *Annales de Spéléologie*, 23: 1-166.
- SCHAEFFER, M. (1991). The animal community: diversity and resources. In: *Ecosystems of the World. Temperate Deciduous Forests*. Vol. 7. RÖHRIG, E & B. ULRICH (Eds.), Elsevier: 51-120.
- SCOURFIELD, D.J. (1939). Entomostraca in strange places. *J. Quekett Microsc. Club*, ser. 4, 1: 116-122.
- STERBA, O. (1964). Plazivky (Copepoda Harpacticoidea) Moravy a Slovenska. *A. Univers. Pal. Olom.*, 16: 203-321.
- STURM, H. (1978). Zur Ökologie der andinen Paramoregion. *Biogeographica*, 14: 1-121.
- WALLWORK, J.A., 1976. *The distribution and diversity of soil fauna*. Academic Press, London. 355 pp.

Received: March 20, 1999

Accepted: June 10, 1999

Anatomie et fonction des structures céphaliques associées à la prise de nourriture chez le genre *Chrysichthys* (Téléostei: Siluriformes)

Rui Diogo et Michel Chardon

Laboratory of Functional and Evolutionary Morphology, University of Liège
Bat. B6, University of Liège, B-4000 Sart-Tilman (Liège), Belgium

RÉSUMÉ. Nous avons étudié d'une façon minutieuse la morphologie fonctionnelle des structures céphaliques associées aux mécanismes de la prise de nourriture – mouvements de la bouche, du suspensorium, de la série operculaire, de l'arc hyoïde, des barbillons maxillaires et des barbillons mandibulaires – chez trois espèces de *Chrysichthys*. Comme terme de comparaison, un nombre significatif d'autres genres de poissons-chats ont aussi été étudiés. Nos observations et comparaisons, associées aux données de la littérature, indiquent que le fonctionnement des structures céphaliques associées à la prise de nourriture chez *Chrysichthys* représente, probablement, le patron typique pour un poisson-chat.

MOTS-CLÉS: *Chrysichthys auratus*, *Chrysichthys cranchii*, *Chrysichthys nigrodigitatus*, morphologie fonctionnelle, prise de nourriture, Siluriformes.

On the anatomy and function of the cephalic structures associated with the feeding mechanisms in the genus *Chrysichthys* (Teleostei : Siluriformes)

ABSTRACT. We studied, in fine detail, the functional morphology of the cephalic structures related to the feeding mechanisms – movements of the mouth, suspensorium, opercular series, hyoid arch, maxillary barbels and mandibular barbels – in three species of *Chrysichthys*. For comparison, a large number of other catfish genera were also studied. Our observations and comparisons, in association with the data available in the literature, suggest that the mechanical performance of the cephalic feeding structures in *Chrysichthys* probably represents the typical pattern of a catfish.

KEY WORDS: *Chrysichthys auratus*, *Chrysichthys cranchii*, *Chrysichthys nigrodigitatus*, functional morphology, feeding mechanisms, Siluriformes.

INTRODUCTION

Les poissons-chats, avec leurs 2584 espèces, représentent environ 32% des espèces de poissons d'eau douce et sont "one of the economically important groups of fresh and brackish water fishes in the world: in many countries, they form a significant part of inland fisheries; several species have been introduced in fishculture; numerous species are of interest to the aquarium industry where they represent a substantial portion of the world trade" (Teugels, 1996).

Bien que la région céphalique des poissons-chats adultes ait été l'objet de nombreux travaux morphologiques (REGAN, 1911; KINDRED, 1919; HARRY, 1953; GAUBA, 1966; 1970; JAYARAM, 1966; 1971; CHARDON, 1968; HOWES, 1983ab; 1985; JAYARAM & SINGH, 1984; LUNDBERG & MCDADE, 1986; FAGADE, 1980; ARRATIA, 1987; BORNBUSCH, 1991ab; MO, 1991; DE VOS, 1995; etc.), les études fonctionnelles sur celle-ci sont rares – les seules études de ce type sont celles d'EATON (1948), ALEXANDER (1965; 1970), SINGH (1967), SINGH & DATTA MUNSHI (1968), GOSLINE (1975), GHIOT (1978), GHIOT *et al.* (1984), SCHAEFER & LAUDER (1986; 1996), VANDEWALLE *et al.* (1986) et ADRIAENS & VERRAES (1994; 1997abc; 1998) – et incomplètes; elles sont habituel-

lement consacrées au fonctionnement d'une seule structure ou d'un seul système.

Nous étudions ici d'une façon très minutieuse la morphologie fonctionnelle des structures céphaliques associées aux mécanismes de la prise de nourriture – mouvements de la bouche, du suspensorium, de la série operculaire, de l'arc hyoïde, des barbillons maxillaires et des barbillons mandibulaires – chez *Chrysichthys* Bleeker (1858), un genre auquel appartiennent des poissons-chats de type généralisé (REGAN, 1911; ALEXANDER, 1965; CHARDON, 1968; GOSLINE, 1975; JAYARAM & SINGH, 1984).

La morphologie de la région céphalique des *Chrysichthys* adultes a été décrite par JAYARAM, (1966), CHARDON (1968), GOSLINE (1975), FAGADE (1980), GHIOT *et al.* (1984), JAYARAM & SINGH (1984) et MO (1991). De nombreuses contradictions apparaissent cependant entre leurs descriptions [comparer, par exemple, les descriptions de JAYARAM (1966: Fig. 2 C), MO (1991: Fig. 49) et JAYARAM & SINGH (1984: Fig. 3) sur le suspensorium, ou celles de GHIOT *et al.* (1984: Figs 4 B, 5 B) et MO (1991: Fig. 55) sur les structures associées avec les barbillons mandibulaires]. De plus, ces travaux négligent des aspects importants, comme, par exemple, la configuration du muscle adductor mandibulae et des muscles associés au suspensorium et à l'opercule. Ainsi, une description des structures céphaliques de *Chrysichthys*, qui est essentielle pour leur analyse fonctionnelle, sera donnée

ici. La corbeille branchiale ne sera pas décrite car elle n'a pas de relation fonctionnelle directe avec les structures liées à la prise de nourriture.

En comparant les résultats obtenus avec ceux relatifs à d'autres genres de poissons-chats, soit étudiés aussi dans ce travail, soit décrits dans la littérature, nous tenterons de mieux comprendre le fonctionnement de la tête des poissons-chats en général et de présenter des données utiles pour de futures études fonctionnelles, morphologiques, écologiques, éthologiques et phylogénétiques sur ces poissons.

MATERIEL ET METHODES

Les poissons étudiés (Tableau I) appartiennent à la collection privée de notre laboratoire (Laboratoire de Morphologie Fonctionnelle et Evolutive de l'Université de Liège: LMFE) ou ont été prêtés par le Musée Royal de l'Afrique Centrale (MRAC). Les descriptions sont réalisées d'après l'observation à la loupe binoculaire (WILD M5) des spécimens frais, conservés dans l'alcool ou éclaircis à la trypsine et colorés à l'alizarine selon la méthode de TAYLOR & VAN DYKE (1985). Les dessins anatomiques ont été faits avec l'aide d'une chambre claire. Les hypothèses fonctionnelles résultent de l'analyse des possibilités de mouvement, de la manipulation artificielle des spécimens et aussi de l'observation des poissons vivants.

TABLEAU 1

Spécimens étudiés dans le présent travail, leur mode de conservation et leur provenance (LMFE: collection privée du 'Laboratoire de Morphologie Fonctionnelle et Evolutive'; MRAC: collection du 'Musée Royal de l'Afrique Centrale')

Amphiliidae	<i>Amphilius brevis</i> Boulenger, 1902	Alcool	MRAC 89-043-P-403
	<i>Amphilius brevis</i> Boulenger, 1902	Alcool	MRAC 89-043-P-2298
	<i>Paramphilius trichomycteroides</i> Pellegrin, 1917	Alcool	LMFE
	<i>Phractura brevicauda</i> Boulenger, 1911	Alcool	MRAC 90-057-P-5145
	<i>Phractura brevicauda</i> Boulenger, 1911	Alcool	MRAC 92-125-P-386
	<i>Phractura intermedia</i> Boulenger, 1911	Alcool	MRAC 73-016-P-5888
Ariidae	<i>Arius gigas</i> Boulenger, 1891	Alcool	LMFE
Austroglanidinae	<i>Austroglanis sclateri</i> Boulenger, 1901	Alcool	LMFE
Bagridae	<i>Bagrus docmak</i> Forskall, 1775	Alcool	MRAC 86-07-P-512
	<i>Bagrus docmak</i> Forskall, 1975	Alcool	MRAC 86-07-P-516
	<i>Hemibagrus wickii</i> Bleeker, 1858	Alcool	LMFE
	<i>Pseudomystus bicolor</i> Fowler, 1934	Alcool	LMFE
Clariidae	<i>Clarias gariepius</i> Burchell, 1822	Alcool	LMFE
	<i>Heterobranchius longifilis</i> Valenciennes, 1840	Alcool	MRAC 93-152-P-1356
Claroteidae	<i>Auchenoglanis occidentalis</i> Cuvier & Valenciennes, 1840	Alcool	MRAC 73-010-P-3536
	<i>Chrysichthys auratus</i> Geoffroy Saint-Hilaire, 1809	Alcool	LMFE
	<i>Chrysichthys auratus</i> Geoffroy Saint-Hilaire, 1809	Alizarine	LMFE
	<i>Chrysichthys auratus</i> Geoffroy Saint-Hilaire, 1809	Frais	LMFE
	<i>Chrysichthys cranchii</i> Leach, 1818	Alcool	LMFE
	<i>Chrysichthys nigrodigitatus</i> Lacépède, 1803	Alcool	LMFE
	<i>Chrysichthys nigrodigitatus</i> Lacépède, 1803	Alizarine	LMFE
	<i>Chrysichthys nigrodigitatus</i> Lacépède, 1803	Frais	LMFE
	<i>Clarotes laticeps</i> Rüppell, 1829	Alcool	MRAC 73-13-P-980
	<i>Liauchenoglanis thomasi</i> Boulenger, 1916	Alcool	MRAC 73-010-P-3540
	<i>Parauchenoglanis ansorgii</i> Boulenger, 1911	Alcool	LMFE
Diplomystidae	<i>Diplomystes chilensis</i> Molina, 1782	Alcool	LMFE
Pimelodidae	<i>Pimelodella serrata</i> Eigenmann, 1917	Alcool	LMFE
Shilbeidae	<i>Shilbe intermedius</i> Rüppell, 1832	Alcool	MRAC 90-30-P-24

LISTE DES ABREVIATIONS

afo	fontanelle antérieure	mnd	mandibule
af-	facette d'articulation	mnd-b-	barbillon mandibulaire ...
af-I	f. a. hyomandibulare-neurocranium	mnd-b-ex	b. m. externe
af-II	f. a. neurocranium-hyomandibulare	mnd-b-in	b. m. interne
af-III	f. a. anguloarticulare-quadratum	mp-te	dents de l'os metapterygoideum
af-IV	f. a. quadratum-anguloarticulare	mx-b	barbillon maxillaire
af-VII	f. a. autopalatinum-neurocranium	o-	os ...
af-VIII	f. a. neurocranium-autopalatinum	o-ang-art	o. angulo-articulaire
af-XIV	f. a. operculaire-hyomandibulare	o-ang-art-mc	o. angulo-articulaire: crête mésiale
a-tlp	plaque dentaire accessoire	o-apal	o. autopalatinum
c-	cartilago ...	o-boc	o. basioccipitale
c-apal-a	c. autopalatinus anterior	o-ch-a	o. ceratohyale anterior
c-apal-p	c. autopalatinus posterior	o-ch-p	o. ceratohyale posterior
c-eth	c. ethmoideus	o-cl	o. cleithrum
c-Meck-as	c. Meckeli - portion ascendante	o-com	o. coronomeckelium
c-Meck-ho	c. Meckeli - portion horizontale	o-den	o. dentale
c-mnd-b-ex-mp	c. externus mandibularis tentaculi: partie mobile	o-den-avp	o. dentale: procès antéro-ventral
c-mnd-b-ex-sp	c. externus mandibularis tentaculi: partie fixe	o-ect	o. ectopterygoideum
fr-V-VII	foramen trigemino-facialis	o-ent	o. entopterygoideum
l-	ligamentum ...	o-eoc	o. exoccipitale
l-an-ch	l. angulo-ceratohyale	o-epot	o. epioticum
l-an-iop	l. angulo-interoperculare	o-exs	o. extrascapulare
l-ch-iop	l. ceratohyalo-interoperculare	o-fr	o. frontale
l-ect-apal	l. ectopterygoideo-autopalatinum	o-hh-v	o hypohyale ventrale
l-ent-vm	l. entopterygoideo-vomerale	o-hm	o. hyomandibulare
l-ih-hm-q	l. interhyalo-hyomandibulo-quadratum	o-hm-sp	o. hyomandibulare: épine antéro-dorsale
l-meth-prmx	l. mesethmoideo-praemaxillare	o-io-IV	o. infraorbitale IV
l-mp-ent	l. metapterygoideo-entopterygoideum	o-iop	o. interoperculare
l-mp-prmx-vm	l. metapterygoideo-praemaxillo-vomerale	o-lac	o. lacrimale
l-pri	l. primordium	o-leth	o. latero-ethmoideum
l-prmx-mx	l. praemaxillo-maxillare	o-meth	o. mesethmoideum
l-uh-hh	l. urohyalo-hypohyale	o-mp	o. metapterygoideum
m-	musculus ...	o-mx	o. maxillare
m-A1	m. adductor mandibulae A1	o-ns	o. nasale
m-A2	m. adductor mandibulae A2	o-op	o. operculaire
m-A3'-d	m. adductor mandibulae A3': partie dorsale	o-osph	o. orbitosphenoideum
m-A3'-v	m. adductor mandibulae A3': partie ventrale	o-para	o. parasphenoideum
m-A3''	m. adductor mandibulae A3''	o-pop	o. praeoperculare
m-AW	m. adductor mandibulae AW	o-post	o. posttemporo-supracleithrum
m-ad-ap	m. adductor arcus palatini	o-post-dp	o. posttemporo-supracleithrum: procès dorsal
m-ad-op	m. adductor operculi	o-post-lp	o. posttemporo-supracleithrum: procès latéral
m-dil-op	m. dilatator operculi	o-post-mp	o. posttemporo-supracleithrum: procès mésial
m-dp-mnd-b-ex	m. depressor externi mandibularis tentaculi	o-post-vp	o. posttemporo-supracleithrum: procès ventral
m-dp-mnd-b-in	m. depressor interni mandibularis tentaculi	o-prmx	o. praemaxillare
m-ex-t	m. extensor tentaculi	o-prot	o. prooticum
m-hh-inf	m. hyohyoideus inferior	o-psph	o. pterosphenoideum
m-intm	m. intermandibularis	o-pt	o. pteroticum
m-l-ap	m. levator arcus palatini	o-q	o. quadratum
m-l-op	m. levator operculi	o-soc	o. supraoccipitale
m-obl-inf	m. obliquus inferioris	o-soc-pp	o. supraoccipitale: procès postérieur
m-pr-h	m. protractor hyoidei	o-sph	o. sphenoticum
m-pr-h-l	m. protractor hyoidei pars lateralis	o-uh	o. urohyale
m-pr-h-v	m. protractor hyoidei pars ventralis	o-vm	o. vomerale
m-pr-mnd-b-ex	m. protractor externi mandibularis tentaculi	pfo	fontanelle postérieure
m-re-mnd-b-ex	m. retractor externi mandibularis tentaculi	r-br-IX	rayon branchiostège IX
m-re-mnd-b-in	m. retractor interni mandibularis tentaculi	v1	vertèbre 1
m-sh	m. sternohyoideus	vm-tlp	plaque dentigère de l'os vomerale

RESULTATS

Les différences entre les trois espèces de *Chrysichthys* Bleeker, 1858 étudiées – *C. auratus* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1809), *C. nigrodigitatus* (Lacépède, 1803) et *C. cranchii* (Leach, 1818) – sont peu importantes à l’exception du système palatino-maxillaire, différent chez *C. cranchii*. Nous baserons notre description sur *C. nigrodigitatus*, en ne signalant pour les deux autres que les différences significatives. Les textes descriptifs sont succincts : la prépondérance est laissée à l’information visuelle donnée dans les figures.

Ostéologie

Le crâne de *C. nigrodigitatus* est bien ossifié. La nomenclature des os est basée sur celle de DAGET (1964).

Os mesethmoideum. Os impair, bifurqué antérieurement, présentant à chacune des extrémités antéro-latérales un ligament ventral qui sert d’attache pour le prémaxillaire (Figs 1, 2).

Os lateroethmoideum. Os pair, avec une facette articulaire ventro-latérale pour le palatin (Figs 1, 3).

Os vomerale. Os impair, en forme de T, avec une plaque dentée à chacune de ses extrémités antéro-latérales (Fig. 3).

Os orbitosphenoideum. Os impair (Figs 1, 3). Entre l’orbitosphénoïde, l’ethmoïde latéral, le parasphénoïde et le mésethmoïde il y a un large cartilage ethmoïde (Fig. 5).

Os parasphenoideum. Impair. Le plus long os du crâne (Fig. 3).

Os pterosphenoideum. Pair, situé postérieurement à l’orbitosphénoïde (Figs 1, 3).

Os sphenoticum. Pair. Il présente ventralement une face d’articulation pour l’hyomandibulaire qui se prolonge sur le ptérotique (Figs 1, 3).

Os pteroticum. Pair. Associé postérieurement au posttemporo-supracleithrum (Figs 1, 2, 3).

Os prooticum. Pair. Postérieur au foramen trigémino-facial (Fig. 3).

Os epioticum. Pair. Petit os situé dans la surface postéro-ventrale du neurocrâne (Fig. 3).

Os exoccipitale. Pair. Situé latéralement au basioccipital (Fig. 3).

Os basioccipitale. Impair. Présente deux processus postéro-ventraux associés par un épais tissu ligamentaire aux extrémités mésiales du posttemporo-supracleithrum (Fig. 3).

Os frontale. Pair. Entre les deux frontaux il y a deux fontanelles dont l’antérieure se continue dans le mésethmoïde (Fig. 2).

Os supraoccipitale. Impair. Os large qui présente un long processus postérieur (Figs 1, 2).

Os extrascapulare. Pair. Ce petit os, avec le posttemporo-supracleithrum, lie le neurocrâne à la ceinture scapulaire (Fig. 1).

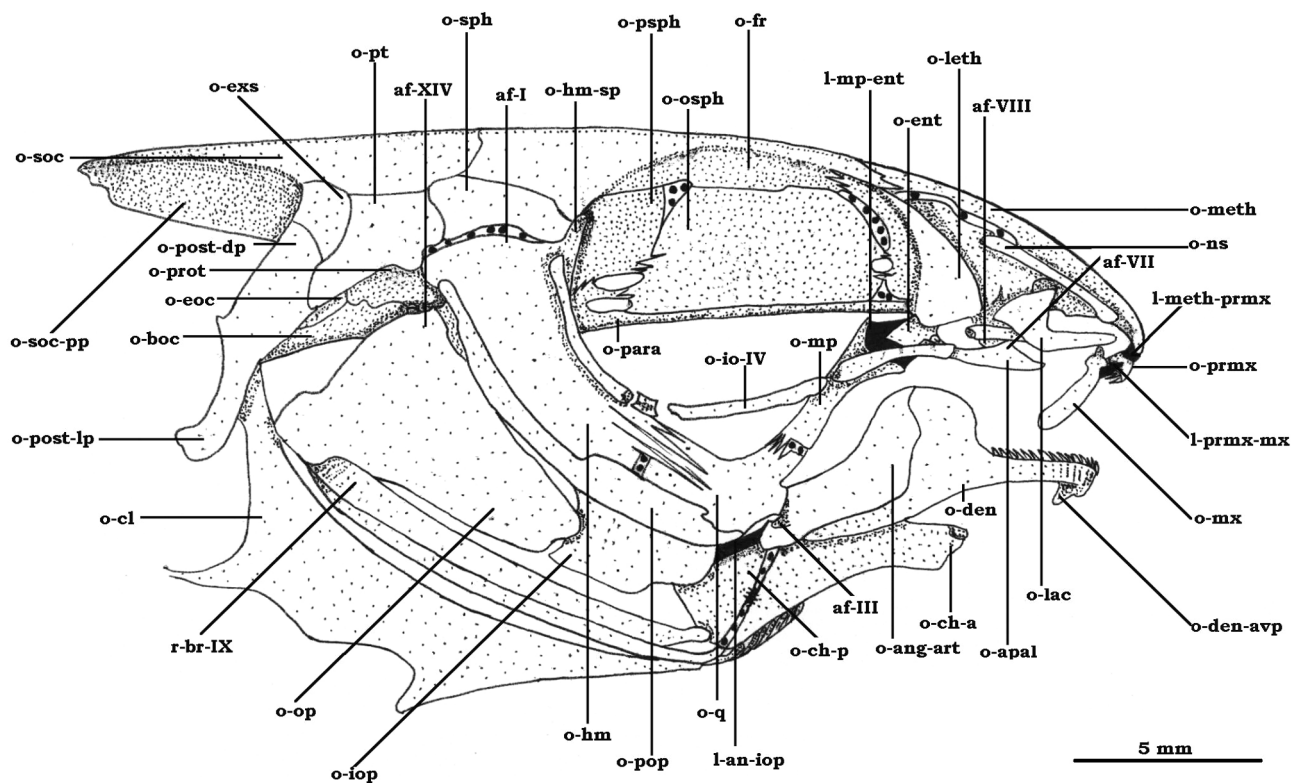


Fig. 1. – Vue latérale du crâne de *C. nigrodigitatus*. Le cartilage ethmoïdien, le cartilage antérieur du palatin et le ligament primordial ont été enlevés.

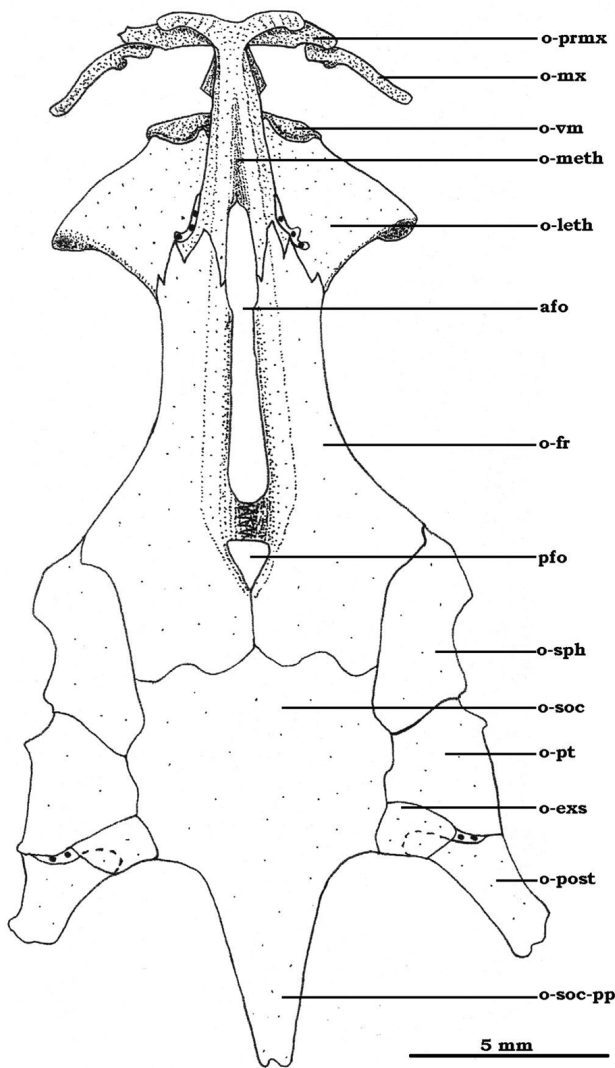


Fig. 2. – Vue dorsale du neurocrâne de *C. auratus*.

Os posttemporo-supracleithrum. Pair. Articulé doublement avec le neurocrâne: son extrémité dorsale au ptérotique et à l'extrascapulaire et son extrémité mésiale, par l'intermédiaire du ligament de Baudelot ossifié, au basioccipital (Figs 1, 2, 3). Le cleithrum (o-cl) s'articule entre ses extrémités ventrale et latérale (Figs 1, 3).

Os operculare. Pair. Triangulaire (Fig. 1). Antéro-dorsalement il est articulé avec l'hyomandibulaire et antéro-ventralement avec l'interoperculaire. L'extrémité dorso-postérieure de la membrane branchiostège s'y attache en haut et en arrière (Fig. 1).

Os interoperculare. Pair. Un ligament qui va à l'angulo-articulaire s'y attache en avant (Figs 1, 4). Un épais ligament antéro-mésial le relie au cératohyal postérieur.

Os praeoperculare. Pair. C'est un os long et mince fermement fixé par des fibres conjonctives courtes à l'hyomandibulaire et au carré (Fig. 1).

Os hyomandibulare. L'homologie, et, donc, la dénomination correcte, de cet os, ainsi que celle des autres os du suspensorium reste l'objet d'une grande discussion (McMURRICH, 1884; DE BEER, 1937; HOEDEMAN, 1960ab;

GOSLINE, 1975; ARRATIA *et al.*, 1978; ARRATIA & MENUMARQUE, 1981; 1984; HOWES, 1983a; 1985; ARRATIA, 1987; 1990; 1992; HOWES & TEUGELS, 1989; DIOGO & CHARDON, 1998; ETC.). Mais, en attendant d'apporter la solution à ce problème (DIOGO & CHARDON, en préparation), nous continuons à décrire ces os sous leur nom le plus souvent accepté. L'hyomandibulaire est un os pair. Il s'articule dorsalement avec le ptérotique et le sphénotique. Il présente une épine antéro-dorsale qui s'articule à cheval sur la partie postéro-dorsale du ptérosphénoïde et la partie antéro-ventrale du sphénotique (Fig. 1).

Os quadratum. Pair. Il possède une face d'articulation pour l'angulo-articulaire (Fig. 1).

Os metapterygoideum. Pair. Le métaptérygoïde présente une bifurcation antérieure (Figs 1, 3). La partie antéro-latérale porte un petit nombre de dents (Figs 3, 5). Il s'y attache un ligament long et épais qui va au vomer et au prémaxillaire. Ce ligament comporte une petite plaque osseuse dentée (Fig. 3). Les plaques de ce type ont souvent été considérées comme associées au palatin (JAYARAM, 1966; 1971; MO, 1991). Cependant, chez les différentes espèces de *Chrysichthys* étudiées, elles n'ont aucune connexion avec cet os (Fig. 3). À l'extrémité du métaptérygoïde s'attache un autre ligament qui va à l'entoptérygoïde (Figs 3, 5).

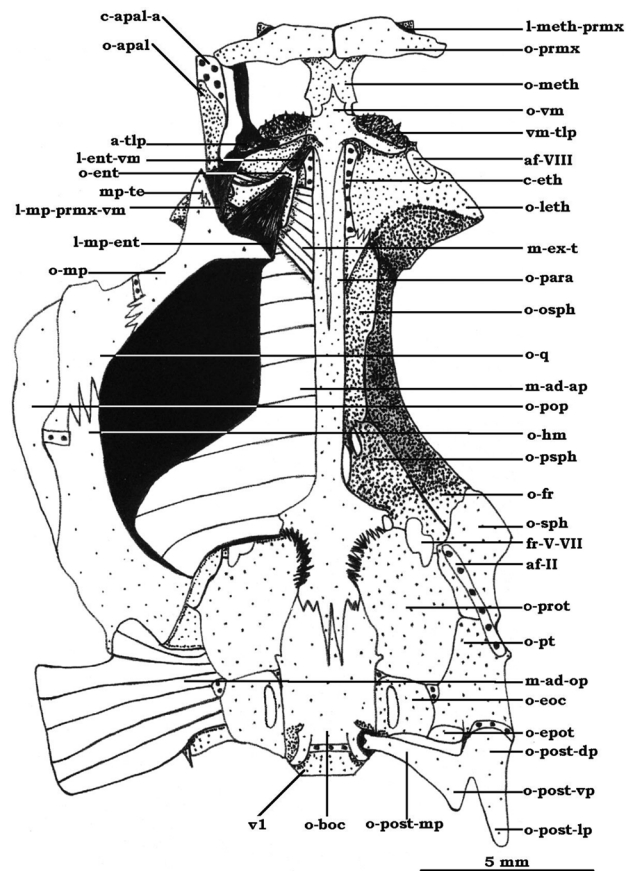


Fig. 3. – Vue ventrale du neurocrâne de *C. nigrodigitatus*. Du côté gauche le suspensorium, ainsi que les muscles et ligaments associés à celui-ci sont ajoutés. La partie antérieure du cartilage ethmoïdien, ainsi que les dents du prémaxillaire, ont été enlevées.

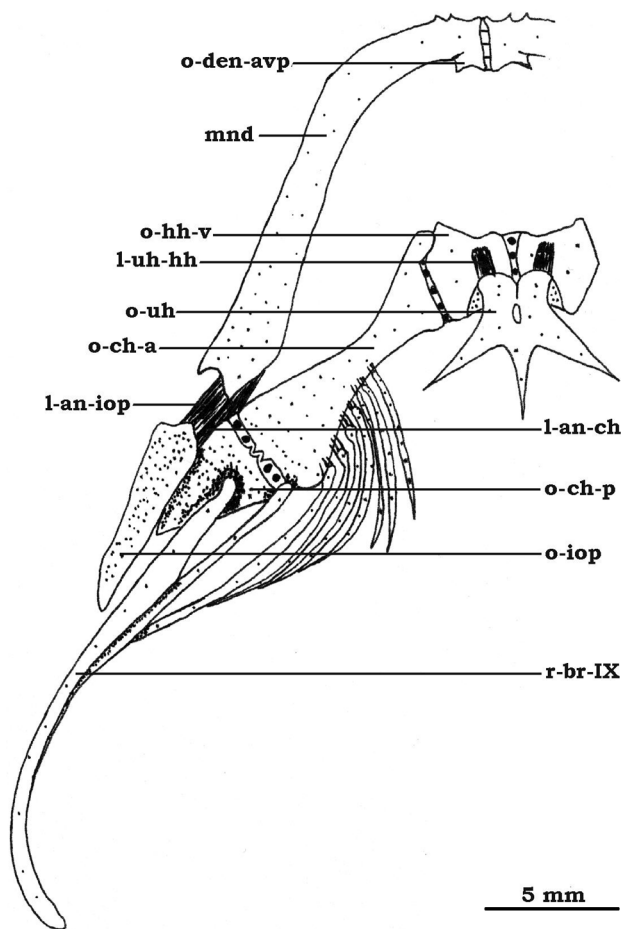


Fig. 4. – Vue ventrale de la mandibule, de la barre hyoïdienne et de l’interoperculaire de *C. auratus*.

Os entopterygoideum. Pair. Son extrémité antérieure se prolonge par un ligament qui va au vomer (Figs 3, 5).

Os ectopterygoideum. Pair. Petit os. Son extrémité mésiale est encastrée dans l’entoptérygoïde et son bord latéral est associé par un mince ligament au palatin (Fig. 5). Comme l’entoptérygoïde, ce petit os apparaît plus comme un os sésamoïde que comme un os dermique lié aux arcs viscéraux.

Os autopalatinum. Pair. C’est un bâtonnet cartilagineux à ses deux bouts avec plus de cartilage à l’avant (Fig. 6 A), là où s’articule le maxillaire (Fig. 8 A). La position du palatin de certaines espèces du genre *Chrysichthys*, parmi lesquelles *C. auratus*, a créé quelques confusions. MO (1991 : Fig. 36), par exemple, donne une vue dorsale du palatin avec une facette d’articulation dorsale pour le neurocrâne. Dans la même figure, mais en vue ventrale, la même face d’articulation est montrée mésialement. En réalité, aucune de ces illustrations n’est incorrecte. L’explication est que *C. auratus*, comme *C. nigrodigitatus*, présente un système palatino-maxillaire complexe – mais pas spécialisé (voir discussion) –, dans lequel la face d’articulation du palatin avec le neurocrâne change d’orientation selon l’état d’abduction ou d’adduction du maxillaire, comme il sera expliqué dans la discussion.

Os maxillare. Pair, édenté. Il supporte les barbillons maxillaires (Fig. 5).

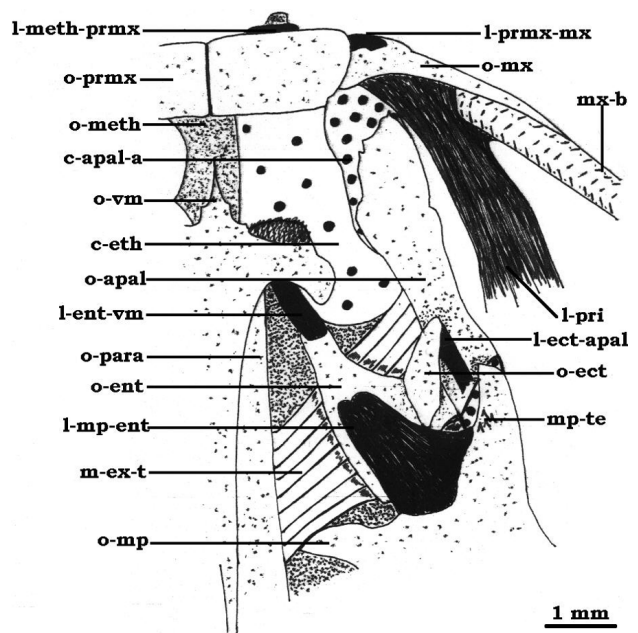


Fig. 5. – Vue ventrale de la région antérieure gauche du crâne de *C. nigrodigitatus*.

Os praemaxillare. Pair, avec des dents (Fig. 1). De l’extrémité dorso-latérale de cet os part un ligament qui va au maxillaire (Figs 1, 5).

Os angulo-articulare. L’angulo-articulaire forme la mandibule avec le dentaire, le coronomeckélien et le cartilage de Meckel (Fig. 7D). Deux ligaments en partent, l’un vers l’interoperculaire et l’autre vers le cératohyal postérieur (Fig. 7D). La face antéro-dorso-mésiale de l’angulo-articulaire forme avec la face postéro-dorso-mésiale du dentaire un large condyle dorsal (processus coronoïdeus). Le cartilage de Meckel (Fig. 7D), le coronomeckélien (Fig. 7D), l’adductor mandibulae AW (Fig. 7A) et un gros ligament qui va au maxillaire (Fig. 8A) y sont encastrés.

Os dentale. Pair et denté (Fig. 1). Il présente un processus à son extrémité antéro-ventrale (Figs 1, 4).

Os coronomeckelium. Pair. Petit os situé mésialement au cartilage de Meckel (Fig. 7D).

Os interhyale. Pair. Maillon entre l’arc hyoïde et le suspensorium. Un fort ligament joint son bord dorsal à la région située entre le carré et l’hyomandibulaire. Un ligament ventral l’unit à la face postéro-dorsale du cératohyal postérieur.

Os ceratohyale anterior. Pair. A son extrémité postéro-ventrale sont attachés 7 des 9 rayons branchiostèges (les deux autres sont portés par le cératohyal postérieur) (Fig. 4).

Os ceratohyale posterior. Pair. Il est associé à l’interhyal, à l’angulo-articulaire et à l’interoperculaire par des ligaments (Fig. 4).

Os hypohyale dorsale. Pair et situé dorsalement par rapport aux hypohyaux ventraux.

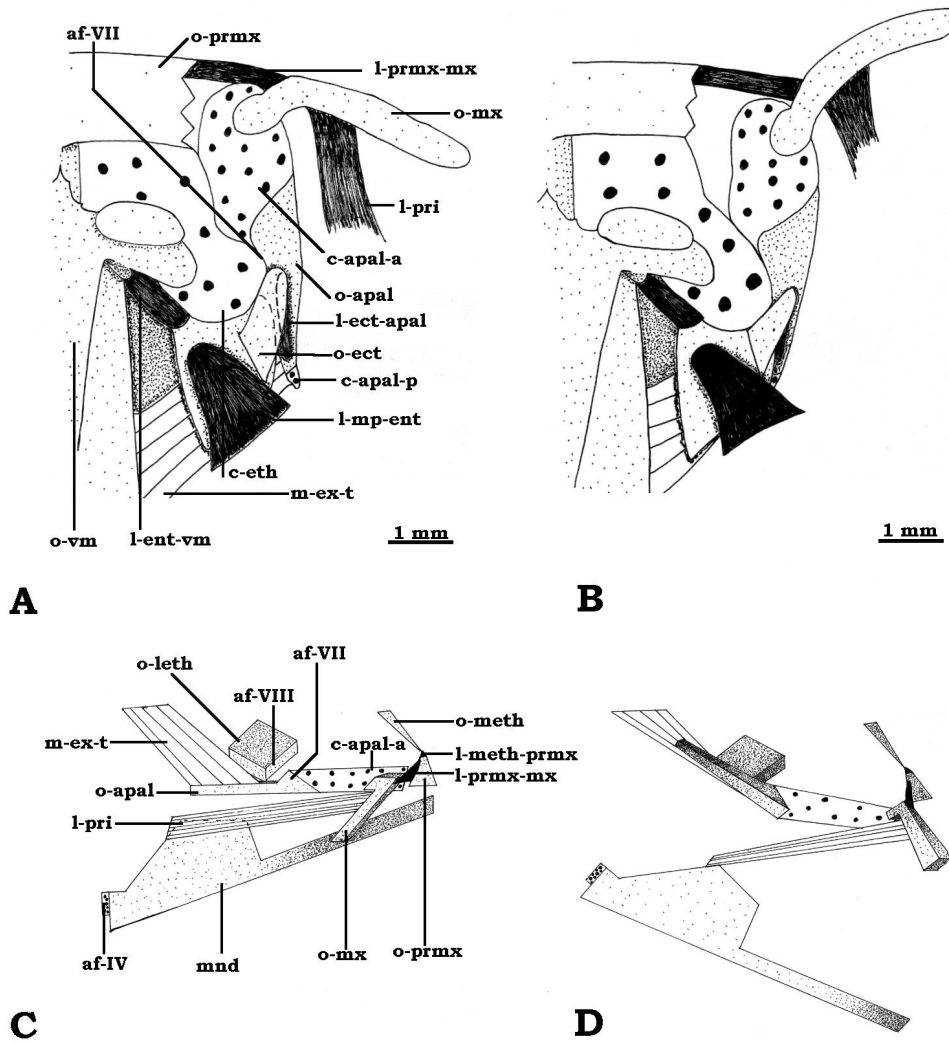


Fig. 6. – (A) Système palatino-maxillaire de *C. cranchii*, vue ventrale. L'extensor tentaculi est relâché. (B) Système palatino-maxillaire de *C. cranchii*, vue ventrale. L'extensor tentaculi est contracté. (C) Schéma du système palatino-maxillaire de *C. nigrodigitatus*, vue latérale. L'extensor tentaculi est relâché. (D) Schéma du système palatino-maxillaire de *C. nigrodigitatus*, vue latérale. L'extensor tentaculi est contracté.

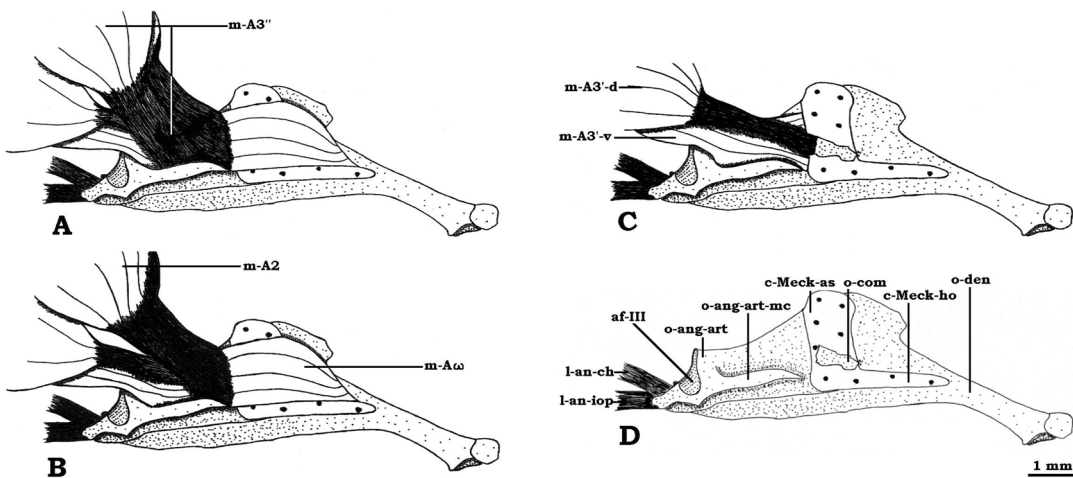


Fig. 7. – Vue mésiale de la mandibule de *C. nigrodigitatus*. (A) Tous les muscles sont en place. (B) L'adductor mandibulae A3'' a été enlevé. (C) Les adductores mandibulae A2 et Aw ont été enlevés. (D) L'adductor mandibulae A3' a été enlevé.

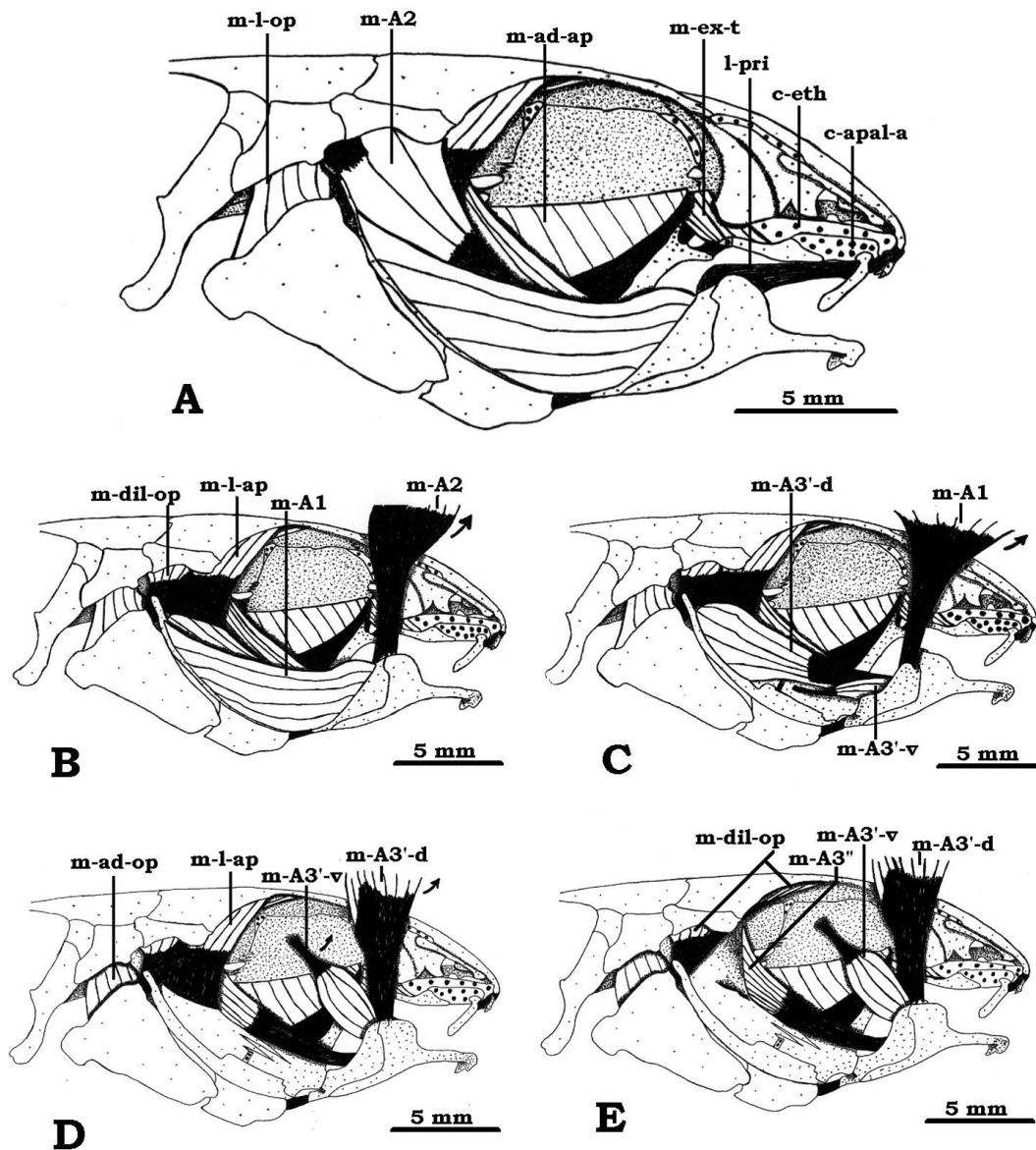


Fig. 8. – Vue latérale de la musculature céphalique de *C. nigrodigitatus* (pour l'ostéologie voir la figure 1). (A) Tous les muscles sont en place. (B) L'adductor mandibulae A2 a été écarté et le ligament primordial a été enlevé. (C) L'adductor mandibulae A2 a été enlevé et l'adductor mandibulae A1 a été écarté. (D). L'adductor mandibulae A1 et le levator operculi ont été enlevés et l'adductor mandibulae A3 a été écarté. (E) Le levator arcus palatini a été enlevé.

Os hypohyale ventrale. Pair. Chaque hypohyal ventral présente une concavité pour recevoir les processus antérieurs de l'urohyal (Fig. 4).

Os urohyale. Impair, trifurqué postérieurement (Fig. 4). De son extrémité antérieure partent deux ligaments qui vont aux hypohyaux ventraux (Fig. 4).

Myologie

Pour la simplicité, nous suivons ici autant que possible WINTERBOTTOM (1974), quoique les homologies et la nomenclature des muscles adducteurs mandibulaires des Ostariophysi soient à revoir assez fondamentalement (DIOGO & CHARDON, in press). En ce qui concerne les muscles associés aux mouvements des barbillons mandi-

bulaires, nous proposons une nouvelle nomenclature dont le choix sera justifié dans la discussion.

Musculus adductor mandibulae. L'adductor mandibulae des *Chrysiichthys* est différencié en 6 faisceaux. Le plus externe et ventral, l'A1 a son origine sur le préoperculaire, l'hyomandibulaire et le carré (Fig. 8B) et s'insère sur la face antéro-dorso-latérale de l'angulo-articulaire (Fig. 8C). L'A2 joint le sphénotique et le ptérotique (Fig. 8A) à la face mésiale de l'angulo-articulaire (Fig. 7B). L'A3', situé mésialement à ces deux faisceaux, se divise en deux faisceaux: le plus dorsal part du préoperculaire, de l'hyomandibulaire et du carré (Fig. 8) vers le coronomeckélien (Fig. 7C); le plus ventral a son origine sur le carré (Fig. 8C) et s'insère sur la face mésiale de l'angulo-articulaire (Fig. 7C). Mésialement au levator

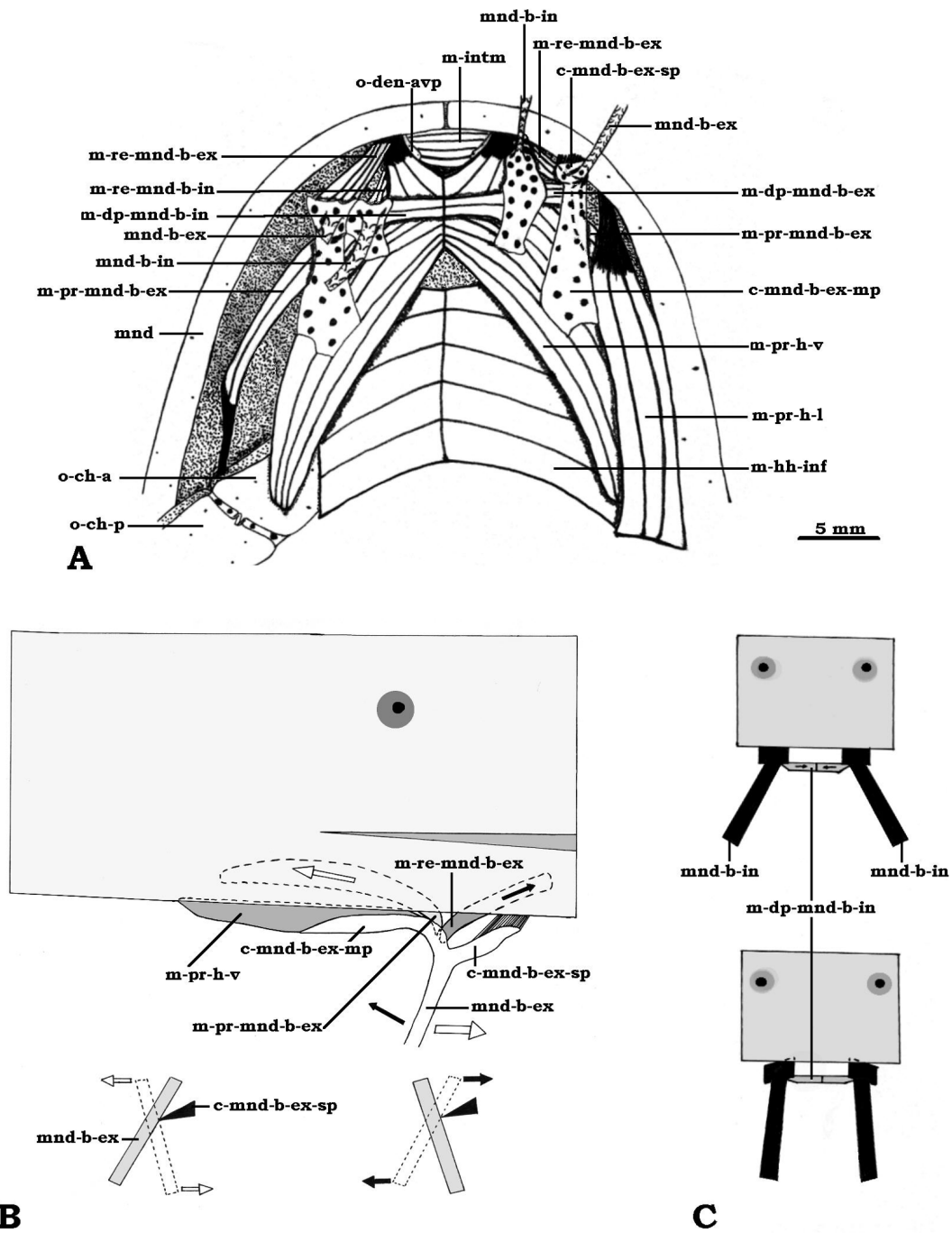


Fig. 9. – *C. nigrodigitatus*. (A) Vue ventrale des structures associées avec les barbillons mandibulaires. Du côté gauche les parties dorsale et latérale du protractor hyoidei ont été enlevées, les parties antérieures des cartilages associés aux barbillons mandibulaires ont été artificiellement écartées et l’hyohyoideus inferior a été coupé. (B) Schéma qui illustre les mouvements de rétraction et de protraction du barbillon mandibulaire externe, vue latérale. (C) Schémas qui illustrent le mouvement de dépression des barbillons mandibulaires internes, vue frontale.

arcus palatini, il y a un autre faisceau, l’A3” qui va de l’hyomandibulaire (Fig. 8E) à la face mésiale de l’angulo-articulaire (Fig. 7A). Enfin, l’AW est logé dans le processus coronoïde. Il joint la face mésiale du dentaire au tendon de l’A2 (Fig. 7B).

Musculus levator arcus palatini. Muscle épais qui part de la face ventro-latérale du sphénotique et du frontal et

qui s’insère sur la face dorso-latérale de l’hyomandibulaire (Fig. 8D).

Musculus dilatator operculi. Il est interne par rapport au levator arcus palatini. Il joint la face ventrale du frontal, du sphénotique et du ptérotique à l’operculaire latéralement à sa cavité articulaire pour l’hyomandibulaire (Fig. 8E).

Musculus levator operculi. Il vient de la face latéro-ventrale du ptérotique et s'insère sur la face mésio-dorsale de l'operculaire (Fig. 8B).

Musculus adductor operculi. Situé mésialement au levator operculi, il s'étend de la face ventrale du ptérotique à la face mésiale de l'operculaire et de l'hyomandibulaire (Figs 3, 8D).

Musculus adductor arcus palatini. Il part de la face latérale de l'orbitosphénoïde, du ptérosphénoïde et du parasphénoïde et s'insère par une large aponévrose sur la face mésiale de l'hyomandibulaire, du carré et du métapterygoïde (Figs 3, 8A).

Musculus protractor hyoidei. Ce muscle est différencié en trois faisceaux (Fig. 9A): la pars lateralis part de la face ventrale du cératohyal postérieur et s'insère sur le dentaire; la pars dorsalis va du cératohyal antérieur au

dentaire; la pars ventralis joint le cératohyal antérieur et s'insère dans une aponévrose médiane. Dans ce dernier faisceau sont logés en grande partie les cartilages associés aux barbillons mandibulaires.

Musculus hyohyoideus inferior. Ce muscle épais s'attache d'une part sur le cératohyal antérieur et d'autre part sur une longue aponévrose médiane (Fig. 9A).

Musculus sternohyoideus. C'est un muscle épais situé au-dessus de l'hyohyoïdeus inferior. Il part du cleithrum (Fig. 1) et s'insère sur l'urohyal.

Musculus intermandibularis. C'est un petit muscle situé entre les deux processus antéro-ventraux des dentaires (Fig. 9A).

Musculus extensor tentaculi. Ce petit muscle a son origine sur le parasphénoïde, l'orbitosphénoïde et l'ethmoïde

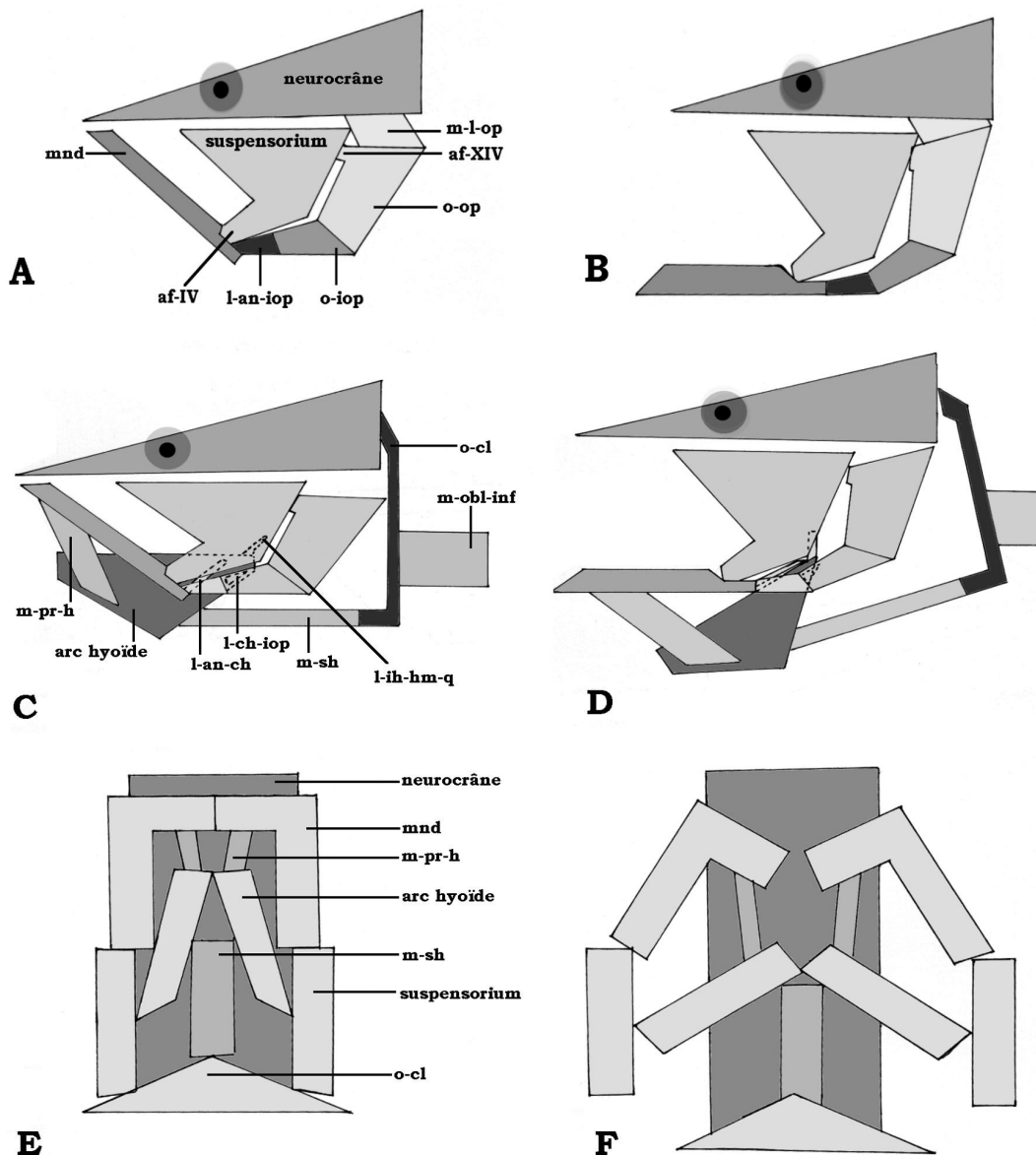


Fig. 10. – Schémas des mécanismes d'ouverture de la bouche chez *C. nigrodigitatus*. (A, B) Mécanisme operculaire (mouvement très exagéré pour faciliter la compréhension), vue latérale. (C, D) Mécanisme hyoïdien, vue latérale. (E, F) Mécanisme hyoïdien (mouvement très exagéré pour faciliter la compréhension), vue dorsale.

latéral et s'insère sur la face médio-dorsale de l'arrière du palatin (o-apal) (Figs 5, 8A).

Musculus retractor externi mandibularis tentaculi. Petit muscle qui joint l'arrière du dentaire, près de la symphyse, à la face dorsale du cartilage associé au barbillon mandibulaire externe (Fig. 9A).

Musculus retractor interni mandibularis tentaculi. Petit muscle qui va de l'arrière du dentaire à la face dorsale du cartilage associé au barbillon mandibulaire interne (Fig. 9A).

Musculus protractor externi mandibularis tentaculi. Long muscle qui a pour origine la face postéro-dorso-mésiale du cératohyal antérieur et pour insertion la face dorsale du cartilage associé au barbillon mandibulaire (Fig. 9A).

Musculus depressor externi mandibularis tentaculi. Petit muscle situé entre la face ventro-latérale du cartilage associé au barbillon mandibulaire interne et la face ventro-mésiale du cartilage associé au barbillon mandibulaire externe (Fig. 9A).

Musculus depressor interni mandibularis tentaculi. Petit muscle situé entre la face ventro-mésiale du cartilage associé au barbillon mandibulaire interne et une aponévrose médiane (Fig. 9A).

DISCUSSION

Les hypothèses fonctionnelles présentées ici reposent sur l'observation des possibilités de mouvement des spécimens disséqués, sur leur manipulation artificielle et aussi sur l'observation des poissons vivants. Elles doivent être regardées avec une certaine prudence, en attendant que des études électromyographiques ou des stimulations électriques puissent les confirmer.

Hypothèse sur le fonctionnement du suspensorium, arc hyoïdien, série operculaire et mandibule

Ouverture de la bouche. L'ouverture de la bouche se réalise par deux mécanismes. Typique de la grande majorité des téléostéens adultes (voir TAKAHASI; 1925; EATON, 1935; ALEXANDER, 1965; OSSE, 1969, ELSHOUD, 1978; LAUDER & LIEM, 1980; SCHAEFER & LAUDER, 1986; etc.), le mécanisme operculaire est réalisé par la contraction du levator operculi (Fig. 10 A→B). Il se retrouve chez les poissons-chats *Olivaichthys viedmensis* (SCHAEFER & LAUDER, 1986), *Clarias gariepinus* (ADRIAENS & VERRAES, 1998) et aussi chez la grande majorité des espèces étudiées dans le présent travail. Il est cependant perdu chez les Loricariidae et les Astroblepidae, chez qui le ligament angulo-interoperculaire a disparu (SCHAEFER & LAUDER, 1996) et aussi chez *Phractura brevicauda* et *Phractura intermedia* (Amphiliidae: Doumeinae), espèces où la configuration assez particulière de la facette d'articulation entre le cératohyal postérieur et l'interoper-

culaire (laquelle constitue probablement une synapomorphie des Doumeinae: DIOGO & CHARDON, en préparation) empêche la rétraction de l'interoperculaire.

L'autre mécanisme, le mécanisme hyoïdien, se décompose en trois mécanismes complémentaires:

(1) La contraction des muscles obliques inférieurs (hypaxiaux) tire le cleithrum en arrière (Fig. 10 C→D), ce qui provoque, par l'intermédiaire du muscle sternohyoïdien (qui soit reste passif, soit se contracte, en renforçant le mouvement) la dépression de la barre hyoïdienne (Fig. 10 C→D). Cette dépression tire vers le bas et l'arrière le haut de la barre hyoïdienne et donc le ligament entre l'angulo-articulaire et le cératohyal postérieur (Fig. 10 C→D). La mandibule pivote autour du carré, et la bouche s'ouvre (Fig. 10 C→D). La possibilité de ce mécanisme est liée à la longueur de la mandibule et de l'interoperculaire (VERRAES, 1977). Ainsi, les téléostéens à longue mandibule et court interoperculaire, comme, par exemple, les saumons (*Oncorhynchus mykiss*) ou les morues (*Gadus morhua*), possèdent habituellement le ligament entre l'angulo-articulaire et le cératohyal postérieur, et, donc, ce mécanisme (VERRAES, 1977; HUNT VON HERBING *et al.*, 1996). Chez les poissons à courte mandibule et long interoperculaire, comme, par exemple, les Cichlidae (*Astatotilapia elegans*) ou les Embiotocidae (*Micrometrus minimus*), le ligament entre la barre hyoïdienne et la mandibule, et, donc, ce mécanisme, sont absents (OTTEN, 1982; HUNT VON HERBING *et al.*, 1996). Cette relation entre la longueur de la mandibule, la taille de l'interoperculaire et la présence de ce ligament et de ce mécanisme est confirmée aussi chez les poissons-chats. Ces poissons, qui présentent normalement de longues mandibules et d'assez petits interoperculaires (voir, par exemple, Fig. 1), possèdent le ligament entre la barre hyoïdienne et la mandibule, et donc, ce mécanisme: il est présent chez toutes les espèces disséquées dans le présent travail et aussi chez celles étudiées par d'autres auteurs (SCHAEFER & LAUDER, 1986; ADRIAENS & VERRAES, 1998).

(2) Ce mécanisme met aussi en jeu les muscles obliques inférieurs, le cleithrum et le muscle sternohyoïdien, et, donc, la dépression de l'arc hyoïde. Cette dépression, par l'intermédiaire de la contraction du protracteur hyoïdien, provoque l'ouverture de la bouche (Fig. 10 C→D). Il est présent chez un grand nombre de téléostéens adultes (DATTA MUNSHI & SINGH, 1967; OSSE, 1969; WINTERBOTTOM, 1974; OTTEN, 1982; VANDEWALLE *et al.*, 1995; etc.). Selon SCHAEFER & LAUDER (1986) ce mécanisme est présent chez la majorité des poissons-chats, ce que confirment nos observations: il est présent chez toutes les espèces étudiées. Cependant, il faut rappeler que la contraction du protracteur hyoïdien des téléostéens ne provoque pas toujours l'ouverture de la bouche, car si la ligne d'action de ce muscle est dorsale par rapport à l'articulation de la mandibule avec le carré, sa contraction provoque le mouvement contraire, c'est-à-dire, la fermeture de la bouche. C'est le cas, par exemple, du genre *Haplochromis* (Pisces:

Cichlidae), où, à partir d'un certain âge, le protracteur hyoïdien ne provoque plus l'ouverture de la bouche, et commence à avoir la fonction inverse (OTTEN, 1982). Cependant, chez *Chrysichthys*, ainsi que chez les autres genres étudiés, cette ligne d'action reste toujours ventrale par rapport à l'articulation de la mandibule avec le carré et, donc, la contraction de ce muscle est toujours associée avec l'ouverture de la bouche.

(3) Ce mécanisme commence comme les deux précédents et finit comme le mécanisme operculaire. Quand l'arc hyoïdien est déprimé, sa partie postéro-dorsale est tirée postéro-ventralement et tire, par un ligament, l'interoperculaire. Celui-ci, comme dans le mécanisme operculaire, recule, ce qui entraîne l'ouverture de la bouche (Fig. 10 C → D). Ce mécanisme avait déjà été décrit pour d'autres téléostéens (LIEM, 1991) mais non pour des poissons-chats. Cependant, il est présent chez toutes les espèces étudiées, à l'exception de *Phractura intermedia* et *Phractura brevicauda*, où, comme il a été dit plus haut (voir mécanisme operculaire), l'articulation entre le céra-tohyal postérieur et l'interoperculaire empêche ce dernier de reculer.

Comme chez la grande majorité des téléostéens (voir TAKAHASI, 1925; EATON, 1935; ALEXANDER, 1965; OSSE, 1969; ELSHOUD, 1978; LAUDER & LIEM, 1980; LIEM, 1981; SCHAEFER & LAUDER, 1986; etc.), le mécanisme hyoïdien non seulement ouvre la bouche, mais provoque aussi indirectement l'abduction du suspensorium, augmentant ainsi le volume de la cavité buccale (Fig. 10 E → F). De la même façon, les mécanismes d'abduction du suspensorium ouvrent indirectement la bouche.

Fermeture de la bouche. La bouche se ferme par trois mécanismes directs. Le plus important et le plus général chez les téléostéens (TAKAHASI, 1925; EATON, 1935; DATTA MUNSHI & SINGH, 1967; ANKER, 1974; WINTERBOTTOM, 1974; LAUDER & LIEM, 1983; DECLEYRE *et al.*, 1990; DE LA HOZ & ALDUNATE, 1994; etc.), est la contraction de l'adducteur mandibulaire.

Un deuxième mécanisme repose sur la contraction du muscle hyoïdien inférieur (Fig. 9A). Comme déjà expliqué, l'ouverture de la bouche entraîne l'écartement de l'arrière des demi-mandibules et des barres hyoïdiennes (Fig. 10 E → F). Leur rapprochement tend donc à fermer la bouche par le mécanisme inverse (Fig. 10 F → E). Ce mécanisme a déjà été décrit chez d'autres téléostéens – voir, par exemple, AERTS (1991) pour les Cichlidae. Il est présent chez tous les poissons-chats étudiés, sauf chez *Phractura brevicauda* et *Phractura intermedia*, où le muscle hyoïdien inférieur à une configuration tout à fait inhabituelle pour un poisson-chat, et même pour un téléostéen (voir WINTERBOTTOM, 1974).

Le troisième mécanisme est semblable au précédent: quand le muscle intermandibulaire (Fig. 9A) travaille, les demi-mandibules se rapprochent, rapprochent les carrés, et la bouche tend à se fermer (Fig. 10 F → E). Cependant, il faut noter que la contraction du muscle intermandibu-

laire n'est en aucune manière suffisante pour fermer la bouche, mais est probablement associée aux deux mécanismes précédents. Ce mécanisme est présent chez tous les poissons-chats étudiés, sauf chez *Phractura brevicauda* et *Phractura intermedia*, où l'intermandibulaire est absent.

Abduction du suspensorium. Comme il a été dit précédemment, le suspensorium peut être écarté indirectement par les mécanismes de fermeture de la bouche. Mais il existe aussi un mécanisme direct d'abduction de celui-ci: la contraction du muscle élévateur de l'arc palatin (Fig. 8 D). Ce mécanisme, commun chez les Siluriformes et chez les téléostéens en général (TAKAHASI, 1925; EATON, 1935; 1948; ALEXANDER, 1965; ANKER, 1974; WINTERBOTTOM, 1974; LIEM, 1991; SCHAEFER & LAUDER, 1986; ADRIAENS & VERRAES, 1997b; etc.), est présent chez toutes les espèces étudiées dans ce travail.

Adduction du suspensorium. L'adduction du suspensorium peut résulter indirectement des mécanismes de fermeture de la bouche. Plus directement et plus simplement l'adduction du suspensorium résulte de la contraction du muscle adducteur de l'arcus palatini, ce qui est typique chez les poissons-chats et les téléostéens en général (TAKAHASI, 1925; EATON, 1935; ALEXANDER, 1965; ANKER, 1974; WINTERBOTTOM, 1974; LIEM, 1991; SCHAEFER & LAUDER, 1986; ADRIAENS & VERRAES, 1997b; etc.). Cependant, chez les poissons-chats étudiés dans ce travail, à l'exception de *Phractura brevicauda* et *Phractura intermedia*, l'adduction du suspensorium peut aussi être associée à la contraction du muscle adducteur de l'opercule, car celui-ci est, comme d'habitude, inséré sur l'operculaire, mais aussi sur la face mésiale de l'hyomandibulaire (Fig. 3).

Dilatation de la cavité operculaire. Comme chez les téléostéens en général (TAKAHASI, 1925; EATON, 1935; ALEXANDER, 1965; OSSE, 1969; ELSHOUD, 1978; LAUDER & LIEM, 1980; SCHAEFER & LAUDER, 1986; etc.), la dilatation de la cavité operculaire est provoquée par la contraction du muscle dilateur de l'opercule.

Adduction de l'opercule. L'adduction de l'opercule est provoquée par l'adducteur de l'opercule, ce qui est normal chez les téléostéens en général et aussi chez les Siluriformes (TAKAHASI, 1925; EATON, 1935; ALEXANDER, 1965; OSSE, 1969; ELSHOUD, 1978; LAUDER & LIEM, 1980; SCHAEFER & LAUDER, 1986; etc.).

Hypothèse sur le fonctionnement du système palatino-maxillaire

Le système palatino-maxillaire est un ensemble d'os, de muscles, de cartilages et de ligaments qui sont associés au mouvement des barbillons maxillaires. Ces barbillons, comme les barbillons mandibulaires, sont constitués par un axe central entouré d'une gaine d'élastine, avec ou sans vrai cartilage (BENJAMIN, 1990). La peau qui les enveloppe est couverte de mucocytes et de corpuscules gustatifs (LANDACRE, 1910; KAMRIN & SINGER, 1953;

1955; GHIOT & BOUCHEZ, 1980; etc.). D'après ALEXANDER (1965), les espèces à petits barbillons ne les utilisent qu'à la détection de la nourriture, tandis que les espèces à longs barbillons s'en servent pour repérer et éviter les obstacles.

Il y a deux types de mouvements associés au système palatino-maxillaire des *Chrysichthys*:

Abduction du barbillon maxillaire. Bien que toutes les structures associées au système palatino-maxillaire soient pratiquement identiques chez les trois espèces de *Chrysichthys* étudiées on distingue deux mécanismes différents d'abduction du barbillon maxillaire.

Pour faciliter la compréhension, nous décrivons d'abord le mécanisme de *C. cranchii*, qui est considérablement plus simple que celui de *C. nigrodigitatus* (lequel est pratiquement semblable à celui de *C. auratus*), et qui est illustré dans les figures 6A et 6B.

Chez *C. cranchii*, l'extenseur tentaculi ne s'insère pas méso-dorsalement sur le palatin mais sur sa face mésiale. Ce muscle s'insère en plus sur la face ventrale de l'ectoptérygoïde et de l'entoptérygoïde. Le mécanisme d'abduction du barbillon maxillaire est très simple. Quand l'extenseur tentaculi se contracte, l'entoptérygoïde, l'ectoptérygoïde et l'extrémité postérieure du palatin se rapprochent de la ligne médiane (Fig. 6 A→B). L'avant du palatin, par milieu de l'articulation entre cet os et le neurocrâne, se déplace donc latéralement (Fig. 6 A→B). La partie proximale du maxillaire, qui s'articule à l'avant du cartilage antérieur du palatin est donc tirée latéralement, ce qui, par l'intermédiaire du ligament entre le maxillaire et le prémaxillaire provoque l'abduction du maxillaire (Fig. 6 A→B). Comme le barbillon maxillaire suit le maxillaire (Fig. 5), son extrémité se déplace donc vers l'avant.

Le barbillon maxillaire de *C. cranchii* a une longueur égale aux trois quarts de celle du corps. Ainsi, quand le poisson nage tranquillement, le barbillon est collé au corps, ce qui minimise la traînée. Cependant, quand le poisson cherche sa nourriture, l'extenseur tentaculi lance le barbillon en avant du corps.

Ce type de système palatino-maxillaire est appelé "rotating type" (GOSLINE, 1975), puisque l'extrémité antérieure et postérieure du palatin sont déplacées, respectivement, latéralement et mésialement (Fig. 6 A→B). Il a déjà été décrit chez quelques autres espèces de Siluriformes (EATON, 1948; ALEXANDER, 1965; SINGH, 1967; GOSLINE, 1975; GHIOT, 1978; GHIOT *et al.*, 1984; ADRIAENS & VERRAES, 1997a; DIOGO *et al.*, in press) y compris chez *Chrysichthys longibarbis* (GHIOT *et al.*, 1984).

Le mécanisme palatino-maxillaire de *Chrysichthys nigrodigitatus*, ainsi que celui de *C. auratus*, bien que du "rotating type" sont un peu plus complexes. Quand le maxillaire est rétracté, la facette d'articulation du palatin sur le neurocrâne est orientée dorsalement (Figs 1, 5), et non mésialement comme chez *C. cranchii* (Fig. 6A). De

plus, le muscle extenseur tentaculi de *C. nigrodigitatus* ne s'insère que sur le palatin, nommément sur sa face méso-dorsale (Fig. 8A). Enfin, l'articulation de l'ethmoïde latéral avec le palatin est située dorso-mésialement par rapport au palatin (Fig. 1), et est orientée ventro-latéralement (Fig. 3).

L'action exercée à l'extrémité postérieure du palatin par la contraction de l'extenseur tentaculi est quadruple: **1)** Inséré mésialement (et dorsalement) sur l'extrémité postérieure du palatin, il la tire vers la ligne médiane (Fig. 6 C→D); **2)** Inséré dorsalement (et mésialement) sur l'extrémité postérieure du palatin, il la tire vers le haut (Fig. 6 C→D); **3)** Attaché à l'arrière du palatin, il tire cet os un peu en arrière (Fig. 6 C→D). C'est un faible déplacement à cause de la liaison entre le palatin et le cartilage ethmoïdien (Fig. 5); **4)** Attaché sur la face méso-dorsale du palatin, il fait tourner cet os autour de son axe et tend à orienter sa face ventrale latéralement (Fig. 6 C→D).

Tous ces mouvements sont bien sûr simultanés (Fig. 6 C→D). Le déplacement postéro-dorso-mésial de l'extrémité postérieure du palatin provoque, à cause de l'articulation entre cet os et l'ethmoïde latéral, un déplacement postéro-ventro-latéral de l'avant de cet os, et donc, aussi de l'extrémité proximale du maxillaire qui lui est attachée (Fig. 6 C→D). Retenu par le prémaxillaire, le maxillaire s'écarte du corps en entraînant son barbillon (Fig. 6 C→D). Mais le palatin, outre sa rotation du type "rotating", en subit une autre, par laquelle sa face ventrale s'oriente latéralement, ce qui entraîne une rotation semblable du maxillaire (Fig. 6 C→D). Ainsi, le barbillon maxillaire en abduction n'est pas orienté vers le bas mais plus latéralement (Fig. 6 D).

Mais le système palatino-maxillaire de *C. nigrodigitatus* englobe aussi la mandibule et le prémaxillaire. L'abduction du maxillaire n'est réalisable que si la bouche n'est pas totalement fermée, car quand elle l'est, le ligament primordial empêche le maxillaire de s'écarter (Fig. 6C). Cependant, quand la bouche s'ouvre, l'extrémité postérieure de ce ligament est déplacée antéro-ventralement, ce qui permet alors une certaine mobilité du maxillaire (Fig. 6 C→D).

L'extrémité proximale du maxillaire est postéro-ventrale par rapport au prémaxillaire (Fig. 6C). Ainsi, l'abduction du maxillaire tire l'arrière du prémaxillaire en avant (Fig. 6 C→D), ce qui est possible grâce à la liberté laissée par le ligament entre ce dernier et le mésethmoïde (Fig. 1).

Ce type de relation entre l'ouverture/fermeture de la bouche et l'abduction/adduction du barbillon maxillaire et entre l'abduction du barbillon maxillaire et la protraction du prémaxillaire, bien que déjà décrit chez d'autres genres de poissons-chats par ALEXANDER (1965) et GOSLINE (1975), est absent chez la grande majorité de ces poissons (GOSLINE, 1975).

Adduction du barbillon maxillaire. Selon GOSLINE (1975), chez les poissons-chats à tête arrondie comme

Chrysichthys, les barbillons maxillaires sont “collés” au corps et c’est leur abduction qui demande le plus grand effort. Les *Chrysichthys* n’ont aucun muscle spécialisé pour l’adduction du barbillon maxillaire: celle-ci résulte soit de la fermeture de la bouche par l’intermédiaire du ligament primordial (Fig. 6 D→C), soit de l’élasticité du tissu qui enveloppe tout le système palatino-maxillaire ou soit par de la force exercée par l’eau, quand le poisson nage en avant et le muscle extensor tentaculi est relâché. GHIOT et al. (1984) ont décrit, pour l’espèce *Chrysichthys longibarbis*, un mécanisme d’adduction du barbillon maxillaire totalement dépendant de l’élasticité de ce tissu, ce qui semble douteux, car toutes les espèces de *Chrysichthys* ont une configuration semblable de la mandibule, du ligament primordial et du maxillaire (MO, 1991).

Hypothèses sur la fonction des muscles associés aux barbillons mandibulaires

Ces hypothèses, qui sont originales, demandent d’abord une description précise de la structure des cartilages associés aux barbillons mandibulaires. Ces cartilages (Fig. 9 A) ont été appelés “bases of the mandibular barbels” (TAKAHASI, 1925; DATTA MUNSHI, 1960; ALEXANDER, 1965; ADRIAENS & VERRAES, 1997a), “cartilaginous basal frames of the mental barbels” (MO, 1991), “cartilaginous plate of the mandibular barbels” (HOWES, 1983ab) ou “cartilaginous rod present at the base of the mandibular barbels” (SINGH, 1967; SINGH & DATTA MUNSHI, 1968). Certains auteurs, comme, par exemple, ALEXANDER (1965) considèrent que “though slips of the geniohyoideus (protracteur hyoïdien) muscle attach to them (les barbillons mandibulaires) they are not very mobile”. Cette proposition est contestable. En effet, les barbillons mandibulaires des *Chrysichthys*, comme ceux des *Synodontis* ou des *Clarias*, par exemple, montrent même une mobilité supérieure à celle des barbillons maxillaires (observation personnelle). L’explication en est que les cartilages associés aux barbillons mandibulaires n’ont pas pour seule fonction de les supporter, mais aussi d’entraîner leur mouvement. En fait, ceux-ci peuvent être divisés fonctionnellement en deux parties. La première est la “partie fixe”, laquelle est située entre la base des barbillons (postérieurement) et le dentaire (antérieurement), auquel elle est fermement attachée par une grande quantité de fibres (Fig. 9A, B). Ainsi, les barbillons mandibulaires des *Chrysichthys* sont fermement associés au dentaire, qui est un point d’appui stable, ce qui convient à une grande amplitude des mouvements de ces barbillons (Fig. 9 A, B). L’autre partie est la “partie mobile”: en arrière de la première, et plus allongée que celle-ci, c’est sur elle que s’insèrent les muscles qui meuvent les barbillons mandibulaires (Fig. 9A, B).

Il y a six types de mouvements des barbillons mandibulaires chez *Chrysichthys*:

Rétraction du barbillon mandibulaire externe. Ce mouvement est provoqué par la contraction du muscle rétracteur externi mandibularis tentaculi (Fig. 9B: flèches noires), sans doute parce que la partie fixe du cartilage associé au barbillon mandibulaire externe est en dessous de la ligne d’action de ce muscle (Fig. 9B). Ainsi, quand l’extrémité dorsale du barbillon mandibulaire est tirée en avant, son extrémité ventrale est tirée postéro-dorsalement (Fig. 9B: flèches noires). Cette hypothèse a été appuyée par la contraction artificielle de ce muscle chez de grands spécimens frais de *Chrysichthys nigrodigitatus* et *Chrysichthys auratus*.

Notre hypothèse contrarie celle de SINGH (1967), GHIOT (1978) et GHIOT et al. (1984). Ces auteurs considèrent que la contraction du rétracteur externi mandibularis tentaculi – appelé “retractor tentaculi” par SINGH (1967) et “muscle 3 des barbillons mandibulaires” par GHIOT (1978) et GHIOT et al. (1984) – tire en avant et non en arrière le barbillon mandibulaire externe. Ils ne donnent, cependant, pas de véritable explication fonctionnelle, mais se basent sur leur intuition: “Il est difficile de distinguer le rôle des faisceaux qui s’attachent sur les prolongements des barbillons, car l’élasticité de ces prolongements ne peut être appréciée” écrivent, par exemple, GHIOT et al. (1984). Nous espérons éclaircir cette question plus tard par électromyographie ou stimulation électrique.

Rétraction du barbillon mandibulaire interne. Le rétracteur interni mandibularis tentaculi (Fig. 9A) agit exactement comme le rétracteur externi mandibularis tentaculi, et, donc, rétracte le barbillon mandibulaire interne.

Protraction du barbillon mandibulaire externe. Ce mouvement est provoqué par la contraction du muscle protracteur externi mandibularis tentaculi. Celui-ci tire l’extrémité dorsale du barbillon vers l’arrière, ce qui tire en avant son extrémité ventrale (Fig. 9B: flèches blanches). Cette hypothèse a été appuyée par la contraction artificielle de ce muscle chez de grands spécimens frais de *Chrysichthys nigrodigitatus* et *Chrysichthys auratus*.

Protraction du barbillon mandibulaire interne. La protraction du barbillon mandibulaire interne revient à la partie ventrale du protracteur hyoïdien qui fonctionne exactement comme le protracteur du barbillon mandibulaire externe (Fig. 9B, flèches blanches). Le protracteur hyoïdien contribue, donc, aussi à la protraction du barbillon mandibulaire externe en synergie avec le protracteur du barbillon mandibulaire externe.

Dépression du barbillon mandibulaire interne. La contraction du dépresseur interni mandibularis tentaculi provoque la dépression de ce barbillon, à cause de son insertion ventro-mésiale sur la partie mobile du cartilage associé à celui-ci (Fig. 9C).

Dépression du barbillon mandibulaire externe. L’abaissement du barbillon mandibulaire externe se réalise comme celle de l’interne, grâce à un muscle comparable, le dépresseur externi mandibularis tentaculi.

Conclusions générales

Le fonctionnement de la bouche, du suspensorium, de l'arc hyoïdien et de la série operculaire chez les *Chrysichthys*, ainsi que chez autres poissons-chats généralisés, comme les Pimelodidae et les Bagridae, ou chez les archaïques Diplomystidae, ressemble au fonctionnement typique des téléostéens. En ce qui concerne le système palatino-maxillaire des *Chrysichthys*, il est plutôt archaïque que généralisé et évolutivement situé entre celui des archaïques *Diplomystes* et ceux de la grande majorité des poissons-chats. En fait, tels que les *Diplomystes*, les *Chrysichthys* possèdent un extenseur tentaculi non subdivisé en faisceaux. Chez la grande majorité des poissons-chats ce muscle est différencié en faisceaux normalement associés à différentes fonctions (GOSLINE, 1975). Comme les *Diplomystes*, les *Chrysichthys* ne possèdent pas de rétracteur tentaculi, alors qu'une grande partie des Siluriformes en ont un (ALEXANDER, 1965). Cependant, contrairement aux *Diplomystes*, les *Chrysichthys* présentent déjà une certaine liberté du système palatino-maxillaire par rapport aux mouvements de la bouche, mais ce découplage n'est pas complet comme chez la grande majorité des poissons-chats (GOSLINE, 1975).

Le fonctionnement des structures associées aux barbillons mandibulaires des *Chrysichthys* – chez qui une étroite relation entre la mandibule, des petits cartilages, et un nombre considérable de petits muscles assure une grande mobilité de ces barbillons – paraît représentatif de la grande majorité des poissons-chats.

Ainsi, il semble que la morphologie fonctionnelle des structures céphaliques liées à la prise de nourriture chez les *Chrysichthys* soit fort proche du patron basique pour les Siluriformes. Cette étude pourra, donc, aider à mieux comprendre la biologie des poissons-chats, et, nous l'espérons, être utile à de futures études anatomiques, morpho-fonctionnelles, écologiques, éthologiques et phylogénétiques sur ces poissons.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre gratitude au Dr. Teugels (Musée de l'Afrique Centrale de Tervuren) pour nous avoir confié une grande partie du matériel biologique utilisé dans ce travail et aussi pour ses conseils et ses opinions. Nous remercions aussi le Dr. Adriaens et le Prof. Dr. Verraes (Université de Gand), le Prof. Dr. Gayet (Université de Lyon), le Prof. Dr. Vandewalle et E. Parmentier (Université de Liège), C. Oliveira (Universidade de Aveiro) et le Dr. Taverne (Université Libre de Bruxelles) pour toute leur aide et pour leurs discussions sur les poissons-chats.

REFERENCES

- ADRIAENS, D. & W. VERRAES (1994). On the functional significance of the loss of the interhyal during ontogeny in *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) (Teleostei: Siluridae). *Belg. J. Zool.*, 124: 139-155.
- ADRIAENS, D. & W. VERRAES (1997a). Ontogeny of the maxillary barbel muscles in *Clarias gariepinus* (Siluroidei: Clariidae), with some notes on the palatine-maxillary mechanism. *J. Zool. Lond.*, 241: 117-133.
- ADRIAENS, D. & W. VERRAES (1997b). Ontogeny of the suspensorial and opercular muscles in *Clarias gariepinus* (Siluroidei: Clariidae), and the consequences for respiratory movements. *Neth. J. Zool.*, 47: 1-29.
- ADRIAENS, D. & W. VERRAES (1997c). Ontogeny of the hyoid and intermandibular musculature in *Clarias gariepinus*, an African catfish (Burchell, 1822) (Siluroidei: Clariidae). *Zool. J. Linnean Soc.*, 121: 105-128.
- ADRIAENS, D. & W. VERRAES (1998). Ontogeny of the Osteocranium in the African Catfish, *Clarias gariepinus* Burchell (1822) (Siluriformes: Clariidae): ossification sequence as a response to functional demands. *J. Morphol.*, 235: 183-237.
- AERTS, P. (1991). Hyoid morphology and movements relative to abducting forces during feeding in *Astatotilapia elegans* (Teleostei: Cichlidae). *J. Morphol.*, 208: 323-345.
- AERTS, P. & W. VERRAES (1984). Theoretical analysis of a planar bar system in the teleostean skull: the use of mathematics in biomechanics. *Ann. Soc. R. Zool. Belg.*, 114: 273-290.
- ALEXANDER, R.McN. (1965). Structure and function in catfish. *J. Zool. Lond.*, 148: 88-152.
- ALEXANDER, R.McN. (1970). Mechanics of the feeding action of various teleost fishes. *J. Zool. Lond.*, 162: 145-156.
- ANKER, G.Ch. (1974). Morphology and kinematics of the head of the stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Trans. Zool. Soc. Lond.*, 32: 311-416.
- ARRATIA, G. (1987). Description of the primitive family Diplomystidae (Siluriformes, Teleostei, Pisces): morphology, taxonomy and phylogenetic implications. *Bonn. Zool. Monogr.*, 24: 1-120.
- ARRATIA, G. (1990). Development and diversity of the suspensorium of trichomycterids and comparison with loricarioids (Teleostei: Siluriformes). *J. Morphol.*, 205: 193-218.
- ARRATIA, G. (1992). Development and variation of the suspensorium of primitive catfishes (Teleostei: Ostariophysi) and their phylogenetic relationships. *Bonn. Zool. Monogr.*, 32: 1-148.
- ARRATIA, G., A. CHANG, S. MENUMARQUE & G. ROJAS (1978). About *Bullockia* n. gen. and *Trichomycterus mendozensis* n. sp.: and revision of the family Trichomycteridae (Pisces, Siluriformes). *Stud. Neotrop. Fauna & Envir.*, 13: 157-194.
- ARRATIA, G. & S. MENUMARQUE (1981). Revision of the Freshwater catfishes of the genus *Hatcheria* (Siluriformes, Trichomycteridae) with commentaries on ecology and biogeography. *Zool. Anz.*, 207: 88-111.
- ARRATIA, G. & S. MENUMARQUE (1984). New catfishes of the genus *Trichomycterus* from the high Andes of South America (Pisces, Siluriformes) with remarks on distribution and ecology. *Zool. Jb. Syst.*, 111: 493-520.
- BALLINTJN, C.M. (1969a). Functional anatomy and movement coordination of the respiratory pump of the carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Exp. Biol.*, 50: 547-567.

- BALLINTJN, C.M. (1969b). Muscle coordination of the respiratory pump of the carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Exp. Biol.*, 50: 569-591.
- BALLINTJN, C.M. (1969c). Movement pattern and efficiency of the respiratory pump of the carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Exp. Biol.*, 50: 593-613.
- BENJAMIN, M. (1990). The cranial cartilages of teleosts and their classification. *J. Anat.*, 169: 153-172.
- BORNBUSCH, A.H. (1991a). Redescription and classification of the siluroid catfish *Apodoglanis furnessi* Fowler (Siluriformes: Siluridae), with diagnoses of three intrafamilial siluroid subgroups. *Copeia*, 4: 1070-1084.
- BORNBUSCH, A.H. (1991b). Monophyly of the catfish family Siluridae (Teleostei: Siluriformes), with a critique of previous hypotheses of the family's relationships. *Zool. J. Linnean Soc.*, 101: 105-120.
- CHARDON, M. (1968). Anatomie comparée de l'appareil de Weber et des structures connexes chez les Siluriformes. *Ann. Mus. R. Afr. Centr.*, 169: 1-273.
- DAGET, J. (1964). Le crâne des Téléostéens. *Mémo. Mus. Nat. Hist. Nat. Sér A 31*: 163-341.
- DATTA MUNSHI, J.S. (1960). The cranial muscles of some freshwater teleosts. *Indian J. Zootomy*, 1: 59-134.
- DATTA MUNSHI, J.S. & B.R. SINGH (1967). The cranial muscles and natural mechanism of opening and closing of mouth in two Indian major carps. *Zool. Anz.*, 178: 49-60.
- DE BEER, G.R. (1937). The development of the vertebrate skull. Clarendon Press, Oxford (552 pp).
- DECLEYRE, D., P. AERTS & W. VERRAES (1990). On the functional significance of the dorsal part of the A_w muscle in *Pomatoschistus lozanoi* (Teleostei: Gobiidae). *Belg. J. Zool.*, 120: 209-213.
- DE LA HOZ, E. & R. ALDUNATE (1994). El sistema hioideo-mandibular de *Cheirodon* (Ostariophysi, Characidae): una innovación funcional. *Ann. Mus. Hist. Nat. Valparaíso*, 22: 83-90.
- DE VOS, L. (1995). A systematic revision of the African Schilbeidae (Teleostei: Siluriformes). *Ann. Mus. R. Afr. Centr.*, 271 (414 pp).
- DIOGO, R. & M. CHARDON (1998). Morphofunctional and comparative analysis of the suspensorium in catfish. *Proc. 5 Benelux Congr. Zool.*: 61.
- DIOGO, R. & M. CHARDON (1999). Apparition of a new motor system by uncoupling: the palatine-maxillary system of catfish. *Proc. 15 Lomoram Meet.*: 34.
- DIOGO, R. & M. CHARDON (in press). Homologies between different adductor mandibulae sections of teleostean fishes, with a special regard to catfishes (Teleostei: Siluriformes). *J. Morphol.*.
- DIOGO, R., P. VANDEWALLE & M. CHARDON (in press). Morphological description of the cephalic region of *Bagrus docmac*, with a reflection on Bagridae (Teleostei: Siluriformes) autapomorphies. *Neth. J. Zool.*
- EATON, T.H. (1935). Evolution of the upper jaw mechanism in teleost fishes. *J. Morphol.*, 58: 157-172.
- EATON, T.H. (1948). Form and function in the head of the channel catfish, *Ictalurus lacustris punctatus*. *J. Morphol.*, 83: 181-194.
- ELSHOUD, G.C.A. (1978). Respiration in the tree-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L.: an electro-myographic approach. *Neth. J. Zool.*, 28: 524-544.
- FAGADE, S.O. (1980). The morphology of the otoliths of the Bagrid catfish, *Chrysichthys nigrodigitatus* (Lacépède) and their use in age determination. *Hydrobiologia*, 71: 209-215.
- GAUBA, R.K. (1966). Studies in the osteology of Indian sisorid catfishes: II. The skull of *Glyptothorax cavia*. *Copeia*, 4: 802-810.
- GAUBA, R.K. (1970). On the cranial osteology of two Indian catfishes of the genus *Laguvia*. *Zool. Anz.*, 185: 55-67.
- GHIOT, F. (1978). The barbel movements of three South American pimelodid catfishes. *Zool. Anz.*, 200: 395-401.
- GHIOT, F. & N. BOUCHEZ (1980). The central rod of the barbels of a South American catfish, *Pimelodus clarias*. *Copeia*, 1980: 908-909.
- GHIOT, F., P. VANDEWALLE & M. CHARDON (1984). Comparaison anatomique et fonctionnelle des muscles et des ligaments en rapport avec les barbillons chez deux familles apparentées de poissons Siluriformes Bagroidei. *Ann. Soc. R. Zool. Belg.*, 114: 261-272.
- GIJSEN, L & M. CHARDON (1976). Muscles et ligaments céphaliques, splanchnocrâne et quelques possibilités de mouvements dans la tête d'*Hoplerythrinus unitaenatus* (Spix) (Teleostei, Ostariophysi, Characoidei). *Am. Sc. Nat. Zool. Paris*, 18: 251-274.
- GOSLINE, W.A. (1975). The palatine-maxillary mechanism in catfishes with comments on the evolution and zoogeography of modern siluroids. *Occ. Pap. Calif. Acad. Sci.*, 120: 1-31.
- HARRY, R.R. (1953). A contribution to the classification of the family Amphiliidae with descriptions of collections from Cameroon. *Rev. Zool. Bot. Afr.*, 47: 178-232.
- HOEDEMAN, J.J. (1960a). Studies on callichthyid fishes: 4. Development of the skull in *Callichthys* and *Hoplosternum* (1) (Pisces: Siluriformes). *Bull. Aquat. Biol.*, 1: 73-84.
- HOEDEMAN, J.J. (1960b). Studies on callichthyid fishes: 5. Development of the skull in *Callichthys* and *Hoplosternum* (2) (Pisces: Siluriformes). *Bull. Aquat. Biol.*, 2: 21-36.
- HOWES, G.J. (1983a). Problems in catfish anatomy and phylogeny exemplified by the Neotropical Hypophthalmidae (Teleostei. Siluroidei). *Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. (Zool.)*, 45: 1-39.
- HOWES, G.J. (1983b). The cranial muscles of the loricarioid catfishes, their homologies and value as taxonomic characters. *Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. (Zool.)*, 45: 309-345.
- HOWES, G.J. (1985). The phylogenetic relationships of the electric family Malapteruridae (Teleostei. Siluroidei). *J. Nat. Hist.*, 19: 37-67.
- HOWES, G.J. & G.G. TEUGELS (1989). Observations and homology of the pterygoid bones in *Corydoras paleatus* and some other catfishes. *J. Zool. Lond.*, 219: 441-456.
- HUNT VON HERBING, I., T. MIYAKE, B.K. HALL & R.G. BOUTILIER (1996). Ontogeny of feeding and respiration in larval Atlantic cod *Gadus morhua* (Teleostei, Gadiformes): I. Function. *J. Morphol.*, 227: 37-50.
- JAYARAM, K.C. (1966). Contributions to study of the fishes of the family Bagridae. 2. A systematic account of the African genera with a new classification of the family. *Bull. Inst. Fond. Afr. Noire*, 28: 1064-1139.

- JAYARAM, K.C. (1971). Contributions to study of the bagrid fishes. 6. The skeleton of *Rita gogra* (Sykes). *J. Zool. Soc. India*, 22: 117-145.
- JAYARAM, K.C. & R. SINGH (1984). Bagrid fishes. 16. The skull of *Chrysichthys auratus* (Pisces, Bagridae). *Rev. Zool. Afr.*, 98: 606-626.
- KAMRIN, R.P. & M. SINGER (1953). Influence of sensory neurons isolated from central nervous system on maintenance of taste buds and regeneration of barbels in the catfish, *Ameiurus nebulosus*. *Am. J. Physiol.*, 174: 146-148.
- KAMRIN, R.P. & M. SINGER (1955). The influence of the nerve regeneration and maintenance of the barbel of catfish, *Ameiurus nebulosus*. *J. Morphol.*, 96: 1973-1988.
- KINDRED, J. (1919). The skull of *Ameiurus*. *Biol. Monogr.*, 5: 1-120.
- LANDACRE, F.L. (1910). On the place of origin and method of distribution of taste buds in *Ameiurus melas*. *J. Comp. Neurol. Psychol.*, 17: 1-66.
- LAUDER, G.V., JR. (1981). Intraspecific functional repertoires in the feeding mechanism of the characoid fishes *Lebiasina*, *Hoplias* and *Chalceus*. *Copeia*, 1: 154-168.
- LAUDER, G.V., JR. & K.F. LIEM (1980). The feeding mechanism and cephalic myology of *Salvelinus fontinalis*. Form, function, and evolutionary significance. In: *Charr, salmonid fishes of the genus Salvelinus*. BALON, E.K. & W. JUNK (Eds). The Netherlands, Leiden: 365-390.
- LAUDER, G.V., JR. & K.F. LIEM (1983). The Evolution and Interrelationships of the Actinopterygian Fishes. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, 150: 95-197.
- LIEM, K.F. (1984). The muscular basis of aquatic and aerial ventilation in the air-breathing teleost fish *Channa*. *J. Exp. Biol.*, 113: 1-18.
- LIEM, K.F. (1991). A functional approach to the development of the head of teleosts: implications on the constructional morphology and constrains. In: *Constructional Morphology and Constraints*. SCHMIDT-KITTLER, N & K. VOGEL (Eds.). Springer-Verlag, Berlin: 231-249.
- LUNDBERG, J.G & A. MCDADE (1986). On the South American catfish *Brachyrhamdia imitator* Myers (Siluriformes, Pimelodidae), with phylogenetic evidence for a large intrafamilial lineage. *Notulae Nat.*, 463: 1-24.
- MCMURRICH, J.P. (1884). On the osteology of *Amiurus catus* (L.) Gill. *Zool. Anz.*, 168: 296-299.
- MO, T. (1991). Anatomy, relationships and systematics of the Bagridae (Teleostei: Siluroidei) with a hypothesis of siluroid phylogeny. *Theses Zoologicae*, 17: 1-216.
- OSSE, J.W.M. (1969). Functional morphology of the head of the perch (*Perca fluviatilis* L.): an electro-myographic study. *Neth. J. Zool.*, 19: 289-392.
- OTTEN, E. (1982). The development of a mouth-opening mechanism in a generalized *Haplochromis* species: *H. elegans* Trewavas 1933 (Pisces: Cichlidae). *Neth. J. Zool.*, 32: 31-48.
- REGAN, C.T. (1911). The classification of the teleostean fishes of the order Ostariophysi – 2. Siluroidea. *Ann. & Mag. Nat. Hist.*, 8: 553-577.
- SCHAEFER, S.A. & G.V. LAUDER (1986). Historical transformation of functional design: evolutionary morphology of feeding mechanisms in loricarioid catfishes. *Syst. Zool.*, 35: 489-508.
- SCHAEFER, S.A. & G.V. LAUDER (1996). Testing historical hypotheses of morphological change: biomechanical decoupling in loricarioid catfishes. *Evolution*, 50: 1661-1675.
- SINGH, B.R. (1967). Movements of barbels in some siluroid fishes. *Zool. Anz.*, 178: 402-412.
- SINGH, B.R. & J.S. DATTA MUNSHI (1968). The jaw muscles and their mode of working in two siluroid fishes. *Zool. Anz.*, 181: 356-370.
- TAKAHASI, N. (1925). On the homology of the cranial muscles of the cypriniform fishes. *J. Morphol.*, 40: 1-109.
- TAYLOR, W.R. & G.C. VAN DYKE (1985). Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybiurn*, 9: 107-119.
- TEUGELS, G.G. (1996). Taxonomy, phylogeny and biogeography of catfishes (Ostariophysi, Siluroidei): an overview. *Aquat. Living Resour.*, 9: 9-34.
- VANDEWALLE, P., P. BRUNIN & M. CHARDON (1986). Functional approach to the morphology of the buccal region of *Cteniloricaria platystoma* (Günther) (Pisces, Ostariophysi, Loricariidae) with respect to a peculiar respiration. *Zool. Anz.*, 217: 363-373.
- VANDEWALLE, P., P. SAINTIN & M. CHARDON (1995). Structures and movements of the buccal and pharyngeal jaws in relation to feeding in *Diplodus sargus*. *J. Fish Biol.*, 46: 623-656.
- VERRAES, W. (1977). Postembryonic ontogeny and functional anatomy of the ligamentum mandibulo-hyoidem and the ligamentum interoperculo-mandibulare, with notes on the opercular bones and some other cranial elements in *Salmo gairdneri* Richardson, 1836 (Teleostei: Salmonidae). *J. Morphol.*, 151: 111-119.
- WAINWRIGHT, P.C. & R.G. TURINGAN (1993). Coupled versus uncoupled functional systems: motor plasticity in the queen triggerfish *Balistes vetula*. *J. Exp. Biol.*, 180: 209-227.
- WINTERBOTTOM, R. (1974). A descriptive synonymy of the striated muscles of the Teleostei. *Proc. Acad. Nat. Sci. (Phil.)*, 125: 225-317.

Received: April 15, 1999

Accepted: July 5, 1999

Variation in sexual dimorphism between two populations of the Pyrenean salamander *Euproctus asper* from ecologically different mountain sites

Jordi Serra-Cobo¹, Franz Uiblein² and Juan Pablo Martínez-Rica¹

¹ Instituto Pirenaico de Ecología (CSIC), Avda. Montañana, 177. Apdo. 202. E-50080 Zaragoza, Spain

² Institute of Zoology, University of Salzburg, Hellbrunnerstr. 34, A-5020 Salzburg, Austria.

ABSTRACT. Morphological variation and ecological characteristics of habitats of two populations of the Pyrenean salamander *Euproctus asper* from the Flumen river, Prepyrenees, and the Salto del Pis torrent, Central Pyrenees, were studied to determine whether intraspecific differences in body form and sexual dimorphism occur and if they can be functionally related to ecological differences between the two study sites. While the Flumen river was found to be characterized by a Mediterranean-influenced moderate mountain climate and high eutrophication, the Salto del Pis torrent represents a typical alpine habitat with long winters accompanied by snow cover, frequent avalanches, and short, mostly cool summers. Uni- and multivariate comparisons were performed on 12 size-adjusted measures of body form and weight from a total of 85 living specimens, grouped according to sex and geographic origin. Major differences were found mainly in those characters that manifest sexual dimorphism, such as head size, tail length, tail depth, leg length, and body weight. Sexual dimorphism was more strongly expressed in the Central Pyrenean population where females showed longer tails and smaller heads, while males had more robust tails and higher body weights compared with the Flumen population. Based on ecomorphological considerations and previous genetic studies, we argue that geographic divergence in sexual dimorphism of the Pyrenean salamander reflects longterm evolutionary adaptations in response to increased selection pressures favouring high reproductive efficiency and reduced intersexual competition under alpine, high-mountain climate conditions.

KEY WORDS: Urodela, mountain climate, morphometrics, body size, reproduction.

INTRODUCTION

Sexual dimorphism facilitates mate choice based on traits that signal fitness. Sex-specific, conspicuous morphology, colouration, or behaviour may advertise good health, good condition, and reproductive advantage. Sexual dimorphism may also allow reduction of intraspecific competition through resource partitioning mediated by differential ecological, morphological, or behavioural specializations between the sexes. Larger body size in one sex, for instance, may indicate sexual selection for this trait by the other sex or may result from intersexual competition for certain food resources. If two populations live in ecologically different areas, geographic differences in sexual dimorphism may occur due to ecological con-

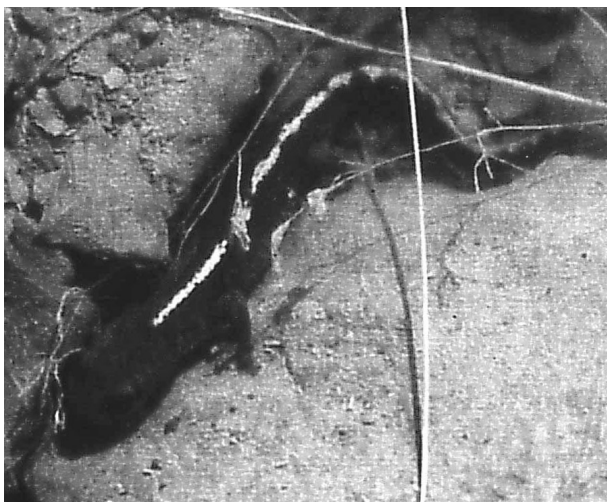
straints on sexual selection or competition (SELANDER, 1966; DOBSON & WIGGINTON, 1996; FRAFJORD & STEVY, 1998).

Recent investigations of fishes, amphibians, reptiles, and birds have emphasized that between geographically separated populations climatically induced differences in reproductive seasonality (UIBLEIN *et al.*, 1998), thermal ecology (NAVAS, 1996), morphology (BROWN *et al.*, 1991; LANDMANN & WINDING, 1995), and resource partitioning with other species (SERRA COBO *et al.*, 1998) may occur. Different climatic conditions may also influence the degree of sexual dimorphism in body size, as has been recently shown in North American bobcat and European fox populations (DOBSON & WIGGINTON, 1996; FRAFJORD & STEVY, 1998). However, sexes often differ not only in body size, but also in other traits that may be influenced by distinct ecological factors including site-related cli-

mate conditions. One species of particular interest in this respect is the Pyrenean salamander *Euproctus asper* (DUGÉS, 1852). This species lives in climatically different areas in the Pyrenees and in several geographically separated localities along the northern and southern margins of the major distribution area in brooks, lakes, springs, and aquatic caves at altitudes between ca. 200 and 3000 m (MARTÍNEZ-RICA & CLERGUE-GAZEAU, 1977; CLERGUE-GAZEAU & MARTÍNEZ-RICA, 1978; SERRA-COBO *et al.*, 1998). The Pyrenean salamander usually shows marked sexual dimorphism, with males having larger and more robust bodies with larger heads and cloacal tubes and shorter tails than females. In various earlier studies morphological differences were found between populations of the Pyrenean salamander from climatically different sites in the Pyrenees and isolated areas in the Spanish Prepyrenees (MARTÍNEZ-RICA, 1980; GASSER & CLERGUE-GAZEAU, 1981). Furthermore, in specimens from the Central Pyrenees the occurrence of melanism was reported (SERRA-COBO, 1989).

Here we investigate two populations of the Pyrenean salamander from two climatically different sites, the Flumen river in the Prepyrenees and the Salto del Pis torrent in the Central Pyrenees (Fig. 1). A short ecological characterization of the two sites is followed by a uni- and multivariate comparison of the two populations separated into four groups according to sex and geographic origin. Furthermore, the presence or absence of melanism was recorded in the two populations.

Geographical variation between populations may concern not only sexually dimorphic features, but also traits that are common to both sexes. The following questions were considered: (1) Do populations of *Euproctus asper* from different geographical sites differ in morphometric characters, and to what extent does this concern sexual dimorphism? (2) Is this morphological variation functionally related to ecological differences between the two sites?



MATERIAL AND METHODS

Study sites

The study area of the Prepyrenean population is situated in the upper Flumen river in the Sierra de Bonés about 60 km south of the central chain of the Pyrenees (42°20'N, 0°26'W) at an altitude of 1250 m. The other study site is located in the Salto del Pis torrent, below a waterfall in the upper river Ara valley near the Ordesa and Monte Perdido National Park (Central Pyrenees, 42°43'N, 0°08'W) at an altitude of 1520 m.

Between March and July in 1995-1997 both localities were visited repeatedly. To compare the ecological conditions between the two sites, measures of temperature, pH, and water velocity were performed on the same visiting days within an interval of a few hours. Water velocity was measured by a current meter that was positioned 5 cm above the bottom at selected places with reliable water flow throughout the study season. Measures of conductivity, dry residuals, and the concentrations of Mg⁺⁺, Ca⁺⁺, Na⁺, K⁺, Cl⁻, CO₃H⁻, and NO₃⁻ were also obtained. The latter analyses were done in the Instituto Pirenaico de Ecología using EDTA titration, flame photometry and colorimetric techniques.

Study of newts and measures obtained

For the morphometric measurements 85 *Euproctus asper* with total lengths between 87.2 and 116.6 mm were captured by hand at the two sites. Forty seven specimens from the Flumen river consisting of 25 males and 22 females, and 38 specimens from the Salto del Pis torrent consisting of 20 males and 18 females were measured immediately after capture, and then released at the collecting sites. This method did not cause any observable harm to the animals. In the Flumen river, all specimens were collected at one date, whereas two visits to the Salto



Fig.1. – Black-and-white photographs of two males of the Pyrenean salamander *Euproctus asper* from the Salto del Pis river, Central Pyrenees. The specimen on the left has a grey body with a contrasting yellowish dorsal band. The specimen on the right shows melanism with a entirely black body.

del Pis torrent were necessary. To avoid repeated observations of the same specimens, only the measures obtained from the males collected during the first visit and those from the females collected during the second visit were used for the subsequent comparison.

The following 13 measures were obtained (with abbreviations in brackets and followed by explanations where necessary): total length (TL); tail length (TAL): distance between the hind margin of the cloacal tube and the tip of the tail; maximum tail depth (TD); head length (HL); maximum head width (HW); maximum interorbital distance (IBE): distance between hind corners of the eyes; internasal distance (IN); minimum interorbital distance (IFE): distance between anterior corners of the eyes; eye length (EL); foreleg length (FLL): distance between the forward leg basis and distal extreme of the third finger; finger length (TF): length of third finger of forward leg; cloacal tube length (CL); total weight (W).

All morphometric measures were size-adjusted by performing log-log regressions with TL. Body weight was adjusted by calculation of the cubic roots followed by regression with log TL. All regressions were strongly correlated ($n=85$, $r > 0.28$) and highly significant ($p < 0.01$). The residuals of the regressions were subjected to a one-way ANOVA for determining possible differences among character scores. Tukey test was used to perform multiple comparisons among four groups, Flumen males (Fm), Flumen females (Ff), Salto del Pis males (Pm), and Salto del Pis females (Pm). To determine combined sets of variables with maximal separation among individuals belonging to the different groups, canonical variates analysis (CVA) was carried out. One-way ANOVA followed by Tukey test was used to examine the four groups for possible differences in the character scores produced by CVA.

Additional observations concerned the start of the reproductive period, i.e. the first date when amplexus formation was observed in either population. To determine the occurrence of melanism, the pigmentation of 61 individuals of the Salto del Pis population and of 194 individuals of the Flumen population was recorded. Only those individuals which were completely black were considered as showing melanism.

RESULTS

Ecological characterization of the study sites

The study area of the Flumen river is situated in a pasture zone dominated by *Pinus sylvestris* with some *Crataegus monogyna*. The river is about 0.4–3.0 m wide and 20–65 cm deep and descends moderately (3.5% slope) with a slow current velocity (Table 1). The increased value obtained in July corresponds with the maximum velocity in this

river, which usually occurs only immediately after thunderstorms. Water temperature ranged between 8 °C in March and 12 °C at the beginning of July. The water of the Flumen contains a higher concentration of salts than does that of the Salto del Pis (Table 1). The river bed consists of mud with partly anoxic conditions and of gravel and stones, mostly covered by algae. The hard bottom substrate is calcareous with numerous holes due to tuff formation, which serve as refuges for the newts. There is abundant aquatic vegetation, particularly in summer. The climate is typically supramediterranean with short winters between December and March. The precipitation is rather low throughout the year. Together with the Pyrenean salamander occur also the three amphibians *Bufo bufo*, *Rana perezi* and *Alytes obstetricans*. No fishes occur in the study area. Among the aquatic invertebrates, insects (e.g., *Notonecta* sp., *Gerris* sp.) and water snails are abundant. In summer the frequent presence of cattle in this area contributes to the eutrophication of the water.

The Salto del Pis torrent is situated in the beech-fir domain. The bed of the torrent is composed of sediments with larger grain size, mainly stones and small rocks, which originate from avalanches or from the upper parts of this torrent. The hard substrate is calcareous. The width

TABLE 1

Comparative environmental parameters recorded during four visiting days between March and July in the Flumen river and the Salto del Pis torrent.

Salto del Pis	March	April	May	July
Temperature	1°C	7°C	8°C	7°C
PH	8.08	8.25	8.25	8.13
Current velocity (m/s)	0.8	0.8	0.53	0.7
Conductivity (s/cm)	137	123	124	156
Mg ⁺⁺ (mg/l)	3.40	0.49	3.65	1.46
Ca ⁺⁺ (mg/l)	22.44	25.65	24.00	28.80
Na ⁺ (mg/l)	0.53	0.21	0.40	0.30
K ⁺ (mg/l)	0.11	0.06	0.10	0.10
Cl ⁻ (mg/l)	3.00	2.50	2.00	2.00
CO ₃ H ⁻ (mg/l)	70.20	70.20	0.80	92.70
NO ₃ ⁻ (mg/l)	0	0	0.8	0
Dry residue (mg/l)	0	152	70	92
Flumen	March	April	May	July
Temperature	8°C	10 °C	12 °C	11 °C
PH	7.86	7.46	7.91	7.79
Current velocity (m/s)	0.22	0.25	0.43	0.92
Conductivity (s/cm)	508	516	527	450
Mg ⁺⁺ (mg/l)	2.43	4.86	5.35	4.38
Ca ⁺⁺ (mg/l)	94.59	96.19	99.20	100.80
Na ⁺ (mg/l)	1.75	1.71	2.10	2.80
K ⁺ (mg/l)	0.48	0.46	0.50	0.80
Cl ⁻ (mg/l)	4.00	4.00	2.00	5.00
CO ₃ H ⁻ (mg/l)	328.20	322.70	344.70	243.40
NO ₃ ⁻ (mg/l)	0	0	0.4	0
Dry residue (mg/l)	198	326	288	264

is between 1.5-2.6 m and the water depth varies between 20 and 50 cm. Water velocity (Table 1) and the degree of inclination of the river bed (29%) are higher than in the Flumen river. The water temperature is much lower than in the Flumen and remains usually between the freezing point and less than 8°C till June. This is due to snow and ice accumulation caused by avalanches, which descend each year close to the torrent till May. Late snowfalls in the Central Pyrenees until July may cause additional reduction of water temperature during summer. However, the Salto del Pis and the Flumen may both reach similar maximum temperatures of around 20°C.

The water of Salto del Pis is more oligotrophic and has a slightly higher pH value than the Flumen (Table 1). Furthermore, the aquatic vegetation and the invertebrate fauna occur at much lower abundances. Mainly due to the

particular climatic conditions and repeated avalanche activity, which cause high variability in river bed structure, the Salto del Pis represents a much less stable habitat than the Flumen with typical alpine, high-mountain conditions.

Morphometric comparison

The means and standard deviations of the morphometric measurements obtained from each of the four groups are shown in Table 2. One-way ANOVA of log TL revealed significant differences among the four groups ($F_{(3,81)} = 7.08, p < 0.005$) with the females of the Flumen being significantly smaller than the other three groups according to multiple comparisons by Tukey test ($p < 0.05$). No other differences in TL could be found.

TABLE 2

Means and standard deviations of total length (TL; in mm), of 11 morphometric characters (in mm; see Materials and Methods for explanations of abbreviations), and of body weight (W; in g) in four groups of the Pyrenean salamander *Euproctus asper*.

	Flumen males (n=25)	Salto del Pis males (n=20)	Flumen females (n= 22)	Salto del Pis females (n=18)
TL	104.36±5.87	103.63±6.49	98.95±4.83	106.64±4.69
TAL	43.59±3.13	43.16±3.75	44.32±2.81	49.37±2.55
TD	7.53±0.64	8.06±0.73	5.53±0.45	5.62±0.51
HL	13.64±0.70	13.81±0.94	12.30±0.43	12.28±0.44
HW	12.13±0.86	11.70±0.82	10.24±0.45	9.70±0.49
IBE	8.64±0.65	8.89±0.71	7.73±0.37	8.22±0.37
IN	3.59±0.30	3.51±0.26	3.01±0.24	2.95±0.23
IFE	5.81±0.48	6.00±0.51	5.24±0.31	5.10±0.37
EL	3.20±0.26	3.00±0.18	2.84±0.16	3.20±0.21
FLL	18.30±0.90	18.40±1.02	16.08±0.89	16.60±0.54
TF	4.24±0.40	4.08±0.41	3.71±0.44	4.10±0.32
CL	6.68±0.67	6.85±0.70	5.42±0.49	6.55±0.57
W	4.84±1.00	5.89±1.28	3.40±0.47	4.10±0.85

TABLE 3

Means, F-values of one-way ANOVA, and results of multiple comparisons for the transformed values (multiplied by 10²) of 11 morphometric characters and body weight in four groups of the Pyrenean salamander. Parentheses separate those groups shown to be significantly different by Tukey test (* p < 0.02, ** p < 0.001).

	Flumen Males (Fm)	Salto del Pis males (Pm)	Flumen females (Ff)	Salto del Pis females (Pf)	F-value	p	Tukey test
TAL	-1.74	-1.88	1.50	2.67	40.81	**	(Fm,Pm)(Ff)(Pf)
TD	5.06	8.25	-6.25	-8.56	115.28	**	(Fm)(Pm)(Ff)(Pf)
HL	1.70	2.40	-1.27	-3.46	67.43	**	(Fm,Pm)(Ff)(Pf)
HW	3.97	2.65	-1.71	-6.37	123.11	**	(Fm,Pm)(Ff)(Pf)
IBE	1.04	2.50	-2.01	-1.76	16.92	**	(Fm,Pm)(Ff)(Pf)
IN	3.71	2.92	-2.23	-5.67	44.58	**	(Fm,Pm)(Ff)(Pf)
IFE	1.76	3.30	-1.39	-4.43	26.75	**	(Fm,Pm)(Ff)(Pf)
EL	1.59	-0.92	-1.67	0.86	7.14	**	(Fm,Pf)(Pm,Ff)(Pm,Pf)
FLL	1.99	2.42	-2.12	-2.87	53.30	**	(Fm,Pm)(Ff)(Pf)
TF	1.79	0.43	-2.15	-0.38	3.60	*	(Fm,Pm,Pf)(Pm,Ff,Pf)
CL	1.66	3.16	-4.43	-0.40	15.32	**	(Fm,Pm)(Fm,Pf)(Ff)
W	2.25	14.76	-7.38	-10.52	55.88	**	(Fm)(Pm)(Ff)(Pf)

The means of the size-adjusted, transformed values of the morphometric characters and body weight, and the results of one-way ANOVA with subsequent multiple comparisons are shown in Table 3. Accordingly, females differ significantly from males in having longer tails (TAL), and being smaller in TD, HL, HW, IBE, IN, IFE, FLL, and W. Females of the Flumen show significantly lower values in TAL, EL, and CL and higher values in HL, HW, and IN than females of the Salto del Pis. Males of the Flumen show particularly large eyes. Males of the Salto del Pis show thicker tails and a higher weight than all other groups.

Table 4 provides an overview of the results of the three canonical variates generated by the CVA. The first canonical variate (CV1) explains 79.03%, the second (CV2) 12.4%, and the third (CV3) 8.57% of total variance. The individual character scores for CV1 and CV2 are plotted in Fig. 2. The characters showing the highest correlations ($r > 0.4$) with CV1 were HW, TD, HL, FLL and W. One-way ANOVA of the character scores along CV1 and subsequent multiple comparisons revealed major differences between sexes and among the females of either site. W was highly correlated with CV2. Along this axis major differences in character scores were found between the sexes and the males of the two sites. CL showed a high correlation with CV3. The major differences were detected between the sexes and between the females of the two sites.

TABLE 4

Correlations of 11 morphometric characters and body weight with three canonical variates of the CVA based on four groups of the Pyrenean salamander. For each canonical variate the Eigenvalue, the percentage of variance explained, the F-values of ANOVA from comparisons among the character scores of either group, and the results of multiple comparisons are given. Parentheses separate those groups shown to be significantly different by Tukey test (** $p < 0.001$).

	CV1	CV2	CV3
TAL	-0.388	0.086	-0.134
TD	0.629	-0.377	0.394
HL	0.497	-0.217	-0.033
HW	0.677	0.110	-0.195
IBE	0.221	-0.220	0.259
IN	0.410	0.017	0.004
IFE	0.307	-0.202	-0.062
EL	0.032	0.267	0.369
FLL	0.435	-0.146	0.279
TF	0.081	0.081	0.237
CL	0.157	-0.149	0.524
W	0.383	-0.615	0.217
Eigenvalue	9.82	1.54	1.07
% variance	79.03	12.40	8.57
F-value	265.13	41.60	28.77
p	**	**	**
Tukey test (Fm,Pm)(Ff)(Pf) (Fm)(Pm)(Ff,PF) (Fm,Pm)(Pf)(Ff)			

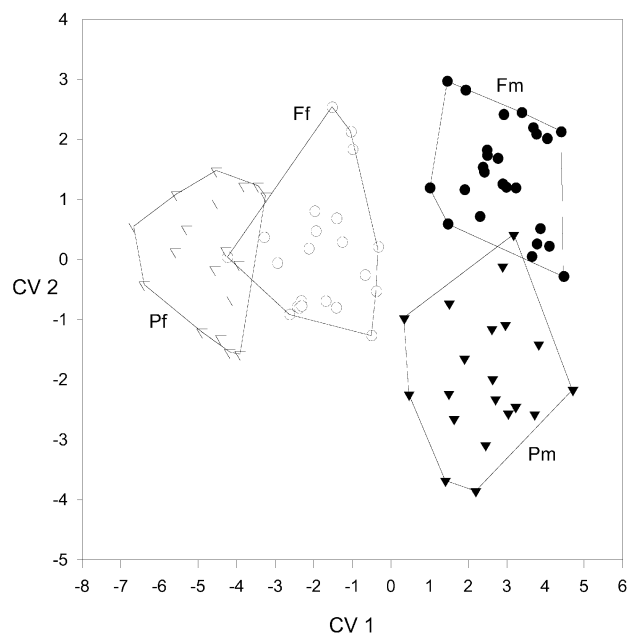


Fig. 2. Scores for the first and second canonical variate (CV1, CV2) generated from 12 morphometric characters of males and females of the Flumen river (Fm, Ff) and males and females of the Salto del Pis torrent (Pm, Pf).

Of all cases entered into the CVA, 95.29% were correctly classified. Only two males of Salto del Pis torrent and two females of Flumen river were classified as belonging to the other site, respectively. Sexes were correctly classified for all cases.

Further observations

In the Flumen, the first occurrence of reproductive behaviour indicated by amplexus formation between males and females was recorded in March. In the Salto del Pis torrent, reproductive activity started much later and at the earliest in the middle of April or in the beginning of May. In the Flumen amplexus formation was observed both in the central stream and the marginal areas while in the Salto del Pis it occurred mainly in areas with reduced water flow. However, in most of these microhabitats current velocity was still higher than in the central stream areas of the Flumen.

Of the 29 males and 32 females of the Salto del Pis examined for the occurrence of melanism, 2 (6.9%) and 6 (18.8%), respectively, showed a completely black colouration. None of the 194 individuals of the Flumen population showed any indication of melanism.

DISCUSSION

The Flumen river and the Salto del Pis torrent are characterized by differences in climatic as well as in other ecological conditions. The morphological differences between the populations of the Pyrenean salamander living in these two habitats are to a considerable

extent related to sexual dimorphism and may reflect distinct influences of the conditions prevailing in the respective habitats.

The results of the univariate and multivariate comparisons among the four groups indicate clear site- and sex-related variations. Sexual dimorphism concerns mainly the following characters: females have thinner and longer tails, smaller heads, shorter legs, shorter cloacal tubes, and less weight than males. This dimorphism is not equally expressed at the two study sites. Females of the Salto del Pis show rather thin, long tails and males from this site show a particularly high weight and thick tails. In the Flumen sexual dimorphism was also found in body length and eye size with higher values in males than in females.

The strongly expressed sexual dimorphism in the Pyrenean salamander points to different trends of adaptation in males and females. Males have large, heavy bodies and heads, with long legs and short, robust tails that may assist them in walking on the bottom without being carried away by the water flow and/or in efficiently foraging for large and evasive prey. In a comparison of the feeding behaviour of several populations of the Pyrenean salamander, MONTORI (1988) showed that females frequently feed on smaller-sized prey items than do males. The smaller head size may hence induce females to select smaller prey and allow a reduction in intersexual food competition.

The differences in tail form may have been caused by sexual selection for long thin tails in females and strong robust tails in males. Observations of the reproductive behaviour revealed that after presenting their tails in a straight upward position as a courtship display, males embrace approaching females at their tail thus forming an amplexus with direct transfer of spermatophores from the male to the female cloaca (BARBADILLO ESCRIVA, 1987; LENGVENUS & PARZEFALL, 1992).

In an earlier comparison between the Flumen and Central Pyrenean populations, MARTÍNEZ-RICA (1980) found clear differences in their reproductive periods. Amplexus formation started much earlier in the Prepyrenean population. This finding is consistent with our observations. The need to reproduce successfully within a relatively short time interval may have led to increased sexual selection in the Salto del Pis population with the consequence of a more advanced sexual dimorphism. The strong tail of males enables them to efficiently embrace the females during formation of the amplexus. The long and thin tail of the females may facilitate the embracement by the males. It may also assist in swimming or keeping a firm position in the relatively fast flowing water or provide less drag and resistance during amplexus formation. The larger size in the females and the heavier bodies in the males of the Salto del Pis may be related to the particularly long or robust tails in either sex, respectively. A large body may also entail the additional

advantage of improving the energy conservation capabilities, which may be particularly important under the extreme climatic conditions of the Central Pyrenees.

The presence of melanism in the Salto del Pis population concerns both sexes, but only a few individuals. It may be a response to the lower temperatures in this alpine habitat allowing a better thermoregulation through absorption of more radiation leading to an increased body temperature. Melanism has been observed in many mountain-dwelling animals (MARGALEF, 1991). In the Pyrenean salamander it has been found in several populations from the central chain of the Pyrenees, but not in the Prepyrenees (SERRA-COBO, 1989).

The Pyrenean salamander is considered to be a relict species that originated in the early tertiary (HERRE, 1935; STEINER, 1950; GASSER & CLERGUE-GAZEAU, 1981). The ecological characteristics of the two sites reflect mainly climatic differences, which may have exerted different selective pressures on these two apparently isolated populations over long evolutionary time periods. This influence should have led to genetically manifested, morphological, behavioural, and physiological differentiation. The electrophoretic study of GASSER & CLERGUE-GAZEAU (1981) based on the analysis of seric proteins indicated clear genetic differences between the Pyrenean salamander of the Flumen river and various populations of the Central Pyrenees.

The present study provides to our knowledge the first clear evidence for variation in sexual dimorphism among populations of the Pyrenean salamander from geographically separated, ecologically different sites. One conclusion to be derived from these data is that the extreme climatic conditions prevailing at the Central Pyrenean site may have exerted a high selection pressure on several sexually dimorphic traits with the expected effects of increased reproductive efficiency and reduced intersexual competition.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Carmen Pérez and Dr. Melchor Maestro for assistance in the analyses of water samples. The cooperation with the Parque Natural de la Sierra de Guara and the Dept. of Vida Silvestre de la Diputación General de Aragón throughout this study is gratefully acknowledged. The work was carried out within the framework of the European project VAMPHIRE.

REFERENCES

- BARBADILLO ESCRIVA, L.J. (1987). *La Guía de Incafo de los anfibios y reptiles de la península Iberica, Islas Baleares y Canarias*. INCAFO, Madrid.
- BROWN, R.P., R.S. THORPE & M. BÆZ (1991). Parallel within-island microevolution of lizards on neighbouring islands. *Nature*, 352: 60-62.
- CLERGUE-GAZEAU, M. & J.P. MARTÍNEZ-RICA (1978). Les différents biotopes de l'urodèle pyrénéen: *Euproctus asper*.

- Bulletin Société d'Histoire Naturelle Toulouse*, 114: 461-471.
- DOBSON, F. & J.D. WIGGINTON (1996). Environmental influences on the sexual dimorphism in body size of western bobcats. *Oecologia*, 108: 610-616.
- FRAFJORD, K. & I. STEVY (1998). The red fox in Norway: morphological adaptation or random variation in size? *Z. Säugetierkunde*, 63: 16-25.
- GASSER, F. & M. CLERGUE-GAZEAU (1981). Les protéines sériques de l'urodèle *Euproctus asper* (Dugès). Elements de différenciation génétique dans les Prepyrénées espagnols. *Vie et Milieu*, 31: 297-302.
- HERRE, W. (1935). Die Schwanzlurche der mitteleocänen (oberlutetischen) Braunkohle des Geiseltales und die Phylogenie der Urodelen unter Einschluss der fossilen Formen. *Zoologica*, 87: 1-85.
- LANDMANN, A. & N. WINDING (1995). Adaptive radiation and resource partitioning in Himalayan high-altitude finches. *Zoology*, 99: 8-20.
- LENGVENUS, W. & J. PARZEFALL (1992). The role of the visual reaction in the behaviour of an epigeal and a cave living population of *Euproctus asper* Duges (Salamandridae, Urodela). *Mém. Biospéol.*, 19: 111-115.
- MARGALEF, R. (1991). *Ecología*. Ed. Omega, Barcelona.
- MARTÍNEZ-RICA, J.P. (1980). Algunos datos sobre las poblaciones meridionales de tritón pirenaico, *Euproctus asper* Dugès. *Studia Oecologica*, 2: 135-154.
- MARTÍNEZ-RICA, J.P. & M. CLERGUE-GAZEAU (1977). Données nouvelles sur la répartition géographique de l'espèce *Euproctus asper* (Dugès). *Bulletin Société d'Histoire Naturelle Toulouse*, 113: 318-330.
- MONTORI, A. (1988). *Estudio sobre la biología y ecología del tritón pirenaico Euproctus asper (Dugès, 1852) en la Cerdanya*. PhD thesis, Univ. Barcelona.
- NAVAS, C.A. (1996). Implications of microhabitat selection and pattern of activity on the thermal ecology of high elevation neotropical anurans. *Oecologia*, 108: 617-626.
- SELANDER, R.K. (1966). Sexual dimorphism and differential niche utilization in birds. *Condor*, 68: 113-151.
- SERRA-COBO, J. (1989). Presencia de tritón melánico (*Euproctus asper*) en el Parque Nacional de Ordesa y Monte Perdido. *Lucas Mallada*, 1: 203-204.
- SERRA-COBO, J., G. LACROIX G. & S. WHITE (1998). Comparison between the ecology of the new European frog *Rana pyrenaica* and that of four Pyrenean amphibians. *J. Zool.*, 246: 147-154.
- STEINER, H. (1959). Die Differenzierung der paläarktischen Salamandrinen während des Pleistozäns. *Rev. Suisse Zool.*, 57: 590-603.
- UIBLEIN, F., F. BORDES, R. CASTILLO & A. RAMOS (1998). Spatial distribution of shelf- and slope-dwelling fishes collected by bottom longline off Lanzarote and Fuerteventura, Canary Islands. *Marine Ecology*, 19: 53-66.

Received: June 9, 1999

Accepted: September 13, 1999

Nematode species of the order Tylenchida, new to the Belgian Nematofauna with additional morphological data

Wim Bert and Etienne Geraert

University of Gent, Zoological Institute, Ledeganckstraat 35
B-9000 Gent, Belgium

ABSTRACT. Ten nematode species belonging to the order Tylenchida were recorded for the first time in Belgium: *Tylenchus arcuatus*, *Coslenchus polonicus*, *Basiria graminophila*, *Cephalenchus leptus*, *Pratylenchus flakkensis*, *Hirschmanniella loofi*, *Hirschmanniella gracilis*, *Helicotylenchus varicaudatus*, *Paratylenchus similis* and *Gracilacus aculenta*. The genera *Cephalenchus* and *Hirschmanniella* are first genera records. For each species, morphometrical and morphological information is presented. Special attention has been given to the female reproductive system. The nematofauna review of the Nematofauna of Belgium (COOMANS, 1989) has been updated: records from our study as well as from others were added.

KEY WORDS: Belgium, female reproductive system, morphology, nematofauna, SEM, Tylenchida.

INTRODUCTION

As Belgium has a long "nematological tradition", the Belgian nematofauna has been relatively well studied. Within the terrestrial nematodes, the economically important plant parasitic nematodes belonging to the order Tylenchida have been profoundly examined. However, recently, greater attention has been paid to the more natural habitats and non-conventional crops such as orchards. As a result, ten species were found that had not yet been recorded for the Belgian fauna. The morphometrical dimensions of these species are given and compared with the original descriptions. Also, some remarkable morphological aspects are discussed. Special attention is given to cellular structure of the female reproductive system. GERAERT (1972, 1976) and GERAERT *et al.* (1980a, 1980b) provided detailed descriptions of the cellular structure of the female reproductive system of different nematode orders, and pointed out the importance of the morphology of female reproductive systems in nematode systematics (GERAERT, 1981, 1983). In this paper we provide some results on the female reproductive system of the nematodes listed in this study. More conclusions, including considerations of relationships and phylogenetic implications, will be discussed in following papers.

In the second part of this paper, we update the review of the nematofauna of Belgium (COOMANS, 1989). This review discussed the nematological history in Belgium and provided a species listing up to 1989. In addition to the species discussed in our study, we add some species belonging to the order Tylenchida, which have not yet been mentioned in this listing, and species recorded after 1989.

MATERIAL AND METHODS

Soil samples were collected from several localities in Belgium. Extraction of the nematodes was performed by a simple substitute for the Baermann funnel (SCHLINDER, 1961) or centrifugal-flotation method (CAVENESS & JENSEN, 1955). They were then killed and fixed using hot formalin (4% with 1% glycerol), processed into anhydrous glycerol (SEINHORST, 1959), mounted on aluminium slides with double cover slips, and examined by lightmicroscope (LM). For scanning electron microscope (SEM) observations, glycerine-embedded nematodes were first transferred into a drop of glycerine, then distilled water was added gradually (over a period of four hours) until the nematodes were almost in pure water. Ultrasonic treatment was used for about 8-10 minutes in order to remove adhering particles as much as possible. The nematodes then were initially dehydrated by passing them gradually through ethanol concentrations of 25, 50, 75, 95, and 100% at two hourly intervals,

followed by an overnight dehydration in 100 % ethanol. After critical-point drying with carbon dioxide, dried specimens were sputter coated with a layer of gold and examined with a JEOL JSM-840 at 15 kV.

In order to study the female reproductive structure, gonads were first extruded: the living females were cut with an eye-knife in the region of the vulva. After extrusion of the gonads, a drop of acetic orcein or acid fuchsin stain was added, the gonads covered by a coverslip, and studied immediately with LM. A similar method was also used by GERAERT (1972).

To update the list of nematodes recorded in Belgium (COOMANS, 1989) according to recent nomenclatorial changes, the reappraisal of *Tylenchina* (FORTUNER, 1987; GERAERT & RASKI, 1987; LUC, 1987; MAGGENTI *et al.*, 1987; LUC *et al.*, 1988 & MAGGENTI *et al.*, 1988) was mainly used for the superfamily Tylenchoidea, HUNT (1993) was used as a reference for the suborder Aphelenchina, and SIDDIQI (1986) was consulted for the suborder Hexatyline. BRZESKI (1998) and BONGERS (1988) were the major works consulted for the geographical distribution in Europe of the species we found in this study.

ABBREVIATIONS USED IN TEXT AND TABLES

L:	total length
L':	distance from anterior end to anus
a:	L divided by body width
b:	L divided by neck length
c:	L divided by length of the tail
c':	tail length divided by width at anus level
V:	distance from anterior end to vulva as percentage of total length
V':	distance from anterior end to vulva as percentage of L'
MB:	distance from anterior body end to centre of valves as percentage of neck length
E. pore:	distance of excretory pore from anterior end
Deirid:	distance of deirid from anterior end
DGO:	distance from dorsal pharyngeal gland orifice to stylet base
O:	DGO as percentage of stylet length
V-a:	distance from the vulva to the anus
PUS:	length of postvulval uterine sac
Spicule:	spicule length
Guber.:	gubernaculum length
Annul.:	mean width of annuli at mid-body

All the measurements presented in Tables are in μm . The dimensions and ratios of the specimens are presented as "mean \pm standard deviation (range)".

RESULTS AND DISCUSSION

Tylenchus arcuatus Siddiqi, 1963

Two populations of *T. arcuatus* were found: in an apple orchard at Vliermaal and in the vicinity of a willow tree

(*Salix matsudana* Koidz) at the botanical garden of the University of Gent. These locations both have a sandy loam soil. The Vliermaal population has a more slender body and a slightly longer tail, which results in a high c' value (7.4) compared with a c' value of 5 in the original description. In this aspect the specimens from the Vliermaal population come close to *Tylenchus davainei* Bastian, 1865. The latter species, however, has a longer body size and a hooked tail instead of a ventral arcuate tail. Both populations had a slightly longer stylet compared with the original description (a mean value of $16.7 \mu\text{m}$ for the specimens from Gent and $16.1 \mu\text{m}$ for the Vliermaal population compared with $15 \mu\text{m}$ in the original description). The bend of the tail is also more pronounced (Fig. 2G) compared with the figures of the original description, although this can be due to the influence of fixation. Distribution in Europe: France, the Netherlands, Poland and Hungary.

Female reproductive system: the oviduct contains two rows of four cells (Fig 3A), the non-offset spermatheca

TABLE 1
Morphometrical data of *Tylenchus arcuatus*
from Gent and Vliermaal (measurements in μm)

	Gent	Vliermaal
n	3 EE	5 EE
L	748 \pm 33 (707-774)	682 \pm 10 (671-696)
L'	655 \pm 23 (626-674)	580 \pm 7 (565-587)
a	25.7 \pm 0.9 (25.6-26.8)	30.2 \pm 1.2 (28.5-31.4)
b	6.6 \pm 0.4 (6.2-6.9)	6.6 \pm 0.2 (6.3-6.9)
c	8.1 \pm 0.5 (7.7-8.8)	6.8 \pm 0.7 (6-7.9)
c'	4.7 \pm 0.1 (4.6-4.7)	7.4 \pm 0.8 (5.9-8.4)
V	69 \pm 0.9 (68.8-70.6)	65.6 \pm 2.8 (62.8-69.3)
V'	79.3 \pm 0.3 (79-79.7)	77.1 \pm 2.1 (74.9-80.3)
Stylet	16.7 \pm 0.5 (15.9-16.8)	16.1 \pm 1 (14.2-17.2)
Pharynx	112.9 \pm 1.7 (111.6-115)	103.3 \pm 3.6 (97.2-107.3)
MB	44.4 \pm 1 (44-46)	47.3 \pm 1.8 (45.1-50.5)
E. pore	111.3 \pm 3.1 (106.3-112.6)	92.7 \pm 2.1 (89.9-95.2)
Deirid	113.5 \pm 1.7 (112.6-115.9)	94.4 \pm 2.9 (90.4-99.1)
V-a	135.6 \pm 7 (127.5-141.4)	133.1 \pm 11.9 (114.5-147.7)
Tail	93.5 \pm 9.6 (80.8-100)	101.7 \pm 11 (85.1-113.5)
Annul	1.6 \pm 0.1 (1.5-1.6)	1.5 \pm 0 (1.4-1.5)
n	4 DD	5 DD
L	697 \pm 25 (660-728)	629 \pm 23 (596-662)
L'	600 \pm 22 (578-631)	595 \pm 16 (574-615)
a	26.4 \pm 1.3 (25.3-28.2)	28.5 \pm 0.5 (28.2-29.3)
b	6 \pm 0.2 (5.7-6.3)	6 \pm 0.1 (5.8-6)
c	7.5 \pm 0.4 (7-8.1)	7.6 \pm 0.1 (7.6-7.7)
c'	5.6 \pm 0.3 (5.2-6)	6.4 \pm 0.2 (6.2-6.8)
Stylet	15.8 \pm 0.5 (15-16.4)	15.2 \pm 0.7 (14.1-16)
Pharynx	116 \pm 4.3 (110-120)	104 \pm 3.3 (101.5-109.4)
MB	46 \pm 0.8 (45-47)	46.3 \pm 0.9 (45-47.3)
E. pore	102 \pm 2.2 (100-105)	91 \pm 3.9 (88-96.4)
Deirid	104 \pm 2.1 (101-107)	89.2 \pm 0.2 (89-89.5)
Spicule	24.5 \pm 1.5 (22.6-26)	23.2 \pm 2.5 (19.7-26)
Guber.	6.6 \pm 0.5 (5.8-7.2)	6.1 \pm 0.4 (5.8-6.7)
Annul	1.4 \pm 0.2 (1.3-1.6)	1.5 \pm 0 (1.5-1.5)

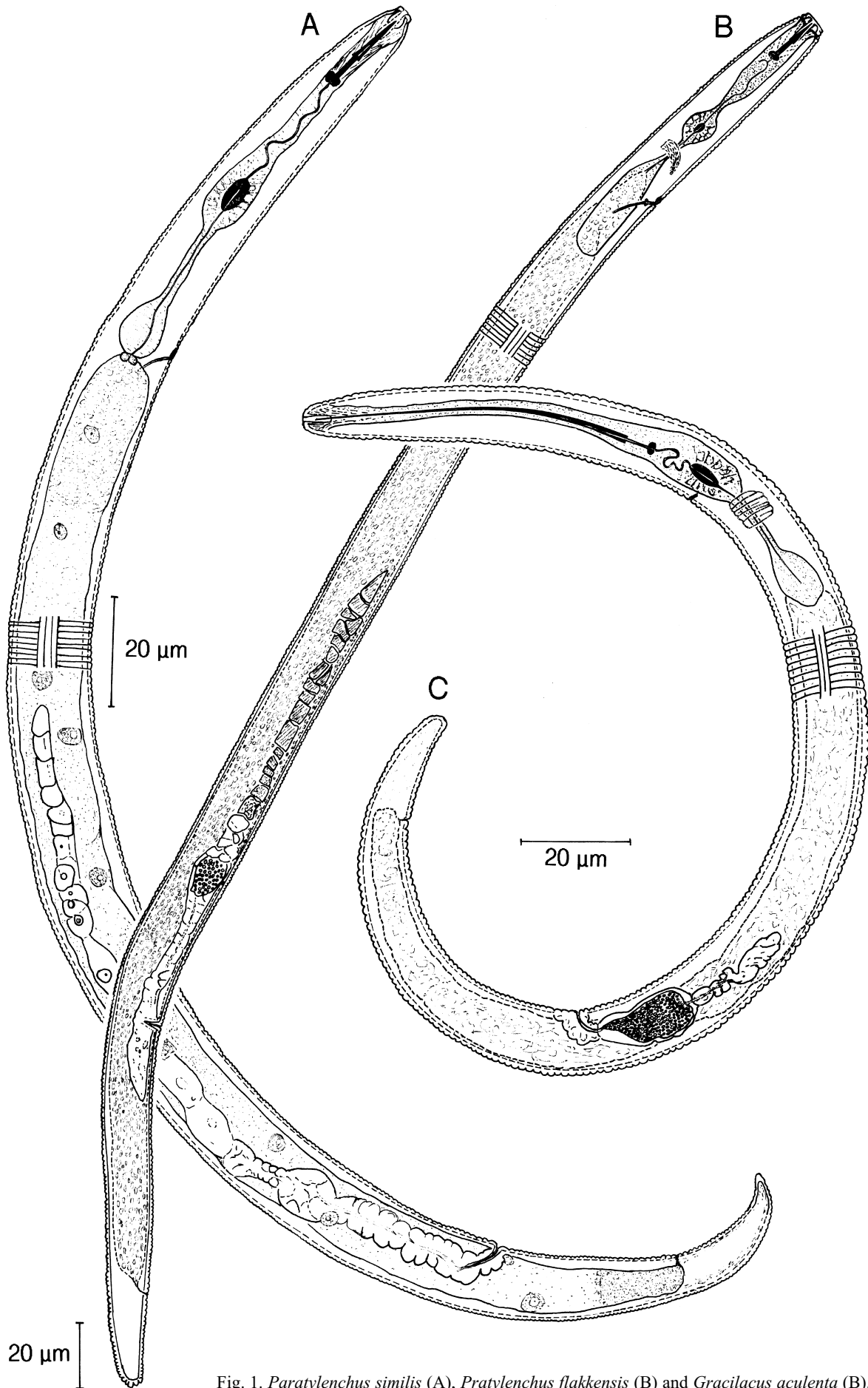


Fig. 1. *Paratylenchus similis* (A), *Pratylenchus flakkensis* (B) and *Gracilacus aculeata* (B).

consists of two parts: - twelve cells, of which the last two cells close to the uterus are remarkably bigger, and - two large cells, which form a structure that could be homologous to what is called "fertilisation room" for species with offset spermatheca. Although *Tylenchus arcuatus* has a non-offset spermatheca, the basic structure is comparable to the *Tylenchus* species with an offset spermatheca, as described by GERAERT (1972). In the excised gonads only twelve large cells were counted in the uterus, and they were more or less arranged in four rows. In the specimens preserved in glycerine a quadricolumella with twenty cells was found.

Basiria graminophila Siddiqi, 1959

- = *Tylenchus (Filenchus) gramminophila* (Siddiqi, 1959) Goodey, 1963
 = *B. incita* Szczygiel, 1969 = *B. nasikensis* Darekar & Khan, 1979 = *B. asaraensis* Khan, 1982
 = *B. Pakhi* Hashim, 1985 = *B. elegans* Patil & Khan, 1983 = *B. patil* Fortuner, 1985
 = *B. bajorensis* Khan & Bilqees, 1993

B. graminophila was found in a small potato field in Schorisse (Flemish Ardennes). The main difference from the original description lies in the position of the dorsal pharyngeal gland orifice: it was situated further back (9-12 µm) in the original description, compared with our population (7-8 µm). However, BRZESKI (1998) mentioned a DGO range from 2.5 to 10 µm for *B. graminophila*. Our morphometrical data (Table 2) correspond with the data for *B. graminophila* presented by KAREGAR & GERAERT (1997). In their paper a wide range of morphometrical variation is presented, which has led to five new synonymies retained for *B. graminophila*. Distribution in Europe: the Netherlands & Poland.

TABLE 2

Morphometrical data of *Basiria graminophila*

n	5 EE	1 D
L	673±21 (643-704)	593
L'	574±23 (546-610)	493
a	39.2±1.2 (37.6-40.6)	36.26
b	6.2±0.2 (5.9-6.5)	5.7
c	6.8±0.4 (6.4-7.5)	6
c'	8±0.8 (7-9.2)	7.2
V	67.5±1.2 (65.9-68.9)	
V'	79.2±1.3 (77.6-81.2)	
Stylet	11.4±0.1 (11.3-11.5)	10.1
Pharynx	108.9±2.8 (105.3-112.6)	104.4
MB	51.8±0.3 (51.4-52.2)	50.2
E. pore	91.2±1.9 (88.5-92.8)	84.7
Deirid	90.2±0.5 (89.5-90.7)	52.4
V-a	119.2±6.7 (107.7-125.1)	
Tail	99.4±3.7 (94.3-105.3)	99.6
Annul	1.4±0 (1.3-1.4)	1.4
Spicule		15.4
Guber.		4.3

Within the female reproductive system (Fig 3C) the oviduct consists of two slightly coiled rows of five cells. A long axial sac of sixteen cells forms the spermatheca, which begins and ends with two cells, in the rest of the spermatheca the cells are grouped in fours, two by two at the same level. The oviduct and the spermatheca of *B. graminophila* are similar to those of *Ditylenchus* spp. (WU, 1958; 1967). *Psilenchus hilarulus* de Man, 1921 a member of the same subfamily as *Basiria* (Boleodorinae) also has a long axial spermatheca with sixteen cells; in the oviduct however, only eight cells were counted (GERAERT, 1981).

Coslenchus polonicus Brzeski, 1982

C. polonicus was collected in a wet habitat (sandy loam soil with a high peat content) situated in the nature reserve Bourgoyen-Ossemeersen near Gent. Our population closely corresponds to the original description (for morphometrical dimensions see Table 3). However, no males were found. In Europe *C. polonicus* has only been found in Poland.

The female reproductive system (Fig 3B) was characterised by an oviduct with two rows of four cells; a filled spermatheca with a clear offset part (twelve cells) followed by four big cells in line with the uterus; the uterus cells themselves arranged in four rows.

TABLE 3

Morphometrical data of *Coslenchus polonicus*

n	7 EE
L	721±71 (605-810)
L'	602±63 (505-687)
a	45.2±2.5 (41.9-48.9)
b	6.7±1 (5-8.1)
c	6.1±0.3 (5.7-6.6)
c'	11±1.1 (8.7-12.7)
V	65.9±0.9 (64.3-66.8)
V'	79.1±0.8 (77.8-79.8)
Stylet	14±0.8 (13-14.9)
Pharynx	109.7±8.6 (96.2-121.2)
MB	48.5±0.3 (48.2-49)
E. pore	88±2.5 (83.7-90.9)
Deirid	92±3.9 (86.6-97.2)
V-a	124.6±16.5 (102.5-146.2)
Tail	119.1±9.6 (100-133.7)
Annul	2.3±0.1 (2.2-2.5)

Cephalenchus leptus Siddiqi, 1963

= *C. limichus* Nesterov, 1973.

C. leptus was found in sandy loam soil of an apple orchard at Vliermaal. This population closely corresponds with the original description (Table 4). However, the body annuli are smaller and the smallest value overlaps with the value for body annuli of *Cephalenchus limichus* Nesterov, 1973. RASKI & GERAERT (1986a) proposed *C. limichus* as

a junior synonym of *C. leptus*, all differences were bridged by overlapping dimensions, except for the width of the body annuli. Consequently the overlapping body annuli values found in this study support the synonymisation of *C. limichus* and *C. leptus*. European distribution: The Netherlands & Poland.

The oviduct of the female reproductive system (Fig 3D) contained two coiled rows of five, six or seven cells. This is remarkable as two rows of four cells is most common within the Tylenchina. Within this suborder, an oviduct containing such a high number of cells has not been found so far. The non-offset elongated spermatheca contains four rows of three cells, followed by a uterus with also four rows of cells. In the specimens preserved in glycerine the crustaformeria-part of the uterus, containing about seven or eight cells in each of the four rows, was followed by a transition zone of several cells before the uterine sac. This rather high number of uterus cells was used as one of the characteristics of the subfamily Tylodorinae (to which *Cephalenchus* belongs) (GERAERT & RASKI, 1987).

TABLE 4

Morphometrical data of *Cephalenchus leptus*

n	6 EE
L	655±37 (617-706)
L'	451±34 (407-498)
a	41.1±7.1 (33.4-49.3)
b	7.1±0.6 (6.5-8.2)
c	3.1±0.2 (2.8-3.4)
c'	21.4±4 (16.7-25.6)
V	56.5±1.5 (54.8-59)
V'	83.4±0.4 (82.9-83.9)
Stylet	17.6±0.8 (16.2-18.8)
Pharynx	93.8±6.2 (85.1-101)
MB	41.6±0.6 (41-42.6)
E. pore	68.6±5.9 (60.7-74.9)
Deirid	70.2±0.9 (69.2-71.3)
V-a	74.9±5.4 (69.3-80.8)
Tail	212.6±8.8 (201.5-227.5)
Annul	1.8±0.2 (1.5-2.1)
Pus	15.6±0.6 (14.4-15.9)

Pratylenchus flakkensis Seinhorst, 1968

P. flakkensis was found together with *Helicotylenchus varicaudatus*, *Paratylenchus similis* and *Gracilacus aculenta* (see below) in the light sandy loam soil along the watercourse of the Moervaart-canal (Eksaarde, Lokeren). The vegetation was dominated by *Arrhenatherion elatius* and *Holcus lanatus*.

A total body drawing from a glycerine mounted specimen is illustrated in Fig. 1B. The female and male tail are illustrated with SEM photographs (Figs 2,E & F). The morphometrical data are given in Table 5. The stylet length (a mean of 16.3 µm for the female, 14.8 µm for the male) of our population is shorter compared with the orig-

inal description (17 µm for the female, 16 µm for the male). FREDERICK AND TARJAN (1989), however, mentioned a female stylet variation for *P. flakkensis* ranging from 14 to 17 µm, and BRZESKI (1998) a stylet range from 15 to 18µm. Along with a smaller stylet, the total body length of the male is shorter (0.32-0.38 versus 0.42-0.49 in the original description); other aspects are similar to the original description. European distribution: The Netherlands, Germany, Denmark and Poland.

The spermatheca outlook as seen from glycerine mounted specimens (Fig. 1B) is similar to the one drawn and described by SEINHORST (1968).

TABLE 5

Morphometrical data of *Pratylenchus flakkensis*

n	7 EE	4 DD
L	465±26 (421-484)	351±24 (324-383)
a	28.3±2 (24.9-30.3)	23.8±1 (22.8-24.9)
b	6.4±0.4 (5.7-6.8)	4.8±0.3 (4.4-5)
b'	5.7±2.6 (3.9-10.1)	3.6±0.2 (3.2-3.8)
c	17.5±1.1 (16.6-19.3)	17.4±0.7 (16.4-18.1)
c'	2.3±0.2 (2-2.6)	2.1±0.2 (1.9-2.4)
V	77.4±1.5 (76-79.9)	
Stylet	16.1±0.3 (15.7-16.6)	14.8±0.2 (14.4-14.9)
Pharynx	72.3±1.8 (69.7-74.1)	73.9±2.4 (71.2-77)
MB	66.1±2.9 (61.7-69.8)	61.4±1.6 (59.5-63.4)
E. pore	76±3.1 (71.2-79.4)	66.1±0.8 (64.9-66.9)
DGO	4.2±0.6 (3.6-4.8)	2.9±0.1 (2.9-3)
V-a	78±4.5 (71.7-85.6)	
Tail	26.1±2.1 (23.6-28.9)	20.2±1 (19.2-21.6)
Annul	1.2±0 (1.2-1.2)	
Spicule		14.9±0.8 (13.9-15.9)
Guber.		4.9±0.3 (4.5-5.3)

TABLE 6

Morphometrical data of *Hirschmanniella loofi*

n	5 EE	5 DD
L	2506±231 (2221-2862)	2098±96 (2010-2231)
a	60.4±4.4 (53.1-64.5)	55.8±6.9 (47.8-64.6)
b	4.6±0.4 (4.2-5.4)	4.9±0.1 (4.7-5.1)
b'	15.8±1.4 (14.8-18.2)	13±0.8 (11.9-14)
c	18.9±0.9 (17.8-19.8)	17.8±0.4 (17.3-18.1)
c'	4.3±0.1 (4.1-4.4)	5.6±0.3 (5.2-6)
V	53.8±0.5 (52.8-54.2)	
Stylet	35.9±1.5 (33.6-38.3)	32.7±1.4 (31.3-34.5)
Pharynx	544±353 (494-591)	442±28 (404-473)
MB	19.2±1.2 (18.2-21.1)	25.3±1.7 (23.6-27)
E. pore	172±5 (164-178)	153±9 (143-166)
DGO	5±1.9 (3.4-8.2)	4.2±0.2 (3.9-4.5)
V-a	1248±132 (1048-1407)	
Tail	128.5±11.3 (113-144.3)	119±4.2 (113.5-123.6)
Annul	2±0 (2-2)	1.7±0 (1.6-1.7)
Spicule		38.7±1.4 (37-40.5)
Guber.		12.6±0.9 (11.5-13.8)

***Hirschmanniella loofi* Sher, 1968 & *H. gracilis* (de Man, 1880) Luc & Goodey, 1962**

H. loofi and *H. gracilis* were collected at Bourgoyen-Ossemeersen (Gent) near the sampling site of *Coslenchus polonicus* but closer to a stand of *Phragmites australis*. The morphometrical data (Table 6) for *H. loofi* is similar to the original description. No details are given for *H. gracilis*. According to SHER (1968) *H. loofi* and *H. gracilis* are frequently found together and our results confirm this, but the latter species could only be found out of the winter season. European distribution: Germany, The Netherlands & Poland.

***Helicotylenchus varicaudatus* Yuen, 1964**

H. varicaudatus, from the Moervaart sampling site, had a more hemispherical lip region than that of the original description. In this respect our population is closer to the Dutch population (LOOF, 1984). Consequently we agree with LOOF (1984) who stressed that the interspecific variation in the lip region is too high to separate species within *Helicotylenchus*. SEM end-on view showed six longitudinal incisures on the first annuli (Fig. 2A). According to SHER & BELL (1975) such incisures were absent in the genus *Helicotylenchus*. Subdivisions in the anterior lip annuli are typical of *Rotylenchus*, *Scutellonema*, *Hoplolaimus* and *Rotylenchulus* (GERAERT, 1997). Six incisures were also found by LOOF (1984) for the same species and by VOVLAS (1984) for *H. multicinctus*. The variation of the tail is presented by SEM photographs (Figs 2, B-D). Fig. 2B presents the most common tail type for *H. varicaudatus*.

Morphometrical data are represented in Table 7. The dorsal pharyngeal gland orifice is closer to the stylet base (6-8 µm) in comparison with the original description (8-10 µm). This gives O values of (20-27), which are remarkably low for the genus. European distribution: The Netherlands, Poland, Turkey, Bulgaria, the Czech Republic, Britain and Italy.

TABLE 7

Morphometrical data of *Helicotylenchus varicaudatus*

n	10 EE
L	633±68 (572-780)
a	25.8±0.9 (24.3-27.0)
b	5.3±0.5 (4.8-6.2)
b'	4.4±0.4 (4.0-5.0)
c	45.3±7.0 (36.5-57.3)
c'	0.9±0.1 (0.8-1.0)
V	61.9±2.2 (56.9-64.2)
Stylet	30.5±1.1 (29.4-33.6)
Pharynx	120.2±9.2 (109.2-133.3)
E. pore	102.1±21.7 (72.6-124.1)
DGO	7.0±0.9 (5.8-8.4)
V-a	233.9±19.6 (214.5-260.7)
Tail	14.3±2.3 (10.6-18.6)
Annul	1.4±0.2 (1.3-1.9)

The female reproductive system is presented in Fig. 3B. At the end of the ovary eight cells form a sphincter-like structure. The oviduct contains two rows of four cells followed by an offset spermatheca (twelve cells) and a tricollellated uterus.

***Paratylenchus similis* Khan, Prasad & Mathur, 1967**

= *P. tatea* Wu & Townshend, 1973 = *P. italiensis* Raski, 1975a

= *P. labiosus* Anderson & Kimpinski, 1977.

P. similis (Moervaart sampling site) morphometrically (Table 8) bears a resemblance to the original description of *P. similis* but also to *P. microdorus* Andrassy 1959, which was previously found in Belgium. According to BRZESKI (1995) *Paratylenchus similis*, *P. tatea*, *P.italiensis* and *P. labiosus* are synonyms because of overlapping morphometrical characters. Following this idea *P. microdorus* belongs to this group. There is, however, a difference in the head morphology. *P. similis* has a squarish head with well developed submedian lobes, while *P. microdorus* has a conical head with a rounded or flat end without projecting lips. GERAERT (1965) suggested the morphology of the head could be influenced by fixation. Different fixation methods, however, (hot formalin, cold formalin, ethanol and no fixation), showed us the same squarish head appearance. Consequently this can be used to distinguish *P. similis* from *P. microdorus*. However, the influence of fixation on the head morphology of *P. microdorus* could not yet be demonstrated. A total body drawing is shown in Fig. 3A. European distribution: Spain and Poland.

TABLE 8

Morphometrical data of *Paratylenchus similis*

n	10 EE
L	333±23 (303-375)
a	23.1±1.6 (20.8-25.8)
b	4.2±0.2 (3.7-4.4)
c	13.5±1.1 (11.5-15)
c'	2.9±0.2 (2.6-3.3)
V	77.3±6.8 (68.6-85.1)
Stylet	17.4±0.8 (16.4-19.2)
Pharynx	81±2.7 (76-87.1)
MB	55.1±3 (51.2-58.4)
E. pore	76.2±0.7 (75.5-77)
V-a	35.2±5.2 (26.5-44.3)
Tail	25.1±2.7 (20.7-29.4)
Annul	1.2±0 (1.1-1.2)

Within the female reproductive system (Fig. 3F), the oviduct was formed by two rows of four cells as in most of the members of the suborder Tylenchina. A twelve-celled spermatheca forms the ventral corner of the spermatheca-uterus complex. GERAERT (1972) described a similar arrangement of the spermatheca for *Criconemella* sp. The uterus cells following the spermatheca are arranged in four rows. Closer to the vulva, this pattern

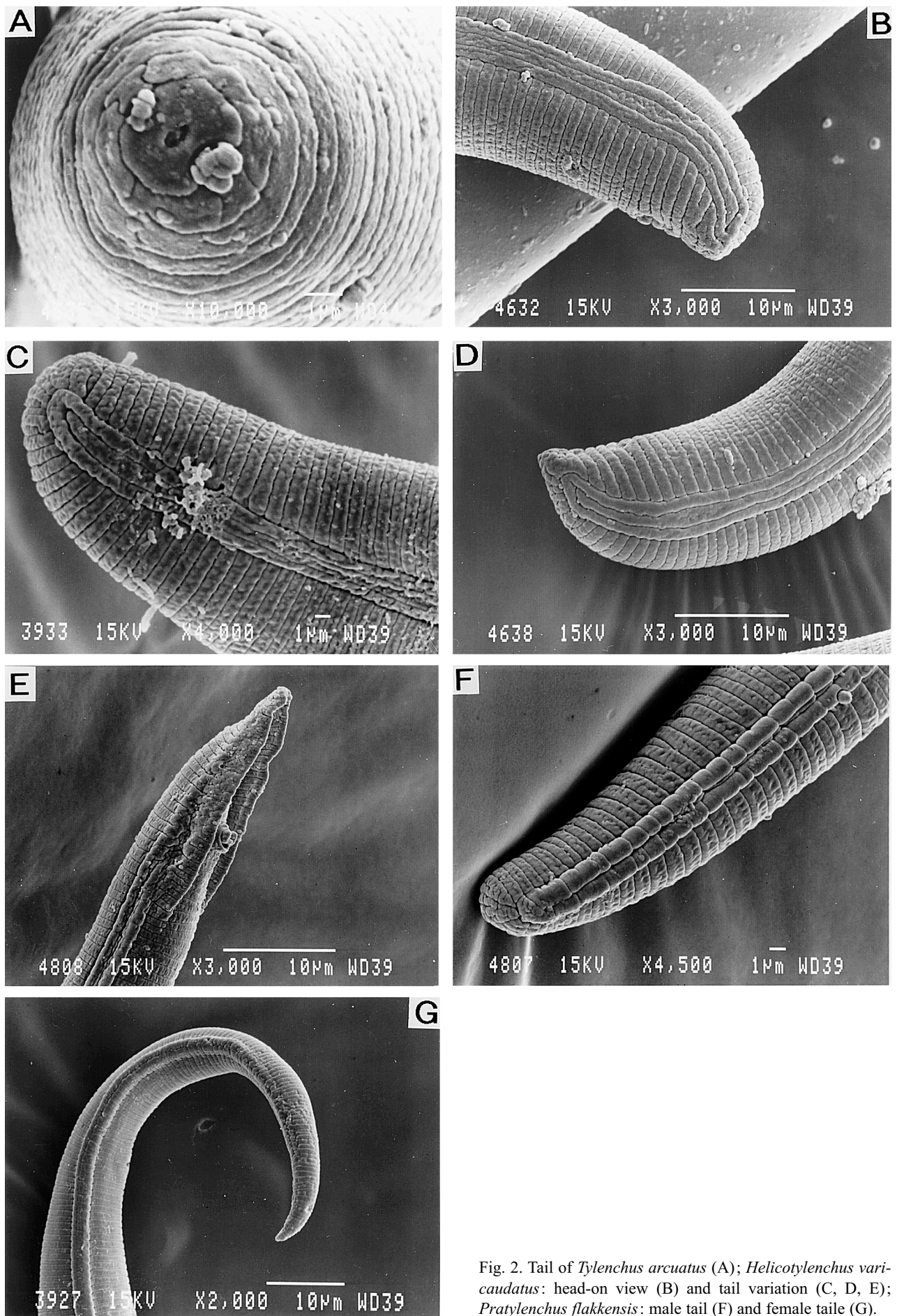


Fig. 2. Tail of *Tylenchus arcuatus* (A); *Helicotylenchus varicaudatus*: head-on view (B) and tail variation (C, D, E); *Pratylenchus flakkensis*: male tail (F) and female tail (G).

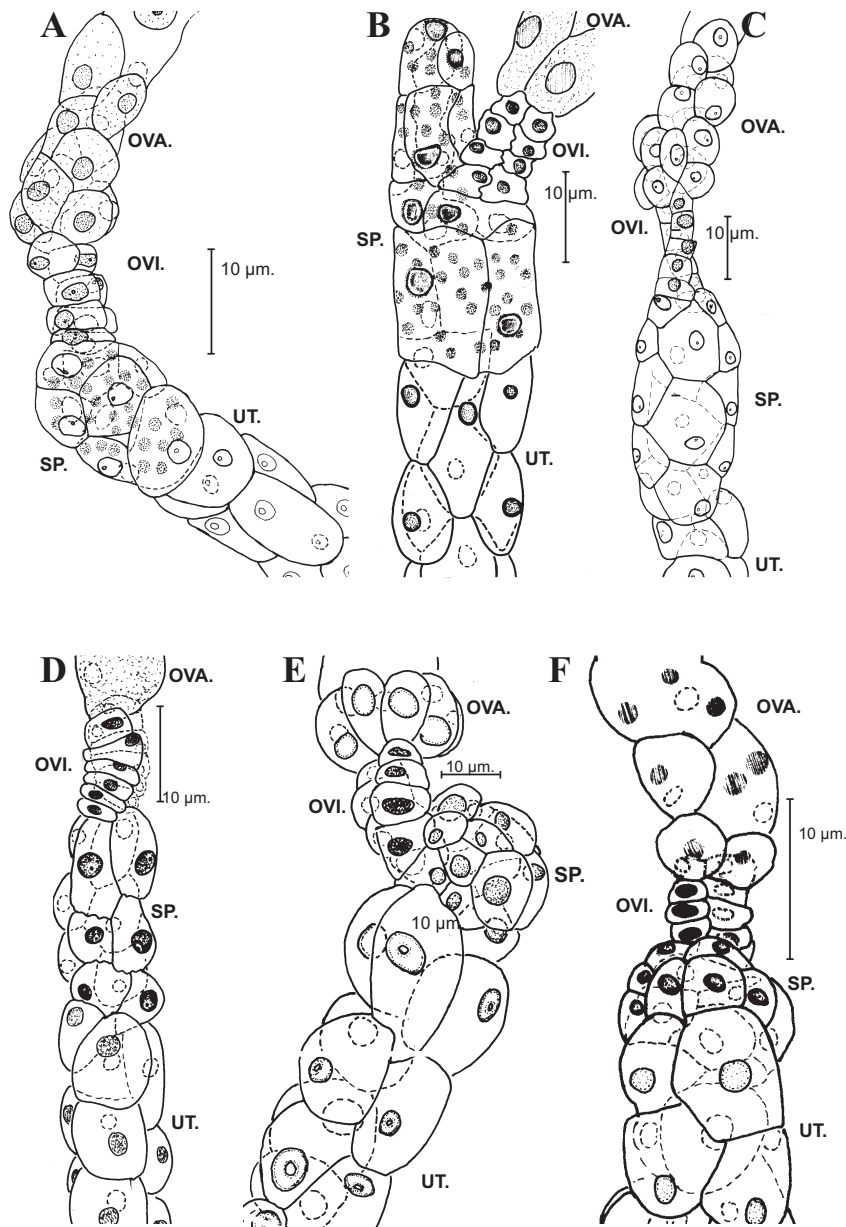


Fig. 3. Female reproductive system: end of ovary (OVA), oviduct (OVI), spermatheca (SP) and beginning of uterus (UT) of *Tylenchus arcuatus* (A), *Coslenchus polonicus* (B), *Basiria graminophila* (C), *Cephalenchus leptus* (D), *Helicotylenchus varicaudatus* (E) and *Paratylenchus similis* (F).

becomes diffuse and unclear. Similar (unpublished) results have been obtained for *Hemicycliophora conida* Thorne 1955, *Criconemella xenoplax* (Raski, 1952) Luc & Raski, 1981 and *Criconemella rustica* (Micoletzky, 1915) Luc & Raski, 1981. Apparently all Criconematodea have a comparable cellular structure of the female reproductive system. This fact together with an arrangement of four cell rows in the uterus, could be an indication that the Criconematodea were diverged from a hypothetical common ancestor, close to the Tylenchidae.

***Gracilacus aculenta* (Brown, 1959) Raski, 1962**

The morphometrical dimensions (Table 9) of *G. aculenta* from the Moervaart sampling site correspond with the original description, except for a longer stylet length (59-68 µm. compared with 54-62 µm in the original description). Raski (1976), however, mentioned a stylet

TABLE 9
Morphometrical data of *Gracilacus aculenta*

n	10 EE	1 D
L	291±11 (270-313)	302.5
a	22.1±1.3 (20-24)	24.2
b	2.7±0.1 (2.5-2.9)	
c	14.3±1.1 (13-16.2)	13.4
c'	2.8±0.2 (2.7-3.1)	2.5
V	72±0.8 (70.2-72.8)	
Stylet	63.1±2.9 (59.2-68.3)	
Pharynx	108.4±5.2 (97.2-114)	
MB	68±1.4 (66.5-70.2)	
E. pore	74±2.6 (70.7-78.4)	63.2
V-a	61.1±3.8 (54.8-69.7)	
Tail	20.6±1.9 (17.8-23.6)	22.6
Annul	1.2±0.1 (1-1.3)	
Spicule		15.4
Guber.		3.8

variation of 48-68 µm for *G. aculeata*. Only one male was found. A total body drawing from a glycerine mounted specimen is shown in Fig. 1C. In Europe *G. aculeata* is only known from Poland.

Tylenchida recorded from Belgium: an updated list

The following Tylenchida species are recorded in Belgium, but not mentioned in the review of the nematofauna of Belgium (COOMANS, 1989):

Amplimerlinius icarus (Wallace & Greet, 1964) Siddiqi, 1976 is present in the collection of Wageningen (The Netherlands) and originated from St. Truiden. More information of these specimens was destroyed by a fire in 1973. *A. icarus* was found in our study at an apple orchard in Vliermaal.

Coslenchus rhombus Andrassy, 1982 was found in Mendonk (GERAERT, pers. comm.). However, BRZESKI (1998) considered *C. rhombus* as a junior synonym of *C. alacinatus* Siddiqi, 1981

Criconema demani Micoletzky, 1925 obtained at Drongen and Landskouter, was mentioned by DE GRISSE (1968).

Criconemella kirjanovae (Andrassy, 1962) Luc & Raski, 1981 was mentioned by DE GRISSE (1968) from Drongen and Landskouter.

Filenchus vulgaris (Brzeski, 1963) Lownsbery & Lownsbery, 1985 is a common species in Belgium (RASKI & GERAERT, 1986b).

Helicotylenchus exallus Sher, 1966 was mentioned as being recorded in Belgium (Bongers, 1988).

Hemicyclophora triangulum Loof, 1968 was found by A. De Grisse in Aalter, Merendree and Huise (LOOF, 1968).

Malenchus acarayensis Andrassy, 1968 was mentioned from Belgium (Geraert & Raski, 1986).

Meloidogyne chitwoodi (Golden *et al.*, 1980) O' Bannon, Santo & Finley, 1980 was found in different locations in the provinces Antwerpen, Limburg and West-Flanders on sandy soils (WAEYENBERGE & MOENS, 1997).

Meloidogyne duytsi Karssen, Van Aelst & Van Der Putten, 1998 was detected along the North Sea coastal foredunes, also in Belgium. (KARSSSEN & VAN HOENSELAAR, 1998).

Meloidogyne fallax Karssen, 1996 was detected in the provinces Antwerpen and Limburg, on similar locations to those where *Meloidogyne chitwoodi* was found (WAEYENBERGE & MOENS, 1997).

Meloidogyne maritima (Jepson, 1987) Karssen, van Aelst & Cook, 1998 was found in the coastal dunes of Belgium (KARSSSEN & VAN HOENSELAAR, 1998).

Nagelus alpensis Doucet & Luc, 1981 is present in the collection of Wageningen (The Netherlands) and orig-

inated from a sample taken in a castle pond (Gent) by M. de Pelsmaker. We found *N. alpensis* in the Bourgoyen (Gent). BRZESKI (1997) considered *N. alpensis* as a junior synonym of *N. obscurus* (Allen, 1955).

The following species have to be removed from the Belgian nematofauna list, because they have been synonymised with other species from this list:

Meloidogyne deconincki Elmiligy, 1968 (with, as type location, a garden from the University of Gent) is, based on KARSSSEN & VAN HOENSELAAR (1998), considered as a junior synonym of *M. ardenensis* Santos, 1968.

Pratylenchus irregularis Loof, 1960 is considered according to LOOF (1978) as a junior synonym of *Pratylenchus pratensis* (de Man, 1880) Filipjev, 1936.

CONCLUDING REMARK

After the addition of ten new records and fourteen recent amendments, the Belgian tylenchid nematofauna now consists of 142 species. This list is far from complete: more sampling on natural and semi-natural habitats will result in a better knowledge of the Belgian nematofauna.

ACKNOWLEDGEMENTS

R. Van Driessche is acknowledged for the preparation of the scanning photographs. We thank everyone who helped to complete the Belgian tylenchid nematofauna list, especially P.A.A. Loof and we are grateful to G. Karssen for reading this manuscript critically.

REFERENCES

- BONGERS, T. (1988). De nematoden van Nederland. K.N.N.V. Utrecht (408 pp).
- BROWN, G. (1959). Three new species of the genus *Paratylenchus* from Canada (Nematoda: Criconematidae). *Proc. Helminth. Soc. Wash.*, 26: 1-8.
- BRZESKI, M. W. (1982). Genus *Ottolenchus* and *Coslenchus polonicus* sp. n. *Revue Nématol.*, 5: 71-77.
- BRZESKI, M. W. (1995). Paratylenchinae: morphology of some known species and descriptions of *Gracilacus bilineata* sp. n. and *G. vera* sp. n. (Nematoda: Tylenchulidae). *Nematologica*, 41: 535-564.
- BRZESKI, M. W. (1997). Variability of *Nagelus obscurus* (Allen, 1955) and *N. leptus* (Allen, 1955) (Nematoda: Belonolaimidae). *Annales Zoologici*, 46: 167-173.
- BRZESKI, M. W. (1998). Nematodes of Tylenchina in Poland and temperate Europe. Muzeum i Instytut Zoologii Polska Akademia Nauk, Warszawa (397 pp).
- CAVENESS, F. E. & H. J. JENSEN (1955). Modification of the centrifugal-flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proc. Helminth. Soc. Wash.*, 22: 87-89.

- COOMANS, A. (1989). Overzicht van de vrijlevende nematofauna van België. In: *Verhandelingen van het Symposium "Invertebraten van België"* Brussel K.B.I.N. 25-26 nov; 1988. Brussel: 43-56.
- DE GRISSE, A. (1968). Bijdrage tot de morfologie en de systematiek van Criconematidae (Taylor, 1936) Thorne, 1949 (Nematoda). Doctoral thesis, University Ghent (131pp).
- DE MAN, J.G. (1880). Die einheimischen frei in der reinen Erde und im süßen Wasser lebenden Nematoden. *Tijdschr. Ned. dierk. Ver.*, 5: 1-104.
- FORTUNER, R. (1987). A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 8. The family Hoplolaimidae Filip' ev, 1934. *Revue Nématol.*, 10: 219-232.
- FREDERICK, J. J. & A.C. TARJAN (1989). A compendium of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nemata: Pratylenchidae). *Revue Nématol.*, 12: 243-256.
- GERAERT, E. & D. J. RASKI (1986). Unusual *Malenchus* species (Nematoda: Tylenchidae). *Nematologica*, 32: 27-55.
- GERAERT, E. & D. J. RASKI (1987). A reappraisal of Tylenchina (Nemata) 3. The family Tylenchidae Orley, 1880. *Revue Nématol.*, 10: 143-161.
- GERAERT, E. (1965). The genus *Paratylenchus*. *Nematologica*, 11: 301-334.
- GERAERT, E. (1972). A comparative study of the structure of the female gonads in plant-parasitic Tylenchida (Nematoda). *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, 102: 171-198.
- GERAERT, E. (1976). The female reproductive system in *Deladenus* and *Hexatylyus* with a redefinition of the oviduct in the Tylenchida (Nematoda). *Nematologica*, 22: 437-445.
- GERAERT, E. (1981). The female reproductive system in Nematode Systematics. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, 110: 73-86.
- GERAERT, E. (1983). The use of the female reproductive System in Nematode Systematics. In: *Concepts in Nematode Systematics*. STONE, PLATT & KHALIL (Eds.). Academic Press, London & New York: 73-84.
- GERAERT, E. (1997). Comparison of the head patterns in the Tylenchoidea (Nematoda). *Nematologica*, 43: 283-294.
- GERAERT, E., P. GROOTAERT & W. DECRAEMER (1980a). Structure of the female reproductive system in some Dorylaimida and Enoplida (Nematoda). *Nematologica*, 26: 255-271.
- GERAERT, E., W. SUDHAUS & P. GROOTAERT (1980b). The structure of the female genital apparatus in the order Rhabditida (Nematoda). *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, 109: 91-108.
- HUNT, D. J. (1993). Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae: Their Systematics and Bionomics. CAB international University Press, Cambridge (352pp).
- KAREGAR, A. & E. GERAERT (1997). The genus *Basiria* Siddiqi, 1959 (Nematoda: Tylenchidae) III. Species with four lateral lines and posterior median bulb. *Nematologica*, 43: 407-429.
- KARSSSEN, G. & T. VAN HOENSELAAR (1998). Revision of the genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Nematoda: Heteroderidae) in Europe. *Nematologica*, 44: 713-788.
- KHAN, E., S. K. PRASAD & V. K. MATHUR (1967). Two new species of the genus *Paratylenchus* Micoletzky, 1922 (Nematoda; Criconematidae) from India. *Nematologica*, 13: 79-84.
- LOOF, P. A. A. (1968). Taxonomy of *Hemicycliophora* species from West and Central Europe (Nematoda: Criconematoida). *Med. Landbouwh. Wageningen Nederland*, 68: 12-15.
- LOOF, P. A. A. (1978). The genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae): a review of its anatomy, morphology, distribution, systematics and identification. Växtskyddsrapporter, Jordbruk 5. Swedisch University of Agric. Sciences. Res. Inf. Centre. (50pp).
- LOOF, P. A. A. (1984). Observations on *Helicotylenchus varicaudatus* Yuen, 1664 (Nematoda, Hoplolaimidae). *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, 49: 621-627.
- LUC, M. & B. GOODAY (1962). *Hirschmannia* n.g. differentiated from *Radopholus* Thorne, 1949 (Nematoda: Tylenchoidea). *Nematologica*, 7: 197-202.
- LUC, M. (1987). A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. *Revue Nématol.*, 10: 203-218.
- LUC, M., A. R. MAGGENTI & R. FORTUNER (1988). A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 9. The family Heteroderidae Filip' ev & Schuurmans Stekhoven, 1941. *Revue Nématol.*, 11: 159-176.
- MAGGENTI, A.R., D.J. RASKI, R. FORTUNER & E. GERAERT (1987). A reappraisal of Tylenchina (Nemata) 2. Classification of the suborder Tylenchina (Nemata: Diplogasteria). *Revue Nématol.*, 10: 135-142.
- MAGGENTI, A.R., M. LUC, D.J. RASKI, R. FORTUNER & E. GERAERT (1988) - A reappraisal of Tylenchina (Nemata). List of generic and supra-generic taxa, with their junior synonyms. *Revue Nématol.*, 11: 177-188.
- NESTEROV, P. I. (1973). New species of plant nematodes from the rhizospheres of cultivated and wild plants in Moldavia, USSR. Kishinev, USSR: Izdatel'stvo "Shiintsu". *Para. Zhivo. I. Rastenii.*, 9: 239-246.
- RASKI, D. J. & E. GERAERT (1986a). Descriptions of two new species and other observations on the genus *Cephalenchus* Goodey, 1962 (Nemata: Tylenchidae). *Nematologica*, 32: 56-78.
- RASKI, D. J. & E. GERAERT (1986b). Review of the genus *Filenchus* Andrassy, 1954 and descriptions of six new species (Nemata: Tylenchidae). *Nematologica*, 32: 265-311.
- RASKI, D. J. (1962). Paratylenchidae n. fam. with descriptions of five new species of *Gracilacus* n. g. and an emendation of *Cacopaurus* Thorne, 1943, *Paratylenchus* Micoletzky, 1922 and Criconematidae Thorne, 1943. *Proc. Helminth. Soc. Wash.*, 29: 189-207.
- RASKI, D. J. (1976). Revision of the genus *Paratylenchus* Micoletzky, 1922 and Descriptions of New Species. Part III of Three parts - *Gracilacus*. *J. Nematology*, 8: 97-115.
- SCHLINDER, A. F. (1961). A simple substitute for the Bearmann funnel. *Pl. Dis. Repr.*, 45: 747-748.
- SEINHORST, J. W. (1959). A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. *Nematologica*, 4: 67-69.
- SEINHORST, J. W. (1968). Three new *Pratylenchus* species with a discussion of the structure of the cephalic framework and of the spermatheca in this genus. *Nematologica*, 14: 497-510.
- SHER, S. A. & A. H. BELL (1975). Scanning electron micrographs of the anterior region of some species of Tylenchoidea (Tylenchida: Nematoda). *J. Nematology*, 7: 69-83.

- SHER, S. A. (1968). Revision of the genus *Hirschmanniella* Luc & Goodey, 1963 (Nematoda: Tylenchoidea). *Nematologica*, 14: 243-257.
- SIDDIQI M.R. (1986). Tylenchida Parasites of Plants and Insects. Commonwealth Agricultural Bureaux, IX, Slough, UK (456 pp).
- SIDDIQI, M.R. (1959). *Basiria graminophila*, n. g., n. sp. (Nematoda: Tylenchinae) found associated with grass roots in Aligarh, India. *Nematologica*, 4: 217-222
- SIDDIQI, M.R. (1963). Four new species of the genus *Tylenchus* Bastian, 1865 (Nematoda) from North India. *Parasitenkunde*, 23: 170-180.
- VOVLAS, N. (1984). Morphology of a local population of *Helicotylenchus multincinctus* from Southern Italy. *Revue Nématol.*, 6: 327-329.
- WAEYENBERGE, L. & M. MOENS (1997). *Meloidogyne chitwoodi* en *Meloidogyne fallax*: ernstige bedreigers van de belgische land- en tuinbouw. Eindrapport van een project in opdracht van het Begrotingsfonds voor de Productie en Bescherming van Planten en Plantaardige Producten. Centrum voor Landbouwkundig Onderzoek-Gent Rijksstation voor Nematologie en Entomologie (24 pp).
- WU, L. Y. (1958). Morphology of *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945 (Nematoda: Tylenchidae), from a pure culture, with special reference to reproductive systems and esophageal glands. *Can. Jnl. Zool.*, 36: 569-576.
- WU, L. Y. (1967). Differences of spermatheca cells in the genera *Ditylenchus* Filipjev, 1936 (Tylenchidae: Nematoda). *Can. Jnl. Zool.*, 45: 27-30.
- YUEN, P. H. (1964). Four new species of *Helicotylenchus* Steiner (Hoplolaiminae: Tylenchida) and a redescription of *H. Canadensis* Waseem, 1961. *Nematologica*, 10: 373-387.

Received: 11 June, 1999

Accepted: 21 October, 1999

Biogéographie et Ecologie historique de l'hippopotame en Egypte

Nicolas Manlius

Laboratoire d'Ethnobiologie-Biogéographie
du Muséum national d'histoire naturelle de Paris,
57, rue Cuvier, F-75231 Paris cedex 05, France.

RÉSUMÉ. La Biogéographie et Ecologie historique est une discipline nécessitant la compilation des informations relatives à la présence d'un animal vivant dans un pays ou une région en vue de retracer l'évolution de son aire au cours d'une assez longue période de temps. Cette analyse biogéographique établissant l'histoire de la distribution des populations fait appel à des notions d'écologie, d'où le double nom de la discipline. Il est présenté ici une Biogéographie et Ecologie historique de l'hippopotame en Egypte depuis le Pléistocène final jusqu'à nos jours, à l'issue de laquelle est dressée une carte montrant l'évolution de la distribution des populations de cet animal en Egypte. Au terme de cette étude, il s'avère que la chasse effectuée par l'homme est la principale cause de la disparition de ce pachyderme dans ce pays.

MOTS CLÉS: Hippopotame, *Hippopotamus amphibius*, Egypte, Ecologie historique, Biogéographie.

Historical ecology and biogeography of the hippopotamus in Egypt

ABSTRACT. Historical ecology and biogeography is a composite discipline that requires the compilation of data concerning the presence of an animal in a country or in a specific region, to enable its distribution over a long period of time to be traced. To do this, the biogeographical analysis establishing the history of the distribution of populations calls upon certain ecological concepts, hence the double name of the discipline. This paper presents an historical ecology and biogeography of the hippopotamus in Egypt, from the Late Pleistocene until today, and includes a map showing the evolution of its population distribution in Egypt. It appears that the disappearance of this pachyderm in that country was principally caused by human hunting.

KEY WORDS: Hippopotamus, *Hippopotamus amphibius*, Egypt, Historical ecology, Biogeography.

INTRODUCTION

La Biogéographie et Ecologie historique est un champ de recherches interdisciplinaire dont le principal promoteur est GROUT DE BEAUFORT (1988), à l'origine de travaux ultérieurs (MANLIUS, 1996; MANLIUS & GAUTIER, 1999). Il nécessite la lecture et l'analyse d'une importante bibliographie sur un animal dans une zone géographique d'étude en vue de compiler les informations relatives à sa présence dans celle-ci, et aboutit à l'établissement d'une carte montrant l'évolution au cours du temps de la distribution de ses populations. Le terme *historique* inclus dans

l'appellation de ce champ de recherche doit donc être compris au sens de "au cours du temps" et non au sens que les historiens lui donnent (voir aussi MANLIUS, 1998).

L'Egypte est un pays idéal pour les études de Biogéographie et Ecologie historique car il est possible d'y suivre sur une assez longue période de temps l'évolution de la distribution des populations d'animaux. En effet, elle fut assez tôt peuplée par l'homme, et par conséquent les ossements d'animaux consommés par les peuples de chasseurs-cueilleurs qui l'habitaient ainsi que les représentations rupestres s'y trouvent en quantité. Ensuite, le delta et la vallée du Nil furent le siège de la civilisation pharaonique qui laissa des représentations animales très fidèles, et le pays fut dès lors fréquemment parcouru par des

voyageurs ou des scientifiques qui rapporteront des informations sur sa faune.

Un panoramique de l'évolution de la distribution des populations égyptiennes d'une vingtaine de grands mammifères terrestres et sauvages a déjà été réalisé (MANLIUS, 1996). Il en est ressorti que l'hippopotame *Hippopotamus amphibius* Linné, 1758 fut le seul à subsister de façon permanente dans le Delta et la Vallée durant notre ère, c'est-à-dire longtemps après que les hommes s'y soient installés. Une étude de Biogéographie et Ecologie historique semble donc particulièrement indiquée pour cet animal, d'autant que grâce à sa très grande taille il est susceptible de laisser de nombreux témoignages, aussi bien sous forme de restes osseux qu'au travers de représentations plastiques, ou d'avoir été aperçu ou tout au moins cité par les voyageurs.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La consultation de documents écrits est réalisée dans les grandes bibliothèques parisiennes (Bibliothèque d'Art et d'Archéologie Doucet, Bibliothèque du cabinet d'égyptologie du Collège de France, Bibliothèque centrale du Muséum national d'histoire naturelle de Paris, Bibliothèque nationale de France).

Cette étude s'étend sur une période de temps comprise entre le début du Pléistocène final (environ 22000 av. J.-C.) et nos jours. Elle prend en compte l'analyse des restes archéologiques datant de l'époque préhistorique (du début du Paléolithique supérieur à la fin du Prédynastique), des représentations plastiques de l'époque pharaonique, des récits laissés par les auteurs grecs ou latins de l'Antiquité et par les voyageurs européens ou arabes du Moyen Age ou des siècles suivants, et enfin, des études scientifiques menées au XX^e siècle.

La carte de la figure 1 présente un résumé de nos recherches. Une aire de répartition désignée comme étant occupée à une époque donnée par l'hippopotame est de facto considérée comme ayant été occupée aux époques précédentes. Il est aisé de comprendre que les aires de répartition n'informent en rien sur les densités de populations. Au niveau du texte, il faut préciser que les chiffres en caractère gras mis entre parenthèses après chaque information renvoient aux aires sur la carte, et que les notes mises entre guillemets sont de la main de l'auteur cité.

RÉSULTATS

De très nombreux ossements d'hippopotames datant de la période de temps comprise entre le début du Paléolithique supérieur et la fin du Prédynastique proviennent du delta ou de la vallée du Nil. Pour ce qui est du Delta, certains ont été remontés au cours de dragages le long de la branche du Nil menant à Damiette, d'autres ont été découverts le long de son ancienne branche pélusiaque

(FLOWER, 1932: 444) ou encore à Mérimdé Beni-Salamé, situé le long de la branche du Nil menant à Rosette (VON DEN DRIESCH & BOESSNECK, 1985) (1, 2). Pour ce qui est de la Vallée, des restes ont été trouvés en abondance à la limite nord du Fayoum près de Kasr Es Saga (ANDREWS, 1903: 339) (4), et de nombreux autres proviennent de sites disséminés le long du fleuve, ou dans l'oued El Koubbanïa (GAUTIER & VAN NEER, 1989: 15) (6). UERPMANN (1987: 46-47), recensant les restes d'hippopotames datés entre 20 000 et 1200 av. J.-C. découverts en Egypte, résume en désignant la totalité du Delta et de la Vallée. La disparité de distribution des représentations préhistoriques de l'hippopotame en Egypte confirme celle des ossements (BEHRMANN, 1989, 1996).

MORGAN (1896: 172) estime que l'hippopotame peuplait les abords de lacs s'étendant "près des montagnes, aux limites du désert" avant l'émergence des Egyptiens pharaoniques dans la Vallée. Une telle hypothèse n'est pas dénuée de sens car on sait qu'entre environ 12000 et 5000 av. J.-C. le Sahara présentait des lacs (PETIT-MAIRE et al., 1995) de type playa, c'est-à-dire éphémères et peu profonds. Il est donc tout à fait possible que l'hippopotame ait alors pu étendre son territoire aux régions voisines du Nil qui ne présentaient pas un relief trop accentué (7). La découverte de dessins rupestres préhistoriques d'hippopotames à proximité du temple El Kanaïs (WEIGALL, 1909: 157, pl. XXX), situé à plus de 40 km du cours actuel du Nil, pourrait constituer une preuve indirecte; à moins, bien sûr, qu'ils ne s'agissent d'"images-souvenirs" de la Vallée. Il faut cependant relever que des restes néolithiques découverts dans l'oasis de Dakhla (CHURCHER et al., 1997) (8) autorisent à penser que des hippopotames provenant du Nil effectuèrent, de nuit ou par temps de pluies, des étapes entre les nombreux plans d'eau séparant ces deux régions (CHURCHER, comm. pers., in OSBORN & OSBORNOVA, 1998: 145). Les analyses archéozoologiques de la région de Bir Kiseiba suggèrent un biotope pauvre et des lacs trop éphémères (GAUTIER, 1984), et le fait qu'aucun fossile d'hippopotame n'ait été trouvé dans le Désert Occidental au sud de l'oasis de Kharga permet de penser que cet animal ne s'y aventura pas.

L'hippopotame est très communément représenté dans les scènes de chasse des monuments funéraires de l'époque pharaonique s'étendant le long de la Vallée (ADAMS, 1870: 48). Tel à Saqqara dans le tombeau de Ti, V^e dynastie, (GAILLARD, 1934: 28) (4), ou à Thèbes dans le tombeau d'Antef, XVIII^e dynastie (SÄVE-SÖDERBERGH, 1953: 7) (5). Il était par conséquent répandu tout le long du Nil, FRÄDRICH (1972: 108) l'estimant même très nombreux en Basse-Egypte aux environs de 2000 av. J.-C. HÉRODOTE (1982: 114) écrit vers 447 ou 448 av. J.-C. dans les *Histoires* (Livre II, § 71) "Ceux que l'on trouve dans le nome Paprémis sont sacrés". Selon P.-E. LEGRAND, qui annote son récit, ce nome serait situé à l'emplacement de l'actuelle Péluse (HÉRODOTE, *ibid*: 107) (3). Quoique les ruines de cette cité antique soient très éloignées du Nil et situées dans l'extrême nord-est du Delta, il faut souligner

que l'ancienne branche pélusiaque du Nil, qui terminait sa course à l'est de l'actuel canal de Suez, au niveau justement des ruines de Péluse, ne commença à dégénérer de façon accusée qu'en l'an 25 (SNEH & WEISSBROD, 1973: 61). Ceci autorise donc à penser que durant les temps pharaoniques le débit du Nil aurait pu être suffisamment important dans la région de Péluse pour qu'y prospèrent des groupes d'hippopotames.

Vers le début de notre ère, les hippopotames vus à Rome provenaient du Nil égyptien (GERVAIS, 1855: 233). A ce sujet, AMMIEN MARCELLIN (1996: 139) rapporte dans les *Histoires* (Livre XXII, 15, §24) que la chasse excessive pour alimenter les cirques de Rome liée à la destruction de leur habitat les auraient fait baisser en nombre en Egypte vers la fin du III^e siècle. Si bien que DESMOULINS (1825: 216), interprétant les auteurs de l'Antiquité, conclut en leur rareté "dans le cours inférieur du Nil, entre les cataractes et la mer" sous les Ptolémées et durant l'occupation romaine.

En ce qui concerne le Moyen Age, période comprise entre 476 (fin de l'Empire romain d'Occident) et 1492 (découverte de l'Amérique), très peu de témoignages ont été trouvés. IBN AL FAKIH (1973: 78-79) écrit en 1022 que l'hippopotame vit dans le Nil égyptien au nord d'Assouan. ABD ALLATIF (1810: 143), auteur considéré comme ne rapportant que ce qu'il observe, le dit se trouver, entre 1207 et 1226, "dans la partie la plus basse du pays, et particulièrement" dans la branche du Nil menant à Damiette (1, 2). Cet auteur précise (ibid.: 144) qu'un hippopotame fut vu à Damiette et un deuxième "dans un autre canton", mais que les deux animaux furent tués par "des gens de Maris, espèce de Noirs qui passent pour être très habiles à la chasse de l'hippopotame, et dans le pays desquels cet animal est extrêmement connu". Cette phrase est riche de sens car DE SACY, qui annote les récits d'ABD ALLATIF, précise que Maris correspond à la Nubie égyptienne: ce qui revient à dire que l'hippopotame est présent dans cette dernière région à l'époque (6). Selon MAQRIZY (1992), en l'an 1324 "on vit sortir du Nil dans la province de Manouf", c'est-à-dire Menufia, près du bourg d'Istabary, un animal dont la description correspond à celle de l'hippopotame (1). Cet auteur ajoute: "un monstre semblable se fit voir dans le Nil près de la ville de Kous" (5) (QUATREMÈRE, 1811: 493 à 495). Bien qu'il fut aperçu sur les berges du Nil devant le Caire entre 1482 et 1485 (VAN GHISTELLE, 1976: 63) (1), l'hippopotame était déjà extrêmement rare près de cette ville et dans le Delta en 1483 (FABRI, 1975: 640).

Après le Moyen Age, le nombre de voyageurs européens en Egypte augmente, et avec eux la quantité des témoignages.

LÉON L'AFRICAIN (1993: 446) affirme en 1518 que l'on rencontre le "Cheval marin", c'est-à-dire l'hippopotame, dans le Nil. Il relate (ibid.: 447) avoir vu un "Bœuf marin" promené dans la ville du Caire "attaché au cou par une chaîne", qui était de la "taille d'un veau de six mois" et

qui avait la peau "très dure"; celui qui le conduisait lui confia qu'il provenait du Nil près d'Esna (5). Ce "Bœuf marin" était sans doute un jeune hippopotame car sa description physique plaide en ce sens, et l'on sait qu'un jeune hippopotame peut rester relativement longtemps hors de l'eau et qu'il est susceptible d'un certain apprivoisement (JEANNIN, 1945: 117). Il y a donc de fortes probabilités pour que le "Cheval marin" et le "Bœuf marin" de LÉON L'AFRICAIN appartiennent à la même espèce. BELON DU MANS (1970: 103b) en 1547 et MARMOL (1667: 51) en 1573 l'indiquent plutôt commun dans le Nil égyptien. PALERNE (1991: 169-170) aperçut en 1581 à l'embouchure de la branche du Nil menant à Damiette un "de ceux que l'on appelle Hyppopothames" (2). LUBENAU (1972: 218) rapporte qu'en 1588 des "cheveux de mer" ou "hippopotami" sortent du Nil à Alexandrie, alors que THEVET les indiquent présents près de Rosette entre 1551 et 1552 (CHESNEAU & THEVET, 1984: 126) (1). ALPIN (1980: 463), qui est un auteur fiable, relate la capture entre 1580 et 1584 près de Damiette de deux animaux à "oreilles de cheval", au "cou court et épais" et aux "sabots quadrifides", de même aspect mais de taille différente: donc très probablement une femelle hippopotame et son petit (2). VILLAMONT (1608: 470) affirme lui aussi la présence de "chevaux marins" aux environs de Damiette en 1589 (2). Il rapporte le fait intéressant que les habitants de la région n'osent plus leur faire de mal depuis que la mise à mort d'un animal, "les années précédentes", fut immédiatement suivie d'une grave famine.

Le chirurgien italien ZERENGI (1603) abattit au mousquet deux hippopotames près de Damiette le 20 juillet 1600 (in BUFFON, 1764: 24-25) (2). SAVARY (1628: 228), arrivant à Damiette en septembre 1605, affirme que c'est le seul endroit du Nil où se trouvent des "chevaux marins", qui sortent parfois par troupes du fleuve et font de très gros dégâts dans les campagnes voisines (2). STOCHOVE (1975: 8) confirme SAVARY et écrit à l'issue de son voyage en Egypte en 1631 que "de toute la rivière du Nil, il n'y a qu'à Damiette que l'on trouve des chevaux marins", et qu'ils "sortent de la rivière par troupes de vingt et vingt-cinq" (1). Ces deux derniers auteurs rapportent que les autochtones les combattent avec succès en aménageant des "fosses-trappes". Il semblerait donc qu'une interruption temporaire de la chasse à Damiette en fin de XVI^e siècle ait favorisé le maintien d'un groupe d'hippopotames dans sa région jusqu'au moins le début du XVII^e siècle.

THÉVENOT (1665: 491-492) indique qu'un spécimen fut pris à Girga en 1658 (5) et ramené au Caire en février de la même année, ville où ces animaux n'avaient plus été vus depuis "il y avait longtemps". Il faut, au sujet de cette information, rectifier les dires de FLOWER (ibid.: 444) qui, citant THÉVENOT et l'ayant sans doute mal traduit, écrivait qu'outre un hippopotame pris à Girga en 1658 un second avait été tué au Caire par des janissaires en février de la même année. En fait, THÉVENOT (ibid.: 492) écrit textuellement: "Il [c'est-à-dire l'animal tué à Girga (note de l'au-

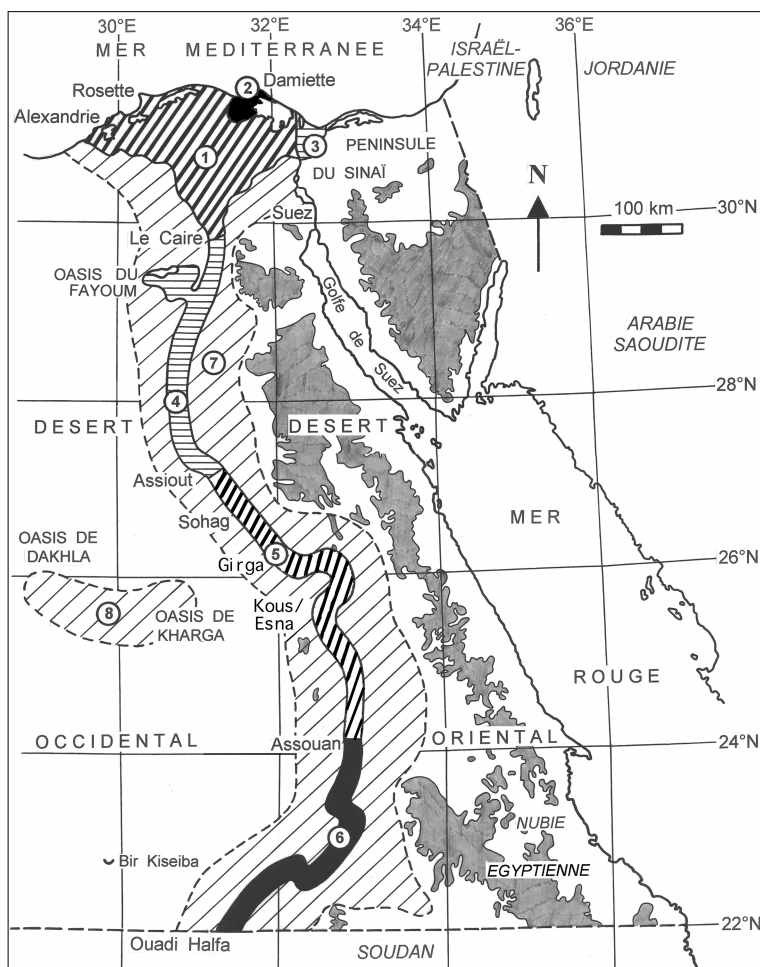


Fig. 1. – Evolution de la distribution des populations d’hippopotame en Egypte. Les numéros de 1 à 8 désignent des aires de répartitions où subsista l’hippopotame jusqu’à certaines époques. Ces dernières sont symbolisées de la manière suivante: du début du Paléolithique supérieur jusqu’à la fin du Prédynastique, en hachures obliques espacées et fines; époque pharaonique, en hachures horizontales; de la fin de l’Empire romain d’Occident jusqu’à 1700, en hachures obliques serrées et épaisses; de 1700 à 1816, en noir. Les régions en grisé apparaissant dans le Désert Oriental et la péninsule du Sinaï correspondent aux zones montagneuses dépassant les 500 m d’altitude.

teur] fut ramené mort au Caire par des janissaires, qui le tuèrent à coups de mousquet en terre”. Cette phrase se réfère à un cadavre d’hippopotame qu’on transporte de Girga au Caire: sa seconde partie se rapporte donc à Girga, non au Caire; par conséquent, il apparaît qu’aucun hippopotame n’a été capturé dans la capitale égyptienne en fin de XVII^e siècle. Il continue toujours d’être présent dans le Nil égyptien car DAPPER (1686: 91) l’indique se tenir d’ordinaire aux alentours des ruines de la ville de Saïs et MORISON (1976: 119) relate la capture en 1697 d’un animal près de Rosette (1). Cependant, B. de Maillet, entre 1692 et 1708, le dit être très rare en Egypte et devoir descendre le Nil pour atteindre la Haute-Egypte (LE MASCRER, 1735: 31*) (6). Il annonce qu’un individu fut capturé près de Damiette “il y a quelques années” (LE MASCRER, 1735: 31*) (2).

Les témoignages recueillis ci-dessus confirment globalement l’analyse de KOCK (1970: 20) qui, compilant éga-

lement des observations, indique que l’hippopotame se rencontrait en Egypte “il y a encore quelques siècles”, donc au plus tard vers 1700, dans deux zones bien disjointes: l’une étant l’est du Delta et la partie de la Vallée située au nord de Béni-Souef (1, 2, 4), l’autre étant la partie de la Vallée située au sud de Kom Ombo (6).

LUCAS (1720: 340) écrit qu’en 1714 furent trouvés dans le Nil égyptien “Deux petits Chevaux Marins, qui sont deux Poissons, avec une tête de Cheval”. Il ne peut s’agir que de deux jeunes hippopotames car l’hippocampe n’est pas répertorié dans la faune ichtyologique du Nil (GEOFFROY SAINT-HILAIRE, 1809; BOULENGER, 1907). NORDEN (1755: 119) parle d’une “quantité de chameaux d’eau” aperçus en 1737 près de Meidoum, mais il s’agit ici de pélicans car SAVIGNY indique que les arabes désignent ces derniers par l’expression “chameaux d’eau” (PALLARY, 1932: 74). Il faut noter que NORDEN aura fait un aller-retour Le Caire-Ouadi Halfa en ne cessant de noter la présence de crocodiles chaque fois qu’il en rencontrait mais sans jamais mentionner d’animal qui puisse être interprété comme étant un hippopotame; ce qui tendrait à faire penser que ce dernier était peut-être déjà absent à l’état sédentaire dans le fleuve égyptien. Confirmant cette déduction, la plupart des auteurs le disent être désormais très rare en Egypte et provenir du Soudan (BUFFON, *ibid.*: 44; POCKOCKE, 1772: 478; BROWNE, 1800: 97). Bien que BRUCE (1790 in WASSIF, 1976: 95) ait observé en 1786 un animal à Assouan (6), SONNINI (1799: 200) conclut en écrivant que l’hippopotame “ne descend même pas en dessous des cataractes du Nil” et que durant les deux derniers siècles il ne s’est rencontré dans le pays qu’un très petit nombre d’individus.

DENON (1802), qui voyagea d’Alexandrie à la Première Cataracte, ne mentionne à aucun moment l’hippopotame. ABD AL RAHMAN AL JABARTI (1896: 274) rapporte l’apparition d’un hippopotame près de Damiette en 1815, qui fut tué par les paysans de la région (FLOWER, *ibid.*: 444) (2). BURCKHARDT (1819: 67) écrit: “L’année dernière, quelques-uns d’entre eux firent leur apparition à Ouadi Halfa et El Derr, événement que ne se rappellent pas avoir connus les plus anciens habitants du village; ils continuèrent à descendre le Nil et ont été vus au-delà de la [Première (note de l’auteur)] cataracte à Assouan et Derau, à un jour de marche au nord de cette place” (6). FLOWER (*ibid.*: 444) précise très justement que la dernière apparition que BURCKHARDT mentionne ne put avoir lieu qu’en 1816 car l’explorateur suisse décéda au cours de

l'année 1817. Cette interprétation est reprise par OSBORN & HELMY (1980: 477-478), qui précisent que BURCKHARDT parle d'un animal tué en 1816 près de Ouadi Halfa et d'un second vu à Derau. Ces dates sont confirmées par les auteurs ultérieurs, qui situent tous l'hippopotame bien au sud de la Deuxième Cataracte, c'est-à-dire de Ouadi Halfa (RIFAUD, 1830: 14; RUSSELL, 1831: 459; FIGARI, 1864: 260). Plus précisément, CUNY (1863: 44) l'indique ne plus se rencontrer en 1858 qu'au niveau de Méroé, c'est-à-dire au sud de la Cinquième Cataracte.

En résumé, il appert que l'hippopotame ne fut pas sédentaire en Egypte durant les XVIII^e et XIX^e siècles, et que seuls quelques animaux soudanais égarés et emportés par le Nil s'y rencontrèrent de façon épisodique.

Tous les auteurs sérieux consultés pour le XX^e siècle l'indiquent absent d'Egypte (LYDEKKER, 1926: 396; FLOWER, *ibid.*: 443; BOURGOIN & DANDELLOT, 1955: 73; CORBET, 1978: 196; HALTENORTH & DILLER, 1985: 13).

DISCUSSION ET CONCLUSION

De tous les grands mammifères ayant vécu en Egypte, l'hippopotame est celui pour lequel il existe le plus de renseignements datés avec précision depuis le Moyen Age. Il apparaît au terme de cette étude que l'évolution de son aire de répartition en Egypte se résume en une régression continue commençant en Moyenne-Egypte et progressant à la fois en direction du nord et du sud, pour, finalement, se restreindre au début du XIX^e siècle à la poche de Damiette et à la Nubie égyptienne.

La cause d'une telle évolution ne saurait tenir de façon directe dans une modification du climat. En effet, si une détérioration climatique et déjà en cours au début des temps historiques et abouti vers 2500 av. J.-C. à un assèchement des plans d'eau du Sahara (PETIT-MAIRE et al., 1995, *ibid.*), le Nil, quant à lui, continua toujours de couler et ne cessa d'offrir nourriture et protection aux populations d'hippopotames.

Si durant le Prédynastique l'hippopotame ne semble avoir été chassé qu'occasionnellement le long du Nil (MIDANT-REYNES et al., 1993: 365), il acquit cependant très tôt auprès des indigènes une connotation négative. Il fut dès le début de l'époque pharaonique persécuté pour les ravages qu'il occasionnait dans la Vallée (CLÉBERT, 1971: 208). Les Anciens Egyptiens en firent même l'emblème de la cruauté et du mauvais génie, le regardant comme symbole de Typhon, ce géant qui avait porté mort et désolation parmi les divinités adorées du pays (HÉRODOTE, *ibid.*). A ce titre, la chasse à l'hippopotame mâle prenait l'allure d'une quête rituelle et d'un combat contre le dragon (CLÉBERT, *ibid.*: 208): le harponnage du mâle symbolisait la victoire du roi et de Dieu contre les forces maléfiques (SÄVE-SÖDERBERGH, *ibid.*: 55). La femelle fut par contre déifiée en Thouéris, patronne des femmes enceintes et en couches, et de la fertilité

(HOULIHAN, 1996: 121). Le harponnage de l'hippopotame fut assimilé à un sport du temps des Ptolémées (LINDSAY, 1965). Sous leurs successeurs, des animaux en provenance du Nil étaient importés à Rome pour les jeux du Cirque (GERVAIS, *ibid.*: 233). Par conséquent, il apparaît que l'hippopotame, que ce soit pour parer au danger qu'il constituait vis-à-vis des récoltes (FRÄDRICH, *ibid.*: 108), pour répondre à une signification rituelle (HOULIHAN, *ibid.*: 121) ou pour satisfaire aux distractions des hommes, fut chassé en Egypte durant la totalité de l'époque pharaonique et de l'Antiquité. Cette chasse acharnée aurait fini par rendre sa présence très sporadique en Haute-Egypte durant l'ère chrétienne (FLOWER, *ibid.*: 443).

L'hippopotame continua d'avoir une image péjorative après l'invasion arabe. Ainsi, ABD ALLATIF (*ibid.*: 143) se fait l'écho de ses contemporains en écrivant vers la fin du XII^e siècle qu'il "poursuit les barques, les fait chavirer, et dévore tous ceux de l'équipage ou des passagers qu'il peut attraper". Sa chasse n'aurait cependant pas été soutenue à cette époque selon DESMOULINS (*ibid.*: 216-217). En effet, pour expliquer sa rareté en Egypte durant l'Antiquité suivie d'une soudaine relative abondance dans le Delta constatée au Moyen Age, cet auteur avance que les fréquentes révolutions sous le gouvernement des émirs et la conquête du pays par les arabes auraient dépeuplé les bords du Nil et favorisé par contrecoup le développement de populations d'hippopotames qui n'étaient plus chassées. Quoiqu'il en soit, il était chassé de façon certaine par les autochtones durant la Renaissance (SAVARY, *ibid.*: 228; STOCHOVE, *ibid.*: 8) car accusé d'être "dangereux, et pernicieux aux biens de la terre, désolant les campagnes, et mangeant partout où il pousse les épis de blé"; on dit même de lui qu'il "étouffe les hommes avec ses jambes [...] et en boit seulement le sang" (LE MASCRICR, *ibid.*: 31*). A partir de la Renaissance, le déclin de l'hippopotame en Egypte était donc largement entamé, l'animal étant considéré comme "très rare" et importé au Caire à partir de Nubie (LE MASCRICR, *ibid.*). En Nubie soudanaise, sa capture constituait encore au XIX^e siècle l'occupation favorite de certains indigènes car sa chair était estimée et sa peau requise pour confectionner des boucliers (ADAMS, *ibid.*: 48). La chasse à l'hippopotame perdura de façon anarchique jusqu'au XX^e siècle, comme au Tchad où il était systématiquement détruit pour fournir de la viande aux ouvriers agricoles (RAMECOURT, 1936).

En conclusion, la détérioration du climat en Egypte eut pour conséquence de faire se concentrer dans une bande de terre étroite le long du Nil les hommes et les hippopotames. Le développement de l'agriculture et l'expansion démographique en découlant les mirent en concurrence en déclenchant de la part des premiers une chasse impitoyable et soutenue. Elle est la cause principale de la disparition de l'hippopotame en Egypte au cours du XIX^e siècle.

ANNEXE

Gazette des localités égyptiennes mentionnées

Les coordonnées ont été obtenues à l'aide de l'US BOARD ON GEOGRAPHIC NAMES (1959).

Localité	Province	Lat. N	Long. E
Alexandrie	ALEXANDRIE	31 12	29 54
Assouan	ASSOUAN	24 05	32 53
Béni-Souef	BENI-SOUEF	29 05	31 05
Bir Kiseiba	OUADI EL GEDID	22 41	29 55
(Le) Caire	LE CAIRE	30 03	31 15
Damiette	DAMIETTE	31 25	31 48
Derau	ASSOUAN	24 25	32 56
Edfou	ASSOUAN	24 58	32 52
El Derr	ASSOUAN	22 44	32 15
El Kanaïs	BAHR EL AHMAR	25 00	33 19
Esna	KENA	25 18	32 33
Girga	SOHAG	26 20	31 53
Istabary	MENUFIA	30 30	31 03
Kasr Es Saga	FAYOUM	29 36	30 40
Kom Ombo	ASSOUAN	24 28	32 57
Kous	KENA	25 55	32 45
Meidoum	BENI-SOUEF	29 22	31 10
Mérimdé			
Beni-Salamé	GIZEH	30 19	30 51
Ouadi Halfa	NORD SOUDAN	21 56	31 20
Oued El			
Koubbania	ASSOUAN	24 15	32 52
Paprémité		<i>non trouvé</i>	
Péluse	SINAI	31 03	32 31
Rosette	BEHEIRA	31 24	30 25
Saïs	GHARBIA	30 58	30 46
Saqqara	GIZEH	29 51	31 13
Suez	SUEZ	29 58	32 33

REMERCIEMENTS

Je remercie en tout premier lieu A. Gautier (professeur à l'Université de Gand), qui m'a spontanément apporté ses conseils et ses corrections si précieuses. S. Ghabbour (professeur à l'Université du Caire) et L. Granjon et M. Tranier (respectivement maître de conférence et professeur au Muséum national d'histoire naturelle de Paris) m'ont également aidé pour les premières ébauches de ce manuscrit. Merci à N. Fitzpatrick, professeur d'anglais à l'Ecole Normale Supérieure de Chimie de Paris, pour ses corrections du résumé en anglais.

BIBLIOGRAPHIE

- ABD ALLATIF (1810). *Relation de l'Égypte par Abd-allatif, médecin arabe à Bagdad. Avec notes historiques et critiques de Silvestre de Sacy*. Imprimerie impériale, Paris (753 pp).
- ABD AL RAHMAN AL JABARTI (1896). *Merveilles biographiques et historiques ou chroniques du Cheikh Abd-el-Rahman al Djabarti. Vol. 9*. Le Caire.
- ADAMS, A.L. (1870). *Notes of a naturalist in the Nile Valley and Malta*. Edmonston and Douglas, Edinburgh (295 pp).
- ALPIN, P. (1980). *Histoire Naturelle de l'Égypte*. IFAO, Le Caire (583 pp).
- AMMIEN MARCELLIN (1996). *Histoires. T. 2. Livres XX-XXII*. Les Belles Lettres, Paris (357 pp).
- ANDREWS, C.W. (1903). Notes on an expedition to the Fayûm, Egypt, with descriptions of some new mammals. *Geol. Mag.*, 4: 337-343.
- BEHRMANN, A. (1989). *Das Nilpferd in der Vorstellungswelt der Alten Ägypter. Teil I, Katalog*. Reihe XXXVIII, Archäologie, Bd. 22. Europäische Hochschulschriften, Frankfurt.
- BEHRMANN, A. (1996). *Das Nilpferd in der Vorstellungswelt der Alten Ägypter. Teil II, Textband*. Reihe XXXVIII, Archäologie, Bd. 62. Europäische Hochschulschriften, Frankfurt (203 pp).
- BELON DU MANS, P. (1970). *Le voyage en Égypte de Pierre Belon du Mans*. IFAO, Le Caire (122 pp).
- BOULENGER, G.A. (1907). *Zoology of Egypt. The Fishes of the Nile*. Rees, London (578 pp).
- BOURGOIN, P. & P. DANDELLOT (1955). *Animaux de chasse d'Afrique*. La Toison d'Or, Paris (255 pp).
- BROWNE, W.G. (1800). *Nouveau voyage dans la Haute et Basse-Égypte, la Syrie, le Dar-four, fait depuis les années 1792 jusqu'en 1798. T. 1*. Dentu, Paris (371 pp).
- BRUCE, J. (1790). *Voyage aux sources du Nil, en Nubie et en Abyssinie, pendant les années 1768, 1769, 1770, 1771 et 1772. Vol. 7, T. 13*. Londres (352 pp).
- BUFFON, G.L.L. (1764). *Histoire naturelle, générale et particulière avec la description du Cabinet du Roy. Histoire Naturelle des animaux quadrupèdes. Mammifères: T. 12 (11)*. Imprimerie Royale, Paris (452 pp).
- BURCKHARDT, J.L. (1819). *Travels in Nubia*. Murray, London (543 pp).
- CHESNEAU, J. & A. THEVET (1984). *Voyages en Égypte des années 1549-1552*. IFAO, Le Caire (311 pp).
- CHURCHER, C.S., M.R. KLEINDIENST, M.F. WISEMAN & M.M.A. McDONALD (1997). The Quaternary faunas of Dakhleh Oasis, Western Desert of Egypt. Abstract. *The Second Dakhleh Oasis Project Research Seminar, June 16-20*. Royal Ontario Museum and University of Toronto, Toronto: 1-3.
- CLÉBERT, J.-P. (1971). *Dictionnaire du Symbolisme animal. Bestiaire fabuleux*. Albin Michel, Paris (459 pp).
- CORBET, G.B. (1978). *The Mammals of the Palaearctic Region: a taxonomic review*. British Museum (Natural History), London (314 pp).
- CUNY, C. (1863). *Journal de voyage de Siout à El-Obéid*. Bertrand, Paris (203 pp).
- DAPPER, O. (1686). *Description de l'Afrique*. Wolfgang, Waesberge, Boom et van Someren, Amsterdam (556 pp).
- DENON, D.V. (1802). *Voyage dans la Basse et la Haute Égypte*. Didot L'ainé, Paris (322 pp).
- DESMOULIN, A. (1825). Hippopotame. In: *Dictionnaire Classique d'Histoire Naturelle. Vol. 8 (H-Inv)*. BORY DE SAINT-VINCENT, J.B.G (Ed). Rey et Gravier, Paris: 215-225.
- FABRI, F. (1975). *Le voyage en Égypte de Félix Fabri*. IFAO, Le Caire (1066 pp).
- FIGARI, A. (1864). *Studi scientifici sull'Egitto e sue adiacenze compressa la penisola dell'Arabia Petrea. T. 1*. Giusti, Luca (300 pp).

- FLOWER, S.S. (1932). Notes on the Recent Mammals of Egypt, with a list of the species recorded from that Kingdom. *Proc. Zool. Soc. London*: 369-450.
- FRÄDRICH, H. (1972). L'hippopotame amphibie. In: *Le Monde Animal en 13 volumes. T. XIII: Mammifères 4*. GRZIMEK, B. & M. FONTAINE (Eds). Stauffacher, Zurich: 108-120.
- GAILLARD, C. (1934). Contribution à l'étude de la faune préhistorique d'Egypte. *Arch. Mus. nat. Hist. nat. Lyon*, 14: 1-125.
- GAUTIER, A. (1984). Archaeozoology of the Bir Kiseiba region, Eastern Sahara. In: *Cattle-Keeper of the Eastern Sahara: The Neolithic of Bir Kiseiba*. WENDORF, F., SCHILD, R. & A.E. CLOSE (Eds). SMU, Dallas: 49-72.
- GAUTIER, A. & W. VAN NEER (1989). Animal Remains from the Late Paleolithic Sequence at Wadi Kubbania. In: *The Prehistory of Wadi Kubbania. Vol. 2: Stratigraphy, Paleoecology and Environment*. WENDORF, F., SCHILD, R. & A.E. CLOSE (Eds). SMU, Dallas: 119-161.
- GEOFFROY SAINT-HILAIRE, E. (1809). Histoire naturelle des poissons du Nil. Vol. 8. In: *Description de l'Egypte, ou Recueil des observations et des recherches qui ont été faites en Egypte pendant l'expédition de l'armée française, publiée par les ordres de Sa Majesté l'empereur Napoléon le Grand*. Imprimerie impériale, Paris: 1-46, 265-310.
- GERVAIS, P. (1855). *Histoire Naturelle des Mammifères. T. 2*. Curmer, Paris (341 pp).
- GROUT DE BEAUFORT, F. (1988). *Ecologie historique du loup Canis lupus L. 1758 en France*. Thèse de doctorat d'Etat de l'Université de Rennes I. SFF, Paris (1104 pp).
- HALTENORTH, T & H. DILLER (1985). *Mammifères d'Afrique et de Madagascar*. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel (397 pp).
- HÉRODOTE D'HALICARNASSE (1982). *Histoires. Livres II*. Les Belles Lettres, Paris (194 pp).
- HOULIHAN, P.F. (1996). *The Animal World of the Pharaohs*. American University, Cairo (245 pp).
- IBN AL FAKIH D'HAMADAN (1973). *Abrégé du Livre des Pays*. Institut Français de Damas, Damas (440 pp).
- JEANNIN, A. (1945). *Les bêtes de chasse de l'Afrique française*. Payot, Paris (235 pp).
- KOCK, D. (1970). Die Verbreitungsgeschichte des Flusspferdes, *Hippopotamus amphibius* Linné, 1758, im unteren Nilgebiet. Ein Beitrag zur Zoogeographie Nordafrikas. *Säugetierk. Mitt.*, 18: 12-25.
- LE MASCRIER (1735). *Description de l'Egypte contenant plusieurs remarques curieuses sur la géographie ancienne et moderne de ce país, composée sur les Mémoires de M. de Maillet B*. Genneau et Rollin, Paris (328 + 242 pp).
- LÉON L'AFRICAIN, OUAZZAN (1993). *Description de l'Afrique. T. 3*. Islamic geographic, Vol. 138. Wolfgang Goethe University, Frankfurt (480 pp).
- LINDSAY, J. (1965). *Leisure and pleasure in Roman Egypt*. Muller, London (482 pp).
- LUCAS, P. (1720). *Voyage du sieur Paul Lucas fait en 1714 dans la Turquie, l'Asie, Sourie, Palestine, Haute et Basse-Egypte. T. 2*. Steenhouwer et Uytwert, Amsterdam (345 pp).
- LUBENAU, R. (1972). Le voyage de Reinhold Lubenau. 25-28 octobre 1588. In: *Voyages en Egypte des années 1587-1588*. IFAO, Le Caire (266 pp).
- LYDEKKER, R. (1926). *The game animals of Africa*. Rowland Ward, London (483 pp).
- MANLIUS, N. (1996). *Biogéographie et Ecologie historique de quelques grands mammifères terrestres et sauvages en Egypte, depuis le Pléistocène final jusqu'à nos jours*. Thèse de doctorat de troisième cycle en Zoologie-Ecologie historique du Muséum national d'histoire naturelle de Paris (364 pp).
- MANLIUS, N. (1998). L'ours brun en Egypte. *Ecologie*, 29: 565-581.
- MANLIUS, N. & A. GAUTIER (1999). Le sanglier en Egypte. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sér. III, Science de la vie / Life Science*, 322: 573-577.
- MAQRIZY (1992). *Description topographique et historique de l'Egypte*. Islamic geographic, Vol. 59 à 62. Wolfgang Goethe University, Frankfurt.
- MARMOL, L.C. (1667). *L'Afrique, de la traduction de Nicolas Perrot sieur d'Ablancourt. T. 1 L. 1*. Jolly, Paris (111 pp).
- MIDANT-REYNES, B., E. CRUBEZY, T. JANIN & W. VAN NEER (1993). Le site prédynastique d'Adaïma. Rapport préliminaire de la quatrième campagne de fouille. *BIFAO*, 93: 349-370.
- MORGAN, J DE (1896). *Recherches sur les origines de l'Egypte. T. 1: L'âge de la pierre et des métaux*. Leroux, Paris (282 pp).
- MORISON, A. (1976). *Le voyage en Egypte d'Anthoine Morison*. IFAO, Le Caire (209 pp).
- NORDEN, F.L. (1755). *Voyage d'Egypte et de Nubie*. Imprimerie de la Maison Royale des Orphelins, Copenhague (288 pp).
- OSBORN, D.J. & I. HELMY (1980). The contemporary Land Mammals of Egypt (Including Sinai). *Fieldiana Zool.*, numéro special 5 (579 pp).
- OSBORN, D.J. & J. OSBORNOVÁ (1998). *The Mammals of Ancient Egypt*. Aris and Phillips, Warminster (213 pp).
- PALERNE LE FORÉZIEN, J. (1991). *D'Alexandrie à Istanbul. Pérégrinations dans l'Empire ottoman. 1581-1583*. L'Harmattan, Paris (351 pp).
- PALLARY, P. (1932). Marie Jules-César Savigny, sa vie et son oeuvre. Deuxième partie: L'oeuvre de Savigny. Notes isolées inédites d'un manuscrit. *Mém. Inst. Egypte*, 20: 74-76.
- PETIT-MAIRE, N., P. SANLAVILLE & Z. YAN (1995). Oscillation de la limite nord du domaine des moussons africaine, indienne, et asiatique, au cours du dernier cycle climatique. *Bull. Soc. géol. France*, 166: 213-220.
- POCKOCKE, R. (1772). *Voyages de Richard Pockocke en Orient, dans l'Egypte, l'Arabie, la Palestine, la Syrie, la Grèce, la Thrace. T. 2*. Costard, Paris (500 pp).
- QUATREMÈRE, E.-M. (1811). *Mémoires géographiques et historiques sur l'Egypte et sur quelques contrées voisines. T. 2*. Schoell, Paris (532 pp).
- RAMECOURT, G. DE (1936). *Grandes chasses et petites choses d'Afrique*. Didot, Paris (384 pp).
- RIFAUD, J.J. (1830). *Tableau de l'Egypte, de la Nubie et des lieux circonvoisins; ou itinéraire à l'usage de ceux qui visitent ces contrées*. Treuttel et Würtz, Paris (444 pp).
- RUSSELL, M. (1831). *View of Ancient and Modern Egypt*. Oliver and Boyd, Edinburgh (480 pp).
- SAVARY, F. (1628). *Relation des voyages de Mr de Breves, tant en Grèce, Terre-Sainte et Aegypte, qu'aux Royaumes de Tunis et Alger*. Gasse, Paris (383 pp).
- SAVE-SÖDERBERGH, T. (1953). On egyptian representations hippopotamus hunting as a religious motive. *Uppsala Horae Soederblomianae*, 3: 1-60.

- SNEH, A. & T. WEISSBROD (1973). Nile Delta: the defunct Pelusiac branch identified. *Science*, 180: 59-61.
- SONNINI DE MANONCOURT, C.S. (1799). *Voyage dans la Haute et Basse Egypte. T. 3*. Buisson, Paris (424 pp).
- STOCHOVE, V. (1975). *Voyage en Egypte de Vincent Stochove*. IFAO, Le Caire (153 pp).
- THEVENOT, J. (1665). *Relation d'un voyage fait au Levant, dans laquelle il est curieusement traité*. Jolly, Paris (576 pp).
- UERPMMANN, H.P. (1987). The Ancient Distribution of Ungulate Mammals in the Middle East. In: *Beihefte zum Tübinger Atlas des Vorderen Orients. Reihe A (Naturwissenschaften)*, n° 27. Reichert, Wiesbaden (173 pp).
- US BOARD ON GEOGRAPHIC NAMES (1959). *Egypt, Official Standard Names*. Office of Geography of Department of the Interior, Washington (415 pp).
- VAN GHISTELLE, J. (1976). *Le voyage en Egypte de Joss van Ghistelle*. IFAO, Le Caire (235 pp).
- VON DEN DRIESCH, A. & J. BOESSNECK (1985). *Die Tierknochenfunde aus der neolithischen Siedlung von Merimde-Benissalâme am westlichen Nildelta*. Institut für Palaeoanatomie, Domestikationsforschung und Geschichte der Tiermedizin der Universität München, München (126 pp).
- VILLAMONT (1608). *Les voyages du seigneur de Villamont*. Lambert de la Coste, Liège (607 pp).
- WASSIF, K. (1976). Mammals. In: *The Nile. Biology of an Ancient River*. RZOSKA, J. (Ed). Junk, La Hague: 95-97.
- WEIGALL, A.E.P. (1909). *Travels in the Upper Egyptian Deserts*. Blackwood and soon, Edinburgh and London (193 pp).
- ZERENGHI, F. (1603). La vera descrizione dell Hippopotamo. In: *Medico Cirurgico in Napoli*. VITALE, C. (Ed.). Napoli: 55 -67.

Received: July 12, 1999

Accepted: November 5, 1999

Mechanisms of caudocephalic axis formation in the avian germ disc

Marc Callebaut, Emmy Van Nueten, Fernand Harrisson and Hilde Bortier

RUCA, UA, Laboratory of Human Anatomy and Embryology
Groenenborgerlaan 171, B-2020 Antwerpen (Belgium)

ABSTRACT. We studied some mechanisms preceding or accompanying caudocephalic axis formation in the young avian germ disc. In an initial group this was done using eggs extracted from the uterus before oviposition. The development of germ discs after incubation in ovo (obliquely positioned or not) was compared with development after culture in vitro: germ discs develop much better when incubated in ovo than when cultured in vitro. We previously demonstrated that in obliquely-oriented germ discs, localized in situ on their egg yolk ball, the nucleus of PANDER and surrounding subgerminal ooplasmic layers present a spatial orientation parallel with RAUBER's sickle and with the temporally-predisposed sickle-shaped Anlage fields in the upper layer of the unincubated overlying blastoderm. The observations in our present study suggest that at the moment of bilateral symmetrization, a "vertical" influence emanating from the central subgerminal ooplasmic layers on parallel parts of the overlying blastoderm takes place. The first sign of the development of bilateral symmetry (already seen on the surface of a germ disc after 4 h of oblique positioning) is the appearance of a broad anti-sickle in the future cranial half of the blastodisc. In a second group, by excision of parts of unincubated or incubated blastoderms, followed by culture in vitro, we tried to explain some phenomena occurring during early axis development. Whilst gastrulation phenomena can take place after in vitro culture of isolated cranial quadrants of unincubated chicken blastoderms (stage X-XI of Eyal-Giladi and Kochav: 1976), this is not the case in isolated anti-sickle regions. The actual presence of neither RAUBER's sickle material nor sickle endoblast is necessary for the formation of a primitive streak. Also the existence of a long-range secretion gradient of inducing factors derived from these structures after their removal can play an inducing role.

KEY WORDS: caudocephalic orientation, avian blastoderm, RAUBER's sickle, gastrulation, anti-sickle region.

INTRODUCTION

Recent studies (CALLEBAUT 1993a, b, c; CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1994, 1995; CALLEBAUT *et al.*, 1998) yielded new data about the structure and developmental events in avian intrauterine germ discs after bilateral symmetrization and in unincubated eggs. To describe these events, we have adopted an unequivocal terminology of the structures involved. The words cranial and caudal are used instead of anterior and posterior, because, like humans, birds are bipeds in an erect position. The terminology used for the different components of an unincubated chicken blastoderm is represented in Fig. 1. The term RAUBER's sickle is used instead of KOLLER's sickle (1882) since RAUBER was the first to describe it (CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1994). We use the term sickle endoblast because we have demonstrated that this

part of the deep layer is directly derived from the RAUBER's sickle (CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1994). The anti-sickle region (Fig. 1) was first described by CALLEBAUT (1993b) in gravitationally-oriented quail germ discs. In this anti-sickle region, an irreversible disruption takes place between the future cranial part of the germ and the underlying peripheral subgerminal ooplasm at the moment of bilateral symmetrization (CALLEBAUT, 1993a, b, 1994). The anti-sickle itself is formed by a sickle-shaped group of loose yolk masses and cells. In the anti-sickle region the local upper layer (UL) is also included. RAUBER's sickle divides the area pellucida into a peripheral caudal area marginalis (Fig. 1) and into an area centralis in which a more or less developed sheet of endophyll can be seen in the caudo-central region. We use the name endophyll, rather than primary hypoblast to distinguish the endophyll from RAUBER's sickle, also a deep layer component (CALLEBAUT 1993a, 1993c, 1994). When we speak about temporally-predisposed upper layer (UL)

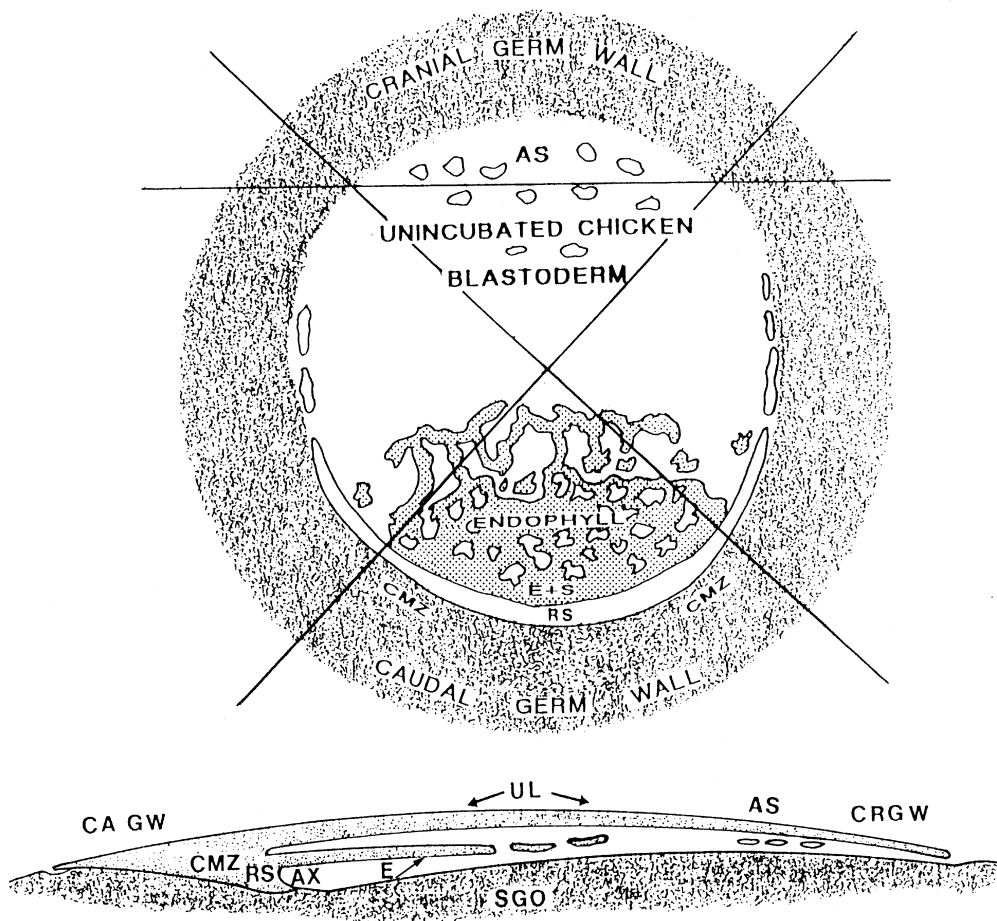


Fig.1. – Top: Schematic representation of the disposition of the components of the deep layer in the cranial, caudal and lateral quadrants of a freshly laid, unincubated chicken blastoderm seen from the ventral surface. In the unincubated chicken blastoderm the endophyll does not extend into the cranial quadrant.

Bottom: Schematic mediosagittal section through an unincubated chicken blastoderm. Note that the caudal marginal zone and RAUBER's sickle are in permanent contact with the caudal subgerminal ooplasm, whilst in the anti-sickle region and at the cranial germ wall this is not the case.

parts of a blastoderm, we mean parts that are still not definitively committed and which, after further incubation and without any intervention, will differentiate into a particular kind of tissue as the result of their spatial disposition in the blastoderm and their mutual interactions (CALLEBAUT et al., 1996). In the central region of the subgerminal ooplasm we find the nucleus of PANDER (1817), which contains a special kind of yolk: primordial yolk (CALLEBAUT, 1974) localized in δ ooplasm (CALLEBAUT, 1983, 1987 referred to by BELLAIRS, 1991, 1998). At the moment of blastoderm formation, the superficial ooplasm and primordial yolk of the nucleus of PANDER (1817) settle mainly in the endophyll and in the primordial germ cells (CALLEBAUT 1983, 1984). The boot-shaped distortion of the nucleus of PANDER (1817) and latebra-neck (HAMILTON, 1965) was first seen in mediosagittal sections of naturally-developing germ discs after ^3H -tyrosine injection to the quail mother and autoradiography (CALLEBAUT, 1983). In the present study, in obliquely-oriented germ discs, the eccentric spatial aspect of the nucleus of PANDER (1817) and of the surrounding subger-

minal ooplasmic layers was observed. Some mechanisms of caudocephalic axis formation, intervening in isolated parts of unincubated or incubated avian blastoderms, are described. In a previous study (CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1995) we investigated only the developmental potencies in vitro of isolated cranial quadrants and anti-sickles in quail. In the present work we also studied the development of similar fragments from the chicken. There seems to be a difference in the developmental potencies after culture in vitro of cranial quadrants from unincubated quail blastoderms compared with cranial quadrants from unincubated chicken blastoderms. In the first group usually only preneurulation phenomena occurred, while in the second group often a small embryo developed. Together with observations from earlier experiments, our present results suggest that in the presence of upper layer and endophyll, a primitive streak (PS) develops from a region (eventually isolated) in the avian blastoderm where a maximum of RAUBER's sickle material or junctional endoblast is/ or has been present.

MATERIAL AND METHODS

Experiments with extracted quail eggs

The quail eggs were extracted from the uterus at the beginning of calcification (approximately 10h after oviposition of the previous egg, according to STEPINSKA and OLSZANSKA, 1983) to just before oviposition (25 h after oviposition of the previous egg). Some of the extracted eggs were incubated vertically at 39°C in a humid atmosphere, all or none by the air-bubble method (CALLEBAUT, 1993b). After 4-11 h of oblique positioning, the egg yolk balls were fixed in toto in calcium formalin overnight, followed by rinsing in tap water during one day. Shortly after the beginning of fixation, a linear charcoal mark was placed behind the caudal germ wall (behind the highest point of the blastoderm rim). Thereafter the egg yolk balls were dehydrated during approximately five days, successively in alcohol solutions of 30, 50, 70, 95, 100 percent. In the last liquid the germ discs (still fixed to their vitelline membrane) were excised from their egg yolk ball, and the nucleus of PANDER and surrounding yolk layers in the subgerminal ooplasm were progressively exposed using a gentle stream of absolute alcohol from a Pasteur pipette. Stereomicrographs were taken with a Sony color videoprinter (Mavigraph). Tissues were embedded in paraffin, and 8 µm-thick sections cut parallel with the caudocephalic axis (perpendicular to the linear charcoal mark applied behind the caudal germ wall). Sections were stained with Unna (after SILVERTON & ANDERSON, 1961). From other extracted uterine eggs the blastoderms were removed by excision from their egg yolk ball and cultured in vitro according to the method of NEW (1955).

Abbreviations used in the figures

AB:	air bubble	IE ECT	intraembryonic ectoderm
AO:	area opaca	JE:	junctional endoblast
AS:	anti-sickle region formed by a continuous upper layer part and an interrupted deep layer part, which contains no sickle material but numerous loose yolk masses and loose cells as a result of the disruption from the underlying ooplasm (CALLEBAUT, 1993 a, b, c)	LAT PLATE:	lateral plate
AX:	axilla; arm-pit-like caudal part of the subgerminal cavity	LGW:	lower germ wall
CA:	caudal	LN:	latebra neck (HAMILTON, 1965)
CA GW:	caudal germ wall	NO EMBR:	no embryo develops
CMZ:	caudal marginal zone, localized behind RAUBER's sickle	NP:	nucleus of PANDER or neural plate
CR GW:	cranial germ wall	PNP:	preneural plate
CR Q:	cranial quadrant	PS:	primitive streak
CSO:	central subgerminal ooplasm	RS:	RAUBER's sickle extends laterally and cranially as sickle horn fragments
E:	endophyll	S:	sickle endoblast
EMBR:	embryo develops	SC:	subgerminal cavity
E + S:	zone where sickle endoblast derived from RAUBER's sickle (CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1994) penetrates into the endophyll (CALLEBAUT et al., 1997a)	SGO:	central subgerminal ooplasm
		SH:	sickle horn
		SOM:	somites
		t:	cranial pointed end of nucleus of PANDER
		UGR:	upper germ rim
		UGW:	upper germ wall
		UL:	upper layer
		ULAS:	upper layer of anti-sickle
		YE:	yolk endoblast

Observations and/or experiments with unincubated chicken blastoderms or parts of them

We used unincubated chicken blastoderms presenting a sickle of RAUBER (1876) from eggs stored at 15-20°C for 1-2 days. After opening of the eggs and removal of the egg white, the egg yolk balls were placed in a chick RINGER solution. The vitelline membrane was sectioned all around the equator of the yolk ball and removed from the yolk by a slow movement in the direction of/and bending 180°C over the germ disc. In this manner the chicken blastoderm, still adhering to the vitelline membrane and underlying subgerminal ooplasm, could usually be separated from the yolk mass.

After excision of the chicken cranial quadrants or anti-sickle regions, the other blastoderm parts were removed and the former were cultured, still fixed on their own vitelline membrane, according to the method of NEW (1955).

Experiments with quail blastoderms, preincubated in ovo during 11-14 h (Stage 4, HAMBURGER & HAMILTON, 1951), containing junctional endoblast

The position and orientation of the differently-cultured germ discs or differently-cultured fragments of quail or chicken blastoderms are represented on a scheme accompanying the photomicrographs of the explants. The fixation of cultured blastoderms or fragments was performed in a modified Heidenhain's fixative (ROMEIS, 1948) containing 0.5g NaCl, 80ml water, 2g trichloroacetic acid, 4ml acetic acid and 20ml formalin. The further histological procedures were as described in an earlier study (CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1994).

RESULTS

Formation of a caudocephalic axis in quail germ discs extracted from the uterus (n=25)

Only eggs with a hard but fragile calcareous white egg shell (approximately corresponding with a chicken stage VI-VII of EYAL-GILADI & KOCHAV, 1976) or with a more calcified shell, formed a caudocephalic axis (in 70% of the cases) and usually developed further normally when incubated in ovo. Similar germ discs removed from white-shelled eggs did not develop normally after culture in vitro. By contrast, blastoderms from extracted eggs presenting a pigmentation (beginning a few hours before oviposition and in which bilateral symmetrization had already taken place) developed normally when explanted in vitro.

If the germ disc from an egg with a hard but fragile calcareous egg shell was placed in a permanently oblique position (n=15) (with reference to the vertical line) by injection of an air bubble at the topmost point of its egg yolk ball (air-bubble oriented method: CALLEBAUT 1991; 1993b) (see Fig. 2) then also a normal caudocephalic axis developed. If this oblique positioning was applied before symmetrization, a lower, broader (future cranial) germ wall and a higher, narrow (future caudal) germ wall appeared (Fig. 3). Also visible from the surface, even after a short time (e.g. after 4 h of oblique orientation) was the very obvious formation of a broad voluminous anti-sickle region. On sections, this anti-sickle region is initially seen to be formed by loose yolk masses and cells extending sometimes into the whole cranial half of the subgerminal space (Figs 4, 5, 6, 7, 8: paradoxical eccentricity: CALLEBAUT, 1993b)

The cells form 2-5 rows close to the vitelline membrane, whilst the large yolk masses are found in or at the bottom of the subgerminal space.

After 11 h of oblique positioning the germ disc usually takes the aspect of an unincubated blastoderm on sections: the cranial half is flatter than the caudal half, because in the latter endophyll, RAUBER's sickle and the caudal marginal zone have developed. During the gentle progressive removal of the yolk below the germ disc in the 100% alcohol solution (during dehydration), we were able to expose the general stereomicroscopic aspect and orientation (under influence of the oblique positioning) of the nucleus of PANDER and surrounding ooplasm (Fig. 9). Here the elongated, slightly oblong, coniform aspect of the nucleus of PANDER is seen bulging on the underside of the subgerminal ooplasm. The sharper end (toe-like) points in the direction of the cranial part of the blastoderm. The broader end (heel-like) is directed towards the caudal part of the blastoderm. The nucleus of PANDER has thus also an axis parallel with the caudocephalic axis of the overlying blastoderm. When we progressively removed the more peripheral ooplasmic layers of the nucleus of PANDER, we saw that they also have not a circular form but are ovoid, elongated, and parallel (Fig. 10)

with the caudocephalic axis of the neighbouring blastoderm. The central core of the nucleus of PANDER usually also has a pointed end in a cranial direction. The ovoid layers surrounding the central core of the nucleus of

Legends to the figures (see opposite page)

Fig. 2. – Schematic representation of the localization of structures (eventually visible at the surface) in an extracted quail germ placed in an oblique orientation in situ on its egg yolk ball, by the air bubble method after in ovo incubation. A transition between the early eccentric stage and the freshly laid egg stage is represented: the RAUBER's sickle is still localized close to the upper germ rim; anti-sickle region indicated by stippled area; nucleus of PANDER and surrounding encircling ooplasmic layers together form an ovoid coherent mass.

Fig. 3. – Surface view of a similar germ disc as represented in Fig. 2 after 11 h of oblique orientation and in ovo incubation; several structures are visible by transparency; the lower germ wall is broader than the upper germ wall; the anti-sickle is localized in the cranial (lower) half of the subgerminal cavity; bar: 1 mm.

Fig. 4. – Mediosagittal section (seen at low magnification) through the germ disc from an extracted, white, thin-shelled quail egg after 4 h of oblique orientation and in ovo incubation; the future caudal part is at the right of the figure. Note the elongated form of the nucleus of PANDER with pointed end directed cranially; Unna staining; bar: 1mm.

Fig. 5. – Caudal part of the section of Fig. 4 at higher magnification: the number of cells in this region is lower than in the more cranial parts of the germ (usually only 1 row of cells is seen); bar: 200 μ m.

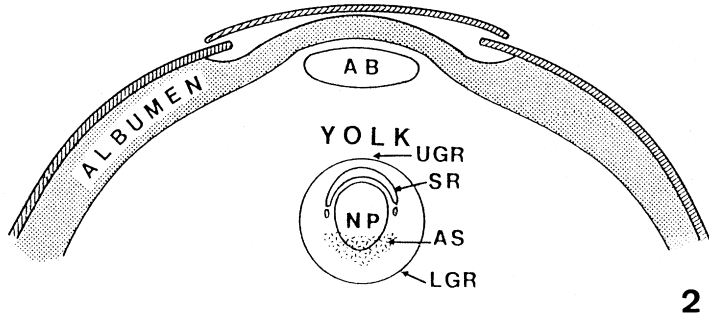
Fig. 6. – Central part of the section of Fig. 4 at higher magnification; note the increasing number of small round cells below the vitelline membrane (2-3 rows of cells are seen) and several large yolk masses in the subgerminal cavity above the nucleus of PANDER; bar: 200 μ m.

Fig. 7. – More cranial part (anti-sickle region) of the section of Fig. 4 at a higher magnification; note the very numerous cells aggregated below the vitelline membrane (3-5 rows of round cells); bar: 200 μ m.

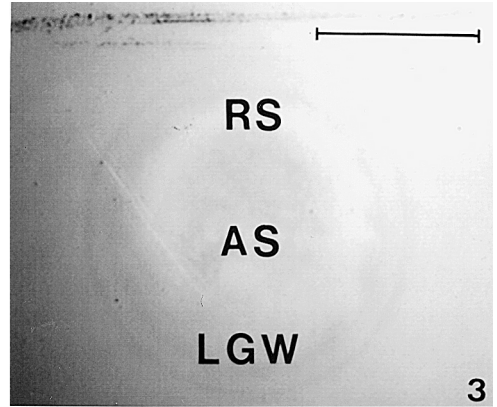
Fig. 8. – Most cranial (lower) part of the section through the germ disc of Fig. 4 at higher magnification; near the cranial rim of the germ disc only 1 row of cells is seen; bar: 200 μ m.

Fig. 9. – Surface view of coniform ovoid nucleus of PANDER with surrounding subgerminal ooplasmic layers, bulging at the deep side of the germinal disc after progressive removal of the uninvolved yolk. The germinal disc has been oriented obliquely in situ on its egg yolk ball during 11 h. Note the caudocranial orientation parallel with the caudocranial axis of the neighbouring blastoderm. Note the cranial pointed end and the caudal round larger end; bar: 1 mm.

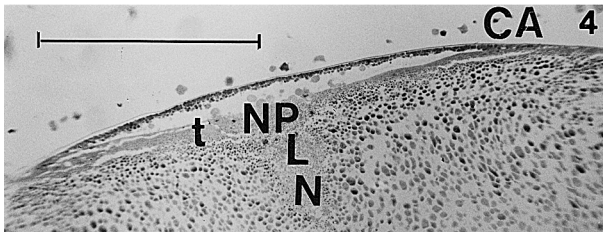
Fig. 10. – After the peripheral yolk layers are progressively peeled away from the nucleus of PANDER, the ovoid ooplasmic layers surrounding the central core (arrowhead) can be visualized in surface view. Here also the caudal and cranial end of the layers converge behind the core; bar: 1 mm.



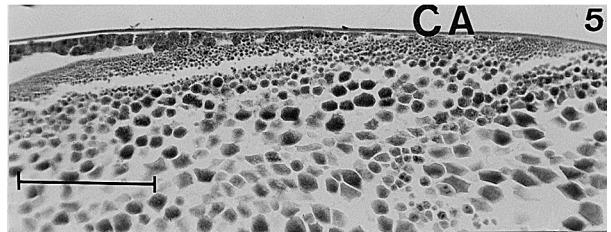
2



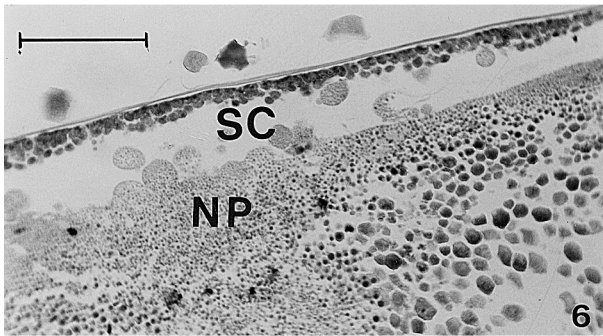
3



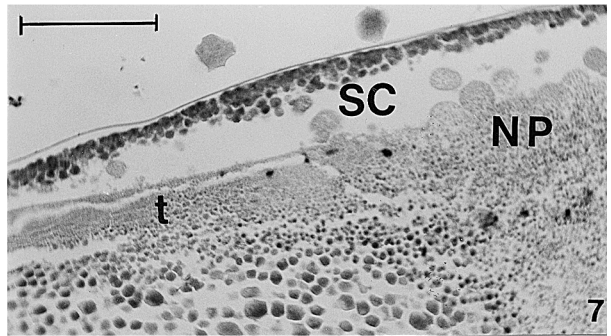
4



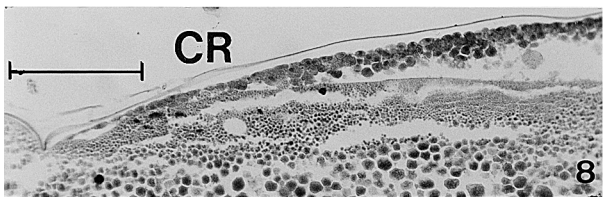
5



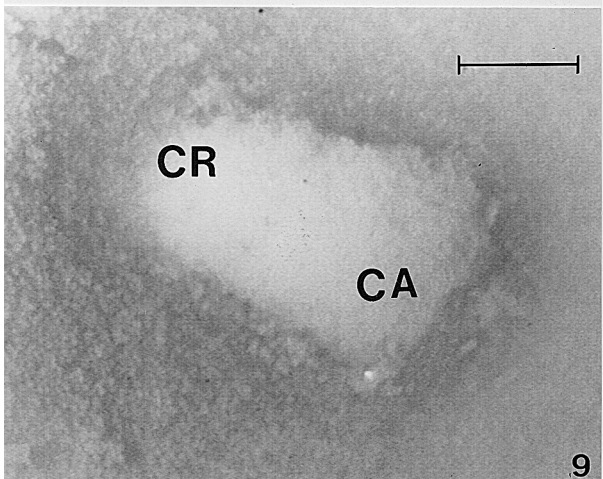
6



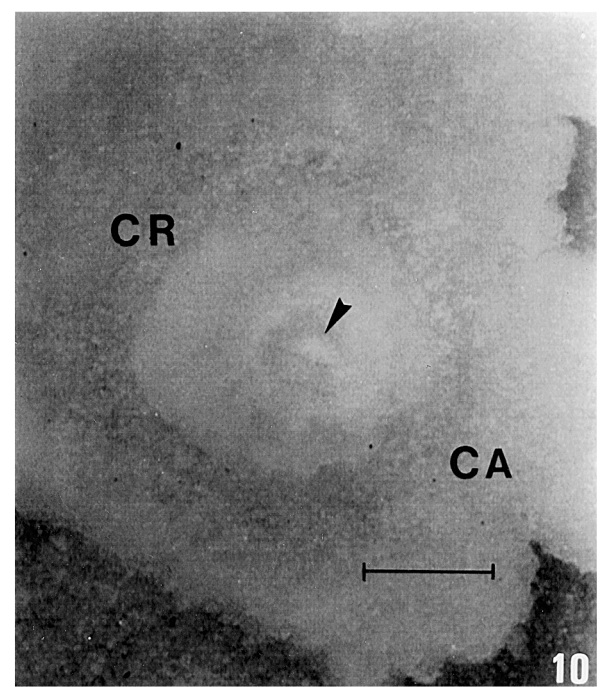
7



8



9



10

PANDER are separated by a much larger distance cranially than caudally, where they are localized very close to, and just behind the central core. Let us note that the nucleus of PANDER together with the encircling subgerminal ooplasmic layers has a maximum length of circa 2-2.5 mm, which corresponds approximately with the extent of the area centralis of the overlying blastoderm. Since, during fixation, the orientation of the egg yolk ball and germ disc remains unchanged with reference to the vertical line (by the presence of the air bubble on top), the shape of the nucleus of PANDER and surrounding ooplasmic layers is unaltered (CALLEBAUT, 1991).

Development of axial structures in isolated cranial quadrants (n=11) or in isolated anti-sickle regions (n=12) from unincubated chicken blastoderms after culture in vitro.

In a stereomicrograph (Fig. 11A) the excised cranial quadrant, still fixed to the most cranial part of the germ wall of an unincubated chicken blastoderm, is visible at the start of the culture. After one day of culture (Fig. 11B) an embryo has developed with a centrally-oriented head region. The embryo is localized in a small area pellucida, clearly separated from a much more extended area opaca (epiboly). On sections, a PS and a neural plate are seen. In 50 % of the cultivated cranial chicken quadrants, a more or less developed embryo formed with PS and neural plate. In the remainder of the cases no PS was seen and only a broad preneural plate (Figs 12A, B) formed. Sections of the latter show a pronounced thickening of the UL above the segregated endophyll. On sections the thickened UL is separated from the endophyll by a large space, and presents localized "banding" of the nuclei (ENGLAND, 1973) indicating primary neural induction (ENGLAND & LAWSON, 1993) in the absence of chordamesoderm (CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1995). The latter developmental pattern with only the formation of a preneural plate was also always seen after the culture of cranial quadrants from unincubated quail blastoderms (CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1995). The reason for the different developmental behaviour was the presence (or proximity) or absence of RAUBER's sickle horns in the cranial quadrants (see also discussion).

Eventual development of axial structures in isolated cultured anti-sickle regions taken from unincubated chicken blastoderms (n=12).

Only one of these anti-sickle regions (Fig. 13A), removed from a seemingly unincubated chicken blastoderm (approximately stage XII – XIII of EYAL-GILADI and KOCHAV: 1976), as seen in Fig. 13B, presented, after one day of culture, a very small and short embryo (Fig. 13C) (confirmed by sectioning). The area opaca here again was very extended, whilst the surface of the area pellucida in which the rudimentary embryo formed, remained very small. In the 11 other cases (from genuinely unincubated

blastoderms, i.e. stages X to XI of EYAL-GILADI and KOCHAV, 1976) no embryo developed and not even a preneural plate was observed after sectioning.

Development of new primitive streaks from lateral parts of intermediate streak quail blastoderms (Stage 3+ of HAMBURGER & HAMILTON, 1951 (n=5)).

The experimental procedure is represented on the drawing (Fig. 14A): the original primitive streak with the whole median part of the quail blastoderm was removed. Thus, two parts were obtained, each of which contained a lateral part of the area pellucida and neighbouring junctional endoblast, yolk endoblast, and area opaca (Fig. 14B). Note that the three elementary tissues necessary for the start of an embryo formation (*i.e.* junctional endoblast, derived from RAUBER's sickle, upper layer and endophyll, still found in the cranial region) were present. After culture for 24-28 h (Fig. 14C) a small centrally-directed process appeared at the inner border of the explant. On the sections performed perpendicularly to the axis of this small process, a short neural plate and a primitive streak (presenting ingression phenomena) were seen. The development thus starts from the middle region of the remaining junctional endoblast as is the case during normal gastrulation. By the interaction between the three elementary tissues we can probably also explain the reconstitution of an embryo in avian lateral blastoderm isolates as observed by YUAN & SCHOENWOLF (1999), although they were unaware of the persistence of junctional endoblast in their isolates.

Legends to the figures (see opposite page)

Fig. 11A. – Stereomicrograph of an excised cranial quadrant of unincubated chicken blastoderm at the start of the culture; bar: 1 mm.

Fig. 11B. – The same explant as from Fig. 11A. after 24 h of culture, before fixation: an embryo has formed; bar: 1 mm.

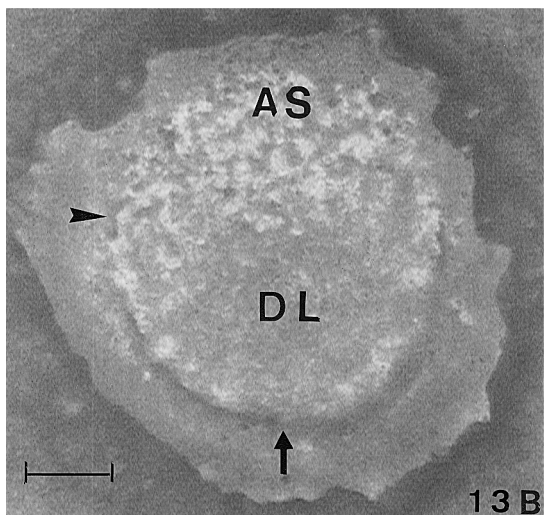
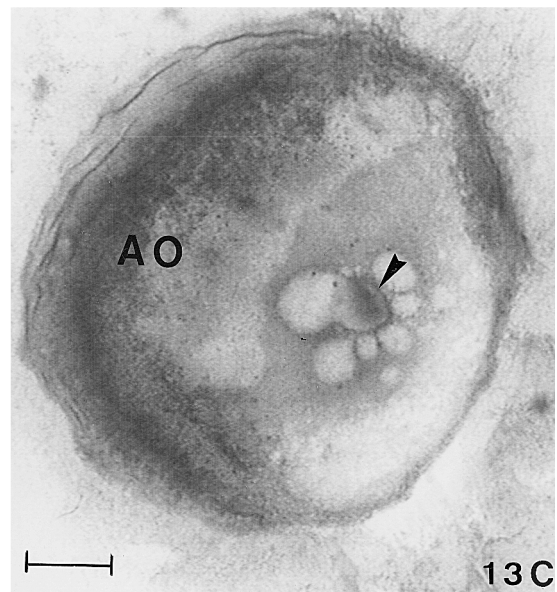
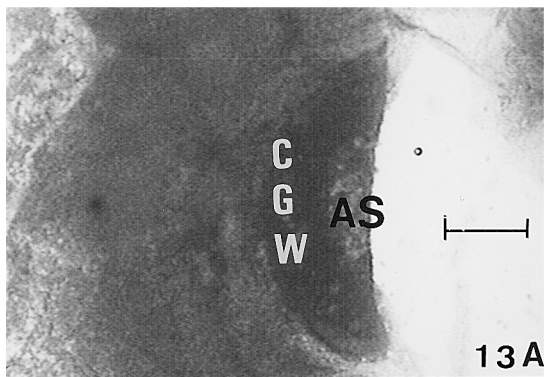
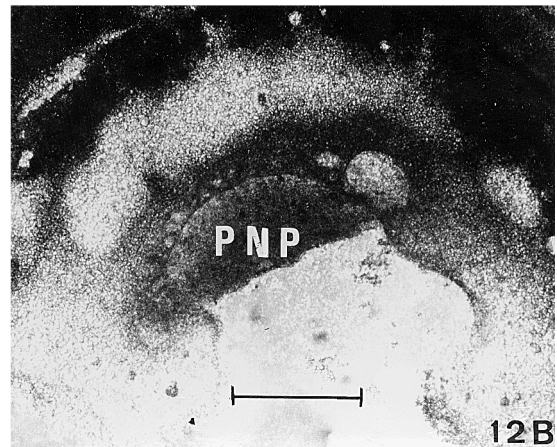
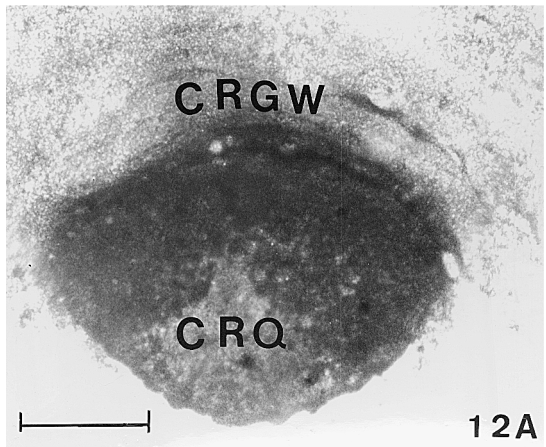
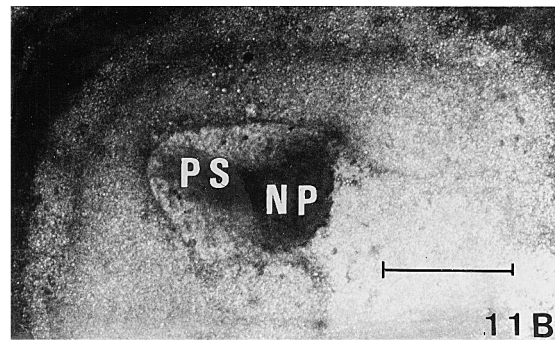
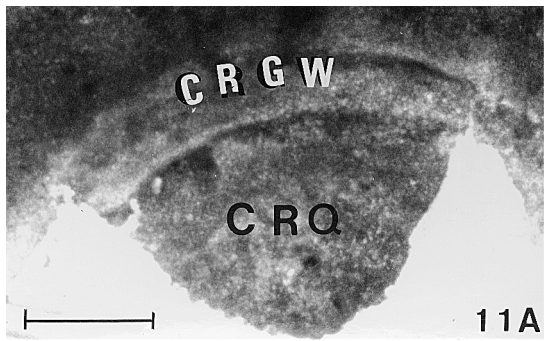
Fig. 12A. – Stereomicrograph of an excised cranial quadrant of unincubated chicken blastoderm at the start of the culture; bar: 1 mm.

Fig. 12B. – The same explant as from Fig. 12A. after 24 h of culture, before fixation; only a preneural plate has formed, no PS could be discerned (confirmed by sectioning); bar: 1 mm.

Fig. 13A. – Stereomicrograph of an anti-sickle region of chicken blastoderm, at the start of the culture; bar: 1 mm.

Fig. 13B. – Stereomicrograph of a seemingly unincubated chicken blastoderm from which the anti-sickle region was used for isolated culture in Fig. 13A; arrow indicates middle of RAUBER's sickle; arrowhead indicates far cranially-extending right sickle horn; bar: 1 mm.

Fig. 13C. – Stereomicrograph of the explant Fig. 13A. after 23 h of culture, alive, before fixation; arrowhead indicates a rudimentary embryo in a very narrow area pellucida; bar: 1 mm.



DISCUSSION

Our comparative study indicates that germ discs remaining on their egg yolk ball during in ovo culture (from eggs with a hard but fragile calcareous shell, extracted from the uterus) develop normally. By contrast, similar germ discs separated from their egg yolk ball and cultured in vitro, do not. The reason for this is probably the loss of normal contact of the extracted quail germ disc with its vitelline membrane and surrounding or underlying ooplasm. The eccentric shift of the subgerminal ooplasm with reference to the superficial part of the germ disc can probably not take place normally. Indeed after culture of young extracted germ discs there occurs no expansion at their rims. This is also in agreement with the experiments of OLSZANSKA *et al.* (1984), who cultured uterine quail germ discs (before area pellucida formation) still adhering on their own vitelline membranes with some subgerminal yolk still attached. The germ discs were stuck on a filter-paper ring and placed vertically or obliquely in egg albumen for culture. Thus they obtained, after prolonged culture, 50 % of quail embryos that developed a caudocephalic axis.

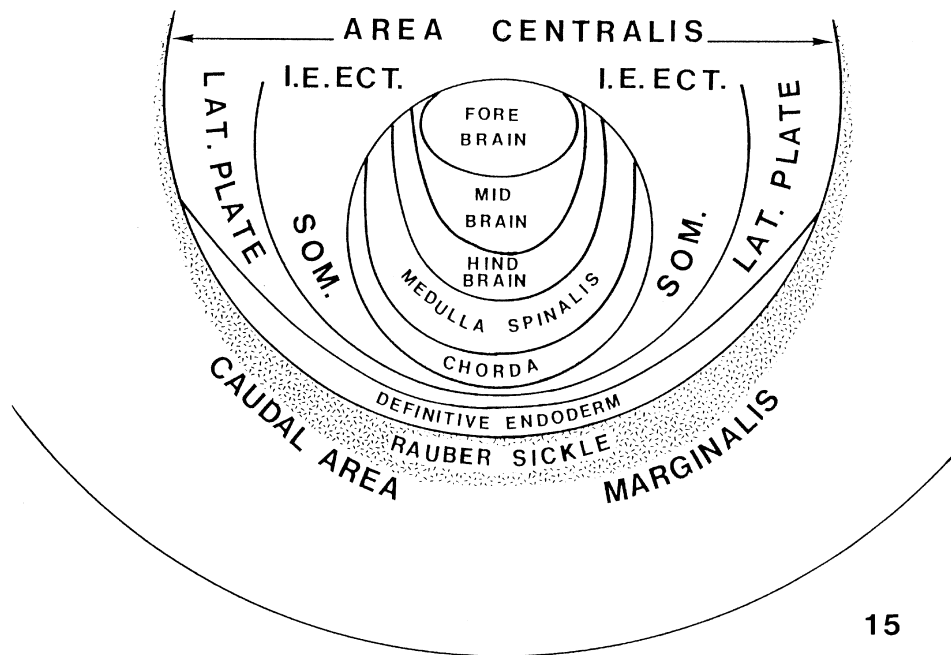
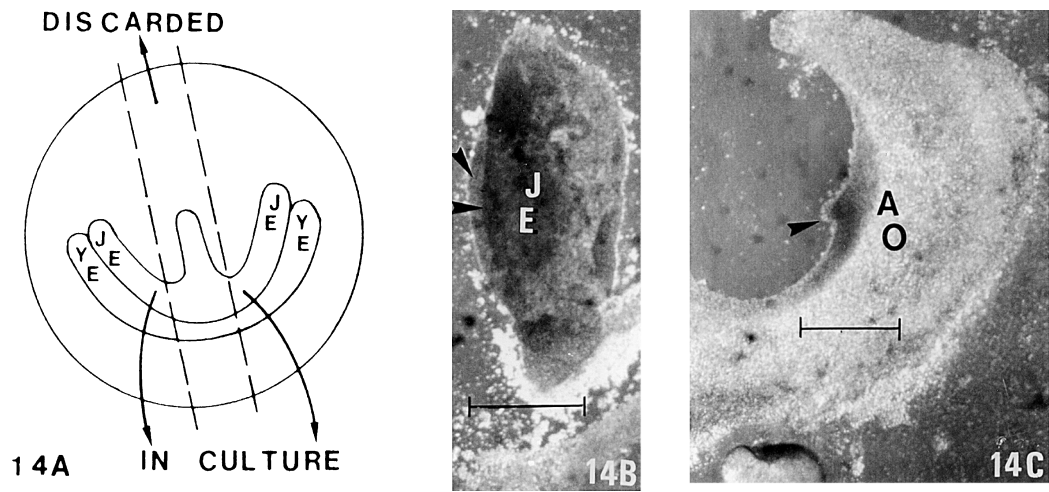
In the largely extended anti-sickle region of the cranial half of obliquely-oriented germ discs (before symmetrization), the rows of blastomeres always remain localized close to the vitelline membrane. We found no evidence that all these round cells, although loosely bound together (Figs. 6, 7, 8), fall into the sub-blastodermic cavity, where they, according to KOCHAV *et al.* (1980), should assemble beneath the future cranial part of the blastoderm. Moreover, by means of our labelling techniques using trypan blue (CALLEBAUT, 1987), or ³H-leucine labelling (CALLEBAUT, 1994) we were able to demonstrate shedding, nor displacement (rolling over the bottom of the subgerminal cavity) of these cells in a cranial direction. Only the large yolk masses float in the fluid of the subgerminal cavity or are found on its bottom, where they detach from it. In our present experiments, after oblique positioning of the germ disc in situ, we have shown the eccentric parallelism existing between the aspect and localization of the nucleus of PANDER with its surrounding morphologically-visible layers in the subgerminal ooplasm on one side, and the predisposed Anlage fields in the UL of the avian unincubated blastoderm (CALLEBAUT *et al.*, 1996: represented schematically in Fig. 15) on the other side. The general hemicircular disposition and form of these Anlage fields still seem to reflect, together with the RAUBER's sickle, the RNA-bound, original, ooplasmic, concentric and radial symmetry built up in the large oocytes (CALLEBAUT, 1972, D'HERDE *et al.*, 1995). Moreover, there exists also a combination with the eccentricity of the deep layer components, which was observed during early symmetrization by gravitational orientation of the egg yolk (CALLEBAUT, 1993a,b).

Although the central subgerminal ooplasm is structurally completely disconnected from the area centralis of

the blastoderm above it, there already exists a parallelism between both long before symmetrization has taken place. This eccentricity in the subgerminal ooplasmic layers is only visible in the latter uncleaved components as a result of the interaction of rotation and gravity on the egg yolk ball.

The caudal part of the deep ooplasm turns below the future caudal part of the blastoderm (CALLEBAUT, 1993b). This could explain the eccentric sickle-shaped effect on the distribution of the Anlage fields in the caudal half of the UL (CALLEBAUT *et al.*, 1996) if we accept a "vertical" influence of the subgerminal ooplasmic layers. The general ovoid shape of the nucleus of PANDER (containing δ ooplasm: CALLEBAUT, 1987) is parallel with the endophyll that also contains δ ooplasm. The latter induces a preneuronal plate Anlage with a very similar outline (CALLEBAUT *et al.*, 1995; CALLEBAUT *et al.*, 1996: see Fig. 15) in the neighbouring upper layer (CALLEBAUT *et al.*, 1999a). In the presence of UL and RAUBER's sickle the nucleus of PANDER can give rise to endophyll, and an embryo forms (CALLEBAUT, 1994; CALLEBAUT *et al.*, 1995; CALLEBAUT *et al.*, 1998; CALLEBAUT *et al.*, 1999c). On a comparative schematic drawing (Fig. 16) the tissue associations, which in earlier experiments did or did not produce endophyll (followed or not followed by embryonic development) are represented. It is only in the presence of upper layer and RAUBER's sickle that endophyll is formed *de novo*, from subgerminal ooplasm, so that in particular cases the subgerminal ooplasm can be considered as a fourth elementary tissue. This association of germinal disc components (UL, RAUBER's sickle and subgerminal ooplasm) with the formation of a caudo-cranially-oriented embryo is found in natural conditions behind the caudal part of the subgerminal space (Figs. 4, 5) at the end of intrauterine development. Indeed, the nucleus of PANDER and surrounding ooplasm, during the oblique positioning of the egg yolk ball, shift temporally or definitively in a caudal direction (CALLEBAUT 1993b). So this mechanism can probably play a role during the determination of the future avian caudocephalic axis.

In one case out of 12 cultured chicken anti-sickles a very small rudimentary embryo developed (Figs. 13A, 13B, 13C). The reason for this exception seems obvious: the deep layer of that particular chicken blastoderm (seemingly unincubated) (Fig. 13B) extended much more cranially than in the other genuinely unincubated chicken blastoderms (Fig. 18), probably through incubation having, in fact, begun. So in contrast to the general belief that there still exists a radial symmetry in unincubated chicken blastoderms, we were able to demonstrate that this is not the case in quail as in chicken. How can we explain that in cultured isolated cranial quadrants from unincubated quail blastoderms usually only a preneuronal plate develops (CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1995) whilst in the present study in similar cranial quadrants (but from chicken) small embryos (presenting both a PS and a neural plate) also formed? We think that this can be explained by the



15

Fig. 14A. – Schematic representation of a quail blastoderm preincubated during 12-14 h (stage 3+ of HAMBURGER & HAMILTON, 1951); showing the experimental procedure for culture of the lateral parts: the original PS with the whole median part of the area pellucida of the quail blastoderm was discarded. The two lateral parts containing the lateral parts of the area pellucida, junctional endoblast, yolk endoblast and area opaca were cultured for 24-28 h.

Fig. 14B. – Stereomicrograph of a lateral part of a quail blastoderm (as obtained according to the experimental procedure of Fig. 14A.), at the start of the cultural period. The upper arrowhead indicates the incision line of the upper layer of the area pellucida; the lower (horizontal) arrowhead indicates the retracted incision line of the deep layer (mainly sickle endoblast) of the area pellucida; JE: junctional endoblast; bar: 1 mm.

Fig. 14C. – The same explant as represented in Fig. 14B, after 25 h of culture: a small centrally-directed process (arrowhead) containing a miniature embryo has appeared at the inner border of the explant.

Fig. 15. – Schematic representation of the mean localization of the predisposed (not definitively committed) Anlage fields (in good order but with possible partial overlapping of neighbouring parts) in the upper layer of a chicken unincubated blastoderm (slightly simplified after CALLEBAUT et al., 1996). Note the general eccentric sickle-shaped aspect of the Anlage fields in the area centralis. There is an obvious parallelism between the shape of the Anlage fields in the UL and the ovoid central subgerminal ooplasmic layers.

difference in structure and aspect between unincubated quail blastoderms (Fig. 17) and unincubated chicken blastoderms (Fig. 18) at the start of the culture period. Indeed most unincubated quail blastoderms have a massive RAUBER's sickle which, however, does not extend far in the cranial half of the blastoderm. By contrast, the RAUBER's sickle of the chicken is usually very narrow but the sickle horns often extend into the cranial quadrant.

Even if RAUBER's sickle material is not actually present in the cranial quadrants, a long-range gradient of diffusible factors emanating from neighbouring more caudal parts of RAUBER's sickle could induce a PS even after removal of these parts. The existence of such long-range gradients of diffusible factors can be deduced from other experiments:

1/ In a recent study (CALLEBAUT et al., 1999b) we demonstrated the strong embryo-inducing and often dominating effect over the autochthonous RAUBER's sickle, of a fragment of junctional endoblast placed on the diametrically-opposed anti-sickle region of an unincubated chicken blastoderm.

2/ After the culture of the central part of the area centralis of unincubated chicken blastoderms (in the total absence of RAUBER's sickle) a normal embryo with a pre-neural plate and PS develops in approximately 20% of cases, with a caudocephalic orientation according to the original localization of the RAUBER's sickle (CALLEBAUT et al., 1997b). If, on such a central part of a chicken area centralis, we place a quail RAUBER's sickle fragment, then a normal embryo always develops in the upper layer, with a caudocephalic axis directed from this apposed RAUBER's sickle fragment towards the nearby endophyll. Thus the original "imprinted" caudocephalic axis imposed by the removed autochthonous RAUBER's sickle will be totally ignored. Also this phenomenon can be explained by the dominating effect of the apposed RAUBER's sickle, probably as a result of its more pronounced secretion gradient.

The study of BACHVAROVA et al., (1998) seems to indicate that the caudal marginal zone isolated from RAUBER's sickle can induce a primitive streak. However, this observation can perhaps also be explained by the diffusion of substances secreted by RAUBER's sickle into the caudal marginal zone. The latter can then induce a PS in tissues placed in the neighbourhood after the secondary release of these substances. The presence, during gastrulation, of many diffusible proteins with signalling function has been described:

- Mesoderm-inducing fibroblast growth factor in the frog (KIMELMAN et al., 1988).
- The growth factor Vg1 from the TGF- family gives an induction of dorsal mesoderm and should be the real inductor found in the NIEUWKOOP center of amphibian blastulas (WEEKS & MELTON, 1987). SHAH et al., (1997) found expression of chick Vg1 in the UL region above RAUBER's sickle and above the cranially-growing sickle endoblast (which they call the "marginal zone of the

area pellucida"). This seems to indicate that the sickle endoblast and the RAUBER's sickle from which it is derived (CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1994) influence the overlying UL to express the chick Vg1.

- Activin (also a TGF- family member) is expressed in the deep layer of the chick blastoderm and can induce an axial structure (MITRANI et al., 1990).
- Noggin, follistatin and chordin are proteins that are expressed in the dorsal mesoderm during gastrulation, as appropriate for the formation of neurectoderm with a cranial character (HEMMATI-BRIVANLOU et al., 1994).

Activin and follistatin (an activin antagonist) (CONNOLLY et al., 1995) encode signalling proteins that have been implicated in fundamental events in early vertebrate embryogenesis.

Legends to the figures (see opposite page)

Fig. 16. – Comparative schematic drawing of the interactions in culture between avian central subgerminal ooplasm and RAUBER's sickle or upper layer or both and the ability or inability to still form an embryo; the vertical black ovals indicate the place of sectioning and removal of the neighbouring tissue;

A) the upper part of the drawing represents a surface view of the caudal quadrant, and the lower part of the drawing is a mediosagittal section of the same; the central subgerminal ooplasm is in contact with both RAUBER's sickle and upper layer; notwithstanding that all the endophyll of the caudal quadrant is removed, there occurs a restoration de novo of endophyll and an embryo forms (CALLEBAUT et al., 1995).

B) The same disposition as in A but a fragment of upper layer of the anti-sickle is used; here again endophyll forms de novo; followed by development of an embryo (CALLEBAUT et al., 1999c).

C) The same disposition but in the total absence of upper layer and endophyll: no embryo forms (CALLEBAUT et al., 1999c).

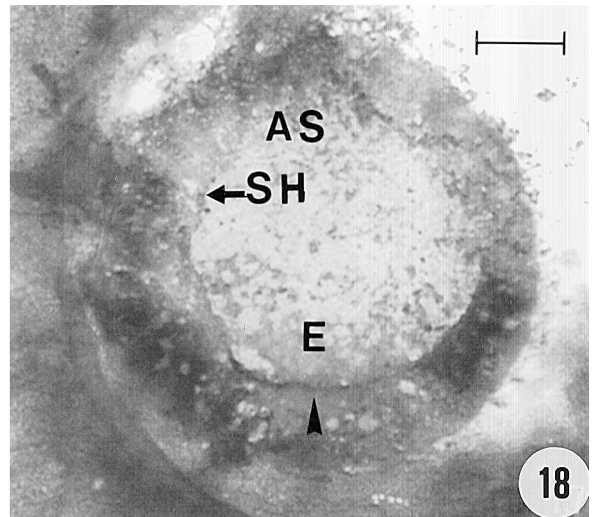
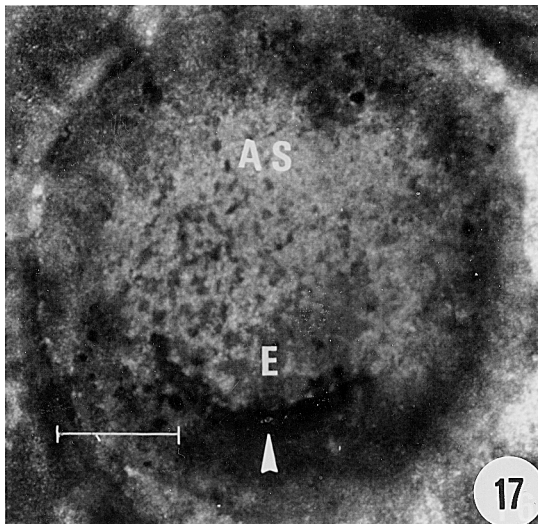
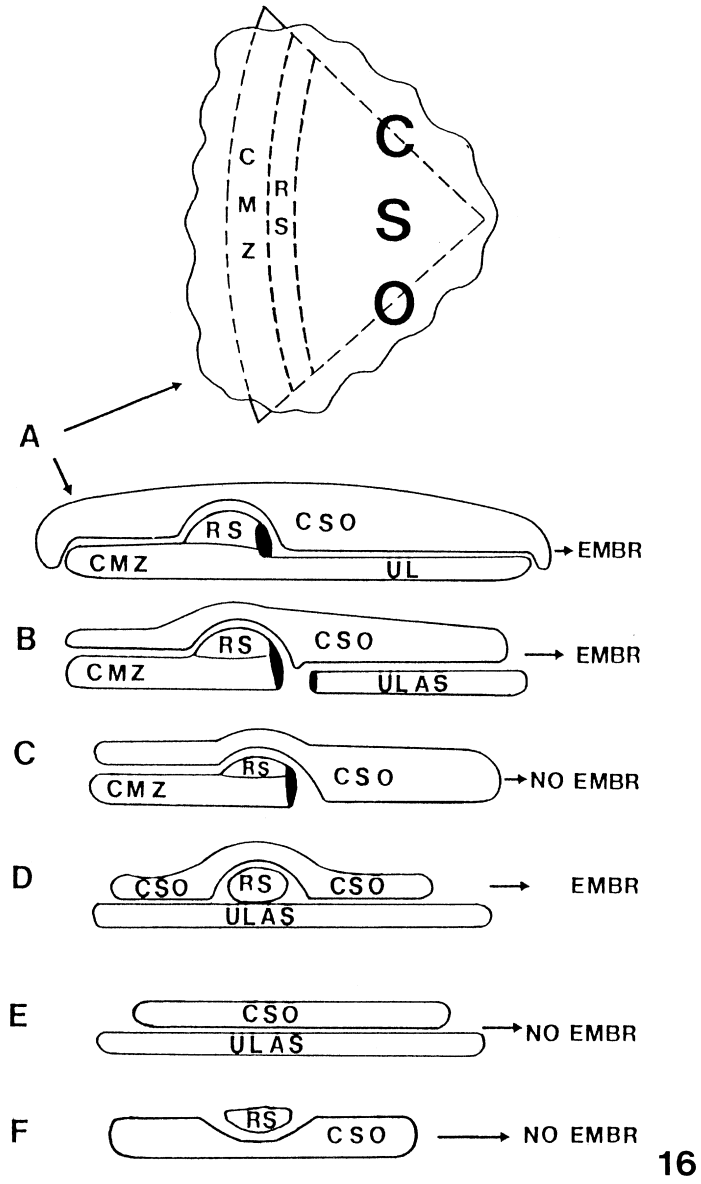
D) On the deep side of the upper layer of the anti-sickle region a RAUBER's sickle fragment is placed, covered by central subgerminal ooplasm: endophyll forms de novo and an embryo develops (CALLEBAUT et al., 1998).

E) The same as in D but in the absence of RAUBER's sickle: neither endophyll nor an embryo forms.

F) A RAUBER's sickle fragment is placed on a mass of central subgerminal ooplasm: no endophyll and no embryo develops (CALLEBAUT, 1994), notwithstanding the migration of RAUBER's sickle cells in the central subgerminal ooplasm. In every case where a RAUBER's sickle fragment comes in contact with central subgerminal ooplasm, its nuclei penetrate and migrate over a long distance in it. However, only when an upper layer fragment is also present in the immediate neighbourhood, does endophyll form and an embryo develop.

Fig. 17. - Stereomicrograph of a living unincubated quail blastoderm; arrowhead indicates a heavy RAUBER's sickle, typical for quail; bar: 1 mm.

Fig. 18. – Stereomicrograph of a living unincubated chicken blastoderm; arrowhead indicates the middle part of a very narrow RAUBER's sickle, which, however, extends into the cranial quadrant, visible as a sickle horn (indicated by arrow) at the right side of the blastoderm; bar: 1 mm.



In the present study we isolated the lateral parts of a mid-streak blastoderm from their median primitive streak region (Fig. 14A). However, after their isolation these lateral parts still contain part of the three elementary tissues (junctional endoblast derived from the RAUBER's sickle, upper layer and endophyll, still present in the cranial region). The presence of the three elementary tissues at one point of the avian blastoderm starts the development of an embryo at that point (CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1996). These experiments confirm the strong embryo-inducing potencies of junctional endoblast after transplantation in the anti-sickle region of unincubated avian blastoderms (CALLEBAUT et al., 1999b). By the excision and isolation of the lateral part of the original blastoderm, the orientation of the new PS starting from the middle region of the lateral junctional endoblast forms approximately perpendicularly to the orientation of the original PS.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are very grateful to Mr. F. De Bruyn for artwork and photography, to Mrs. V. Van der Stock for technical assistance and Miss V. De Maere for photography and for typing the manuscript.

REFERENCES

- BACHVAROVA, R., I. SKROMME & C. STERN (1998). Induction of primitive streak and Hensen's node by the posterior marginal zone in the early chick embryo. *Development*, 125: 3521-3534.
- BELLAIRS, R., (1991). *Egg incubation: its effects on an embryonic development in birds and reptiles*. Edited by Deeming D.C. and Ferguson M.W. Cambridge University Press, Cambridge, 448 pp.
- BELLAIRS, R., S. & M. OSMOND (1998). *The atlas of chick development*. Academic Press, London, 323 pp.
- CALLEBAUT, M. (1972). Cytoplasmic uniaxial radial symmetry during the early final growth period in the oocytes of the Japanese quail. *Experientia*, 28: 62-63.
- CALLEBAUT, M. (1974). La formation de l'oocyte d'oiseau. Etude autoradiographique chez la caille japonaise pondeuse à l'aide de la leucine tritiée. *Arch. Biol.*, 85: 201-233.
- CALLEBAUT, M. (1983). The constituent oocytal layers of the avian germ and the origin of the primordial germ cell yolk. *Arch. Anat. Micros.*, 72: 199-214.
- CALLEBAUT, M. (1984). Avian primordial germ cells contain yolk from the nucleus of Pander. *IRCS Med. Sci.*, 12: 730-731.
- CALLEBAUT, M. (1987). Ooplasmic localization and segregation in quail germs: fate of the four ooplasm. *Arch. Biol. (Brux.)*, 98: 441-473.
- CALLEBAUT, M. (1991). Methods for studying early development of avian germs on their egg yolk in a vertical or inverted position. *Eur. Arch. Biol.*, 102: 197-199.
- CALLEBAUT, M. (1993a). Unequal caudocephalic ooplasmic uptake and eccentric formation of the subgerminal space below unincubated quail blastoderms presenting a KOLLER's sickle. *Belg. J. Zool.*, 123(2): 107-112.
- CALLEBAUT, M. (1993b). Early eccentricity in gravitationally oriented quail germs. *Eur. J. Morph.*, 31: 5-8.
- CALLEBAUT, M. (1993c). Development of quail germs during and after gravitationally oriented bilateral symmetrization. *Eur. Arch. Biol.*, 104: 135-140.
- CALLEBAUT, M. (1994). Relationship between the avian blastoderm and the subgerminal ooplasm. *Eur. Arch. Biol.*, 105: 111-123.
- CALLEBAUT, M. & E. VAN NUETEN (1994). Rauber's (Koller's) sickle: the early gastrulation organizer of the avian blastoderm. *Eur. J. Morph.*, 32: 35-48.
- CALLEBAUT, M. & E. VAN NUETEN (1995). Gastrulation inducing potencies of endophyll and Rauber's sickle in isolated caudocranially oriented prestreak avian blastoderm quadrants (or fragments) in vitro. *Eur. J. Morph.*, 33: 221-235.
- CALLEBAUT, M. & E. VAN NUETEN (1996) - Ectopic avian endophyll induces a neural plate or a miniature embryo in the caudal marginal zone and Siamese twins in the area centralis. *Biol. Jb. Dodonaea*, 64: 39-63.
- CALLEBAUT, M., E. VAN NUETEN, L. VAN NASSAUW & F. HARRISSON (1995). Restoration of neurogastrulation by subgerminal ooplasm in endophyll free caudal quail blastoderm quadrants. *Biol. Jaarb. Dodonaea*, 63: 120-132.
- CALLEBAUT, M., E. VAN NUETEN, H. BORTIER, F. HARRISSON & L. VAN NASSAUW (1996). Map of the Anlage fields in the avian unincubated blastoderm. *Eur. J. Morph.*, 34:347-361.
- CALLEBAUT, M., E. VAN NUETEN, H. BORTIER, F. HARRISSON & L. VAN NASSAUW & A. SCHREVEVS (1997a). Spatial relationship between endophyll, primordial germ cells, sickle endoblast and upper layer in cultured avian blastoderms. *Reprod. Nutr. Develop.* 37: 293-304.
- CALLEBAUT, M., E. VAN NUETEN, H. BORTIER, F. HARRISSON & L. VAN NASSAUW (1997b). Avian gastrulation and neurulation are not impaired by the removal of the marginal zone at the unincubated blastoderm stage. *Eur. J. Morph.*, 35: 69-77.
- CALLEBAUT, M., E. VAN NUETEN, F. HARRISSON, L. VAN NASSAUW & A. SCHREVEVS (1998) - Induction of (pre)gastrulation and/or (pre)neurulation by subgerminal ooplasm and RAUBER's sickle in cultured anti-sickle regions of avian unincubated blastoderms. *Eur. J. Morph.*, 36: 1-10.
- CALLEBAUT, M., E. VAN NUETEN, F. HARRISSON, L. VAN NASSAUW & H. BORTIER (1999a). Endophyll orients and organizes the early head region of the avian embryo. *Eur. J. Morph.*, 37: 37-52.
- CALLEBAUT, M., E. VAN NUETEN, F. HARRISSON, L. VAN NASSAUW & H. BORTIER (1999b). Avian junctional endoblast has strong embryo-inducing and -dominating potencies. *Eur. J. Morph.*, 37: in press.
- CALLEBAUT, M., E. VAN NUETEN, H. BORTIER & F. HARRISSON (1999c). Interaction of central subgerminal ooplasm with the elementary tissues (endophyll, RAUBER's sickle and upper layer) of unincubated avian blastoderms in culture. *Reprod. Nutr. Dev.*, 39: in press.
- CONNOLY, D., K. PATEL, E. SELEVIO, D. WILKINSON & J. COOKE (1995). Cloning sequencing and expression analysis of the chick homologue of follistatin. *Dev. Genet.*, 17: 65-77.
- D'HERDE, K., M. CALLEBAUT, F. ROELS, B. DE PREST & L. VAN NASSAUW (1995). Homology between mitochondriogenesis

- in the avian and amphibian oocyte. *Reprod. Nutr. Dev.*, 35: 305-311.
- ENGLAND, M. A. (1973). The occurrence of a band of nuclei in primary neural induction in the chick embryo. *Experientia*, 31: 1449-1451.
- ENGLAND, M. A. & A. LAWSON (1993). Natural wound formation: endodermal responses in experimental primary neural induction in the chick embryo. *Anat. Rec.*, 236: 710-720.
- EYAL-GILADI, H. & S. KOCHAV (1976). From cleavage to primitive streak formation: a complementary normal table and a new look at the first stage of development of the chick. I General morphology. *Dev. Biol.*, 49: 321-337.
- HAMBURGER, V. & H. HAMILTON (1951). A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morph.*, 88: 49-92.
- HAMILTON, H. (1965). *Lillie's development of the chick. An introduction to embryology*. Ed. B. H. Willier Hdt, Rinehart and Winston, 624 pp.
- HEMMATI-BRIVANLOU, A., O. KELLY & D. MELTON (1994). Follistatin, an antagonist of activin is expressed in the Spemann organizer and displays direct neurulizing activity. *Cell*, 77: 283-295.
- KIMELMAN, D., J. ABRAHAM, T. HAAPARANTA, T. PALISI & M. KIRSCHNER (1988). The presence of fibroblast growth factor in the frog: its role as a natural mesoderm inductor. *Science*, 242: 1053-1056.
- KOCHAV, S., GINSBURG, M. & H. EYAL-GILADI (1980). From cleavage to primitive streak formation: a complementary normal table and a new look at the first stages of the development of the chick II Microscopic anatomy and cell population dynamics. *Dev. Biology* 79: 296-308.
- MITRANI, E., T. ZIV, G. THOMSEN, Y. SHIMONI, D. MELTON & A. BRIL (1990). Activin can induce the formation of axial structures and is expressed in the hypoblast of the chick. *Cell*, 63: 495-501.
- KOLLER, C. (1882). Untersuchungen über die Blätterbildung im Hühnerkeim. *Arch. Mikrosk. Anat.*, 20: 171-211.
- NEW, D.A.T. (1955). A new technique for the cultivation of the chick embryo. *J. Embryol. Exp. Morph.*, 3: 326-331.
- OLSZANSKA, B., E. SZOLAJSKA & Z. LASSOTA (1984). Effect of spatial position of uterine quail blastoderms cultured in vitro on bilateral symmetry formation. *Roux's Arch. Dev. Biol.*, 193: 108-110.
- PANDER, C. (1817). *Historiam metamorphoseos quam ovum incubatum prioribus quinque diebus subit*. F.E. Nitribitt, Ed. Wirceburgi (69 pp).
- RAUBER, A. (1876). *Über die Stellung des Hühnchens im Entwicklungsplan*. W. Engelmann, Leipzig (28 pp).
- ROMEIS, W. (1948). *Mikroskopische technik*. 15 Aufl. Leibnitz, München (695 pp).
- SILVERTON, R. & M. ANDERSON (1961). *Handbook of medical laboratory formulae*. Butterworths, London (676 pp.).
- SHAH, S., I. SKROMME, C. HUME, D. KESSLER, K.J. LEE, C.D. STERN & J. DODD (1997). Misexpression of chick Vg1 in the marginal zone induces primitive streak formation. *Development*, 124: 5127-5138.
- STEPINSKA, U. & B. OLSZANSKA (1983). Cell multiplication and blastoderm development in relation to egg envelope formation during uterine development of quail (*Coturnix coturnix japonica*) embryo. *J. Exp. Zool.*, 228: 505-510.
- WEEKS, D.L. & D.A. MELTON (1987). A maternal mRNA localized to the vegetal hemisphere in *Xenopus* eggs codes for a growth factor related to TGF-. *Cell*, 51: 861-867.
- YUAN, S. & G. C. SCHOENWOLF (1999). Reconstitution of the organizer is both sufficient and required to re-establish a fully patterned body plan in avian embryos. *Development*, 126: 2461-2473.

Received: August 13, 1999

Accepted: November 17, 1999

