Belgian Journal of Zoology

(formerly: «ANNALES DE LA SOCIÉTÉ ROYALE ZOOLOGIQUE DE BELGIQUE — ANNALEN VAN DE KONINKLIJKE BELGISCHE VERENIGING VOOR DIERKUNDE»)

Published by the «KONINKLIJKE BELGISCHE VERENIGING VOOR DIERKUNDE — SOCIÉTÉ ROYALE ZOOLOGIQUE DE BELGIQUE»

Volume 126 (2) (December, 1996)

Editor:

Prof. Dr. E. Schockaert Department SBG Limburgs Universitair Centrum B-3590 Diepenbeek (Belgium) The Belgian Journal of Zoology publishes original manuscripts in the field of zoology. The manuscripts are evaluated by the editorial board.

The opinions of the authors published in this journal remain, nevertheless, their own responsibility.

Manuscripts are to be sent to: Prof. Dr. E. SCHOCKAERT, Department SBG, Limburgs Universitaire Centrum, B-3590 Diepenbeek (Belgium).

EDITORIAL BOARD :

Foreign Members

R. BARBAULT (France), G. BOXSHALL (Great Britain), A. DE RICQLÈS (France),
D. DINDAL (U.S.A.), A. DIXON (Great Britain), K. KLEMMER (W. Germany),

P. LEGENDRE (Canada), J. OSSE (The Netherlands), H. SCHMINKE (Germany), A. VAN BRUGGEN (The Netherlands), N. WATSON (Australia)

Belgian Members

.

A. COOMANS, J. HULSELMANS, Ch. JEUNIAUX, PH. LEBRUN, J. M. PASTEELS, D. THYS VAN DEN AUDENAERDE, J. VAN GOETHEM

> Editor: E. SCHOCKAERT Associate editors: M. CHARDON, W. VERRAES

Belg. J. Zool. - Volume 126 (1996) - issue 2 - pages 85-92 - Brussels 1996

Received : 20 February 1996

ÉTUDE PRÉLIMINAIRE DE LA BIOMÉTRIE D'*EUNICELLA SINGULARIS* (ESPER, 1794) (GORGONACEA, ANTHOZOA) À LA MER ÉGÉE

G. SKOUFAS ('), M. POULICEK (') & C. C. CHINTIROGLOU (2)

(¹) Laboratoire d'Ecologie Animale et d'Ecotoxicologie, Université de Liège, Institut de Zoologie, Quai Van Beneden,22, B-4020 Liège, Belgique

> (²) Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology, Dept. Zoology Box. 134 54006 Thessaloniki, Greece

Mots clés: Gorgones, Biométrie, Croissance allométrique.

.)

Résumé. 105 colonies de la gorgone *Eunicella singularis* ont été prélevées au hasard en plongée autonome aux îles Eleuthérides (Baie de Strimonikos) à une profondeur comprise entre -5 m et -18 m. La température était 26°C à -10 m et de 20°C à -18 m. Une première approche de la biométrie de cette gorgone de Mer Egée a démontré une distribution normale unimodale significative pour la largeur (L: t = 0,123, p = 0,103, n = 105), le nombre de dichotomies (nb. dich. : t = 0,164, p = 0,047, n = 105), le poids sec (P.S.: t = 0,214, p = 0,021, n = 105) et la surface (S: t = 0,160, p = 0,118, n = 55). L'analyse de la régression multilinéaire a établi l'importance du nombre de dichotomies et de la surface pour la détermination de la variance du poids sec. En outre les relations allomériques ont été établies pour les paramètres : Hauteur/Largeur-Poids sec (H/L = 0,5xP.S.⁴³ [n = 105, r = 0,7, F=124,6, p = 0,0001]), Surface-Poids sec (S = 3,1xP.S.⁶⁷ [n = 55, r = 0,9, F = 293,8, p = 0,0001]) et Surface-Nombre de dichotomies (S = 2,3xnb. dich.¹ [n = 105, r = 0,9, F = 227,9, p = 0,0001]). La relation H/LxP.S. tend vers un maximum de P.S. (biomasse) quand L tend vers H. Nous pourrions suggèrer qu'après un certain âge la colonie croît davantage en Largeur qu'en Hauteur.

Preliminary biometrical study of *Eunicella singularis* (Esper, 1794) (Gorgonacea, Anthozoa) from Aegean sea

Keywords: Gorgonians, Biometry, Allometric growth.

Abstract. Using SCUBA, 105 gorgonian colonies of *Eunicella singularis* were sampled randomly from Eleutherides islands (Strimonikos Golf, North Aegean sea), within a depht range of -5 m to -18 m. The temperature was 26°C at -10 m and 20°C at -18 m. The normality test demonstrate a significant unimodal distribution for the length (L: t = 0.123, p = 0.103, n = 105), the number of dichotomies (nb. dich. : t = 0.164, p = 0.047, n = 105), the dry weight (P.S.: t = 0.214, p = 0.021, n = 105) and the surface (S: t = 0.160, p = 0.118, n = 55). Multiple regression analysis demonstrates also the importance of the number of dichotomies and the values of the surface at determination of the dry weight (biomass). Highly significant allometric relationships, were determinated between Height/Lenght-Dry Weight (H/L = 0.5 x PS.⁰³ [n = 105, r = 0.7, F = 124.6, p = 0.0001]), Surface-

G. SKOUFAS, M. POULICEK ET C. C. CHINTIROGLOU

5

Dry Weight (S = $3.1 \times P.S.^{0.7}$ [n = 55, r = 0.9, F = 293.8, p = 0.0001]) and Surface-Number of dichotomies (S = $2.3 \times nb$. dich.¹ [n = 105, r = 0.9, F = 227.9, p = 0.0001]).

INTRODUCTION

La biométrie des espèces peut fournir des informations précieuses sur les différentes classes qui constituent une population dans le perspective d'un suivi. Pour les Anthozoaires plusieurs travaux de recherche ont été réalisés aussi bien sur des caractéristiques macroscopiques (taille, poids sec...) que sur des caractéristiques microscopiques (forme et taille des sclérites...) (GRIGG, 1974 ; VÉLIMIROV, 1976 ; RUSSO, 1985 ; LEWIS & VON WALLIS, 1991 ; MIGNÉ & DAVOULT, 1993).

En ce qui concerne d'*E. singularis* en Mer Egée le travail de VAFIDIS *et al.* (1994) est la première approche dans le domaine. La distribution bathymétrique de cette gorgone par VAFIDIS *et al.* (1994) en Mer Egée varie de -10m à -170m; la limite inférieure semble peu probable étant données les références bibliographiques citées précédemment.

L'autoécologie d'*Eunicella singularis* (ESPER, 1794) est connue notamment par les travaux de WEINBERG (WEINBERG, 1979 a, b, c, WEINBERG & WEINBERG, 1979). Cependant malgré qu'il existe des données biométriques pour des espèces voisines (*E. cavolinii*, RUSSO, 1985) ces informations font défaut pour la gorgone *E. singularis*.

Cette étude a pour but d'établir pour la première fois différents critères biométriques pour la gorgone *E. singularis* dans le cadre d'un suivi de la dynamique des populations du Nord de la Mer Egée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

105 colonies d'*Eunicella singularis* ont été prélevées le 6/7/93 au hasard en plongée en scaphandre autonome aux îles Eleuthérides à une profondeur de -5 m à -12 m. La température était 26°C à -10 m et 20°C à -18 m. Les échantillons ont été mesurés après stabilisation de leur poids sec à la température ambiante.

Cinq paramètres ont été mesurés : la hauteur maximum (H en mm) qui est la distance entre la base et la plus haute pointe apicale, la largeur maximum (L en mm), le nombre des dichotomies (nb. dich.), le poids sec (P.S. en g) et la surface réelle (S en mm²) qui est déterminée en comptant les carrées occupés par le profil de la colonie sur papier millimétré (RUSSO, 1985).

Pour tous les données nous avons appliqué le test de Normalité et nous avons établi des histogrammes de fréquences pour les différents paramètres (CANCELLA DA FONSECA, 1965). En outre nous avons utilisé l'analyse de régression multilinéaire (DAGET, 1979) en appliquant le programme informatique STATISTICA pour déterminer de quelle manière interviennent les trois paramètres H/L, nb. dich., S dans la détermination de la variance P.S. En ce qui concerne la détermination des relations allométriques nous avons appliqué la régression linéaire ($y = bx^a$ et sa transformation logarithmique : log y = a(logx)+log b) (GOULD, 1966). 2

RÉSULTATS

L'application du test de normalité a donné les résultats suivants : H : t = 0,08, p = 0,206 (non significatif), n = 105, L : t = 0,123, p = 0,103, n = 105, nb. dich. : t = 0,164, p = 0,047, n = 105, P.S. : t = 0,214, p = 0,021, n = 105, S : t = 0,160, p = 0,118, n = 55.



Fig. 1. – Histogramme des fréquences du rapport Hauteur/Largeur (H/L) des colonies d'*Eunicella singularis*.



Fig. 2. – Histogramme des fréquences de la surface (S) en mm² des colonies d'*Eunicella singularis*.

Nous avons établi les histogrammes de fréquences pour les paramètres H/ L Fig. 1, S Fig. 2, P.S. Fig. 3 . Plus précisement le rapport H/L (Fig. 1) présente trois groupes principaux. Le premier groupe contient les six premières classes représentant 81 % (I) de la population, un deuxième groupe avec 18 % (II) et un troisième groupe extrême qui représent seulement 1% (III) de la population. En ce qui concerne l'histogramme des fréquences de S (Fig. 2), il montre un premier groupe de sept classes avec 73 % (I) de la population, un deuxième avec 20 % (II) et un troisième groupe extrême dérivant vers les plus hautes valeurs avec 7 % (III). Les données concernant le P.S. (Fig. 3) montrent un regroupement des quatre premières classes avec 84 % (I) de la population, ensuite un deuxième groupe avec 14 % (II) de la population et le troisième avec 2% (III).



Fig. 3. – Histogramme des fréquences du poids sec (P.S.) en g des colonies d'*Eunicella singularis*.

	r	r²	t (52)	p
H/L	0,098	0,521	0,708	0,4815236*
nb. dich.	0,598	0,634	5,399	0,0000021
S	0,409	0,705	3,206	0,0023017

Les résultats de l'analyse de la régression multilinéaire sont les suivants :

*non significatif

Avec r = 0.88F, $r^2 = 0.72$, F = 58,903 (df: 52).

Pour les rapports suivants nous avons obtenu les relations significatives: H/L = $0.5 \times P.S.^{0.3}$ (n = 105, r = 0.7, F = 124,6, p = 0.0001) Fig. 4A; S = $3.1 \times P.S.^{0.7}$ (n = 55, r = 0.9, F = 293,8, p = 0.0001) Fig. 4B; S = $2.3 \times nb$ dich.¹ (n = 105, r = 0.9, F = 227,9, p = 0.0001) Fig. 5.



Fig. 4. – A. Relation log Hauteur/Largeur (H/L) – log Poids sec (P.S.) en g des colonies d'*Eunicella singularis.* – B. Relation log Surface (S) en mm² – log Poids sec (P.S.) en g des colonies d'*Eunicella singularis.*

G. SKOUFAS, M. POULICEK ET C. C. CHINTIROGLOU



Fig. 5. – Relation log Poids sec (P.S.) en g – Nombre des dichotomies (nb. dich.) des colonies d'*Eunicella singularis*.

D'après l'analyse de régression multilinéaire nous constatons que parmi les trois paramètres, les plus importants sont la S qui rend compte de 70,56% (p = 0,0023017) de la variance de P.S et les nb. dich. qui rendent compte de 63,48% (p = 0,0000021) de la même variance.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Pendant notre étude nous avons localisé les colonies d'*E. singularis* à une profondeur relativement faible, ce qui plaide en faveur de sa caractérisation comme une espèce photophile (LAUBIER, 1966; GRAMULIN-BRIDA, 1974; CARPINE & GRASSHOFF, 1975; WEINBERG, 1978, WEINBERG, 1979 [a]). En effet la distribution des colonies adultes est le résultat d'un compromis entre la larve qui est photopositive et la compétition interspécifique spatiale avec les algues. (WEINBERG, 1979 [a]). Cependant ce comportement larvaire photopositif peut faire l'objet de certaines exceptions comme par c'est le cas d'*E. singularis aphyta*, forme dépourvue des zooxanthelles (THÉODOR, 1969).

La H présente une distribution qui n'est pas normale. Selon WEINBERG & WEINBERG (1979) la largeur d'une colonie serait un meilleur critère que la hauteur. En effet chaque branche d'une colonie croît indépendamment des autres et dans quelques cas peut être aussi l'objet de prédation ou d'abrasion. La périodicité des anneaux de croissance est sans doute le meilleur critère pour l'estimation de l'âge de la colonie (GRIGG, 1974).

La S présent une distribution normale. RUSSO (1985) suggère un autre paramètre qui est l'«aire rectangulaire», il s'agit du produit «hauteur x largeur». En ce qui concerne

90

EUNICELLA SINGULARIS

l'espèce voisine *E. cavolinii*, la surface réelle est 15% (n = 14) de l'«aire rectangulaire» (Russo, 1985). Pour l'*E. singularis* la surface réelle est 14% (n = 55) de l'«aire rectangulaire». Bien que ce soit un paramètre facile à utiliser, elle ne donne pas d'informations précises sur la géométrie des colonies en raison d'une trop grande surestimation. En outre il est à noter que la surface des colonies est considérée par plusieurs auteurs comme un critère représentatif (BIRKELAND, 1794; VÉLIMIROV, 1976; WEINBAUER & VÉLIMIROV, 1995).

Nous avons mis en évidence une relation d'allométrie négative entre P.S. et le rapport H/L (a = -0,3, a<3) (Fig. 4A). Nous pouvons constater une tendance vers un maximum de poids sec (biomasse) quand la largeur tend vers la hauteur, et nous pourrions suggérer qu'après une certaine période la colonie croît plus en largeur et moins en hauteur. Le P.S. et la S sont aussi liées par une relation allométrique positive (a = 0,7, a<3) (Fig. 4B). En outre une relation allométrique existe entre le nb. dich. et la S (a = 1, a<2) (Fig. 5), ce qui pourrait suggèrer que l'augmentation de la surface est liée à un processus de ramification. La croissance allométrique a été mise en évidence chez les Alcyonaria (MIGNÉ & DAVOULT, 1993) et les Octocorallia (BURLANDO *et al.*, 1991) et les auteurs suggèrent aussi qu'elle est liée à un processus de ramification.

Ce travail constitue une première approche de la biométrie d' *E. singularis* du Nord de la Mer Egée afin de pouvoir établir les bons critères pour un suivi de la dynamique de population. Cependant il nous semble impératif que ces caractéristiques macrosopiques soit complétées par des données biométriques des sclérites qui sont le réseau constructif des colonies.

BIBLIOGRAPHIE

- BIRKELAND, C. (1974) The effect of waves actions on the population dynamics of Gorgonia ventalina Linaeus. *Stud. Trop. Oceanogr.*, 12 : 115-126.
- BURLANDO, B., R. CATTANEO-VIETTI, R. PARODI & M. SCARDI (1991) Emerging fractal properties in gorgonian growth forms (Cnidaria, Octocorallia). *Growth, Development and Aging*, 55: 161-168.
- CANCELLA DA FONSECA, J.P. (1965) L'outil statistique en biologie du sol I. Distributions de fréquences et tests de signification. Revue d'Ecologie et de Biololie du Sol., T. II, 3 : 299-332.
- CARPINE, C. & M. GRASSHOFF (1975) Les gorgonaires de la Méditerranée. Bull. Inst. océanogr., Monaco, 71 (1430) : 1-140.
- DAGET, J. (1979) Les modèles mathématiques en Ecologie. Collection d'Ecologie, Ed. Masson (172 pp).
- GOULD JAY, S. (1966) Allometry and Size in Ontogeny and Phylogeny. Biol. Rev., 41: 587-640.
- GRAMULIN-BRIDA, H. (1974) Biocénoses benthiques de la mer Adriatique. Acta adriat., 15 (9) : 1-102.
- GRIGG, R. (1974) Growth rings : Annual Periodicity in two Gorgonians. Coral. Ecology, 55 : 876-881.
- LAUBIER, L. (1966) Le coralligène des Albères. Monographie biocénotique. Annls Inst. océnogr., Paris, 43 (2): 139-316.
- LEWIS, J. C. & E. VON WALLIS (1991) The Function of Surface Sclerites in Gorgonians (Coelenterata, Octocorallia). *Biol. Bull.*, 181: 175-288.

- MIGNE, A. & D. DAVOULT (1993) Relations «taille-poids» chez quelques Cnidaires coloniaux. Cah. Biol. Mar., 34: 103-110.
- RUSSO, A. (1985) Ecological observations on the gorgonian sea fan *Eunicella cavolinii* in the bay of Naples. *Marine Ecology*, **24** : 155-159.
- THÉODOR, J. (1969) Contribution à l'étude des gorgones (8) : Eunicella stricta aphyta sous-espèce nouvelle sans zooxanthelles, proche d'une espèce normalement infestée par des algues. Vie milieu, 20 (3A) : 635-638.
- VAFIDIS, D., A. KOUKOURAS & E. VOUTSIADOU-KOUKOURA (1994) Octocoral Fauna of the Aegean sea with a chek list of the Mediterranean Species : New Information, Faunal Comparisons. *Annls Inst. océanogr.*, Paris, **70** (2) : 217-229.
- VÉLIMIROV, B. (1976) Variations in Growth forms of *Eunicella cavolinii* Koch (Octocorallia) related to intensity of water movement. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 21: 109-117.
- WEINBAUER, M. G. & B. VÉLIMIROV (1995) Morphological variations in the Mediterranean sea fan Eunicella cavolini (Coelenterata : Gorgonacea) in relation to exposure, colony size and colony region. Bull. Mar Sc., 56 (1) : 283-295.
- WEINBERG, S. (1978) Mediterranean octocorallian communities and the abiotic environment. *Mar. Biol.*, **49** (1) : 41-57.
- WEINBERG, S. (1979a) The light-dependent Behaviour of Planula Larvae of *Eunicella singularis* and *Corallium rubrum* and its implication for Octocorallian Ecology. *Bijdr. Dierk.*, **49** (1) : 16-30.
- WEINBERG, S. (1979b) Autecology of shallow-water Octocorallia from Mediterranean Rocky Substrata, I. The Banyuls Area. *Bijdr. Dierk.*, 49 (1): 1-15.
- WEINBERG, S. (1979c) Transplantation Experiments with Mediterranean Gorgonians. *Bijdr. Dierk.*, **49** (1): 31-41.
- WEINBERG, S. & F. WEINBERG (1979) The life cycle of a Gorgonian : *Eunicella singularis* (ESPER, 1794). *Bijdr. Dierk.*, **48** (2) : 127-140.

Belg. J. Zool. - Volume 126 (1996) - issue 2 - pages 93-109 - Brussels 1996

Received : 25 February 1996

EMBRYOLOGIE, ASPECT EXTÉRIEUR DU DÉVELOPPEMENT LARVAIRE ET MATURITÉ SEXUELLE DU POISSON-CHAT AFRICAIN *HETEROBRANCHUS ISOPTERUS* (SILUROIDEI, CLARIIDAE)

SEBASTINO K. DA COSTA ('), GERMAIN GOURÈNE (2) ET GUY G. TEUGELS (3)

 (') Institut des Savanes, BP 633 Bouaké 01, Côte d'Ivoire
(2) Université Nationale de Côte d'Ivoire, Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire d'Hydrobiologie, 22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire
(3) Musée Royal de l'Afrique Centrale, Laboratoire d'Ichtyologie, B-3080 Tervuren, Belgique (adresse de correspondance)

Résumé. Une description chronologique du développement embryonnaire et de l'aspect extérieur du développement larvaire du poisson-chat africain *Heterobranchus isopterus* (Clariidae) est proposée jusqu'à l'âge de 23 jours. Le développement ontogénique de cette espèce est comparable à celui d'*H. longifilis. Heterobranchus isopterus* semble cependant se distinguer par une vitesse de croissance embryonnaire et larvaire beaucoup moins rapide et par l'absence de pastille adhésive sur le sac vitellin chez la larve post-éclosion. A l'âge de 6 jours, on observe un cannibalisme intraspécifique chez les larves. Celles-ci passent au stade juvénile après 23 jours de développement à 26°C.

La maturité sexuelle et la tolérance des œufs à la température chez *H. isopterus* ont également été étudiées. Il ressort de l'étude relative à la mesure des diamètres ovocytaires et à l'influence de la température d'incubation que les alevins peuvent pratiquement être obtenus toute l'année. Les meilleurs taux d'éclosion et de larves normales sont obtenus entre 24° C et 26° C.

Mots clés : Clariidae, Heterobranchus isopterus, ontogenèse, incubation, température, éclosion, reproduction, pisciculture.

Embryonic and external larval development and sexual maturity of the African catfish *Heterobranchus isopterus* (Siluroidei, Clariidae)

Abstract. The embryonic and external larval development of the African catfish *Heterobranchus isopterus* (Clariidae) has been described chronologically up to 23 days of age. The ontogeny of this species is similar to that of *H. longifilis*. However, the growth rate of embryonic and larval development in *H. isopterus* is slower. Also the adhesive pastille on the yolk sac of the post-hatching larvae is absent. At the age of 6 days, cannibalism was noted. The juvenile period starts after 23 days at 26° C.

Sexual maturity and the effect of temperature on the eggs have also been studied in *H. isopterus*. The study of oocyte diameter and influence of temperature on embryonic development enabled to conclude that the species can be reproduced throughout the year. The optimal hatching rate and the highest ratio of normal larvae are obtained between 24° C and 26° C.

Key words : Clariidae, Heterobranchus isopterus, ontogeny, incubation, temperature, hatching, reproduction, fishculture.

S. K. DA COSTA, G. GOURÈNE ET G. G. TEUGELS

INTRODUCTION

De nombreux travaux ont mis en évidence l'intérêt de l'élevage des poissons-chats africains (MICHA, 1973; DE KIMPE & MICHA, 1974; HOGENDOORN, 1979; KARANGWA, 1982; LEGENDRE, 1983). Plusieurs espèces, notamment *Clarias gariepinus* (BURCHELL, 1822), *Heterobranchus longifilis* Valenciennes, 1840, etc..., ont montré une croissance rapide et une remarquable résistance aux conditions d'élevage.

Ces dernières années une autre espèce, *Heterobranchus isopterus* Bleeker, 1863, a été introduite en élevage dans la région Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire. Elle représente un potentiel nouveau pour la pisciculture en raison de sa bonne croissance, entre 1 et 3,8 g/j (OSWALD, 1991 rapport non publié). Par ailleurs, *H. isopterus* semble adapté à la polyculture avec le tilapia *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS, 1758). En effet, contrairement à *H. longifilis* qui exerce une prédation sur les poissons de taille marchande sans contrôler spécifiquement l'apparition des alevins, *H. isopterus* n'entraîne aucune modification du système d'élevage pratiqué (OSWALD, 1991 rapport non publié). Selon cet auteur, cette espèce sera d'autant plus intéressante quand sa reproduction sera maîtrisée, permettant ainsi d'associer en élevage des individus jeunes avec de bonnes performances de croissance.

Le développement de l'élevage d'*H. isopterus* suppose donc une amélioration des conditions d'élevage. A cet effet, la connaissance de l'ontogenèse et de l'éthologie de cette espèce est essentielle pour le contrôle de certains des facteurs limitants indiqués ci-dessus. Une meilleure connaissance des périodes de vie embryonnaire et larvaire contribuerait à la mise au point de systèmes et techniques d'alevinage adéquats, susceptibles d'améliorer le taux de survie larvaire.

La température a une influence considérable sur le développement, la croissance, le métabolisme et la reproduction. Cependant, l'effet de la température est fréquemment masqué par les facteurs environnementaux tels que l'oxygénation de l'eau, la lumière et les conditions d'alimentation (HERZIG & WINKLER, 1986). Ces mêmes auteurs indiquent que l'incubation, le développement larvaire, juvénile et adulte requièrent différentes conditions de température. Le développement des œufs de chaque espèce tolère un certain intervalle de temps dans des limites de température entre lesquelles éclosent des larves viables (BRAUM, 1978). Par ailleurs, la température semble être le facteur le plus important agissant sur le temps d'incubation (BALON, 1975).

Dans cette étude nous présentons d'abord une description exhaustive du développement ontogénique d'*H. isopterus.* Celle-ci est suivie de l'étude sur la variation du moment de la maturité sexuelle en fonction de la température et des limites de la tolérance des œufs à la température chez la même espèce.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La présente étude a été réalisée de novembre 1993 à avril 1994 à la station piscicole de l'IDESSA à Bouaké, dans la zone centre de la Côte d'Ivoire.

Vingt spécimens d'*H. isopterus*, fournis à la station par le Projet Centre-Ouest de Développement de la Pisciculture en 1991 et provenant du milieu naturel ont été utilisés comme géniteurs. Ils ont été stockés dans un étang de 50 m² et nourris avec l'aliment ternaire 3A (70% de farine basse de riz, 20% de tourteau de coton et 10% de farine de poisson) contenant 26% de protéines). Une ration de 7 g/ind a été distribuée quotidiennement.

Pour la reproduction artificielle, les géniteurs ont été pêchés le matin à 8 heures. Les mâles présentant un bon embonpoint avec une papille génitale bien vascularisée ont été directement stockés en bacs de 2 m³. Les femelles au ventre mou et renflé, sans blessures corporelles ont été choisies pour les biopsies. Un prélèvement d'ovocytes intraovariens a été réalisé à l'aide d'une canule de 2 mm de diamètre intérieur et 3 mm de diamètre extérieur. Les diamètres ovocytaires ont été mesurés avec une loupe binoculaire Nachet NS 30 5033710 munie d'un micromètre.

Dix femelles présentant un diamètre ovocytaire supérieur ou égal à 1,2 mm ont été sélectionnées. Leur poids variait de 450 à 700 g. La maturation ovocytaire et l'ovulation ont été induites par la Gonadotrophine Chorionique Humaine (HCG) à la dose optimale de 500 UI/kg de poids vif (ZAMPALIGRE, 1991). Faute de HCG, deux femelles sélectionnées en fin d'étude (avril) ont été induites avec des extraits hypophysaires de carpe, à raison de 4 mg/kg de poids vif.

Les femelles traitées et les mâles sélectionnés ont été maintenus séparément dans les bacs de stockage de 2 m³ à la température de 24-25°C. Après 20 à 22 heures en bassin de stockage, les ovules ont été récoltés par massage abdominal et conservés dans un récipient pour la reproduction artificielle. Le mâle a été sacrifié et disséqué. Les testicules ont été dilacérés et la laitance a été répandue sur les ovules. Le tout a été mélangé pendant 2 à 3 min à l'aide d'une plume de volaille. Ensuite, de l'eau distillée y a été ajouté pour activer les spermatozoïdes et on a continué de mélanger pendant 2 à 3 min. Enfin, les œufs ont été rincés à l'eau distillée. Les œufs ainsi fécondés ont été immédiatement utilisés pour les études envisagées.

Développement embryonnaire et aspect extérieur du développement larvaire

Le développement embryonnaire d'*H. isopterus* a été suivi sur des lots d'une centaine d'œufs provenant de deux femelles. Chaque observation a porté sur les œufs d'une seule femelle. Ceux-ci ont été répartis dans deux boîtes de Pétri, dans 50-60 ml d'eau distillée maintenue entre 24,6 et 26,5°C.

Depuis l'éclosion (J0) jusqu'à l'âge de 23 jours (J23), les larves d'*H. isopterus* ont été élevées avec une densité de 500 pour un bac de 20 l en eau douce non recyclée à une température moyenne de 26,7°C. A partir de l'âge de 2 jours (J2), les larves ont été nourries deux fois par jour avec une solution concentrée de zooplancton vivant prélevé en étang. Au bout de deux semaines, le zooplancton a été remplacé par un aliment commercial, «Trouvit», titrant 45% de protéines.

Les observations ont été faites à l'aide d'une loupe binoculaire Nachet NS 30 5033710 munie d'un micromètre. Le développement des œufs a été observé en continu avec une fréquence d'observation de 10 à 15 min, et celui des larves avec une fréquence de 1 à 2 heures. Après la résorption du sac vitellin, l'observation des larves a été quotidienne.

Maturité sexuelle et influence de la température

Immédiatement après la fécondation artificielle, des lots d'œufs ont été incubés à 22, 24, 26, 28 et 30°C. La gamme de température testée correspond à un degré près (21 et 29°C) aux extrêmes enregistrés saisonnièrement dans les étangs de la station piscicole (YTÉ, 1992).

Pour chaque température, 3 lots d'œufs provenant d'une femelle ont été répartis dans des boîtes de Pétri contenant 50-60 ml d'eau distillée, et incubés simultanément. Les 3 lots se répartissent comme suit: 1 lot témoin composé d'ovules non fécondés et 2 lots composés d'œufs fécondés. Chaque lot comprend 250 à 700 ovules ou œufs. Les boîtes de Pétri ont été placées dans des aquariums de 10 l à la surface de l'eau, amenée préalablement aux différences températures expérimentales à l'aide de résistances thermostatées. Les parois et le couvercle des aquariums ont été recouverts avec une bâche noire. L'incubation a été faite en eau stagnante à l'obscurité.

Dans chaque lot, y compris le lot témoin d'ovules non fécondés, le nombre d'œufs morts a été compté toutes les 1 à 2 heures. L'extraction des œufs morts a été faite avec une seringue de 1 ml. Les larves écloses ont été comptées toutes les heures dès les premières éclosions. A la fin de l'éclosion, les larves normales, anormales ou déformées et mortes ont été dénombrées.

Dans la recherche de l'intervalle thermique létal pour le développement des œufs d'*H. isopterus*, 3 à 6 lots d'œufs, comprenant 1 à 2 témoins, ont été incubés à 20, 21, 32, 34 et 36°C. L'incubation à 34 et 36°C a été faite dans un bain marie de type Polytest 20/86507. Une série d'aquariums équipés de résistances thermostatées a servi pour les tests à 32, 34 et 36°C. Les tests à 20°C ont été effectués dans une auge placée dans la chambre thermostatée munie d'un système réfrigérant ($t_{min} = 14^{\circ}$ C). Pour chaque température, on a dénombré toutes les heures, les œufs morts dans le lot témoin d'ovules non fécondés et dans les lots d'œufs fécondés.

Le test de Fisher (SCHERRER, 1984) a été utilisé pour comparer les moyennes mensuelles des diamètres ovocytaires durant la période d'étude. La valeur critique de fa correspond au seuil de signification de 5 %.

RÉSULTATS

Développement embryonnaire et aspect extérieur du développement larvaire

De la fécondation à la résorption vitelline

Etape I: Formation du blastodisque

Stade 1. Les ovules prélevées sur les femelles par massage abdominal et conservées dans une boîte de Pétri, mesurent entre 1,4 et 1,9 mm de diamètre. Ils ont une couleur vertolive. Après la fécondation, les ovules conservent leur coloration. Le disque adhésif est réduit. A la périphérie de l'œuf, se distingue une capsule (croissant) brun-rougeâtre à la partie supérieure. L'œuf a une forme sphérique, mais aplatie latéralement (Fig. 1a).



Fig. 1. – Illustration de différents stades du développement embryonnaire d'*Heterobranchus isopterus.* — a. après la fécondation – b. 1 à 2 min après le début de l'incubation – c. 3 à 5 min après l'incubation – d. stade deux cellules (37 min) – e. stade quatre cellules (62 min) – f. stade huit cellules (73 min) – g. stade 16 cellules (79 min) – h. morula (5 h 14 min) – i. blastule (6 h 52) – j-k. gastrulation (8 h 07 min) – l. fermeture du blastopore (9 h 47 min) – m. début différenciation des plastes embryonnaires (10 h 28 min) – n-o. formation des premiers somites (11 h 30 min - 11 h 40 min) – p. stade des premiers mouvements (19 h 39 min).

Stade 2. 1 à 2 min après le début de l'incubation, l'œuf s'hydrate et la membrane vitelline se détache du chorion: il se forme un espace périvitellin de 0,125 mm. Le disque adhésif de l'œuf se gonfle et présente en son centre une dépression en forme d'entonnoir,

S. K. DA COSTA, G. GOURÈNE ET G. G. TEUGELS

laquelle est située à l'aplomb du micropyle et du pôle animal comme observé chez *Heterobranchus longifilis* par LEGENDRE & TEUGELS (1991). Le disque adhésif permet à l'œuf de se fixer sur divers supports. Un remaniement du cytoplasme s'observe; tout le matériel cytoplasmique se condense au pôle animal. L'œuf mesure entre 1,6 et 1,8 mm (Fig. 1b).

Stade 3. Age 3 à 5 min: l'espace périvitellin est formé. L'œuf individualisé du chorion effectue une rotation d'environ 60 à 90°. 14 min après la fécondation, on observe la formation du blastodisque ou blastoderme. L'œuf mesure 1,7 mm en moyenne. Il ne présente pas de pigmentation et est coloré en rouge-brun (Fig. 1c).

Etape II: Segmentation du blastodisque et formation du blastule

Stade 4. Age 37 min. Le premier clivage du blastodisque entraîne la formation de 2 blastomères. L'œuf mesure entre 1,7 et 1,8 mm (Fig. 1d),

Stade 5. Age 1 h 02 min. On observe la formation de 4 blastomères. L'œuf mesure entre 1,7 et 1,8 mm. L'espace périvitellin est égal à 0,1 mm (Fig. 1e).

Stade 6. Age 1 h 13 min. On observe la formation de 8 blastomères. La taille de l'œuf varie de 1,6 à 1,7 mm (Fig. 1f).

Stade 7. Age 1 h 19 min. La formation de 16 blastomères a lieu. L'œuf mesure entre 1,6 et 1,9 mm (Fig. 1g).

Stade 8. Age 5 h 14 min. La formation de la morule est observée. L'œuf mesure entre 1,5 et 1,8 mm. La morule est multiforme, mais se présente généralement sous la forme d'une grappe; on observe des œufs avec 2 à 3 petites grappes reliées les unes aux autres, ou encore des grappes en «C» (Fig. 1h).

Stade 9. Age 6 h 52 min. La formation de la blastula est observée. L'œuf mesure entre 1,6 et 1,8 mm (Fig. 1i).

Etape III: Gastrulation

Stade 10-11. Age 8 h 07 min. On observe l'étirement du blastoderme et le recouvrement du sac vitellin; Les cellules embryonnaires progressent vers le pôle végétatif par les extrémités du blastoderme. Le corps de l'embryon recouvre deux tiers (2/3) de la masse vitelline en fin de stade (Fig. 1j-k). L'œuf mesure entre 1,6 et 1,7 mm. La partie recouverte du sac vitellin présente une coloration légèrement brun rougeâtre.

Stade 12. Age de 9 h 47 min. On note la fermeture du blastopore. Les deux extrémités du blastoderme ont atteint le pôle végétatif. Le corps de l'embryon coloré en rouge-brun s'épaissit. L'ébauche céphalique apparaît. L'œuf mesure entre 1,6 et 1,7 mm (Fig. 11).

Etape IV: Différenciation des plastes embryonnaires

Stade 13. Age 10 h 28 min. (Fig. 1m). Les lobes du crâne sont visibles. Le cerveau et les yeux ébauchent sous forme de bulles sans pigmentation. La taille de l'œuf est de 1,7 à 1,8 mm. Le chorion et le corps de l'embryon sont très rapprochés et se touchent par endroit.

98

Stade 14-15. Age 11 h 30 min à 11 h 40 min. On note l'ebauche (Fig. 1n) et la segmentation (Fig. 1o) de la corde. L'œuf mesure entre 1,7 et 1,8 mm. 11 somites sont bien visibles. La pigmentation est absente. Le disque adhésif est toujours présent. On observe l'ébauche de la cavité cardiaque. Le coeur n'est pas visible.

Stade 16. Age 19 h 39 min. La cavité cardiaque est bien différenciée. Le coeur n'est pas visible; des mouvements cardiques ne sont pas encore perceptibles. On observe les premiers mouvements de l'embryon, notamment des mouvements de rétraction de la partie caudale. La tête reste immobile. L'œuf mesure entre 1,7 et 1,8 mm (Fig. 1p).

Stade 17. Age 22 h 20 min (J0). L'éclosion a lieu. L'embryon déchire le chorion par mouvements saccadés de la queue. La partie caudale sort de l'enveloppe chorionique, laissant à l'intérieur le sac vitellin et la partie céphalique. Quelques instants après, la larve s'extirpe totalement. Le coeur constitué de deux cavités, est visible dans la cavité péricardiaque à la base de la tête de la larve. Celle-ci présente, après éclosion, un mouvement continu de la partie caudale. La larve est pliée en «V» et mesure entre 2,7 et 3,3 mm (Fig. 2a). On observe un mouvement en pirouette provoqué par les mouvements saccadés de la queue. En fin de stade, l'embryon se redresse. 28 à 30 somites sont visibles. Il n'y a pas de pigmentation (Fig. 2b).

Stade 18. (J0) On note l'ébauche de la membrane larvaire. La cavité péricardiaque migre en avant du sac vitellin. Le tube digestif et l'aorte dorsale sont visibles. Le coeur de l'embryon, bien visible sous le menton, bat. On observe un frémissement constant des larves. La partie caudale de la larve constitue 60 % de la longueur totale; la membrane larvaire dorsale non différenciée, jusqu'à la caudale, représente 66 % et la membrane larvaire anale 44 %. Le tube digestif et le conduit urogénital sont visibles, mais pas encore ouverts (Fig. 2c).

Stade 19. Age 43 h 27 min (J1) après la fécondation, on observe la pigmentation des yeux en noir. La larve mesure entre 4,8 et 6,0 mm. On note l'ébauche des branchies qui sont externes, non recouvertes par les opercules (Fig. 2d). On compte jusqu'à 49 somites. La membrane larvaire s'élargit. On observe l'apparition de la pigmentation rouge du coeur; au niveau de l'aorte dorsale le sang est encore incolore. La larve est en mouvement constant et frémit. L'apparition des barbillons mandibulaires est notée.

Stade 20. Age 47 h 27 min (J1). Les branchies sont différenciées mais non encore recouvertes d'opercules. 4/5 des feuillets branchiaux sont visibles. L'apparition des mélanophores en zig zag sur la tête de la larve est observée ainsi que l'ébauche des barbillons nasaux et maxillaires. La larve mesure entre 5,0 et 5,2 mm (Fig. 2e).

Stade 21. Age 48 h 09 min (J1). On note la formation de l'opercule branchial recouvrant les branchies. Le sang est coloré en rouge. Les mandibules sont en mouvement constant. La bouche de la larve reste ouverte. 52 somites sont visibles. Des points transparents (début de formation des vésicules) apparaîssent sur la membrane larvaire. Un capillaire sanguin apparaît sur le sac vitellin. Les larves sont couchés sur le flanc. Elles se déplacent par ondulation du pédoncule caudal en exécutant des mouvements vifs et rapides. Le corps de la larve est transparent; seule la tête est légèrement pigmentée. En fin de stade, la pigmentation est plus prononcée. La membrane larvaire est tachetée de pigments noirâtres (mélanophores). On observe l'ébauche des rayons dans la nageoire caudale 58 h 12 mm après la fécondation; 11-13 rayons sont visibles (Fig. 2f). La larve mesure en moyenne 5,8 mm.



Fig. 2. – Illustration de l'aspect extérieur de différents stades du développement larvaire d'*Heterobranchus isopterus*, jusqu'à l'âge de deux jours. (be. branchies externes; co. coeur; cug. conduit urogénital; ebm. ébauche du barbillon mandibulaire; ebn. ébauche du barbillon nasal; op. opercule; rc. rayons de la caudale; sv. sac vitellin; td. tube digestif; v. vésicules.)

Stade 22. Age 65 h 37 min (J2). La larve mesure en moyenne 6,7 mm. On observe l'ébauche de la membrane larvaire ventrale. Elle est recouverte de points transparents (vésicules). Le début du jaunissement du tube digestif, reflet de l'activité digestive de la

larve, est observé. Les opercules sont en mouvement constant. La larve est en mouvement ondulatoire continu. Le corps frémit. L'accentuation de la pigmentation sur la tête et sur le corps est observée. Le sac vitellin est presque résorbé. Les premières féces sont enregistrées. On note la formation de stries minuscules dans la membrane larvaire des nageoires anale et dorsale. Une ligne continue de vésicules apparaît sur la périphérie des nageoires (Fig. 2g).

Stade 23. Age 82 h 47 min (J3). On observe le début de la scission entre la nageoire dorsale et la nageoire adipeuse, entre la nageoire adipeuse et la nageoire caudale (Fig. 3a). Les mélanophores recouvrent tout le corps. La pigmentation de la partie supérieure du sac vitellin amorce. La larve mesure entre 7,3 et 7,4 mm. La paire de nageoires pectorales apparaît. La plupart des alevins nagent, mais à l'obscurité. La vésicule vitelline est résorbée. Les villosités intestinales sont visibles. Les mélanophores recouvrent le corps de l'embryon encore transparent, sauf la tête qui est déjà plus ou moins opaque. La larve mesure en moyenne 7,4 mm. Les barbillons sont recouverts de bourgeons minuscules.

De la résorption à l'âge de 23 jours

Stade 24. Age 90 h 17 min (J6). On observe l'ébauche des rayons dans la nageoire dorsale: jusqu'à 11 rayons sont visibles. Les villosités intestinales restent visibles. La larve mesure entre 8,1 et 8,4 mm (Fig. 3b). On observe un début de comportement cannibale des larves. Ceux-ci se dévorent entre eux les barbillons et la nageoire caudale. 114 h 32 min (J7) après la fécondation, on assiste à l'élaboration progressive des rayons dans la nageoire dorsale. Les rayons occupent plus de la moitié de la dorsale; jusqu'à 17 rayons sont visibles (Fig. 3c). La larve mesure entre 11 et 13 mm.

Stade 25. Age 126 h 57 min (J8). Le dédoublement de la nageoire ventrale produit deux nageoires ventrales minuscules séparées l'une de l'autre par la membrane larvaire originelle. On observe l'ébauche de rayons dans la nageoire anale; jusqu'à 12 rayons sont visibles. La larve mesure en moyenne 11,6 mm (Fig. 3d). 12 h 25 min après l'ébauche de rayons dans la nageoire anale, on y dénombre jusqu'à 31 rayons, et jusqu'à 35 rayons dans la nageoire dorsale (J10) (Fig. 4a). La larve mesure entre 11 et 13 mm.

Au douzième jour (J12), la séparation de la dorsale et l'adipeuse s'accentue. Dans l'anale, le nombre de rayons augmente et atteint 37. La nageoire dorsale contient jusqu'à 35 rayons. La majorité des barbillons est coupée à la suite de morsures. La membrane qui sépare les paires de nageoires ventrales, s'estompe (Fig. 4b). La larve mesure entre 13 et 14 mm. La séparation entre la dorsale et l'adipeuse est complète au dix-huitième jour (J18); la larve mesure entre 14 et 16,5 mm (Fig. 4c). Au vingt-troisième jour (J23), on observe le scission entre la caudale et l'anale; la larve mesure entre 16,3 et 20 mm (Fig. 4d). La larve ressemble à l'individu adulte; elle passe à la période de vie juvénile (alevin). A partir du trente-cinquième jour, on observe un mouvement régulier des alevins montant à la surface de l'eau et replongeant dans le fond.





b (J6)



C (J6)



Fig. 3. – Illustration des aspects extérieurs de différents stades du développement larvaire d'*Heterobranchus isopterus*, jusqu'à l'âge de huit jours. (aa. amorce de l'adipeuse; ac. amorce de la caudale; bp. bourgeon de la pectorale; bpe. bourgeon de la pelvienne; ra. rayons de l'anale.)



Fig. 4. – Illustration de différents stades du développement larvaire d'*Heterobranchus isopterus,* jusqu'à l'âge de vingt-trois jours.

Maturité sexuelle

Les individus mâles et fèmelles d'*H. isopterus* présentent un dimorphisme sexuel externe. La femelle a une papille génitale arrondie avec une fente longitudinale sur l'oviducte. Chez les mâles, la papille génitale est plutôt de forme conique. Elle ne possède pas de fente longitudinale.

Les biopsies intraovariennes effectuées pour la sélection des femelles à reproduire ont permis de suivre de novembre à janvier la variation du diamètre ovocytaire (Tableau 1). Cette période correspond aux plus basses valeurs de la température de l'eau (21 à 23°C; période froide) dans les étangs. Une mesure du diamètre ovocytaire a été faite en avril au moment du réchauffement des eaux (période chaude). Pendant cette période, la température dans les étangs est généralement supérieure ou égale à 29°C. En comparant les valeurs obtenues au cours de ces deux périodes, le diamètre des ovocytes d'*H. isopterus* semble augmenter avec le réchauffement des eaux. Mais la différence observée n'est pas statistiquement significative [Fc = 0,122: $F_{aus}(5;31)=2,53$].

TABLEAU 1

Evolution du diamètre ovocytaire (en mm) chez Heterobranchus isopterus en saison sèche à la Station de Bouaké, Côte d'Ivoire

Période	min.	max.	moyenne	Ecart type	N œufs	N
3-11-93	1,39	·1,55	1,48	0,05	434	9
1-12-93	1,42	1,51	1,46	0,03	300	6
18-1-94	1,38	1,55	1,46	0,07	300	6
26-1-94	1,39	1,50	1,45	0,04	250	5
24-4-94	1,44	1,68	1,55	0,01	250	5

Influence de la température d'incubation

Les températures basses de 20°C et 21°C et hautes de 32, 34 et 36°C se sont avérées létales pour le développement des œufs d'*H. isopterus*. Les lots d'œufs incubés à ces températures n'ont pas survécu. Une mortalité de 100 % a été observée

Pour des températures d'incubation allant de 22 à 28°C, tous les taux moyens d'éclosion sont supérieur ou égaux à 55 %. Par contre, ces taux tombent brutalement à un taux moyen de 7,8 à 30°C. Le taux le plus élevé a été obtenu à 26°C (Tableau 2).

La température de l'eau à la station piscicole atteint sa valeur minimale (21°C) en décembre (YTÉ, 1992). Pendant tous les autres mois de l'année, la température de l'eau est supérieure ou égale à 22-23°C. Si on se rappele les résultats mentionnés plus haut, ceci implique qu'on peut faire l'incubation des œufs d'*H. isopterus* pratiquement toute l'année.

Le temps d'incubation aux différentes températures expérimentées diminue des plus basses aux plus fortes températures. Il diminue au moins de 1,6 à 2 fois lorsqu'on passe

de 22°C à l'intervalle de 24-28°C. Notons que le temps d'incubation à 30°C n'a pas été expressément pris en compte à cause du faible taux d'éclosion obtenu à cette température. A la température optimale de 26°C, le temps d'incubation a varié au cours du test de 21 h 23 min à 24 h 38 min.

TABLEAU 2

Taux d'éclosion et temps d'incubation des œufs chez Heterobranchus isopterus pour différentes températures

Température	Taux d'éclosion (%)			Temps d'incubation			
°C	min	max	moyenne	min	max	moyenne	
22	56,6	65,6	61,1	45h23	46h00	45h26	
24	-	-	62,9	-	-	27h59	
26	57,0	73,3	65,2	21h23	24h38	22h45	
28	45,0	73,3	65,2	21h23	23h14	22h18	
30	7,1	8,6	7,8	21h23	22h34	21h43	



Fig. 5. – Proportions de larves normales, déformées et mortes obtenues après éclosion des œufs d'*Heterobranchus isopterus* incubés à différentes températures.

105

S. K. DA COSTA, G. GOURÈNE ET G. G. TEUGELS

De manière générale quelque soit la température utilisée (22-30°), les larves écloses sont de bonne qualité. En effet, les proportions de larves normales varient globalement entre 73,2 et 98,3 % (Fig. 5). Ainsi les températures utilisées ne semblent pas néfastes en ce qui concerne la qualité des larves.

DISCUSSION

Développement embryonnaire et aspect extérieur du développement larvaire

Le développement embryonnaire et l'aspect extérieur du développement larvaire chez *Heterobranchus isopterus* est similaire à celui d'*H. longifilis* et à celui de *Clarias gariepinus*. A la différence des deux espèces d'*Heterobranchus, C. gariepinus* se distingue essentiellement par la pigmentation, la forme des mélanophores, l'absence d'échancrure entre les nageoires dorsale et adipeuse, le nombre de rayons dorsaux (70 contre 33 pour *H. isopterus* et *H. longifilis* le 18^e jour) (LEGENDRE & TEUGELS, 1991) et par l'absence des épines neurales présentes dans la nageoire adipeuse chez les poissons du genre *Heterobranchus* (TEUGELS, 1983).

Il est important de noter l'asynchronisme qui caractérise le développement des œufs d'*H. isopterus.* Cette observation a déjà été faite par ZAMPALIGRE (1991). Il en est de même pour *H. longifilis* (LEGENDRE & TEUGELS, 1991). Selon ZAMPALIGRE (1991) cette hétérogénéité dans le rythme du développement embryonnaire expliquerait en partie l'hétérogénéité de la taille des alevins produits, ce qui augmente par conséquent le risque de cannibalisme.

L'éclosion chez *H. isopterus* se réalise selon deux modes successifs. Dans un premier temps, les mouvements saccadés de la caudale finissent par déchirer le chorion au niveau de la région postérieure de l'œuf en libérant la partie caudale; l'embryon se libère en retirant sa tête de l'enveloppe chorionique restante. Dans un second temps, le mode d'éclosion est identique à celui observé par LEGENDRE & TEUGELS (1991) chez *H. longifilis*: l'embryon s'échappe de son enveloppe choronique tête première, par la déchirure que produit au niveau de la région céphalique la poussée de la queue sur le chorion.

A l'éclosion, la larve se retire de l'enveloppe chorionique qui porte le disque adhésif. A l'opposé d'*H. longifilis*, aucune pastille adhésive n'est observée à la base de la vésicule vitelline des larves écloses d'*H. isopterus*. Le maintien des larves écloses d'*H. isopterus* sur le fond s'expliquerait donc par le poids du sac vitellin et par l'absence de nageoires différenciées, et non grâce à une pastille adhésive comme l'indiquent LEGENDRE & TEUGELS (1991) pour *H. longifilis*.

Les larves d'*H. isopterus* sont fortement photophobes et ont un comportement benthique comme celles d'*H. longifilis* (LEGENDRE & TEUGELS, 1991).

Les indications sur l'apparition du disque adhésif sur le chorion, seulement 6 à 7 heures à 26°C après la fécondation (ZAMPALIGRE, 1991), ne se sont pas vérifiées dans notre étude. Le disque adhésif apparaît plus tôt sur les œufs d'*H. isopterus*. Il s'observe au début de l'embryogenèse (Fig. 1b), dès leur imprégnation dans le milieu d'incubation (eau douce) soient 1 à 2 min après.

L'anus et l'orifice urogénital sont visibles chez les larves d'*H. isopterus* après 19 h 52 min d'incubation à 26°C. Ils s'ouvrent 65 h 37 min après la fécondation. Les premières féces surviennent alors. Chez H. longifilis, l'ouverture de l'anus et celle de l'orifice urogénital s'opèrent à peu près en même temps, soit 72 à 78 heures après la fécondation (LEGENDRE & TEUGELS, 1991).

La pigmentation sur la tête apparaît chez *H. isopterus* et *H. longifilis*, le jour qui suit l'éclosion. Chez *H. isopterus*, la pigmentation étoilée est disposée en zigzag (J2). Les mélanophores recouvrent le corps des larves d'*H. longifilis* de deux jours. Chez *H. isopterus*, ils sont disposés de façon clairsemée (J2).

Les rayons apparaissent dans la nageoire dorsale d'*H. longifilis* le 5^e jour (9 à 14 rayons) (LEGENDRE & TEUGELS, 1991) et le 7^e jour pour *H. isopterus* (17 rayons). Si le nombre de rayons varie en fonction de la taille des individus d'*H. longifilis*, chez *H. isopterus* cette variation n'a pas été étudiée.

Le point de scission entre la nageoire dorsale et l'adipeuse apparaît chez *H. isopterus* dès le troisième jour (J3) après éclosion, alors que chez *H. longifilis* il n'apparaît qu'au septième jour (J7).

A l'âge de 43 h 27 min (J2), l'ébauche des branchies est nettement visible: quatre branchies sur cinq sont visibles à la loupe binoculaire; mais une dissection permet d'en dénombrer cinq. Chez H. *longifilis*, les cinq arcs branchiaux ne sont parfaitement discernables que huit jours après l'éclosion.

Chez *H. isopterus* le début de la séparation entre l'adipeuse et la caudale, et entre l'anale et la caudale s'observe déjà respectivement le troisième et le septième jour après l'éclosion, alors qu'il faut attendre le onzième jour chez *H. longifilis*.

Les alevins d'*H. isopterus* ressemblent aux adultes à partir du vingt-troisième jour (J23) alors qu'il en est déjà ainsi chez *H. longifilis*, dont le développement semble plus rapide.

La scission entre la nageoire dorsale et la caudale intervient chez *Heterobranchus isopterus* au dix-huitième jour (J18), entre l'anale et la caudale le vingt-troisième jour (J23). Chez *H. longifilis* elles s'individualisent un peu plus tôt, soit le quinzième jour (J15) après l'éclosion. A l'instant de leur différenciation, les nageoires dorsales des deux espèces contiennent le même nombre de rayons, soit 33.

Malgré quelques écarts de temps dans la différenciation de certains organes, *H. isopterus* et *H. longifilis* présentent un développement embryonnaire et un aspect extérieur du développement larvaire analogue. Cependant le processus de différenciation des larves semble accéléré chez *H. longifilis*. La différence des températures d'incubation, soit 25,5 à 26,5°C pour *H. isopterus* et 28 à 30°C pour *H. longifilis*, pourrait expliquer cette différence de croissance.

Maturité sexuelle et influence de la température d'incubation

Les organes sexuels chez *H. isopterus* sont morphologiquement très proches de ceux observés par DE KIMPE & MICHA (1974) chez Clarias gariepinus et par LEGENDRE (1986) chez *H. longifilis.*

107

S. K. DA COSTA, G. GOURÈNE ET G. G. TEUGELS

Chez H. longifilis, LEGENDRE (1986) signale la variation saisonnière du diamètre ovocytaire en milieu lagunaire. Selon cet auteur, on note une augmentation progressive du diamètre ovocytaire en fin de la grande saison sèche (de février à mai), suivie par une nouvelle augmentation coincidant avec la saison des pluies pendant laquelle une baisse de la température de l'eau est observée. Le plus grand diamètre (1,5 mm) est trouvé en cette période d'eau froide (de juin à octobre); ensuite il décroît avec l'augmentation de la température au mois de novembre et de décembre. Etant donné le nombre limité de biopsies effectuées pendant la période de réchauffement (avril), les conclusions définitives ne pourront être tirées, en ce qui concerne H. isopterus, qu'après une période plus étendue de mensurations.

Par ailleurs, il est important de signaler que même le diamètre ovocytaire minimal obtenu pendant la période froide, reste supérieur à la valeur minimale requise (1,28 mm) pour atteindre un taux d'éclosion supérieur ou égal à 70 % à 25°C. Il en ressort que la reproduction artificielle est pratiquement possible pendant toute la période froide de l'année.

Remarquons que malgré l'existence d'œufs matures sur les deux périodes, aucune reproduction spontanée n'a été observée en étang. L'absence de conditions environnementales favorables (crues, température, frayère, etc.) dans les étangs en est l'explication probable. La maturation finale des ovocytes est bloquée faute de stimuli naturels déclenchant ce processus. Cette observation se rapproche de celles effectuées sur *H. longifilis* par LEGENDRE (1991) et *C. gariepinus* par VIVEEN *et al.* (1985).

Les résultats de la présente étude indiquent que les œufs éclosent dans un intervalle de température compris entre 22°C et 30°C, ce qui est moins large que chez *H. longifilis* (22 et 35°C; LEGENDRE & TEUGELS, 1991).

De manière générale quelle que soit la température utilisée ($22-30^{\circ}$ C), les larves écloses sont de bonne qualité. LEGENDRE & TEUGELS (1991) observent que le nombre de larves déformées chez *H. longifilis*, connaît un accroissement hautement significatif à 33°C. A cette température nous avons noté une mortalité de 100 %.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer notre gratitude à MM. M. Legendre (ORSTOM, Montpellier) et I. Roelants (K.U.Leuven) pour la lecture critique du manuscrit. Nos remerciements sont également adressés aux techniciens de laboratoire de l'IDESSA, MM. A. Daha et B. Boblai. M^{III} S. Vanderheyden et M. A. Reygel (MRAC) sont remerciés pour leur aide technique lors de la préparation du manuscrit. Nous sommes reconnaissants à M. K. Traore (IDESSA) qui a mis l'infrastructure de la station de Bouaké à notre disposition. La contribution de GGT fait partie du programme «poissons-chat» NFWO-FKFO (2.0014.94).

RÉFÉRENCES

BALON, E.K. (1975) – Terminology of intervals in fish development. J.Fish.Res.bd.Can. 32: 1663-1670.

108

- BRAUM, E. (1978) Ecological Aspects of the survival of fish Eggs, Embryos and Larvae. In: Ecology of fresh water fish production. GERKING S.D. (ed.), Blackwell scientific Publication, Oxford, 102-110.
- DE KIMPE, P. & J.C. MICHA (1974) First guidelines for the culture of Clarias lazera in central Africa. Aquaculture, 4: 227-248.
- HERZIG, A. & H. WINKLER (1986) The influence of temperature on the embryonic development of the cyprinid fishes, Abramis brama, Chalcaburnus chalcoides mento and Vimba vimba. J.Fish Biol., 28: 171-181.
- HOGENDOORN, H. (1979) Controlled propagation of the African catfish *Clarias lazera* (C & V). I. Reproductive biology and fields experiments. *Aquaculture*, **17**: 323-333.
- KARANGWA, A. (1982) Adaptation de Clarias mossambicus Peters 1852 aux conditions de pisciculture du Rwanda. Thèse 3^e cycle. Inst.nat.polytechnique de Toulouse. Sciences et Techniques en Production Animale, Option Ichtyologie appliquée, 132 pp.
- LEGENDRE, M. (1983) Examen préliminaire des potentialités d'un silure africain *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1940) pour l'aquaculture en milieu lagunaire. Doc. Sc. Cent. Rech. Océanogr. Abidjan, 14: 97-107.
- LEGENDRE, M. (1986) Seasonal changes in sexual maturity and fecundity, and HCG-induced breeding of the catfish *Heterobranchus longifilis* Val. (Clariidae), reared in Ebrie Lagoon (Ivory Coast). Aquaculture, 55: 201-213.
- LEGENDRE, M. (1991) Potentialités des Cichlidae (S. melanotheron, T. guineensis) et Clariidae (H. longiflis) autochtones des lagunes ivoiriennes. Thèse Doctorat, Univ. Montpellier III, Sces et Tech. du Languedoc, 78 pp.
- LEGENDRE, M. & G.G. TEUGELS (1991) Développement et tolérance à la température des œufs de *Heterobranchus longifilis* et comparaison des développements larvaires de *H. longifilis* et de *Clarias gariepinus* (Teleostei, Clariidae). *Aquatic Living Resour.*, 4: 227-240.
- MICHA, J.C. (1973) Etude des populations piscicoles de l'Ubangui et tentatives de sélection et d'adaptation de quelques espèces à l'étang de pisciculture. CTFT. Paris, 110 pp.
- SCHERRER, B. (1984) Biostatistique. MORIN G.(éd.), Québec (CAN). Editions Eska S.A.R.L., Paris, 850 pp.
- TEUGELS, G.G. (1983) La structure de la nageoire adipeuse dans les genres Dinotopterus, Heterobranchus et Clarias (Pisces; Siluriformes; Clariidae). Cybium, 7: 11-14.
- VIVEEN, W.J.A.R., C.J.J. RICHTER, P.G.W.J. VAN OORDT, J.A.L. JANSSEN & E.A. HUISMAN (1985) Manuel pratique de pisciculture du poisson-chat africain (*Clarias gariepinus*). Direction Générale de la Coopération Internationale du Ministère des Affaires Etrangères, Den Haag, 108 pp.
- YTÉ, W. (1992) Zooplancton des étangs de pisciculture de l'IDESSA (Bouaké, Côte d'Ivoire): Evolution du peuplement et biomasse. Agronomie Africaine, IV: 165-178.
- ZAMPALIGRE, I. (1991) Reproduction induite de *Heterobranchus isopterus*. Mém. Ing. ISSTH, Nouadibou, 55 pp.

Belg. J. Zool. - Volume 126 (1996) - issue 2 - pages 111-116 - Brussels 1996

2

Received : 5 March 1996

PSEUDONAPOMYZA HOBOKENSIS SP. N. FROM BELGIUM (DIPTERA, AGROMYZIDAE)

JAN SCHEIRS

Department of Biology, Evolutionary Biology Group, University of Antwerp (RUCA), Groenenborgerlaan 171, B-2020 Antwerp (Belgium)

Abstract. A new agromyzid species (Diptera), *Pseudonapomyza hobokensis*, is described from Hoboken, Belgium. *P. hobokensis* shows high similarity in external morphology with many European species of this genus. The distiphallus proves to be the only reliable diagnostic character to separate *Pseudonapomyza* species.

Key words : Agromyzidae, Pseudonapomyza, taxonomy, new species, Belgium.

INTRODUCTION

Pseudonapomyza HENDEL (1920) is one of the genera of Agromyzidae poor in species. Till 1973 it was believed that only one species, *Pseudonapomyza atra* (MEIGEN, 1830), was present in Europe. At the moment, 14 species of this genus are recorded from the European region (SPENCER, 1973; ČERNY, 1992; PAKALNIŠKIS, 1992, 1994; ZLOBIN, 1993a). The high similarity in external morphology of the species of the genus *Pseudonapomyza* is probably the reason it took so long before these species were described. SPENCER (1973), ČERNY (1992) and ZLOBIN (1993a, b), pointed out that reliable identifications within this genus are only possible when the male and/or female terminalia are examined. The aedeagus, especially the distiphallus, of all *Pseudonapomyza* species has a very species specific structure. Also the shape of the fifth sternum, and the shape of the periandrium and the sperm pump may give additional diagnostic information (ČERNY, 1992).

During 1990, the agromyzid fauna of the nature reserve «Hobokense polder» was sampled by means of a broad range of trapping types (SCHEIRS *et al.*, 1995). When identifying the Agromyzidae caught in these traps, a new *Pseudonapomyza* species was detected.

Abbreviations used to indicate the position of bristles

ors: upper orbital; ori: lower orbital; or: orbital; oc: ocellar; pvt: postvertical; vte: outer vertical; vti: inner vertical; vi: vibrissa; dc: dorsocentral; pp: propleural; m: mesopleural; st: sternopleural; h: humeral; prs: presutural; n: notopleural; sa: supra-alar; ipa: inner postalar; epa: outer postalar; la: lateral; ap: apical; ia: intra-alar; prsc: prescutellar.

JAN SCHEIRS

Material examined

Holotype: 10^o captured in a white colour trap on 20.vii.1990, leg. F. ven, genitalia dissected and mounted on slide HP.575.

Paratypes: 10^t trapped on 13.vii.1990 in a green colour trap, genitalia mounted on slide HP.574; 10^t trapped on 24.viii.1990 in a green colour trap, genitalia mounted on slide HP.576; 10^t trapped on 31.viii. 1990 in a blue colour trap, genitalia mounted on slide HP.608.

Material deposited at the Department of Biology, University of Antwerp, Belgium (holotype, 2 **o o** paratypes) and in the von Tschirnhaus collection (1**o** paratype, HP. 576, genitalia transferred to slide 3076). The material in the collection of the University of Antwerp, will later be deposited in the collections of the Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Brussels.

Type locality

Hobokense Polder, a nature reserve in Hoboken near Antwerp, Belgium. Four male individuals were captured in the centre of the reserve in a humid, overgrown meadow. The vegetation of that meadow is characterised as a transient between *Agropyro-Rumicion crispi* and *Filipendulion*. For a more detailed description of the sample site: see SCHEIRS *et al.* (1995).

Description of the male

Head: Frons 1.2-1.6 times broader than eye at level of anterior ocellus. Ocellar triangle, occupying about half of the vertex width, anterior corner reaching level of the upper or. Frons above antennae moderately projecting above eye in profile. One reclinated ors and 3 weaker ori present. Few orbital hairs present, short, fine and upright. oc, pvt, vte, vti, and vi present, pvt weaker than vte, vti, and ors. Gena posteriorly about 0.4 times width of eye height. Eye oval and bare. First antennal segments adjoining, 3rd antennal segment (Fig. 3) angulate with distinct apical corner, arista thickened at base and twice as long as 3rd antennal segment. Palpi normal, decreasing in size from back to front.

Thorax: Only three post-sutural dc on mesonotum decreasing in size from back to front. Acrostichals in 4 irregular rows. Macrochaetae: pp, 1m, 1st, 1h, prs, 2n, sa, epa, la, and ap present; *ia*, *prsc*, *ipa* missing. Setulae in the *ia*-area present. Mid tibia without posterolateral bristle. Wing 1.3-1.4mm in male, without posterior cross vein, with strong costalization, M_{H2} more or less reduced, only a weak fold reaching the wing tip, M_{3H4} weakly present, ratio of costal sections 2-4; 30:12:26, 34:11:28, 30:11:26, and 30:13:26 (1 unit = 12.5 µm).

Abdomen: Sternum 5 of male (Fig. 5) longer than broad, inner oval emargination longer by half the length of the sternum.

Male genitalia: Periandrium (Fig. 4) large, gonostylus with many fine hairs on the ventral inner side, cerci small and clublike. Aedeagus as in Figs 1 and 2, its distiphallus weakly sclerotized. Distiphallus equipped with a sclerotized ring, which is interrupted by a small gap on its ventral and dorsal side, bearing a membranous case anteriously and pos-

DESCRIPTION

Pseudonapomyza hobokensis sp. n.



Figs 1-3. – *Pseudonapomyza hobokensis* sp. n. – 1. aedeagus in left, lateral view – 2. aedeagus in ventral view – 3. 3^{rd} antennal segment. (Scale = 0.1 mm).

JAN SCHEIRS



Figs 4-8. – *Pseudonapomyza hobokensis* sp. n. – 4. Left side of periandrium in caudal view – 5. 5th abdominal sternum – 6. Hypandrium in ventral view – 7. Sperm pump in side view – 8. Sperm pump in front view. (Scale = 0.1 mm).

PSEUDONAPOMYZA HOBOKENSIS SP. N. FROM BELGIUM

teriously of variable size. Distiphallus may be twisted to the right. Hypandrium as in Fig. 6. Sperm pump as in Figs 7 and 8 with blade broadening from its base.

Colour: Entirely black species, except for the frons, which is more light brown. Wing clear and transparent, veins pale brown while squamae, squamal fringe, and halters white. Orbits and thorax shiny. Legs dark.

Female unknown. Females of the genus *Pseudonapomyza* can be identified according to the shape of their spermathecae (\check{C} ERNY, 1992). Based on this character, we could only detect females of *P. atra* and *P. europaea* SPENCER, 1973 in the samples of the trap catches.

Derivatio nominis

This species is named after the type locality, Hoboken in Belgium.

DISCUSSION

For identification of European *Pseudonapomyza* species we refer to ξ ERNY (1992). This study gives full description and drawings of genitalia of all European species, except *P. insularis* ZLOBIN, 1993 and *P. spinosa* SPENCER, 1973 only known from the Macaronesion region, and *P. hobokensis* sp. n.

The external morphology of *P. hobokensis* is very similar to that of most European *Pseudonapomyza* species. Only the colour of the squamal fringe, white in *P. hobokensis*, can be used to separate this species from *P. balkanensis* SPENCER, 1973 the only European species with a black squamal fringe.

According to the shape of the genitalia, *P. hobokensis* could only be confused with *P. spenceri* ČERNY, 1992 because the distiphallus of both species has a ring-like sclerite in the apical part. However, *P. hobokensis* has a reduced distiphallus missing the cask-like sclerite of the distal part present in *P. spenceri* (compare Fig. 1 and 2 with Fig. 56 and 57 of ČERNY [1992]). The shape of the sperm pump is also different. The sperm pump of *P. hobokensis* has a blade already broadening from its base, contrary to the sperm pump of *P. spenceri* which is more slender in the basal part (compare Fig. 7 and 8 with Fig. 59 and 60 of ČERNY [1992]).

ČERNY (1992) created a key of the European *Pseudonapomyza* species known as at 1992. That key uses external morphological and colour traits, frequently in combination with shape aspects of the aedeagus. Some traits used in this key appear to be too subtle and unreliable. Especially the colour traits are difficult to interpret (e.g. difference between pale brown and brown to black), the more when one takes the discoloration of preserved material, frequently noticed with alcohol material, into account. Therefore, we were reluctant to include *P. hobokensis* in this key. Nevertheless, ČERNY (1992) is aware of this problem and frequently points out that *Pseudonapomyza* species can only be identified with certainty when genital preparations are made.

JAN SCHEIRS

Hitherto, only two members of this genus have been found in Belgium: *P. atra* and *P. europaea*. They were found in the same traps as *P. hobokensis* sp. n. (SCHEIRS *et al.*, 1995). Based on the agromyzid fauna known from the surrounding countries, we expect that several other *Pseudonapomyza* species will be found in Belgium.

ACKNOWLEDGEMENTS

I want to thank the Werkgroep Hobokense Polder (WHOP) for their permission to place the traps and F. Ven for emptying the traps. I am indebted to L. De Bruyn, M. Černy, M. von Tschirnhaus, and V. Zlobin for kindly providing advice and critical reading of the manuscript. This study was supported by a research grant of the Belgian National Fund for Scientific Research (NFWO).

REFERENCES

- ČERNY, M. (1992) A revision of the Czechoslovak species of *Pseudonapomyza* Hendel, with the description of four new species (Diptera, Agromyzidae). *Acta Entomol. Bohemoslovaca*, 89: 451-465.
- PAKALNIŠKIS, S. (1992) Notes on Lithuanian Agromyzidae (Diptera) with the description of three species new to science. In : New and rare for Lithuania insect species, Records and descriptions of 1992. Jonaitis, V. (ed.), Institute of Ecology, Lithuanian Entomological Society, Vilnius : 47-55.
- PAKALNIŠKIS, S. (1994) The Lithuanian Agromyzidae (Diptera). Descriptions of 6 new species and other notes. Acta entomologica Lituanica, 12: 5-34.
- SPENCER, K. A. (1973) Agromyzidae of economic importance. Dr. W. Junk, The Hague, 418 pp.
- SCHEIRS, J., L. DE BRUYN and M. VON TSCHIRNHAUS (1995) Agromyzidae (Diptera) of the nature reserve «Hobokense Polder»: faunistics and life-history aspects. Bull. Annls Soc. r. belge Ent., 131: 191-205.
- ZLOBIN, V. V. (1993a) Notes on Pseudonapomyza spicata MALLOCH from Canary and Cape Verde Islands (Diptera: Agromyzidae). Dipterological Research, 4: 81-89.
- ZLOBIN, V. V. (1993b) The description of a new Pseudonapomyza species from Palaearctic region (Diptera: Agromyzidae). Dipterological Research, 4: 173-176.

Belg. J. Zool. - Volume 126 (1996) - issue 2 - pages 117-122 - Brussels 1996

Received : 1 April 1996

DESCRIPTION OF LEPADELLA DERIDDERAE DERIDDERAE N. SP., N. SUBSP. AND L. DERIDDERAE ALASKAE N. SP., N. SUBSP. (ROTIFERA : MONOGONONTA, COLURELLIDAE)

HENDRIK SEGERS*, WILLEM H. DE SMET** AND DRIES BONTE*

*Laboratory of Animal Ecology, Zoogeography and Nature Conservation, Department M.S.E, (R.U.G.). K.L. Ledeganckstraat 35, B-9000 Gent (Belgium) **Department of Biology, University of Antwerpen, (R.U.C.A.). Groenenborgerlaan 171, B-2020 Antwerpen (Belgium)

Abstract. A new species of *Lepadella*, *L. deridderae* n.sp., and two of its subspecies, *deridderae* and *alaskae* are described from a temporary pond in the «Westhoek» Nature Reserve, De Panne, Belgium, and a trench of a tundra polygon at Point Barrow, Alaska. The new species belongs to the group of *L. triptera*, and is diagnosed by having five dorsal carinas.

Key-words : Rotifera, Lepadella deridderae deridderae, L. deridderae alaskae, new species, new subspecies, Belgium, Alaska.

INTRODUCTION

In spite of the increase in knowledge of the systematics, biogeography and ecology of Rotifera, the subject is still in a fragmentary state. Large areas of the world, such as the Arctic have received little attention, and even in areas that have been extensively investigated many habitats have been overlooked. In Belgium as almost everywhere, most sampling efforts (see check-lists of Belgian Rotifera in DE RIDDER, 1989, 1992) have been directed to planktonic habitats. It was therefore not surprising to find a new species in periphytic habitats from both Belgium and Alaska. Moreover, we hypothesize that the morphological differences between specimens from both localities reflect a taxonomic separation at the subspecies level. The new taxa are described and illustrated here.

DESCRIPTIONS

Lepadella deridderae deridderae sp. nov., subsp. nov.

Material examined

-

Holotype: (K.B.I.N.-I.r.Sc.N.B. nr. IG 28312 RIR 63) and paratype (slightly damaged specimen, in R.U.G.), permanent glass slide. Material collected on 7 April 1995.

Type locality: temporary pond in unmown, old-stabilized wet dip in the «Westhoek» Nature Reserve, De Panne, Belgium.



Figs 1-5. – Lepadella deridderae deridderae n. sp., n. subsp., holotype (Belgium). — 1. Dorsal view. – 2. Ventral view. – 3. Lateral view. – 4. Frontal view. – 5. Caudal view. (Scale bar 50μ m).

Description

Parthenogenetic female : lorica about one and a half times as long as wide, twice as wide as high. Lateral margins smoothly curved. Ventral lorica flat, weakly pustulated, especially mid-ventrally. A transverse depression present anterior to the foot aperture. Foot aperture squarish, slightly narrowing to posterior. A broad, bilobate projection overlies the anterior rim of the foot aperture. Ventral head aperture margin relatively shallow and

LEPADELLA DERIDDERAE N. SP. FROM BELGIUM AND ALASKA

broad, with weak transverse ridge posterior to the margin. Dorsal head aperture margin concave. Dorsal lorica pustulated, with five ridges. Mid-dorsal carina blunt, slightly dilated anteriorly and weakly notched at the level of the foot aperture. Intermediate carinas relatively weakly developed, curved. Lateral carinas curved, with a notch in the posterior half of the lorica. Both intermediate and lateral carinas end anteriorly to the slightly projecting apertures of the lateral antennas. Foot with three pseudosegments, the distal one about twice the length of the basal or median one, and with a transverse slit dorsally. Toes elongate, weakly curved ventrad, smoothly tapering to an acute point distally. Male unknown.

Dimensions. Lorica length $73\mu m$, width $53\mu m$, height $29\mu m$; foot aperture length $18\mu m$, width $17\mu m$; head aperture depth $11\mu m$, width $24\mu m$, height $15\mu m$; last foot pseudosegment length $11\mu m$, toes $30\mu m$.

Etymology

¢

The species and nominotypical subspecies is named after Dr Margaretha De Ridder, in recognition of her important contributions to rotiferology.

Lepadella deridderae alaskae sp. nov., subsp. nov.

Material examined

Holotype: (K.B.I.N. - I.r. Sc. N.B. nr. I.G. 28.397) and 3 paratypes (in R.U.C.A.), mounted on glass slides in glycerine. Material collected on 17 July 1994.

Type locality: among submerged mosses in trench of tundra polygon, Point Barrow, Alaska.

Description

The Alaskan specimens differ from the Belgian ones in the following characters. The lorica is distinctly higher and appears broader owing to its shorter length (ratio lorica length:lorica width = 1.20, 1.38 in *L.d. deridderae*). In dorsal view it narrows more quickly anteriorly, taking a more obovoid shape. The ventral lorica is more protrusive with a flattened median area, ca. 1/3 the width of the lorica. The foot aperture is preceded by a more distinct, short keel. The head aperture is much higher and obpyriform. Ventral sinus narrower; ridge posterior to the margin with rounded corners postero-laterally. The overall pattern of the dorsal carinas is fairly similar. However, the intermediate and lateral carinas are much more pronounced, and six short, symmetrically placed fainter ridges are present distally. Intermediate carina slightly indented near mid-length. Mid-dorsal carina slightly concave; its dorsal margins bordered by pustules. The toes are distinctly shorter. Male unknown.

Dimensions. Lorica length 65-68 μ m, width 55 μ m, height 37-40 μ m; foot aperture length 16 μ m, width 17 μ m; head aperture depth 11 μ m, width 19-21 μ m, height 29-30 μ m; last foot pseudosegment 6-7 μ m; toes 18-20 μ m.
Etymology

The subspecies name *alaskae* is derived from the name of the state (Alaska, U.S.A.) in which the type locality is situated.



Figs 6-10. — Lepadella deridderae alaskae n. sp., n. subsp., holotype (Alaska). – 6. Dorsal view. – 7. Ventral view. – 8. Lateral view. – 9. Frontal view. –10. Caudal view. (Scale bar 50μ m).

DISCUSSION

Differential diagnosis

Lepadella deridderae n.sp. belongs to the L. triptera (EHRENBERG, 1830) species group. It can not be confused with any of its close relatives, as the presence of five dorsal carinas is unrecorded for any of these. Only Lepadella quinquecostata (LUCKS, 1912) (figs 10a-g in SEGERS et al., 1992) also has five dorsal carinas, but the two differ in several aspects:

LEPADELLA DERIDDERAE N. SP. FROM BELGIUM AND ALASKA

- the head aperture has sharp lateral projections, and a punctated collar in *L. quinque-costata*, neither character is present in *L. deridderae*;
- the mid-dorsal carina is blunt in L. deridderae, sharp in L. quinquecostata;
- the intermediate carinas are relatively weak in L. deridderae; they are similar to the median and the lateral in L. quinquecostata;
- the lateral carinas are notched in the posterior half of the body in *L. deridderae*, regularly curved in *L. quinquecostata*;
- the foot aperture is relatively wider in *L. deridderae* than in *L. quinquecostata*, and a posterior, rounded projection of the dorsal plate is present in *L. deridderae*, absent in *L. quinquecostata*;
- L. deridderae is smaller (lorica length up to 73μm) than L. quinquecostata (lorica length 92-112μm after KOSTE, 1978);
- the lorica is pustulated in L. deridderae, smooth in L. quinquecostata.

Ecology and distribution

Lepadella deridderae deridderae was found during April in a temporary pond, produced by inundation of a unmown depression in an area of stabilized dunes. Inundation of this depression is not an annual phenomenon, but occurs irregularly and only after periods of strong precipitation such as occurred during the winter of 1994-1995. The accompanying rotifer fauna were Brachionus urceolaris (O.F. MÜLLER, 1773), Cephalodella catellina (O.F. MÜLLER, 1786), C. gibba (EHRENBERG, 1832), Euchlanis dilatata Ehrenberg, 1832, Itura cf. aurita (EHRENBERG, 1830), Lecane cf. haliclysta HARRING & MYERS, 1926, Lepadella patella (O.F. MÜLLER, 1786), L. quadricarinata (Stenroos, 1898), L. triba Myers, 1934, L. triptera (EHRENBERG, 1830), Lophocharis salpina (EHRENBERG, 1834), Mytilina mucronata (O.F. MÜLLER, 1773), Notholca squamula (O.F. MÜLLER, 1786), Testudinella reflexa (GOSSE, 1887), Trichocerca rattus (O.F. MÜLLER, 1776), T. relicta (DONNER, 1950), T. vernalis Hauer, 1936.

Lepadella deridderae alaskae was found during July among submerged mosses in the trench of an ice wedge polygon. The depth of water was 10cm, water temperature 4.7°C, pH 6.7, and conductivity 98 µScm⁻¹. The accompanying rotifer fauna were : Bryceella stylata (MILNE, 1886), Cephalodella auriculata (O.F. MÜLLER, 1773), C. gibba (EHRENBERG, 1832), Collotheca sp., Colurella uncinata (O.F. MÜLLER, 1773), Gastropus stylifer Imhof, 1891, Lecane arcuata (BRYCE, 1891), L. cf. patella (O.F. MÜLLER, 1786), Mytilina mucronata (O.F. MÜLLER, 1773), Pleurotrocha chalicodes MYERS, 1933, Trichocerca spp.

The presence of the species in arctic Alaska and its occurrence during the cold season in Belgium, suggests that it may be cold stenotherm.

Remark on taxonomy

Evidence is accumulating that several rotifer species, that are described as having a cosmopolitan distribution, or have been observed from a wide range of sites across several continents, actually represent a complex of morphologically similar but separate sub-

H. SEGERS, W. H. DE SMET AND D. BONTE

- 7

species or species. Indications of such divergence for European and North American populations of rotifer species have been found by *e.g.* CHENGALATH & KOSTE (1988) and DE SMET & BEYENS (1996). The new *Lepadella deridderae* might be another example of such species complexes.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Prof. Dr. L. Beyens for providing Alaskan samples, and Prof. Dr. E. Schockaert for comments on the manuscript. Mrs. S. Pooters typed the manuscript. This study was partially supported by a R.A.F.O. fund awarded by R.U.C.A.

REFERENCES

- CHENGALATH, R. & W. KOSTE (1988) Composition of littoral rotifer communities of Cape Breton Island, Nova Scotia, Canada. Verh. Internat. Verein. Limnol., 23: 2019-2027.
- DE RIDDER, M. (1989) De huidige stand van het raderdieronderzoek in België. Verhandelingen symposium «Invertebraten van België»: 31-41.
- DE RIDDER, M. (1992) Distribution of Belgian Rotifera. Proc. 8th Internat. Coll. European Invertebrate Survey, Brussels, 9-10 September 1991: 199-212.
- DE SMET, W.H. & L. BEYENS (1996) Rotifers from Victoria Island (N.W.T., Canadian Arctic). Intern. J. Meiofaun. Zool. (in press).
- KOSTE, W. (1978) Rotatoria. Die R\u00e4dertiere Mitteleuropas begr\u00fcndet von Max Voigt. Monogononta. 2. Aufl., I. Textband, 673 pp., II. Tafelband, 234 Taf., Gebr. Borntraeger, Berlin, Stuttgart.
- SEGERS, H., N. EMIR & J. MERTENS (1992) Rotifera from north and northeast Anatolia (Turkey). *Hydrobiologia*, **245** : 179-189.

Belg. J. Zool. - Volume 126 (1996) - issue 2 - pages 123-151 - Brussels 1996

Received : 4 July 1996

THE GENERA *ARAEONCUS* SIMON, *DELORRIPIS* SIMON AND *DIPLOCEPHALUS* BERTKAU IN NORTHERN AFRICA (ARANEAE: LINYPHIIDAE: ERIGONINAE) STUDIES ON NORTH AFRICAN LINYPHIIDAE VII.

ROBERT BOSMANS

Laboratorium voor ecologie, zoögeografie en natuurbehoud Ledeganckstraat 35, B-9000 Gent (Belgium)

Abstract. The author revises the genera Araeoncus, Delorrhipis and Diplocephalus in North Africa. Araeoncus martinae, A. toubkal, Diplocephalus algericus and D. sabulicolus are newly described, and A. humilis, A. hanno, Delorrhipis fronticornis, Diplocephalus graecus, as well as the European A. altissimus and A. discedens are redescribed. A. meridionalis Denis, 1954 is a junior synonym of A. humilis (Blackwall, 1841).

Key-words: Linyphiidae, Araeoncus, Delorrhipis, Diplocephalus, taxonomy, North Africa.

INTRODUCTION

In a seventh contribution to the taxonomy and systematics of the Linyphildae, Erigoninae of Northern Africa, the species of the Savignya group, as proposed by MILLIDGE (1977) are revised. These species all have a typical epigyne covered by two plates with long median fissure. The genera of this group that occur in North Africa are *Araeoncus* Simon, *Delorrhipis* Simon and *Diplocephalus* Bertkau.

Four Araeoncus, four Diplocephalus and one Delorrhipis species have been cited or described from Northern Africa:

- Araeoncus hanno Simon, 1884, described from Algeria and never recollected since; DENIS (1954) redescribed it;
- Araeoncus altissimus Simon, 1884, described from the French Pyrénées and cited from Morocco by FAGE (1938), DENIS (1968) and JOCQUÉ (1977);
- Araeoncus humilis (Blackwall, 1841), a common European species, cited from Algeria and Morocco by DENIS (1937, 1968);
- Araeoncus meridionalis Denis, 1954, described from a single female from Algeria;
- Diplocephalus graecus (O.P.- Cambridge, 1872), a common Mediterranean species, cited from Algeria by SIMON (1884, 1885), from Morocco by DENIS (1955, 1964a, 1968) and from Tunisia by SIMON (1885), DENIS (1964a) and THALER (1977);

- Diplocephalus cristatus (Blackwall), mentioned from «Afrique du Nord» by SIMON (1884, 1926);
- Diplocephalus dimidiatus Denis, 1945, cited from Morocco (DENIS 1945) and Tunisia (DENIS 1964a), later synonymised with D. graecus by DENIS (1964b);
- Diplocephalus curvicervix Denis, 1964a, described from Tunisia but transferred to Typhochrestus by BOSMANS & ABROUS (1990);

- Delorrhipis fronticornis Simon, 1884, cited from Tunisia and Algeria by SIMON (1884).

To be complete, we have to mention a *Diplocephalus* sp. A and a *Diplocephalus* sp. B, described from Tunisia by THALER (1977).

The species treated in this paper form a very homogeneous group, regarding cephalic lobes, chaetotaxy (tibial spines 2211, Tm 0.35-0.55, no Tm IV), and epigynes (typically divided into two ventral plates with median fissure).

MILLIDGE (1977) placed *Delorrhipis*, *Diplocephalus* and *Araeoncus* in the *Savignya* group. In this group, genera have been based almost entirely on the form of the male head, but regarding palpal conformation, it is difficult or impossible to perceive any natural discontinuities corresponding with current generic boundaries. It would be logical to recognize the close relationship of all these species as shown by the palpal conformation and the chaetotaxy by the combining of all these genera. *Savignya* would then have priority.

WUNDERLICH (1980, 1995) shares this opinion, but ESKOV (1988), disagrees in considering *Savignya* and *Delorrhipis* as two sister groups and two distinct genera.

A full revision of the *savignya* group obviously is needed, which is above the scope of the present paper. Until then, I prefer to retain the old generic boundaries and leave the species where they are. It has to be reminded that there are several «forgotten» generic names, currently considered synonyms of *Diplocephalus*, and these are available to classify species: *Prosoponcus* Simon, 1884, *Plaesiocraerus* Simon, 1884 and *Streptosphaenus* Simon, 1926.

DESCRIPTION OF SPECIES

Abbreviations used in the text:

Fe, Pa, Ti, Mt, Ta: femur, patella, tibia, metatarsus, tarsus.

AE, PE, AM, AL, PM, PL: anterior, posterior, anterior median, anterior lateral, posterior median, posterior lateral eyes.

SpTiI, SpTiIV: relative length of the spines on tibiae I, IV, as compared to their diameter.

Tm: Position of the metatarsal trichobothrium.

BMNH: British Museum of natural History.

IRSNB: Institut royal des Sciences naturelles de Belgique.

MNHNP: Muséum national d'Histoire naturelle de Paris.

All measurements are in mm.

Araeoncus humilis (Blackwall, 1841)

Walckenaera humilis Blackwall 1841: 636. Araeoncus humilis; Simon 1884: 636; Denis 1937: 1042; Denis 1968: 156. Araeoncus meridionalis Denis 1954: 313 (descr. ?) New Synonymy.

Type material

Holotype female of *Araeoncus meridionalis* from Algeria, Touggourt; examined (MNHNP).

Other material examined and citations

Diagnosis

Males are easily recognized by the shape of the tibiae I-II. In the female, the two plates of the epigyne are somewhat more bulging and more rounded at their posterior margin, the median fissure is relatively shorter; the shape of the semicircular spermathecae, close and parallel to the border of the epigyneal plates, allows differentiation of females more easily.

Remark

The specimens collected in oases more to the south (at Noukhaila and Laghouat for instance) are smaller and paler than the specimens collected in the north. Genital organs are however completely identical, and we consider them the same species. A female described as *A. meridionalis* by DENIS (1954) from the oasis of Touggourt in Algeria is such a specimen. We consider it a synonym of *A. humilis*.

Description

Male

Measurements: total length 1.5-1.9; prosoma 0.72-0.84 long, 0.58-0.64 wide. Colour: Prosoma brown to deep brown, spot before fovea, margin and striae darkened, with a paler interocular area; legs yellowish orange, segments often darkened at apices; abdomen dark



Figs 1-9. – Araeoncus humilis (Blackwall). — 1. Male prosoma, dorsal view – 2. Idem, lateral view – 3. Male tibia I, lateral view – 4. Male palp, lateral view – 5. Male palpal tibia, dorsal view – 6. Embolic division, antero-lateral view – 7. Epigyne, ventral view – 8. Idem, postero-ventral view – 9. Vulva, ventral view. (scale line: 0.2 mm).

grey. Prosoma (Figs1-2): cephalic part slightly protruding, wide in dorsal view, in lateral view with distinct concavity. AM separated by 0.75 their diameter, from the AL by 2.5 times their diameter; PM separated by 2.5 times their diameter, from the PL by 1.5 times their diameter. Chelicerae: with eight indistinct stridulating ridges. Legs: tibiae curved at their base, furnished with many short hooked bristles. Spine formula of tibiae 1111, on Tibia I-II (Fig. 3) very short dorsal spines, on TiIII-IV normal. LSpTiI=0.9, LSpTiIV=1.2. TmI=0.40-0.46. Palp (Figs 4-6): tibia large, with two apophyses, a large, blunt retrolateral one, and a much smaller prolateral one, and with some large retrolateral tubercles. Protegulum protruding. Suprategular apophysis long, slightly curved, terminal-ly pointed. Embolus describing an entire circle, angular, distal third with large membrane.

Female

Measurements: total length 1.9-2.1; prosoma 0.60-0.76 long, 0.48-0.56 wide. Colour and general appearance as in the male. Prosoma: unmodified. AM separated by their diameter, from the AL by 4/3 their diameter; PE separated by their diameter. Legs: spine formula 2211. LSpTiI=1.1, LSpTiIV=1.4. Epigyne (Figs 7-8): with relatively short median fissure, dorsal plate posteriorly protruding between the fissure as a small triangle; in dorsal view, the dorsal plate is trapezoid. Vulva (Fig. 9): spermathecae strongly elongated, describing a semicircle, following closely the border of the epigyneal plates.

Distribution

Europe and Northern Africa, mentioned here for the first time from Tunisia. It is the only *Araeoncus* which penetrates more to the inland.

Araeoncus hanno Simon, 1884

Araeoncus hanno Simon 1884: 638 (descr. ♂); Denis 1954: 312 (descr. ♀).

Type material

Lectotype male, paralectotype female, by present designation, from Algeria, Blida, ravin de l'Oued Kebir (MNHNP 5893); paralectotype female from Algeria, Alger (MNHNP 1058).

SIMON (1884) based his description on material from two localities in Algeria. The only male present is here selected as lectotype.

Other material examined and citations

ALGERIA: Alger: El Harrach ('Maison Carré'), 3 **d d** 1 **2** (MNHNP 13156). Blida: Djebel Mouzaia, 1450m, 1 **2** in grassland, 8.IV.1986. Tiaret: E. Frenda, 1075m, 1 **2** in grass tussocks in wet grassland, 26.IV.1984. Tizi Ouzou: Massif du Djurdjura, Tala Guilef, 1450m, 6 **d d** 6 **2 4** by sieving litter in *Cedrus atlanticus* forest, 29.IV.1984. Idem, 1400m, 1 **d** in pitfall in grassland in *Cedrus* forest along a rivulet, 22.III.1989.



Figs 10-17. – Araeoncus hanno Simon. — 10. Male prosoma, dorsal view – 11. Idem, lateral view – 12. Male palp, lateral view – 13. Male palpal tibia, dorsal view – 14. Embolic division, antero-lateral view – 15. Epigyne, ventral view – 16. Idem, postero-ventral view – 17. Vulva, ventral view. (scale line: 0.2 mm).

Diagnosis

Closely related to *A. humilis*, males differing by the unmodified tibiae I, and by the absence of the large membrane on the distal part of the embolus, females by the longer median fissure of the epigyne and the U-shaped spermathecae.

Description

Male

Measurements: total length 1.4-1.5; prosoma 0.72-0.77 long, 0.54-0.57 wide. Size of the eyes variable, PM separated by 1.75-2.25 times their diameter; AM not visible in dorsal view. Colour: prosoma reddish brown, eye region yellowish brown, fovea, striae and margin greyish; legs orange brown, base of tibiae whitish; abdomen grey. Prosoma (Figs 10-11): AM separated by 0.75 their diameter, from the AL by 3 times their diameter; PM separated by 1.7 their diameter, from the PL by their diameter. Chelicerae: with 12 indistinct stridulating ridges. Legs: spine formula of tibiae 2211; LSpTiI= 0.6; LSpTiIV=0.8. MtI=0.46. Palp (Figs 12-14): tibia with three apophyses, a small, blunt retrolateral one, a large, blunt median one with parallel margins, and a small, sharper prolateral one. Suprategular apophysis well developed, triangular, with basal tooth. Embolus describing an oval, distal third with small membrane.

Female

Measurements: total length 1.7-1.9; prosoma 0.64-0.72 long, 0.54-0.59 wide. Colour and general appearance as in the male. Prosoma unmodified. PE separated by their diameter. Legs: LSpTiI=0.8; LSpTiIV=1.6. Epigyne (Figs 15-16): median fissure relatively long, posteriorly showing small part of the dorsal plate. Dorsal plate nearly triangular, much wider than long. Vulva (Fig. 17): spermathecae U-shaped, mesal branch not parallel to the median fissure

Distribution

The extreme north of the central part of Algeria, from Tiaret in the west to Tizi Ouzou in the east.

Araeoncus martinae sp. n.

Type material

Holotype male, from Algeria, wilaya de Boumerdes, in coastal marsh along Oued Reghaia, 3.V.1988; 2 female paratypes, same locality, 25.IV-13.VI.1988; deposited in IRSNB.

Other material examined

ALGERIA: Saida: Cascades de Tifrit, 825m, 30[™]0[™]12 ♀ ♀, herbs near a waterfall, 4.IV.1984. MOROCCO: Chechaouen: 10 km E. Chechaouaen, 500m, 1♀ in litter of *Q. suber* forest, 11.IV.1984.



Figs 18-26. – Araeoncus martinae sp. n. — 18. Male prosoma, dorsal view – 19. Idem, lateral view – 20. Male tibia I, lateral view – 21. Male palp, lateral view – 22. Male palpal tibia, dorsal view – 23. Embolic division, antero-lateral view – 24. Epigyne, ventral view – 25. Idem, postero-ventral view – 26. Vulva, ventral view. (scale line: 0.2 mm).

Diagnosis

Closely related to *A. hanno*. Males are easily distinguished by the shape of the cephalothorax, and by the basally constricted median apophysis of the palpal tibia. Females and their epigynes are very similar, but differ by the more trapezoid dorsal plate.

Etymology

The species is dedicated to my friend Martine De Mulder.

Description

Male

Measurements: total length 1.7 (1.6-1.8); prosoma 0.83 (0.83-0.96) long, 0.53 (0.56-0.62) wide; legs:

	Fe	Pa	Ti	Mt	Ta	
I	0.62	0.17	0.52	0.44	0.31	
IV	0.61	0.16	0.52	0.44	0.32	

Colour: prosoma reddish brown, spot before fovea, striae and margin grey-brown; chelicerae yellow-brown; sternum brown, darker towards margin; legs orange brown, tibiae whitish basally; abdomen dark grey. Prosoma (Figs 18-19): cephalic part raised, strongly protruding over the chelicerae. Eye region with many short hairs; AM separated by their diameter, from the AL by 3 times their diameter; PM separated by 1.5 their diameter, from the PL by their diameter. Chelicerae: with about ten poorly developed stridulating ridges. Legs: Ti I furnished with numerous, hooked bristles (Fig. 20), Ti II with few hooked bristles, Ti III-IV normal. Spine formula 2211. TmI=0.4. LSpTiI=0.3, LSpTiIV=1.3. Palp (Figs 21-23): very similar to the one of *A. hanno*, differing by the median apophysis of the tibia with constricted base, and the relatively longer median part of the embolus.

Female

Measurements: total length 1.3-1.7; prosoma 0.64-0.70 long, 0.50-0.62 wide. Colour and general appearance as in the male. Prosoma: unmodified. AE separated by the diameter of the AM; PM separated by their diameter, from the PL by 0.75 times their diameter. Legs: LSpTiI=1, LSpTiIV=1.6. Epigyne (Figs 24-25): very similar to that of *A. hanno*, but with the median fissure somewhat shorter, and a larger part of the dorsal plate visible. In postero-ventral view, dorsal plate more trapezoid. Vulva (Fig. 26): spermathecae with supplementary lateral coil.

Distribution

The north of Morocco and Algeria, but incompletely known.

Araeoncus toubkal sp. n.

?Araeoncus altissimus; Fage 1938: 120; Denis 1968: 156; Jocqué 1977: 33.

Type material

Holotype male, 2 male 2 female paratypes from Morocco, High Atlas, Toubkal Massif, 3300m, under stones, 11.V.1977, P. Hillyard leg.; deposited in BMNH.

Citations

MOROCCO: High Atlas, Toubkal Massif: Amrharbas valley, Isougan n' Ouagouns (FAGE, 1938, sub *A. altissimus*); refuge Neltner, 3200m (JOCQUÉ, 1977, sub *A. altissimus*).

Etymology

The name is a noun in apposition, derived from the type locality.

Diagnosis

Males are easily recognised by the flat, strongly elongated cephalic part of the cephalothorax and the slender, terminally angular retrolateral apophysis of the palpal tibia, as seen in lateral view; females by the protruding postero-median part of the epigyne. Regarding the male palp, the species is closer to *A. anguineus* than to *A. altissimus*, but these species differ clearly by the shape of the prosoma.

Remarks

The Araeoncus species cited so far from the Toubkal Massif was considered to be A. altissimus (FAGE, 1938; DENIS, 1968; JOCQUÉ, 1977). To our knowledge, these identifications are only based on females, and none of these specimens could be examined. The material collected by Hillyard from the Toubkal Massif includes males and females, and these are definitively different from the type series of A. altissimus from France (redescribed further in this paper). Until proven to the contrary, we consider all citations of A. altissimus from Morocco as refering to A. toubkal sp. n.

Description

Male

Colour: prosoma reddish brown, spot before fovea, striae and margin greyish brown; chelicerae greyish brown; sternum brown, densely tinged with grey; legs pale yellowish brown, with darkened apices. Measurements: total length 2.5 (2.3-2.6); prosoma 1.28 (1.24-1.36) long, 0.74 (0.74-0.84) wide; legs:



Figs 27-34. – Araeoncus toubkal sp. n.. – 27. Male prosoma, dorsal view – 28. Idem, lateral view – 29. Male palp, lateral view – 30. Male palpal tibia, dorsal view – 31. Embolic division, antero-lateral view – 32. Epigyne, ventral view – 33. Idem, postero-ventral view – 34. Vulva, ventral view. (scale line: 0.5 mm [27-28]; 0.1 mm [29-34]).

	_Fe	Pa	Ti	Mt	Ta
I	0.79	0.24	0.69	0.66	0.43
īV	0.94	0.25	0.82	0.81	0.43

Prosoma (Figs 27-28): cephalic part prolonged anteriorly into a long, pubescent snout, in front bearing the AM; AM separated by their diameter, from the AL by twice their diameter; PM separated by 2 times their diameter, from the PL by 1.5 times their diameter. Chelicerae: with 10 indistinct stridulating ridges. Legs: spine formula 2211. Spines on Ti I-II very short, on Ti III-IV longer: LSpTiI=0.2, LSpTiIV=0.9; TmI 0.51. Palp (Figs 29-31): femora and patellae prolonged. Tibia prolonged over the cymbium into a large antero-dorsal apophysis, terminally split into a rounded lobe with a strong tooth at its mesal side. Paracymbium with long basal part. Tailpiece transverse, with widened base. Suprategular apophysis long and linear, terminally bluntly pointed. Terminal apophysis ridged, enclosing the tip of the embolus. Embolus long and linear, describing an oval.

Female

Measurements: total length 2.3-2.4; prosoma 1.00-1.12 long, 0.74-0.80 wide. AE separated by the diameter of the AM, PE separated by the diameter of the PM. Legs: spine formula 2211. LSpTiI=1.2, LSpTiIV=1.5. Epigyne (Figs 32-33): plates with postero-median prolongation, separated by a long fissure, anteriorly limited by a curved ridge. Dorsal plate invisible in ventral view, in dorsal view trapezoid. Vulva (Fig. 34): spermathecae oval, close to the median fissure.

Distribution

Morocco, Massif du Toubkal.

Delorrhipis fronticornis Simon, 1884

Delorrhipis fronticornis Simon 1884: 697 (descr. male, female); Simon 1885: 28. ? Erigone digiticeps; Pavesi 1884: 46 (misidentification).

Material examined and citations

ALGERIA: Annaba: Annaba (Bône) (SIMON, 1884). Blida: Parc National de Chrea, Djebel Mouzaia, 1200m, 2 $\stackrel{\circ}{2}$ among stones around lake Mouzaia, 26.VI.1985. Boumerdes: Reghaia, 5m, 2 $\stackrel{\circ}{\sigma}$ $\stackrel{\circ}{\sigma}$ 2 $\stackrel{\circ}{2}$ in pitfalls in coastal march, 3.V-13.VI.1988. Wil. Guelma: Aïn Regada E., 600m, 1 $\stackrel{\circ}{\sigma}$ 1 $\stackrel{\circ}{2}$ between herbs along the Oued Zinati, 22.XI.1989. Skikda: Collo-Tamanart, 15m, 9 $\stackrel{\circ}{\sigma}$ $\stackrel{\circ}{\sigma}$ 4 $\stackrel{\circ}{2}$ $\stackrel{\circ}{2}$ in pitfalls in *Alnus* forest, 6.VI.1987. Tissemsilt: Theniet-el-Had, 1500m, 7 $\stackrel{\circ}{2}$ $\stackrel{\circ}{2}$ in wet grassland around a pool, 5.V.1989. TUNISIA: Jendouba: Aïn Draham (SIMON, 1884). Tunis: around Tunis (PAVESI, 1884, sub *Erigone digiticeps*).



Figs 35-42. – *Delorrhipis fronticornis* Simon. — 35. Male prosoma, dorsal view – 36. Idem, lateral view – 37. Male palp, lateral view – 38. Male palpal tibia, dorsal view – 39. Embolic division, ventral view – 40. Epigyne, ventral view – 41. Idem, postero-ventral view – 42. Vulva, ventral view. (scale line: 0.2 mm).

Remarks

We consider PAVESI'S (1884) citation of *Dactylopisthes digiticeps* as *Delorrhipis fronticornis*. His identification was based on the 'remarkable' prosoma of the species, which occurs in *S. fronticornis* as well. *D. digiticeps* is only known from the south of France.

Description

Male

Measurements: total length 2.3-2.8; prosoma 1.38-1.64 long, 0.66-0.84 wide. Colour: prosoma with reddish-brown cephalic part, and orange-red thoracic part; chelicerae reddish-brown; sternum dark grey-brown, tinged with orange-red; legs orange-red, basal part of tibiae narrowly whitish; abdomen dark grey. Prosoma (Figs 35-36): cephalic part strongly elongated into a pubescent snout, bearing the AM. PM separated by 2/3 their diameter, from the PL by 1.5 their diameter. Legs: spine formula 2211; SpTiI=0.6, SpTiIV=1.25; TmI=0.31. Palp (Figs 37-39): femur strongly elongated. Tibia elongated, with small anteromedian incision, dividing the tip in a sharp tooth and a rounded lobe. Protegulum covered by a large membrane. Suprategular apophysis encircling the radix; linear, terminally membranous and pointed. Embolus relatively small, circular, terminally rounded.

Female

Measurements: total length 2.2-2.8; prosoma 0.90-1.04 long, 0.66-0.86 wide. Prosoma: unmodified; in lateral view with median concavity. AM separated by 2/3 their diameter, from the AL by twice their diameter; PM separated by their diameter, from the PL by 1.5 times their diameter. Legs: SpTiI=1.2; SpTiIV=2. Epigyne (Figs 40-41): plates gently rounded posteriorly, separated by a long fissure, a duct parallel to the fissure and the spermathecae mostly visible in transparency. Dorsal plate posteriorly just visible, in postero-median view trapezoid, much wider than long. Vulva (Fig. 42): spermathecae relatively small, rounded.

Distribution

France, Spain, Crete, Algeria, Tunisia. A widespread species, but rarely collected, and mostly in small numbers, in contrast to other species living in similar conditions, i.e. wetlands. It could be an important indicator species for particular types of rare wetlands.

Diplocephalus graecus (O.P.-Cambridge, 1872)

Erigone graeca O.P.-Cambridge 1872: 755; Simon 1885: 28. Entelecara nuncia; Simon 1884: 625. Diplocephalus graecus; Denis 1955: 204; Denis 1968: 156; Thaler 1977: 558. Plaesiocraerus dimidiatus Denis 1945: 206. Diplocephalus dimidiatus; Denis 1964a: 384.

Material examined and citations

ALGERIA: Alger: Bab Ezzouar, 25m, 1º in pitfall in rough grasssland, 8.XII.1986. Bainem, 200m, 1 among stone in grassland, 1.I.1988. Bordj-el-Bari, 15m, 1 of in garden, 25.IV.82. El Harrach, 25m, 1 ² in pitfall in garden, 29.I.1985. Eucalyptus, 25m, 2 ² ² ¹ in pitfall in garden, 28.IV.1988, and 1 0715.I.1990. Aïn Temouchent: Aïn Tolba, 250m, 2 9 among stones in dry grassland, 19.I.1988. Annaba: Djebel Edough, Seraidi, 810m, 299 in litter in *Ouercus faginea* forest, 24.XI.1989. Bejaia: Tichi, 5m, 1² among stones in dunes, 18.IV.1982; idem, 1 male by beating Acacia trees, 21.VI.1988. Blida: Atlas Blidéen, Meurdja, 950m, 9 2 9 by beating Cedrus branches, 20.IV.1988; Chrea, 1500m, 1º in Cedrus forest, 24.XI.1984. Hammam Melouane, 125m, 1º along Oued Bou Maan, 7.IV.1987. Meftah, Djebel Zerouela, 400m, 1 **d** 1 **2** in rough grassland, 7.IV.1987. Djebel Mouzaia, 1250m, 2 2 among stones around lake Mouzaia, 14.IV.1988. Ravin de l'Oued Kebir (SIMON, 1884). Bordj Bou Arreridj: Sidi Embarek, 900m, 1 ² in rough grassland, 27.II.1990. Bouira: Massif du Djurdjura, Aït Ouabane, 1410m, 1 or among stones in mountain grassland, 11.VI.1988; idem, Tikjda, 1400m, 4 9 in mountain grassland, 11.VI.1984. Boumerdes: Reghaia, 5m, 1² in coastal marsh, 11.IV.1982; idem, 15 m, 1² by beating *Populus alba* trees, 3.V.1988. Sidi Daoud, 35m, 499 among stones along Oued Sebaou, 4.XII.1987. Zemmouri, 10m, 19 in Pinus halepensis litter, 27.IV.1984. Chleff: E. Damous, 10m, 2 d 5 9 by beating Pistacea lentisca, 17.IV.1987. Constantine: Aïn Sissaoui, 550m, 3 99 among stones along Oued Boumerzouk, 22.XI.1989. Constantine (SIMON, 1884). Djelfa: Djelfa, Djebel Senalba, 1450m, 1 9 in pitfalls in Pinus halepensis forest, 28.II.1989. El Tarf: Cap Rosa, 50m, 399 in pitfalls in Quercus coccifera bushes, 9.III.1988. El Kala, Lake Oubeira, 10m, 1 ² in litter bordering the lake, 1.III.1990. El Kala, near Lake Tonga, 10m, 10⁷ in *Pinus halepensis* forest, 23.XI.1989. Lake Tonga, 20m, 7 9 among stones in *Quercus suber* maquis, 23.XI.1989. Guelma: E. Aïn Regada, 600m, 1⁹ in herbs along Oued Zenata, 22.XI.1989. E. Bouchegouf, 600m, 1 9 in herbs along Oued Seybouse, 22.XI.1989. Medea: Col de Beni Chicao, 1230m, 1º in Quercus ilex litter, 21.XII.1987. Oran: La Macta, 1º, among stones in open grassland, 8.I.1985. N. Misserghin, 200m, 1 ² in flooded orchard, 25.IV.1984. S. Oran, Sebkha Daiet el Bagrat, 100m, 1d between Salicornia, 15.IV.1984. E. Oran, forêt de Msila, 400m, 39 Pby beating Quercus suber trees, 15.IV.1984. Setif: Setif (SIMON, 1884). Skikda: Bouchata, 400m, 49 among stones in grassland, 2.III.1990. Souk Ahras: Bou Hadjar, Barrage de la Cheffia, 250m, 1 of 2 9 among stones in grassland, 22.XI.1989. Tipasa: Zeralda, 10m, 1 of 1 9 in Quercus coccifera litter, 24.II.1989. Tissemsilt: Theniet-el-Had, 1400m, 107 by beating Cedrus trees, 17.XI.1987; idem, 1550m, 1 ^Q in mountain grassland, 3.V.1984. Tizi Ouzou: Boghni, 180m, 10^T along oued Boghni, 25.V.1989. Between Chabet-el-Ameur and Tizi Ghenif, 125m, 107 19 among Oxalis along the Oued Djemaa, 1.V.1984. Massif du Djurdjura, Tala Guilef, 1400m, 299 among stones in mountain grassland, 23.V.1984. Timizar Laghbar, 210m, 2 99 among stones bordering Quercus faginea forest, 25.II.1990. Tizi Boussouil, 1700m, 19 in pitfalls in Juniperus maquis, 6.V.1990. 5 km E. Tizi Ouzou, 80m, 1 9, herbs in wet grassland, 25.I.1990. Tlemcen: SE Tlemcen, Col d'Hafir, 1350m, 1 \$ by beating Quercus suber branches, 6.V.1984. 5 km E. Tlemcen, 850m, 1 \$ among stones along a dry rivulet, 23.IV.1984. MOROCCO: Ifrane: 5 km N. Ifrane, 1550m, 1 or among stones in Quercus suber forest, 14.V.1984. Kenifra: Forêt de Mamora: 19, 24.V.1934, A. Ball leg. (IRSNB). Marrakech: Oued Tensift, 19, 15.VI.1934, A. Ball leg. (IRSNB). Oued Nefifik (DENIS, 1955); Estuarie de l'Oued Regreg (DENIS 1968). Ben Nabet, Zénata, Aïn-es-Sebaa, Aïn Tiki, Berrechid, Mogador (DENIS, 1964a). TUNISIA: Beja: Oued Zergha, 300m, 1 or by beating cultivated Olea trees, 17.III.1986. Bizerte: Lac Ichgeul, 15 m, 1 9, stones in pasture, 25.I.1995. Kairouan: Cherichera (THALER, 1977); Hayeb-el-Ayoun, 1 9, stones in steppe, 26.I.1995. Nabeul: El Haouaria, 1 9, 19.IV.1993. Zaghouan: E. Saouaf, 1 9, 750m, stones in Juniperus maquis, 24.I.1995, J. Van Keer leg. Zriba village, 1 9 in grassland along Oued El Hammam, 24.I.1995. Kessera (SIMON, 1885).



Figs 43-50. – *Diplocephalus graecus* (O.P.-Cambrige). — 43. Male prosoma, dorsal view – 44. Idem, lateral view – 45. Male palp, lateral view – 46. Male palpal tibia, dorsal view – 47. Embolic division, ventral view – 48. Epigyne, ventral view – 49. Idem, postero-ventral view – 50. Vulva, ventral view. (scale line: 0.2 mm).

Diagnosis

Males of this species are easily distinguished by the shape of the male cephalic tubercle and of the palpal tibia, females by the epigyne with wide median fissure with median constriction.

Description

Male

Measurements: total length 1.5-1.9; prosoma 0.76-0.80 long, 0.56-0.58 wide. Colour: prosoma brown, spot before fovea, striae and margin dark brown; chelicerae and legs yellowish to orange-brown; sternum dark brown; abdomen dark grey. Prosoma (Figs 43-44): with small cephalic tubercle and short post-ocular sulci, provided with a pit smaller than the diameter of the AL. Eyes: AM separated by their diameter, from the AL by 1.5 times their diameter; PM separated by 1.25 times their diameter. legs: Spine formula 2211; SpTiI=0.75, SpTiIV=1; TmI=0.35-0.45. Palp (Figs 45-47): tibial apophysis prolonged over the cymbium, rounded. Suprategular apophysis poorly developed, only represented by a short, truncate knob. Embolic division with elongated tail-piece with large anterior apophysis with basal tooth and two terminal teeth (only one visible in ventral view). Embolus narrow, semicircular, terminally rounded, with strong basal hook.

Female

Measurements: total length 1.8-2.2; prosoma 0.71-0.82 long, 0.52-0.62 wide. Generally as the male, but without cephalic tubercle. AE as in the male, PE separated by 1.5 times their diameter. Epigyne (Figs 48-49): plates relatively widely separated by a broad fissure constricted in the middle. Dorsal plate trapezoid. Vulva (Fig. 50): spermathecae saucer-shaped, close to the postero-median border of the plates.

Distribution and ecology

S. Europe, Northern Africa. One of the commonest erigonids of the Mediterranean region, often occurring in man-made or man-influenced habitats.

Diplocephalus sabulicolus sp. n.

Diplocephalus sp. A Thaler 1977: 558 (descr. 9).

Type material

Holotype male, 1 male 3 female paratypes from Algeria, wilaya de M'sila, réserve intégral de Mergueb, 540m, pitfalls in steppe, 25.I.1988; deposited in I.R.S.N.B.

Other material examined

ALGERIA: Djelfa: Djelfa, Djebel Djellal, 1400m, 1**0**^a in pitfalls in open *Pinus halepensis* forest, 23.III.1990, 1**0**^a 9.I.1991 and 1**4** 9.IV.1991. M'sila: Aïn el Hadjel, Réserve intégral de Mergueb, 540m, 1**0**^a 3**9** ² in pitfalls in steppe, 25.I.1988 (type series); idem, 1**0**^a 1**9**, 14.V.1990. Saida: Between Saida en Merdja, 850m, 1**0**^a 1**9** in pitfalls in sandy soil along a rivulet, 18.I.1990. Tipasa: Zeralda, 10m, 3**0**^a **0**^a in pitfalls in *Quercus coccifera* maquis in dunes, 23.II.1988. TUNISIA: Kairouan: Kairouan (THALER, 1977, sub *Diplocephalus* sp. A).

Diagnosis

Besides its pale colour, this species is recognised by the peculiar shape of the male cephalothorax and palpal tibia, and by the widely separated, U-shaped spermathecae in the female.

Etymology

The species was exclusively collected on sandy soil, therefore the name *sabulicolus*, living in sand.

Remarks

It is beyond doubt that THALER's figures 17-19 (1977) of an unknown *Diplocephalus* species correspond with our new species.

Description

Male

Measurements: total length 1.5-1.8; prosoma 0.67-0.86 long, 0.48-0.62 wide. Legs:

	Fe	Pa	Ti	_Mt	Ta
I	0.72	0.21	0.58	0.52	0.38
IV	0.74	0.16	0.62	0.58	0.38

Colour: prosoma pale yellowish brown, large spot before fovea and margin grey; sternum yellow-brown; chelicerae and legs yellowish orange; abdomen grey. Prosoma (Figs 51-52): protruding and covered with short hairs in the eye region; with postocular sulci with small anterior pit, its diameter narrower than the diameter of the PL. Eyes small, AM separated by slightly less than their diameter, from the AL by 4-5 times their diameter; PE separated by twice their diameter. Legs: spine formula 2211; SpTiI=1, SpTiIV=1.2; TmI=0.31-0.35. Palp (Figs 53-55): tibial apophysis relatively wide, anteriorly rounded and with small prolateral denticle. Tegulum with ventral boss. Suprategular apophysis gently curved, pointed. Radix with basal apophysis, curved in opposite direction to the suprategular apophysis. Terminal apophysis as a short, black tooth. Embolus small, describing a small circle, terminally rounded.



Figs 51-58. – *Diplocephalus sabulicolus* sp. n. – 51. Male prosoma, dorsal view – 52. Idem, frontal view – 53. Male palp, lateral view – 54. Male palpal tibia, dorsal view – 55. Embolic division, antero-lateral view – 56. Epigyne, ventral view – 57. Idem, postero-ventral view – 58. Vulva, ventral view. [scale line: 0.5 mm (43-44); 0.2 mm (45-50)].

Female

Measurements: total length 1.5-2.2; prosoma 0.56-0.80 long, 0.52-0.61 wide. Colour and general appearance as in the male. Legs: SpTiI=1.1, SpTiIV=1.8. Prosoma: unmodified. AM separated by their radius, from the AL by 1.5 times their diameter; PM separated by their diameter, from the PL by 1.5 times their diameter. Epigyne (Figs 56-57): plates closely set, fissure with parallel margins and small anterior transverse ridge. In most specimens, spermathecae visible through cuticle as two dark, medio-lateral spots. Dorsal plate rectangular. Vulva (Fig. 58): spermathecae U-shaped, widely separated.

Distribution

Algeria and Tunisia, occurring on sandy soil, as well in coastal dunes as more to the interior at the border of the Saharian desert.

Diplocephalus algericus sp. n.

Type material

Holotype male from Algeria, wilaya de Tizi Ouzou, Taguemount Azouz, 800m, pitfalls in *Q. ilex* forest, 16.IV.1989; deposited in I.R.S.N.B.

Other material examined

ALGERIA: Tizi Ouzou: Forêt de Mizrana, 300m, 7 9, stones in maquis bordering *Quercus ilex* forest, 26.I.1990. Taguemount Azouz, 800m, 1**°** in pitfalls in *Q. ilex* forest, 16.IV.1989 (type specimen). Tlemcen: between Tal Terny and Beni Hadjel, 1175m, 3 9, in *Juncus* tufts along an 'oued', 6.V.1984.

Diagnosis

Males are easily distinguished by the shape of the prosoma and the palpal tibia. Females have the spermathecae situated in the mesal corners of the epigyneal plates.

Etymology

The species was discovered in Algeria, hence the obvious name algericus.

Remarks

Males and females were collected at distances of 50 km but in comparable habitats. They are tentatively described here as belonging to the same species.



Figs 59-67. – *Diplocephalus algericus* sp. n. — 59. Male prosoma, dorsal view – 60. Idem, frontal view – 61. Idem, lateral view – 62. Male palp, lateral view – 63. Male palpal tibia, dorsal view – 64. Embolic division, antero-lateral view (right palp) – 65. Epigyne, ventral view – 66. Idem, postero-ventral view – 67. Vulva, ventral view. (scale line: 0.5 mm [59-61]; 0.2 mm [62-67]).

Description

Male

Measurements: total length 1.6; prosoma 0.61 long, 0.55 wide. Legs:

	Fe	Pa	Ti	Mt	Ta
I	0.42	0.16	0.37	0.30	0.29
IV	0.52	0.14	0.43	0.36	0.34

Colour: prosoma brown, eye region and region behind cephalic tubercle greyish. Legs yellowish brown, Ti with basal part distinctly whitish; abdomen dark grey. Prosoma (Figs 59-61): head elevated into a large, rounded tubercle with some frontal hairs; PM on top of the tubercle, separated by 4 times their diameter; elongated sulci, without a pit. Legs: spine formula 2211; SpTiI=1, TiIV lacking a spine; TmI=0.41. Palp (Figs 62-64): tibial apophysis prolonged over the cymbium, terminally with prolateral blunt apophysis and retrolateral curved hook. Cymbium with basal tubercle. Basal branch of paracymbium with two hairs. Suprategular apophysis a pointed, gently curved hook. Embolic division with poorly developed tailpiece; terminal apophysis straight, pointed, strongly chitinised; embolus terminally pointed, with subterminal tooth, and basally with large, nearly circular apophysis.

Female

Measurements: total length 1.8-2.2; prosoma 0.72-0.84 long, 0.52-0.66 wide. Colour and general appearance as in the male. Legs: SpTiI=1, SpTiIV=2. Prosoma: unmodified. PM separated by their diameter, from the PL by 1.25 times their diameter. Epigyne (Figs 65-66): plates with parallel margin, with rectangular basal corners, anteriorly limited by an indistinct, transverse ridge. Dorsal plate trapezoid, invisible in ventral view. Vulva (Fig. 67): spermathecae oval, situated in the mesal corners of the plates, generally visible through cuticle.

Distribution

Incompletely known, in Algeria from Tlemcen in the west to Tizi Ouzou in the east.

Diplocephalus sp.

Material examined

MOROCCO: Al Hoceima: Ketama, 1030m, 1 $\stackrel{\circ}{\downarrow}$, stones in grassland, 20.IV.1984. Chechaouen: N. Chechaouen, 520m, 1 $\stackrel{\circ}{\downarrow}$ in herbs along a rivulet, 20.IV.1984.



Figs 68-73. – *Diplocephalus* sp. a. – 68. Epigyne, ventral view – 69. Idem, postero-ventral view – 70. Vulva, ventral view. – Figs 71-73. *Diplocephalus* sp. b. – 71. Epigyne, ventral view – 72. Idem, postero-ventral view – 73. Vulva, ventral view. (scale line: 0.2 mm).

Remarks

At the moment, this species cannot be identified. As it was collected in the extreme North-west of Morocco, it possibly is a species occurring in S.W. Europe as well. It could be an insufficiently described *Diplocephalus* female from this region.

Description

Female

Measurements: Total length 2.1-2.2; prosoma 0.78-0.81 long, 0.57-0.58 wide. Legs: SpTiI1=0.9, SpTiIV=1.75; TbMtI=0.43. Epigyne (Figs 68-69): plates mesally touching in their basal half, diverging and with raised margins in their distal half; anteriorly limited by a triangular depression and a distinct transverse ridge. Vulva (Fig. 70): spermathecae L-shaped, having an anterior position. Dorsal plate triangular, invisible in ventral view.

Diplocephalus cristatus Simon, 1884

Diplocephalus cristatus Simon 1884: 570; Simon 1926: 494.

No North African material could be examined, and until material has been verified, this species does not belong to the North African Fauna. Possibly, SIMON's citation (1884) concerns females of another *Diplocephalus* species described in this paper.

REMARKS ON SOME OTHER MEDITERRANEAN SPECIES

Araeoncus altissimus Simon, 1884

Araeoncus altissimus Simon 1884: 640 (descr. **d**).

Type material

Lectotype male, 3 or or 3 9 9 paralectotypes, by present designation, from France, Pyrénées Orientales, without further locality (MNHNP 173).

Remarks

The three female paratypes belong to two different species, of which one has a prolonged (Fig. 79), the other a straight posterior margin of the epigyne (Fig. 71). DENIS (1948a, 1968) figures the last one as the female of A. altissimus, but we presume this is not correct.

Distribution

The species was previously cited from the French Pyrénées, the French Provence, the Italian Dolomites, the Swiss Alps, the Moroccan Atlas and the Caucasus.



Figs 74-81. Araeoncus altissimus Simon. — 74. Male prosoma, dorsal view – 75. Idem, lateral view – 76. Male palp, lateral view – 77. Male palpal tibia, dorsal view – 78. Embolic division, antero-lateral view – 79. Epigyne, ventral view – 80. Idem, postero-ventral view – 81. Vulva, ventral view. (scale line: 0.5 mm [74-75]; 0.2 mm [76-81]).

CAMBRIDGE'S (1912) citations from the Swiss Alps were never confirmed and should be checked. Citations from Morocco probably all concern *Araeoncus toubkal* sp. n., as indicated above. The male cited by TANASEVITCH (1987) from the Caucasus has a very similar palpal structure, but the author indicates that the shape of the cephalothorax and the colour is quite different. DENIS' citations from the Provence (1949) and the Dolomites (1963) concern females; considering that *Araeoncus* females are very difficult to identify, and that Denis possibly did not recognize the exact female of *A. altissimus*, these citations have to be doubted. All this material should be revised. We think it is most likely that *Araeoncus altissimus* is another endemic species of the South-eastern Pyrénées. Only the citations from the Pyrénées of SIMON (1884, 1926) and DENIS (1933, 1959) would then be reliable.

Araeoncus discedens Simon, 1884

Araeoncus discedens Simon 1884: 639 (descr. o, 2).

Type material

Lectotype male, 4 **d d** 5 **9** paralectotypes, by present designation, from «Gallia méridionale», without further locality (MNHNP 4397).

Other material examined and citations

FRANCE: «Gallia méridionale», type series (MNHNP 4397). Cantal: le Lioran (SIMON, 1882). Haute Garonne: Doline de Terreblanque (DENIS, 1953b). Hautes Pyrénées: Vallée du Gave d'Arratilbe, 2020m (DENIS, 1953a). Pyrénées Orientales: Mont Canigou (SIMON, 1926); Col des Hares (SIMON, 1884); Etang de la Coumasse (DENIS, 1952); Montlouis (SIMON, 1884); Targassone (SIMON, 1926). Monts Dore: Lac de Bourdouze (DENIS, 1948b); Tourbière de Barguesse (DENIS, 1948b). ITALY: Carnia: Comelico, Passo Cavallino (CAPORIACCO, 1926). SPAIN: Cantabria: Picos de Europa, Fuente De, 1900m, 2 $\sigma \sigma$ 3 φ among stones around a lake, 10.VII.1985, R. Bosmans leg. Gerona: Nuria, Traje de las Milleres, 2200m, 1 σ in montane grassland, 9.VII.1991. Puerto de Tosas, 1800m, 1 φ in pitfall near spring in *Pinus* forest, 10.VII.1991, R. Bosmans leg.

Remarks

Recent figures of this species do not exist, and these are therefore presented here.

Diagnosis

Males of this species differ from all other *Araeoncus* species by the presence of a tooth on the paracymbium.





Distribution

Pyrénées, south of France, Italy; new to Spain. CAPORIACCO's (1926) citation from Italy however needs confirmation.

ACKNOWLEDGEMENTS

C. Rollard, J. Heurtault (MNHNP) and P. Hillyard (BMNH) are thanked for the loan or communication of material.

REFERENCES

- BOSMANS, R. & O. ABROUS (1990) The genus *Typhochrestus* Simon 1894 in North Africa (Araneae: Linyphiidae: Erigoninae). Studies on North African Linyphiidae V. *Bull. Inst. r. Sci. nat. belg.*, 60: 19-37.
- CAPORIACCO, L. di. (1926) Secondo saggio sulla fauna aracnologica della Carnia e regioni limitrofe. Mem. Soc. Ent. ital., 5: 70-129.
- CAMBRIDGE, O.P. (1912) A contribution to the knowledge of the spiders of Switzerland. *Proc. zool.* Soc. London, **1912**: 303-405.
- DENIS, J. (1933) Chasses arachnologiques dans les Pyrénées orientales. Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse, 65: 329-331.
- DENIS, J. (1937) On a collection of spiders from Algeria. Proc. zool. Soc. London, 1937: 1027-1060.
- DENIS, J. (1945) Notes sur les erigonides. X. Remarques sur le genre Entelecara avec la description de formes nouvelles du genre Plaesiocraerus. Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse, 80: 203-215.
- DENIS, J. (1948a) Notes sur les erigonides. VII. Remarques sur le genre Araeoncus SIMON. Bull. Soc. ent. Fr., 53: 17-32.
- DENIS, J. (1948b) Araignées de France. II. Araignées des Monts Dore. Revue fr. Ent., 15: 236-249.
- DENIS, J. (1949) Sur quelques Araignées de Provence. Bull. Soc. zool. Fr., 74: 16-18.
- DENIS, J. (1952) Araignées du Massif du Carlit (Pyrénées Orientales). Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 87: 51-73.
- DENIS, J. (1953a) Araignées des environs de Marcadau et Vignemale (Hautes Pyrénées). Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 88: 83-112.
- DENIS, J. 1953b. Quelques captures d'Araignées pyrénéennes. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 88: 259-266.
- DENIS, J. (1954) Araignées receuillies par P. Remy du Sud Algérien au Hoggar. Bull. Soc. zool. Fr., 78: 311-324.
- DENIS, J. (1955) Araignées receuillies à Ifrane par M.L. Chopard. Bull. Mus. natn. Hist. nat. Paris, 27: 207-211.
- DENIS, J. (1959) Araignées des environs de Lescun (Basses Pyrénées). Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 94: 346-356.
- DENIS, J. (1963) Araignées des Dolomites. Atti Ist. veneto Sci., 121: 253-271.
- DENIS, J. (1964a) On a collection of erigonid spiders from North Africa. Proc. zool. Soc. Lond., 143: 379-390.

DENIS, J. (1964b) - Notes synonymiques. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 99: 61-67.

- DENIS, J. (1968) Notes d'Aranéologie marocaines. X. Les Erigonides du Maroc. Bull. Sci. nat. Phys. Maroc, 47: 137-164.
- ESKOV, J. (1988) The spider genera Savignya Blackwall, Diplocephalus Bertkau and Archaraeoncus Tanasevitch (Aranei, Linyphiidae) in the fauna of Siberia and the Soviet far East. Folia ent. Hung., 49: 13-39.
- FAGE, L. (1938) Sur quelques araignées du Haut-Atlas Marocain. A propos d'une espèce nouvelle: Agelena atlantea sp. nov. Bull. Soc. Sci. nat. Maroc, 18: 120-122.
- JOCQUÉ, R. (1977) Sur une collection estivale d'araignées du Maroc. Bull. Annls Soc. r. ent. Belg., 113: 321-337.
- MILLIDGE, A.F. (1977) The conformation of the male palpal organs of Linyphild spiders, and its application to the taxonomic an phylogenetic analysis of the family (Araneae: Linyphildae). Bull. Br. arachnol. Soc., 4: 1-60.
- PAVESI, P. (1884) Materiali por la studio di fauna Tunisia. Ann. Mus. civ. Genova, 20: 446 -486.
- SIMON, E. (1882) Descriptions d'Arachnides nouveaux du genre Erigone. Bull. Soc. Zool. France, 6: 82-91.
- SIMON, E. (1884) Les Arachnides de France V. Roret, Paris: 181-885.
- SIMON, E. (1885) Arachnides. In: Exploration scientifique de la Tunisie. Paris: I-IV, 1-55.
- SIMON, E. (1926) Les Arachnides de France VI(2). Roret, Paris: 309-532.
- TANASEVITCH, A. (1987) The Linyphiid spiders of the Caucasus, U.S.S.R. (Arachnida: Araneae: Linyphiidae). Senckenberbergiana biol., 87: 297-383.
- THALER, K. (1977) Einige Linyphildae (s.l.) aus Tunisien. Revue suisse Zool., 84: 557 564.
- WUNDERLICH, J. (1980) Linyphiidae aus Süd-Europa und Nord-Africa. Ver. naturwiss. Ver. Hamburg, 23: 319-337.
- WUNDERLICH, J. (1995) Zur taxonomie europäischer Gättungen der Zwergspinne (Arachnida: Araneae: Linyphiidae: Erigoninae). Beitr. Araneol., 4: 643-649.



Belg. J. Zool. - Volume 126 (1996) - issue 2 - pages 153-167 - Brussels 1996

Received : 17 July 1996

LEPTACODON DORMAALENSIS (MAMMALIA, LIPOTYPHLA), UN NYCTITHÈRE PRIMITIF DE LA TRANSITION PALÉOCÈNE-ÉOCÈNE DE BELGIQUE

THIERRY SMITH

Laboratoire de Paléontologie des Vertébrés, Université Catholique de Louvain, 3 Place Louis Pasteur, B-1348 Louvain-la-Neuve (Belgique) -* Section des Vertébrés fossiles, Institut royal des Sciences naturelles de Belgique, 29 Rue Vautier, B-1000 Bruxelles (Belgique).

Résumé. Gypsonictops dormaalensis Quinet, 1964, décrit à l'origine à partir d'une unique P4/, est attribué au genre Leptacodon. L'espèce L. dormaalensis est redécrite sur la base de fragments mandibulaires et de dents jugales isolées provenant du Landénien supérieur de Dormaal (Belgique), près de la limite Paléocène-Eocène. La comparaison du Leptacodon belge avec les autres espèces du genre indique que celui-ci est proche de l'espèce-type L. tener Matthew & Granger, 1921 et semble posséder avec ce dernier, ainsi que L. rosei Gingerich, 1987, les caractères morphologiques les plus primitifs des nyctithères. La phylogénie du genre Leptacodon est également discutée et le genre Plagioctenodon Bown, 1979 est considéré comme synonyme du genre Leptacodon.

Mots-clés : Mammifères, Nyctitheriidae, Transition Paléocène-Eocène, Dormaal, Belgique.

Leptacodon dormaalensis (Mammalia, Lipotyphla), a primitive nyctitheriid from the Paleocene-Eocene transition of Belgium

Abstract. Gypsonictops dormaalensis Quinet, 1964, originally described from an single P4/, is attributed to the genus Leptacodon. The species L. dormaalensis is redescribed on the basis of mandible fragments and isolated cheek teeth from the Upper Landenian of Dormaal (Belgium). Its age is close to the Paleocene-Eocene boundary. The comparison of the Belgian Leptacodon with the other species of the genus shows that it is closely related to the type-species L. tener Matthew & Granger, 1921 and appears with the latter and L. rosei Gingerich, 1987 to possess the most primitive morphologic characters of the nyctitheriids. The phylogeny of the genus Leptacodon is also discussed and the genus Plagioctenodon Bown, 1979 is considered synonymous with the genus Leptacodon.

Key words : Mammals, Nyctitheriidae, Paleocene-Eocene transition, Dormaal, Belgium.

* Adresse courrier.

THIERRY SMITH

INTRODUCTION

La faune des mammifères du gisement landénien de Dormaal a permis de définir le niveau de référence MP7 de l'échelle biochronologique mammalienne du Paléogène européen (SCHMIDT-KITTLER, éd., 1987). Les éléments faunistiques dominants sont essentiellement représentés par les restes dentaires du petit condylarthre hyopsodontidé *Paschatherium dolloi* (Teilhard de Chardin, 1927), de marsupiaux didelphidés, du plus ancien primate omomyidé européen *Teilhardina belgica* (Teilhard de Chardin, 1927), de rongeurs ischyromyidés, du carnivore miacidé *Miacis latouri* Quinet, 1966 et d'insectivores lipotyphlés.

Parmi ce dernier groupe des Lipotyphla, dont font partie les musaraignes, taupes et hérissons, se trouve à Dormaal un représentant des Nyctitheriidés (famille qui a persisté du Paléocène moyen à l'Oligocène moyen) appartenant au genre *Leptacodon* Matthew & Granger, 1921.

En 1964, QUINET crée le genre Nycticonodon dans lequel il distingue deux espèces: N. casieri et N. caparti. Cependant, ces taxa sont considérés comme nomen nuda (VAN VALEN, 1967, p. 271). Dans le même ouvrage, QUINET crée également l'espèce Gypsonictops dormaalensis sur la base d'une unique P4/.

L'étude des spécimens dentaires attribués par QUINET à Nycticonodon révèle que N. casieri appartient au genre Wyonycteris Gingerich, 1987 (SMITH, 1995) et Nycticonodon caparti au genre Leptacodon. De plus, la P4/ de Gypsonictops dormaalensis, dont l'attribution générique a déjà été mise en doute (GODINOT et al., 1978), est en réalité la P4/ de ce même Leptacodon.

Suite aux dernières fouilles entreprises à Dormaal en 1990 (SMITH, T. & SMITH, R., 1996), quarante-cinq spécimens attribuables au genre *Leptacodon* ont été découverts. Onze spécimens supplémentaires des collections de l'Intitut royal des Sciences naturelles de Belgique ont également été identifiés comme appartenant au genre *Leptacodon*.

ABRÉVIATIONS

AMNH : American Museum of Natural History
CR : Cernay-lès-Reims (MNHN)
IRScNB : Institut royal des Sciences naturelles de Belgique
FDN : Fordones (Université de Montpellier II)
MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris
MP : Mammal Palaeogene
PU : Princeton University
RI : Rians (MNHN)
UM (UM VP) : University of Michigan
UW : Université du Wyoming
YPM : Yale Peabody Museum

LEPTACODON DORMAALENSIS, UN NYCTITHÈRE PRIMITIF

RÉSULTATS

Systématique

Ordre LIPOTYPHLA Haeckel, 1866. Famille NYCTITHERIIDAE Simpson, 1928. Sous-famille NYCTITHERIINAE Simpson, 1928. Genre Leptacodon Matthew & Granger, 1921. Espèce-type : Leptacodon tener Matthew & Granger, 1921.

Leptacodon dormaalensis (Quinet, 1964) (Figs 2-3)

v. 1964 : Gypsonictops dormaalensis n. sp.; QUINET, p. 5, fig. 2.

v. 1969 : Nycticonodon caparti n. sp.; QUINET, p. 21 (nomen nudum).

v. 1969 : Gypsonictops dormaalensis n. sp.; QUINET, p. 24.

Matériel

Holotype. IRScNB M 1321, P4/ gauche (Fig. 3C).

Paratypes. IRScNB M 1231, fragment d'hémimandibule droite avec M/1-3 en place (Fig.2A); IRScNB M 1232, fragment d'hémimandibule droite avec P/4 (Fig. 2B); IRScNB M 1233, hémimandibule droite édentée (Fig. 3A); IRScNB M 1234, fragment d'hémimandibule droite avec C, P/2, P/4, M/1 (Fig. 3B); IRScNB M 1238, M1/ droite (Fig. 3D); IRScNB M 1239, M2/ droite (Fig. 3E); IRScNB M 1240, M3/ gauche (Fig. 3F).

Matériel rapporté. 56 spécimens, 11 provenant des collections de l'IRScNB et 45 de la collection privée R. Smith.

Localité-type et âge : Dormaal (Brabant, Belgique), Groupe de Landen, Formation de Tirlemont (Tienen), Membre de Dormaal, Landénien supérieur (transition Paléocène-Eocène), niveau MP7 de l'échelle biochronologique des mammifères paléogènes d'Europe (voir SMITH, T. & SMITH, R., 1996).

Diagnose. Leptacodon dormaalensis a les mêmes dimensions que L. tener, mais les cuspides des dents jugales inférieures sont moins élancées avec l'hypoflexide moins profond. Il se distingue de L. rosei par la présence d'un seul foramen mentonnier sous P/3 et l'aspect un peu moins molariforme des dents inférieures. L'hypoconulide est médian à l'inverse de L. munusculum et L. packi où il est rapproché de l'entoconide. L. dormaalensis possède une P/4 et une M/3 plus courtes que M/1 et M/2, ce qui le différencie de L. catulus.
Description

Mesures :

TABLEAU 1

Dimensions (en mm) des dents jugales de Leptacodon dormaalensis de Dormaal. L: longueur; l: largeur; n: nombre de spécimens; LV: limites de variation; M: moyenne; s: écart-type; V: coefficient de variation

Position		n	LV	М	S	V
P/4	L	5	1,16-1,24	1,20	0,03	2,40
	Ι	5	0,64-0,69	0,67	0,02	2,56
M/1	L	18	1,28-1,40	1,32	0,03	2,28
	Ι	18	0,84-0,95	0,88	0,03	3,81
M/2	L	10	1,20-1,34	1,28	0,04	2,88
	Ι	10	0,85-0,97	0,91	0,04	3,94
M/3	L	6	1,15-1,29	1,22	0,05	4,41
	Ι	6	0,71-0,78	0,75	0,03	3,87
P4/	L	2	1,35-1,37	1,36	0,01	0,74
	Ι	2	1,57-1,60	1,59	0,02	0,95
M1/	L	10	1,18-1,32	1,26	0,04	3,30
	Ι	10	1,55-1,82	1,68	0,08	4,65
M2/	L	3	1,15-1,18	1,16	0,01	1,07
	Ι	3	1,70-1,77	1,72	0,03	1,91
M3/	L	2	1,05-1,10	1,08	0,02	2,33
	Ι	2	1,45-1,47	1,46	0,01	0,68

La terminologie des cuspides et crêtes dentaires utilisée dans ce travail (Fig. 1) reprend celle proposée par VAN VALEN (1966).

Denture inférieure. Le spécimen IRScNB M 1232 montre les alvéoles de trois incisives (Fig. 2B). La partie antérieure de la canine du spécimen IRScNB M 1234 est cassée, mais l'épaisseur de sa racine (Fig. 3B) et les dimensions de son alvéole (Figs. 2B, 3A) par rapport à celles des autres dents indiquent que cette canine était bien développée. P/1 est uniradiculée alors que P/2 et P/3 sont biradiculées. Le foramen mentonnier se situe sous P/3 (Figs. 2B, 3A-B).

P/4 (Figs. 2B, 3B) est molariforme. Elle présente un léger cingulum antérolabial ainsi qu'un paraconide bien différencié et presque aussi haut que le métaconide. Le métaconide, séparé du protoconide, est plus bas que ce dernier. L'hypoconide et l'entoconide sont bien développés. Un petit hypoconulide médian est également présent. Le talonide, plus court que le trigonide, possède un bassin bien délimité.

Le trigonide et le talonide de M/1 (Figs. 2A, 3B) sont de même longueur. Le métaconide et le protoconide ont la même hauteur; l'hypoconide et l'entoconide également. Le bassin du trigonide est ouvert lingualement. L'hypoconulide est médian et la crête oblique s'arrête au bas de la muraille postérieure du trigonide.



A. Molaire supérieure droite

Fig. 1. – Terminologie des cuspides et crêtes dentaires: morphologie de la molaire supérieure (A) et inférieure (B) en vue occlusale.

Fig. 2. – Leptacodon dormaalensis (QUINET, 1964) — A. IRScNB M 1231, fragment d'hémimandibule droite avec M/1-3 en place. 1: vue occlusale; 2: vue labiale; 3: vue linguale. – B. IRScNB M 1232, fragment d'hémimandibule droite avec les alvéoles de I/1-3, C, P/1-3, M/1-3 et P/4 en place. 1: vue occlusale; 2: vue labiale; 3: vue linguale.

Fig. 3. – Leptacodon dormaalensis (QUINET, 1964) — A. IRScNB M 1233, hémimandibule droite édentée. – B. IRScNB M 1234, fragment d'hémimandibule droite avec les alvéoles de P/1, P/3 et C, P/2, P/4, M/1 en place. 1: vue occlusale; 2: vue labiale; 3: vue linguale. – C. IRScNB M 1321, P4/ gauche. 1: vue occlusale; 2: vue labiale. – D. IRScNB M 1238, M1/ droite. 1: vue occlusale; 2: vue labiale. – E. IRScNB M 1239, M2/ droite. 1: vue occlusale; 2: vue labiale. – F. IRScNB M 1240, M3/ gauche. 1: vue occlusale; 2: vue labiale.

[Figures aux pages suivantes.]

THIERRY SMITH





Fig. 3.

THIERRY SMITH

M/2 (Fig. 2A) est fort semblable à M/1, cependant le trigonide est un peu plus large et les métaconide et protoconide sont un peu plus espacés. Le paraconide est moins projeté antérieurement que sur M/1 et de ce fait, le trigonide est légèrement plus court que le talonide.

M/3 (Fig. 2A), plus étroite que M/1 et M/2, est caractérisée par son trigonide plus large et plus court que son talonide. L'hypoconulide est particulièrement bien développé, formant un lobe postérieur médian.

Denture supérieure: P4/ (Fig. 3C) possède un métacône bien distinct du paracône mais moins élevé: la présence de cette cuspide donne à la dent son type molariforme. Le bord stylaire est incliné antérieurement. Un parastyle est fortement développé, saillant et très écarté du paracône. Le postcingulum est muni d'une ébauche d'hypocône et le précingulum est faible à absent.

M1/ (Fig. 3D) et M2/ (Fig. 3E) ont la même largeur. Cependant, M1/ est plus longue; les paracône et métacône sont plus espacés et l'expansion distale du lobe métastylaire est plus prononcée. Les paracône et métacône de M1/, comme ceux de M2/, ont la même hauteur. L'hypocône, net, est supporté par un large postcingulum. Un précingulum est également présent. Paraconule et métaconule sont bien développés et se prolongent par des paralophe et métalophe, ainsi que par des paracingulum et métacingulum bien marqués.

M3/ (Fig. 3F) est de dimension réduite par rapport aux deux autres molaires. Le parastyle forme un grand lobe projeté antérolabialement. Un léger précingulum est visible, ainsi qu'un très léger postcingulum. L'hypocône est absent et le métalophe, bien que présent, est fort réduit.

DISCUSSION

L'insectivore décrit présente des P/4 et P4/ d'aspect molariforme, des P/3 et P/2 biradiculées, une P/1 uniradiculée, la mandibule longue et mince caractéristique de la famille des Nyctitheriidae et plus précisément de la sous-famille des Nyctitheriinae (ROBINSON, 1968). De plus, l'hypoconulide non réduit et l'hypoflexide profond sur les molaires inférieures sont également des caractères diagnostiques des nyctithères (KRISHTALKA, 1976; BOWN & SCHANKLER, 1982). Les molaires supérieures de la forme de Dormaal présentent un net paralophe rejoignant la base du paracône, un postcingulum moyennement développé et une alvéole de la canine inférieure assez grande qui la différencie de la majorité des espèces de Saturninia Stehlin, 1940. La P4/ ne possède pas de précingulum développé comme chez Nyctitherium Marsh, 1872. La dilambdodontie de Wyonycteris Gingerich, 1987 (Eocène inférieur basal d'Amérique du Nord) et de Pontifactor West, 1974 (Eocène moyen d'Amérique du Nord), ou même la tendance dilambdodonte présente chez Nyctitherium velox Marsh, 1872 (YPM 15251, Eocène moyen d'Amérique du Nord) et chez certaines espèces de Saturninia (S. grisollensis Sigé, 1976 et S. tobieni Sigé, 1976, Eocène supérieur d'Europe) fait complètement défaut chez le nyctithère de Dormaal. Les genres Bumbanius et Oedolius Russell & Dashzeveg, 1986 (Eocène inférieur d'Asie) peuvent également être écartés en raison de la morphologie fort différente de la P/4, particulièrement au niveau du talonide. Limaconyssus habrus Gingerich, 1987 (Eocène inférieur

5

basal d'Amérique du Nord), avec les cuspides des molaires inférieures très élancées, la crête oblique étendue jusqu'à l'apex du métaconide et la forme pincée des protoconide et hypoconide, se distingue nettement de la forme belge. Il en est de même pour *Jarveia* Nessov, 1987 sensu AVERIANOV (1995) (Paléocène supérieur d'Asie) dont le talonide, à bassin étroit, est muni d'un hypoconulide jumelé à l'entoconide; les molaires supérieures plus larges ont des conules insignifiants ou absents.

La comparaison de la forme de Dormaal aux différentes espèces du genre *Leptacodon* montre que le nyctithère belge appartient au genre *Leptacodon*, considéré actuellement comme le genre le plus primitif des Nyctitheriidae (SIGÉ, 1976; BUTLER, 1988; STORCH & HAUBOLD, 1989)

L'holotype AMNH 17179 de L. tener Matthew & Granger, 1921 (Paléocène supérieur, Tiffanien supérieur, Tiffany Formation, Colorado, U.S.A.) a les mêmes dimensions et est d'ailleurs morphologiquement assez semblable à L. dormaalensis. Cependant, les dents jugales inférieures de L. tener possèdent des cuspides plus élancées. La P/3 est presque aussi développée que la P/4, ce qui ne semble pas être le cas chez L. dormaalensis dont les alvéoles de P/3 sont petites. Le paraconide de P/4 est placé plus bas sur le trigonide de L. tener. L'incisure de la crête entre l'entoconide et le métaconide des molaires forme un V franc, alors qu'elle s'arrondit légèrement en U chez L. dormaalensis. Sur les dents supérieures, le postcingulum de P4/ est un peu moins développé et l'hypocône de M1/ et M2/ est moins saillant que chez L. dormaalensis. En revanche, le paralophe est plus marqué chez L. tener.

L. munusculum Simpson, 1935 (Paléocène moyen, Torrejonien, Fort Union Formation, Montana, U.S.A.) est un peu plus petit que L. dormaalensis. Le fragment de mandibule AMNH 35942 de L. munusculum présente une P/4 plus compressée labio-lingualement avec un paraconide plus proéminent et un métaconide nettement moins détaché du protoconide. Les molaires ont un paraconide mieux individualisé, un cingulum antéro-labial plus épais, le bassin du talonide plus étroit, et l'hypoconulide proche de l'entoconide.

L. packi Jepsen, 1930 (Paléocène supérieur, Tiffanien supérieur, Polecat Bench Formation, Wyoming, U.S.A.) est plus grand que les autres *Leptacodon*. Le spécimen PU 14140 diffère de *L. dormaalensis* par les P/3 et P/4 très élevées, le paraconide des molaires inférieures plus antérieur, le bassin du trigonide très ouvert lingualement, l'entoconide petit et plus compressé labio-lingualement, et l'hypoconulide plus proche de l'entoconide que de l'hypoconide.

L. catulus Krishtalka, 1976 (Eocène inférieur, Wasatchien supérieur, San José Formation, Nouveau Mexique, U.S.A.) possède une crête oblique plus interne sur les molaires inférieures; l'hypoflexide est plus profond; le trigonide, nettement plus ouvert lingualement, a un paraconide moins développé. Le bassin du talonide est plus étroit et un bourrelet postéro-labial (petit postcingulide) est visible sur M/1-3, alors qu'il est absent chez L. dormaalensis et les autres espèces. L'holotype AMNH 48173 de L. catulus présente des M/1 et M/2 de même dimensions que L. dormaalensis. La P/4 et la M/3 de L. catulus sont légèrement plus longues que les deux premières molaires. En revanche, la P/4 et la M/3 de L. dormaalensis sont légèrement plus courtes que les M/1 et M/2. Sur les dents supérieures, le précingulum de P4/ de L. catulus est un peu plus développé et le post-cingulum des molaires est moins étendu postéro-lingualement.

THIERRY SMITH

L. rosei Gingerich, 1987 (Eocène inférieur basal, Clarkforkien moyen à supérieur, Willwood Formation, Wyoming, U.S.A.) est plus grand que L. dormaalensis. L'holotype UM 71650 de l'espèce américaine possède deux foramens mentonniers, sous P/4 et P/2 (ROSE, 1981, p. 40), alors que le foramen unique de l'espèce belge est sous P/3. Cependant, GINGERICH (1987, p. 302) signale la présence d'un spécimen (UM 76408) ne possédant qu'un seul foramen mentonnier allongé et situé sous P/3. La P/2 est un peu plus élancée chez L. rosei; la P/4 est fort semblable mais d'allure légèrement plus molariforme. L'incisure entre le métaconide et l'entoconide des molaires inférieures est un peu plus fermée. Les P4/ et les molaires supérieures des deux espèces sont morphologiquement identiques, seule une différence de taille s'observe.

L. proserpinae Van Valen, 1978 (Paléocène inférieur, Puercien, Tullock Formation, Montana, U.S.A.), représenté par l'unique P/4 UM VP 1595 est très différent de L. dormaalensis. La dent, longue et étroite, est deux fois plus grande; le paraconide est très développé et très antérieur. Par ces caractères, L. proserpinae pourrait être attribué à un autre genre.

Un nyctithère du Portugal (Eocène inférieur, MP7, Silveirinha, Portugal) a été étudié par ESTRAVIS (1992). De taille légèrement plus réduite que *L. dormaalensis*, il en est morphologiquement assez proche. Cependant, La crête oblique des molaires inférieures est plus parallèle à l'entocristide que chez *L. dormaalensis*, se courbant même dans l'autre sens, et l'hypoconulide de la M/3 est moins détaché que chez ce dernier. L'incisure entre le métaconide et l'entoconide est en forme de U alors que chez l'espèce belge, elle est intermédiaire entre un V et un U. Dans l'ensemble, les cuspides du talonide des molaires inférieures sont basses et moins développées. L'ectoflexus des molaires supérieures est plus prononcé chez *L. dormaalensis* et l'hypocône est un peu mieux individualisé que chez l'espèce portugaise. En outre, chez cette dernière, la crête interne du paraconule est quasi inexistante.

Trois spécimens rapportés à cf. *Leptacodon* de Rians (Eocène inférieur, Sparnacien, Provence, France) ont été décrits par GODINOT (1981). La morphologie du bord labial de la molaire supérieure RI 219 s'accorde peu avec celle de *Leptacodon*. La P4/ RI 218 ressemble à celle d'un nyctithère, mais le faible métacône soudé au paracône évoque plutôt un *Pontifactor* de très petite taille. Quant à la petite molaire inférieure RI 382, STORCH & HAUBOLD (1989) avaient déjà noté le rapprochement entre l'hypoconulide et l'entoconide, ainsi que l'aspect assez massif de l'hypoconide. Par ces caractères, cette dent correspond d'avantage à une M/1 de *Wyonycteris*, bien que le petit postcingulum présent ici soit absent chez ce genre.

MARANDAT (1991) décrit un Saturninia sp. ou Leptacodon sp. de Fordones (Eocène inférieur, Ilerdien moyen, Bas-Languedoc, France). La P4/ FDN 140 ressemble fort à celle de Pontifactor, et par ses très faibles dimensions pourrait être rapportée au genre Wyonycteris, qui lui est proche (SMITH, 1995). La molaire supérieure FDN 139 ressemble à la M2/ de Leptacodon tener et pourrait être attribuée au genre Leptacodon. Malheureusement, les molaires inférieures rapportées à cette forme étant abîmées, il est difficile de les comparer utilement avec les autres espèces du genre.

Une M3/ fragmentée de cf. L. tener de Hainin (Paléocène moyen, Montien, Hainaut, Belgique) a été décrite par GODFRIAUX & THALER (1972). Cette unique dent, mal con-

servée, ne permet actuellement aucune comparaison utile. Il en est de même pour la M2/ CR 11896 de Cernay (Paléocène supérieur, Thanétien, Bassin parisien, France) nommée cf. *Leptacodon* par RUSSELL (1983). Cette dernière forme est plus grande que *L. tener* et *L. dormaalensis*, avec un protocône large et la crête interne du paraconule n'atteignant pas la base du paracône.

Plagioctenodon krausae Bown, 1979 sensu BOWN & SCHANKLER (1982) (Eocène inférieur, Graybullien inférieur, Willwood Formation, Wyoming, U.S.A.) n'est connu que par ses dents inférieures. La ressemblance de ces dernières avec celles du nyctithère de Dormaal est frappante, aussi bien par les dimensions que par la morphologie générale. L'holotype américain UW 9682 possède notamment une P/2 similaire à celle de Leptacodon dormaalensis, ainsi qu'une P/3 plus petite que P/2 qui pourrait être compatible avec les alvéoles de petites dimensions de L. dormaalensis. Le paraconide de P/4 et de M/1-3, positionné plus haut sur le trigonide que chez L. tener, de même que l'aspect moins anguleux des cuspides, rapproche fortement L. dormaalensis de Plagioctenodon krausae. Cependant, plusieurs différences entre ces deux derniers taxons s'opposent à la synonymie des espèces. Le foramen mentonnier de P. krausae est petit et situé sous la racine antérieure de P/4, alors qu'il est nettement plus grand et situé sous P/3 chez Leptacodon dormaalensis. Le paraconide de P/4 est dirigé plus antérieurement chez P. krausae et le bord lingual du talonide est épais, ne formant pas une véritable entocristide; le bassin est plus petit et plus creusé. Le paraconide de M/1-3 est moins développé chez Plagioctenodon dont le trigonide est plus pincé. L'angle du paralophide (joignant le protoconide au paraconide) est plus ouvert chez Plagioctenodon. L'écart plus grand entre les métaconide et entoconide de Plagioctenodon donne une forme plus en U à l'entaille entre ces deux cuspides en vue linguale. La distance entre l'hypoconide et l'hypoconulide est plus petite chez Plagioctenodon (Fig. 4).

Evolution du genre Leptacodon

Par les caractéristiques morphologiques citées ci-dessus, Leptacodon dormaalensis semble être intermédiaire entre L. tener et Plagioctenodon krausae. D'ailleurs, pour BOWN et SCHANKLER (1982, p. 61), Plagioctenodon dériverait de Leptacodon tener.

Plusieurs arguments sont en faveur de l'attribution générique de l'espèce belge au genre Leptacodon plutôt qu'au genre Plagioctenodon (en plus des différences morphologiques citées plus haut). En ce qui concerne P/2 et P/3 plus petites chez Plagioctenodon et Leptacodon dormaalensis que chez L. tener, il a été clairement montré que la morphologie de ces deux prémolaires est variable chez les Nyctitheriinae et que la tendance évolutive générale de cette sous-famille va vers une régression des prémolaires et une démolarisation de la P/4 (SIGÉ, 1976). De plus, les dents supérieures de L. dormaalensis (Figs. 3C-F) sont presque identiques à celles de L. tener (bien illustrées par MCKENNA, 1968, p. 5). Par conséquent, il est légitime d'attribuer l'espèce belge au genre Leptacodon. En outre, l'identification des dents supérieures de Leptacodon dormaalensis, espèce proche de Plagioctenodon krausae, nous amène à considérer le genre Plagioctenodon comme synonyme de Leptacodon.

Ainsi, L. dormaalensis serait déjà plus évolué que L. tener: une réduction des prémolaires (surtout la P/3) et du paralophe se serait déjà amorcée, comme chez L. rosei, mais Leptacodon tener

Leptacodon dormaalensis

Plagioctenodon krausae















Fig. 4. – Schéma comparatif de la morphologie des P/4, M/1 et M/2 en vue occlusale de Leptacodon tener, L. dormaalensis et Plagioctenodon krausae.

avec une fusion supplémentaire des foramens mentonniers. De telles apomorphies s'observent nettement chez les différentes espèces de Saturninia de l'Eocène moyen à l'Oligocène inférieur (SIGE, 1976). Leptacodon dormaalensis semble donc plus proche de L. tener, de L. rosei et peut-être du nyctithère de Silveirinha que des autres espèces du genre. De ces quatre espèces Leptacodon dormaalensis pourrait être l'espèce la plus dérivée et déjà se situer dans l'ascendance de la lignée de Saturninia (Fig. 5). Quant à Leptacodon munusculum et L. packi, ils pourraient faire partie d'un ou de plusieurs groupes de nyctithères distincts du groupe de L. tener (KRISHTALKA, 1976; BOWN & SCHANKLER, 1982). En effet, comme l'a déjà fait remarquer KRISHTALKA (1976, p. 25) L. munusculum évoque d'avantage Pontifactor. En ce qui concerne Leptacodon catulus, il demeure difficile à situer car il possède des caractères intermédiaires aux différents groupes en plus des caractères qui lui sont propres.



Fig. 5. – Schéma hypothétique représentant la phylogénie possible du genre *Leptacodon*. Cf: Clarkforkien; inf.: inférieur; *L.: Leptacodon*; moy.: moyen; MP: Mammal Paleogene (niveaux de référence 6 à 10); *P.: Plagioctenodon*; sup.: supérieur; Ti: Tiffanien; Wa: Wasatchien.

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement R. Smith pour le don des types à l'IRScNB ainsi que le Dr. D.E. Russell (MNHN) pour le prêt des moulages de nyctithères et les précieux conseils qu'il m'a prodigués au

THIERRY SMITH

cours de l'élaboration de cette note. J'exprime également ma profonde reconnaissance envers le Dr. M-C. Groessens-Van Dyck (Université Catholique de Louvain) et le Prof. P. Bultynck (IRScNB) pour leur aide permanente et la lecture du manuscrit. Je remercie particulièrement le Dr. B. Sigé (Université de Montpellier II) pour la lecture critique du manuscrit et ses utiles commentaires concernant les insectivores du Tertiaire ancien, ainsi que le Prof. M. Chardon (Université de Liège) et le Dr. F. Fiers (IRScNB) pour leurs remarques constructives. Les photographies sont de J. Cillis (IRScNB) et les tirages ont été réalisés par W. Miseur (IRScNB). L'auteur est boursier du F.R.I.A.

RÉFÉRENCES

- AVERIANOV, A. (1995) Nyctitheriid Insectivores from the Upper Paleocene of Southern Kazakhstan (Mammalia: Lipotyphla). Senckenbergiana lethaea, 75 (1-2): 215-219.
- BOWN, T.M. (1979) Geology and mammalian paleontology of the Sand Creek facies, lower Willwood Formation (lower Eocene), Washakie County, Wyoming. Wyoming Geological Survey Memoir, 2: 151 pp.
- BOWN, T.M. & D. SCHANKLER (1982) A review of the Proteutheria and Insectivora of the Willwood Formation (lower Eocene), Bighorn Basin, Wyoming. *Geological Survey Bulletin*, **1523** : 79 pp.
- BUTLER, P.M. (1988) Phylogeny of the insectivores. In BENTON, M.J. (ed.): The phylogeny of the Tetrapods, Vol. 2: Mammals. Systematics Association Spec. Vol. 35B. Clarendon Press: 117-141.
- ESTRAVIS, C. (1992) Estudo dos mammiferos do Eocenico inferior de Silveirinha (Baixo Mondego). Faculdade de Ciências e Technologia. Universidade Nova de Lisboa. Thèse de doctorat, inédite : 248 pp.
- GINGERICH, P.D. (1987) Early Eocene bats (Mammalia, Chiroptera) and other vertebrates in freshwater limestones of the Willwood Formation, Clark's Fork Basin, Wyoming. Contributions from the Museum of Paleontology, University of Michigan, 27 (11): 275-320.
- GODFRIAUX, I. & L. THALER (1972) Note sur la découverte de dents de mammifères dans le Montien continental du Hainaut (Belgique). Bulletin de l'Académie royale de Belgique, Classe des Sciences, (5) 58 : 536-541.
- GODINOT, M., F. DE BROIN, E. BUFFETAUT, J.-CL. RAGE & D.E. RUSSELL (1978) Dormaal: une des plus anciennes faunes éocènes d'Europe. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Paris, 287 (Série D): 1273-1276.
- GODINOT, M (1981) Les mammifères de Rians (Eocène inférieur, Provence). Palaeovertebrata, 10 (2) : 43-126.
- JEPSEN, G.L: (1930) Stratigraphy and Paleontology of the Paleocene of northeastern Park County, Wyoming. Proceedings of the American Philosophical Society, 69 (7): 463-528.
- KRISHTALKA, L. (1976) North American Nyctitheriidae (Mammalia, Insectivora). Annals of the Carnegie Museum, 46 (2): 7-28.
- MARANDAT, B. (1991) Mammifères de l'Ilerdien moyen (Eocène inférieur) des Corbières et du Minervois (Bas-Languedoc, France): systématique, biostratigraphie, corrélations. *Palaeovertebrata*, 20 (2-3): 55-144.
- MATTHEW, W.D. & W. Granger (1921) New genera of Paleocene mammals. American Museum Novitates, 13: 1-7.
- MCKENNA, M.C. (1968) Leptacodon, an American Paleocene Nyctithere (Mammalia, Insectivora). American Museum Novitates, 2317 : 1-12.
- QUINET, G. (1964) Morphologie dentaire des mammifères éocènes de Dormaal. Bulletin du groupement international de recherche en stomatologie, 7 (2) : 272-294.

- QUINET, G. (1969) Apport de l'étude de la faune mammalienne de Dormaal à la stratigraphie générale du Paléocène supérieur européen et à la théorie synthétique de la molaire mammalienne. Mémoire de l'Institut royal des Sciences naturelles de Belgique, 162 : 188 pp.
- ROBINSON, P. (1968) Nyctitheriidae (Mammalia, Insectivora) from the Bridger Formation of Wyoming. *Contributions to Geology*, University of Wyoming, Laramie, 7 (2): 129-138.
- ROSE, K.D. (1981) The Clarkforkian land-Mammal Age and mammalian faunal composition across the Paleocene-Eocene boundary. *Papers on Paleontology, Museum of Michigan*, 26: 189 pp.
- RUSSELL, D.E. & D. DASHZEVEG (1986) Early Eocene Insectivores (Mammalia) from the People's Republic of Mongolia. *Palaeontology*, **29** (2) : 269-291.
- SCHMIDT-KITTLER, N. (Ed.) (1987) International Symposium on Mammalian Biostratigraphy and Paleoecology of the European Paleogene - Mainz, February 18th-21st 1987. *Münchner Geowiss. Abh.*, Munich, (A), **10**: 1-312.
- SIGÉ, B. (1976) Insectivores primitifs de l'Eocène supérieur et Oligocène inférieur d'Europe occidentale. Nyctitheriidés. Mémoire du Muséum National d'Histoire Naturelle, (série C) 34 : 140 pp.
- SMITH, T. (1995) Présence du genre Wyonycteris (Mammalia, Lipotyphla) à la limite Paléocène-Eocène en Europe. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Paris, 321 (série IIa) : 923-930.
- SMITH, T. & R. SMITH (1996) Synthèse des données actuelles sur les Vertébrés de la transition Paléocène-Eocène de Dormaal (Belgique). Bulletin de la Société belge de Géologie, 104 (1-2) (sous presse).
- SIMPSON, G.G. (1935) The Tiffany fauna, upper Paleocene. I. Multituberculata, Marsupialia, Insectivora, and ?Chiroptera. American Museum Novitates, 1541: 1-19.
- STORCH, G., & H. HAUBOLD (1989) Additions to the Geiseltal mammalian faunas, middle Eocene : Didelphidae, Nyctitheriidae, Myrmecophagidae. *Palaeovertebrata*, **19** (3) : 95-114.
- VAN VALEN, L. (1966) Deltatheridia, a new order of Mammals. Bulletin of the American Museum of Natural History, 132: 1-126.
- VAN VALEN, L. (1967) New Paleocene Insectivores and Insectivore classification. Bulletin of the American Museum of Natural History, 135 (5): 217-284.
- VAN VALEN, L. (1978) The beginning of the Age of Mammals. Evolutionary Theory, 4: 45-80.

Belg. J. Zool. - Volume 126 (1996) - issue 2 - pages 169-176 - Brussels 1996

Received : 25 July 1996

IMMUNOHISTOCHEMICAL LOCALIZATION OF β-TUBULIN IN THE UNINCUBATED AVIAN GERM AND IN THE PERI-, PARA- AND SUBGERMINAL OOPLASM: HOMOLOGY WITH MEROBLASTIC TELEOST EMBRYOS

MARC CALLEBAUT, LUC VAN NASSAUW('), FERNAND HARRISSON AND ANNELEEN SCHREVENS

UA, RUCA, Laboratory of Human Anatomy and Embryology, Groenenborgerlaan 171, B-2020 Antwerpen (Belgium) (') Senior Research Assistant of the Belgian National Fund for Scientific Research

Abstract. β -Tubulin was immunohistochemically localized in the unincubated avian germ and in the peri-, para- and subgerminal ooplasm. Numerous immunostained threads were found surrounding the clusters of mitotic figures seen in the peripheral subgerminal ooplasm. In the Rauber's sickle this method enabled clear discrimination to be made between unstained ooplasmic areas and the immunostained surrounding blastoderm cells. A vast, superficial, extra-embryonic ring-shaped area of paragerminal ooplasm (forming a white halo, seen on the surface of the intact living yolk) presenting a dense immunoreactivity on sections, encircles the clear perigerminal ooplasm and the rim of the blastoderm at some distance.

Keywords: Tubulin, avian blastoderm, ooplasm, epiboly, Rauber's sickle, teleost embryo.

INTRODUCTION

In a recent study (CALLEBAUT, 1994), numerous giant clusters of mitotic figures in the subgerminal ooplasm (forming a syncytium) below the germ wall of unincubated avian blastoderms were described. By autohistoradiographic incorporation studies of ³H-thymidine, ³H-uridine and ³H-leucine or ³H-tyrosine during and after the period of establishment of bilateral symmetrization of the avian germ, we demonstrated that a pronounced nucleic acid and protein synthesis occurs in these clusters of mitotic figures and in the neighbouring intervitelline ooplasm. The role of these chromosome clusters in avian eggs, in which a meroblastic type of cleavage exists, is unknown but their localization suggest some morphological homology with the external part of the multinucleate yolk syncytial layer described in the also meroblastic eggs of teleosts (LENTZ & TRINKAUS, 1967).

M. CALLEBAUT, L. VAN NASSAUW, F. HARRISSON AND A. SCHREVENS

This yolk syncytial layer, which is also localized between the yolk mass and the deep blastomeres provides, according to TRINKAUS (1984), most of the contractile force for epiboly, a phenomenon which also exists in the meroblastic eggs of birds. During the sliding movements of large units of ooplasm over one another and subsequent anchoring, micro-tubules have been shown to play an important role in amphibian eggs (GERHART et al.,1989). Recently in the zebrafish (*Danio rerio*) blastulas, it has been shown that micro-tubule arrays of the yolk cell play an important role during epiboly (SOLNICA-KREZEL & DRIEVER, 1994).

This stimulated us to study the β -tubulin distribution in unincubated avian germs and in the surrounding perigerminal, paragerminal and underlying subgerminal ooplasm.

MATERIAL AND METHODS

Fertilized unincubated quail eggs (stored at 15-20°C for no longer than 1-2 days) were opened. After removal of the egg white, their egg yolk balls were placed in Ringer's solution. Egg yolks with blastoderms presenting a sickle of RAUBER (RAUBER, 1876) (permitting an exact caudocephalic orientation), were used in this study. The blastoderms at that moment were in stage 1 (VAKAET, 1970). Charcoal marks were applied in vivo on the vitelline membrane above the white halo (paragerminal ooplasm) visible just peripherally to the clear perigerminal zone, surrounding the rim of the blastoderm. This charcoal labeling was also applicated over the white halo surrounding germs in the cleavage stage from eggs extracted from the uterus according to the technique of OLSEN & BYERLY (1932). These egg yolks with blastoderm in situ were then fixed in toto for 3h at 4°C in 2% paraformaldehyde and 0.1% glutaraldehyde in 10mM phosphate - buffered saline (PBS) at pH 7,2. After rinsing in PBS, the egg yolks with blastoderm still in situ were dehydrated during the following days. In 95% alcohol, the germs were excised with some surrounding ooplasm. Still adherent to their vitelline membrane, they were transferred into absolute alcohol. After a passage through xylene, they were embedded in paraffin. Serial 10 µm thick sections were made parallel with the caudocranial axis (medio- and parasagittal) of the germ. The blastoderms in the paraffin were placed vertically, peripendicular to the microtome knife edge to avoid dorsoventral compression during sectioning. The sections were mounted on glass slides coated with Para-Tissuer (Imtec Diagnostics n.v., Uithoorn, The Netherlands) and airdried for 1h at 37°C.

Immunohistochemical staining of the deparaffinized sections was performed by the unlabelled antibody peroxidase-anti- peroxidase (PAP) technique as previously described (VAN NASSAUW *et al.*,1989). Briefly, endogenous peroxidase was blocked with 1% hydrogen peroxide in methanol, and non-specific binding was blocked with normal rabbit serum (DAKO A/S, Glostrup, Denmark), diluted 1:25 in PBS containing 5% bovine serum albumin (BSA) and 0.1% sodium azide.

UNINCUBATED AVIAN EGG TUBULIN

)

Subsequently, the sections were incubated overnight at 4°C in the primary antiserum diluted in PBS containing 0.1% BSA and 0.1% sodium azide. We used a commercially avialable mouse monoclonal antibody directed against rat brain β -tubulin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), diluted 1:400. After washing in PBS, the sections were incubated for 1h in rabbit anti-mouse IgG (DAKO A/S), diluted 1:25 in PBS*. The sections were washed in PBS, before incubation for 1h in mouse PAP complex (DAKO A/S), diluted 1:250 in PBS.

Peroxidase activity was revealed using the diaminobenzidine method (GRAHAM & KARNOVSKY, 1966). The sections were counterstained with 0.1% toluidine blue. Method specificity was controlled by omitting the incubation with the primary antibody in the regular staining procedure.

RESULTS AND DISCUSSION

Brown staining of the tissues, indicating tubulin immunoreactivity was found in the blastoderms of the unincubated quail eggs (Figs 1-2). Yolk granules in the blastoderm and in the subgerminal ooplasm (Fig. 2) presented no immunoreactivity but were stained by toluidine blue.

Consequently the contrast between the cellular borders of the blastoderm and the suband perigerminal ooplasm was very obvious. Moreover the fixative and immunostaining used also permitted a good general survey to be made of the main morphological details of the unincubated germ, even at the lowest magnification. By this means the 3 elementary tissues (endophyll, RAUBER's sickle and upper layer) of the unincubated avian blastoderm (CALLEBAUT *et al.*, 1996 a) are distinctly visible (Figs 1-3-5). Most obvious is the unequal caudocranial uptake of ooplasm by the blastoderm (CALLEBAUT, 1993 a, 1994). The endophyll was visible as a caudal sheet of flat cells clearly separated from the upper layer and continuous with RAUBER's sickle (the early avian gastrulation organizer: CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1994) forming an axilla shaped groove (Fig. 3) in the caudal part of the subgerminal cavity.

The contact between RAUBER's sickle and the vegetal subgerminal ooplasm is very intimate and according to CALLEBAUT *et al.* (1996 b), RAUBER's sickle seems to be homologous with the vegetal dorsalizing cells or centre of NIEUWKOOP (1973) in amphibian blastulas. At higher magnification, in the RAUBER's sickle cell mass the distinction between the exclusively toluidine blue stained ooplasmic areas (so called «yolk islands») and the surrounding RAUBER's sickle cells (Fig. 4) is clearly seen. These results are in agreement with earlier observations. First, after appropriate fixation (calcium formalin) and Unna staining we were also able to visualize the massive capture of underlying ooplasm by the encircling movement or extensions of the blastomeres in the region of RAUBER's sickle (CALLEBAUT, 1993 a).

Second, after radioactive oocytal labeling we observed in the RAUBER's sickle of unincubated blastoderms, the presence of voluminous «islands» of ooplasm still presenting an intervitelline labeling, which demonstrates their direct uptake without previous lysis by secretion (CALLEBAUT, 1994).

M. CALLEBAUT, L. VAN NASSAUW, F. HARRISSON AND A. SCHREVENS



UNINCUBATED AVIAN EGG TUBULIN

In the anti-sickle region (CALLEBAUT, 1993 b, CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1995) in the cranial part of the area pellucida (Figs 2-5) no endophyll is seen. No contact of the germ with the underlying ooplasm exists here because the subgerminal cavity extends in between. Thus In the anti-sickle region (CALLEBAUT, 1993 b, CALLEBAUT & VAN NUETEN, 1995) in the cra-

Fig. 1. – β -Tubulin immunoreactivity in a mediosagittal section through an unincubated quail blastoderm and neighbouring subgerminal ooplasm; in the central subgerminal ooplasm we see the nucleus of PANDER (NP) (PANDER, 1817).

O: ooplasm below germ wall; A: caudal,axilla shaped part of the subgerminal space; R: cranial recess of the subgerminal space (bar = 400μ m).

Fig. 2. – Section through the anti-sickle region of an unincubated quail blastoderm, immunostained for β -tubulin; below the upper layer (UL), in the subgerminal space (S) numerous loose yolk masses (Y) are seen; O: subgerminal ooplasm; Note the absence of a deep layer (endophyll): compare with Fig. 3 (bar = 30 μ m).

Fig. 3. - Higher magnification of the caudal part of Fig. 1.

A: axilla shaped caudal part of the subgerminal space (S) the arrowheads indicate the endophyll (caudal deep layer) in continuity with RAUBER's sickle (RS);

UL: upper layer;

O: Subgerminal ooplasm artificially disrupted from RAUBER's sickle by sectioning (bar = $200 \ \mu$ m).

Fig. 4. – Mediosagittal section through RAUBER's sickle (RS) localized below the upper layer (UL) at the caudal part of an unincubated quail germ. Note the uptake of a large round part of subgerminal ooplasm (O) in RAUBER's sickle; n: nuclei of blastomeres; immunostaining for β -tubulin and counterstaining with toluidine blue (bar = 30 μ m).

Fig. 5. – Higher magnification of the cranial part (anti-sickle region) of Fig. 1; R: cranial recess of the subgerminal space (S) below the upper layer (UL) of the anti-sickle region, containing loose yolk masses and some cells, as the result of the disruption of the blastoderm from the underlying ooplasm (CALLEBAUT, 1994); no endophyll is present in this region; O: subgerminal ooplasm below anti-sickle region; NP: Nucleus of PANDER (bar = $200 \ \mu m$).

Fig. 6. – Mediosagittal section through the cranial germ wall of an unincubated quail blastoderm; Four clusters of grouped chromosomes surrounded by tubulin immunoreactive threads (arrowheads) are seen in the subgerminal ooplasm (bar = 100μ m).

Fig. 7. – Low power overview of a section through the cranial germ wall (GW) at the surface of the peripheral subgerminal ooplasm (SUO) and the surrounding peri- (PEO) and paragerminal ooplasm (PAO) after β -tubulin immunostaining. On the surface of the paragerminal ooplasm a vast saturnring-shaped area presenting immunoreactivity (indicated by an arrow) is seen (bar = 400 μ m).

Fig. 8. – Mediosagittal section through the caudal rim (CA) expanding at a distance above the ooplasm behind RAUBER's sickle (R) of an unincubated quail blastoderm and its surrounding perigerminal (PEO) and paragerminal (PAO) ooplasm. On the surface of the latter paragerminal ooplasm, we see the saturn ring shaped area (arrow) presenting β -tubulin immunoreactivity (bar = 200 μ m).

Fig. 9. – Mediosagittal section through the paragerminal ooplasm (PAO) showing the whole extent of the superficial immunoreative ring with maximum staining in its middle part (arrow) (bar= $150 \mu m$).

Fig. 10. – Higher magnification of the middle part of the saturn ring shaped area of Fig. 9; immunostaining is seen between the yolk granules; neither nuclei nor chromosomes are present; PAO: paragerminal ooplasm (bar = $30 \mu m$).

M. CALLEBAUT, L. VAN NASSAUW, F. HARRISSON AND A. SCHREVENS

nial part of the area pellucida (Figs 2-5) no endophyll is seen. No contact of the germ with the underlying ooplasm exists here because the subgerminal cavity extends in between. Thus in this anti-sickle region no selectively toluidine blue stained ooplasmic «islands» surrounded by immunoreactive parts of the blastoderm could be observed. In the subgerminal ooplasm below the germ wall (both caudally and cranially), numerous peripheral subblastodermic clusters of mitotic figures (CALLEBAUT, 1994) are seen. These clusters are surrounded by intervitelline ooplasm containing numerous tubulin immunoreactive threads (Fig. 6). Very obvious and unexpected (even visible at low magnification) is the existence of a vast superficial extra-embryonic ring shaped area (saturn ring-like) of paragerminal ooplasm presenting a dense tubulin immunoreactivity, encircling the rim of the blastoderm at a large distance (Figs 7-8). On mediosagittal sections this ring is approximately 300-400 μ m large. Its borders are not sharply defined, but in its middle part it presents a maximum size of approximately 150 μ m large extending somewhat in the depth (Figs 9-10). Peripheral to the saturn ring-like region of maximum tubulin reactivity, some feeble superficial tubulin reactivity persists over a long distance in the direction of the vegetal pole.

In all directions there is always a juxtagerminal or perigerminal zone, free of tubulin reactivity between the rim of the blastoderm and the saturn ring-like area. In the latter area also the tubulin reactive ooplasmic structures are localized between the yolk spheres (Fig. 10). The ring-shaped tubulin reactive area contains yolk spheres which are smaller than in the surrounding ooplasm. Neither nuclei nor chromosomes are present in this ring or in the peri- or paragerminal ooplasm. The charcoal marks applied in vivo indicate that its localization corresponds to the place where the white halo is visible in the intact living egg, already at the cleavage stage, just peripherally to the perigerminal clear zone at the surface of the avian egg yolk (CALLEBAUT & MEEUSSEN, 1988). Previous observations on the relationship of the avian blastoderm and its subgerminal ooplasm (CALLEBAUT, 1994) and the present study, suggest that there are some homologies with the tubulin distribution in extrablastodermic structures observed in zebra fish eggs at the onset of epiboly (SOLNICA-KREZEL & DRIEVER, 1994). The saturn ring-like tubulin reactive area in the avian paragerminal zone, seems to correspond to the circular region of organizer centers from which microtubules radiate in the anuclear yolk cytoplasmic layer in Danio rerio eggs. The feeble tubulin reactivity found more peripherally in avian eggs seems to correspond to the microtubules aligned along the animal-vegetal axis in Danio rerio eggs. It is in this acellular zone, far distal to the margin of overgrowth, that penetration of albumen-derived material occurs during early avian incubation (CALLEBAUT, 1983). The syncytium of giant clusters of mitotic figures in the subgerminal ooplasm, below the germ wall of the avian blastoderm seems to correspond to the external yolk syncytial layer in the teleost egg. The chromatin granules and intervitelline material in the avian nucleus of Pander, can perhaps be considered as homologous to the elements found in the internal yolk syncytial layer, below the animal pole of Danio rerio eggs. All the described avian extrablastodermic structures can also be considered as belonging to one giant syncytial yolk cell. There is also homology between the earliest manifestation of epiboly of the teleost blastoderm (TRINKAUS, 1996) and the expansion of the rim of the avian blastoderm, before oviposition (CALLEBAUT AND MEEUSSEN, 1988). The sliding of the marginal blastoderm cells over the underlying ooplasm (Fig. 8) and the formation of part of the area opaca can also been considered as epiboly. Thus in both vertebrate groups epiboly starts before gastrulation.

UNINCUBATED AVIAN EGG TUBULIN

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Prof. Dr. L. Vakaet and Dr. Katharina D'Herde for reading of the manuscript. We thank also Mrs. Sonja Van Rompaey, Mrs Veerle Van der Stock, Mrs Emmy Van Nueten and Mr F. De Bruyn for excellent technical assistance and Miss Veerle De Maere for typing. This study is supported by grant 3.0029.93 of the Belgian National Fund for Scientific Research and a matching fund from the University Centre of Antwerp (RUCA).

REFERENCES

- CALLEBAUT, M. (1983) Autoradiographic demonstration of the penetration of albumen-derived material through the vitelline membrane into the egg yolk, exterior to the avian blastoderm. *Poultry Science*, 62: 1657-1659.
- CALLEBAUT, M. (1993 a) 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. (1993 b) Early eccentricity in gravitationally oriented quail germs. *Eur. J. Morph.*, 31: 5-8.
- CALLEBAUT, M. (1994) Relationship between the avian blastoderm and the subgerminal ooplasm. *Eur. Arch. Biol.*, 105: 111-123.
- CALLEBAUT, M. & C. MEEUSSEN (1988) The area opaca of the avian blastoderm is mainly formed by centrifugal expansion. *Med. Sci. Res.*, 16: 617-617.
- 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. Morphol.*, 33: 221-235.
- CALLEBAUT, M., E. VAN NUETEN, F. HARRISSON, A. SCHREVENS & L. VAN NASSAUW (1996 a) Interaction of the three elementary tissues (endophyll, RAUBER's sickle, upper layer) of the unincubated avian blastoderm during preneurulation and early gastrulation. *Cell Biology International*, 20(4): 314.
- CALLEBAUT, M., E. VAN NUETEN, H. BORTIER, F. HARRISSON & L. VAN NASSAUW (1996 b) Map of the Anlage fields in the avian unincubated blastoderm. *Eur. J. Morph.*, 34 (in press).
- GERHART, J., M. DANILCHIK, T. DONIACH, S. ROBERT, B. ROWNING & R. STEWART (1989) Cortical rotation of the Xenopus egg: consequences for the anteroposterior pattern of embryonic dorsal development. *Development*, 1989, Suppl. 37-51.
- GRAHAM, R. C. JR. & M. J. KARNOWSKY (1966) The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: ultrastructural cytochemistry by a new technique. J. Histochem. Cytochem., 14: 291-302.
- LENTZ, T. & J. P. TRINKAUS (1967) A fine structural study of cytodifferentiation during cleavage, blastula and gastrula stages of *Fundulus heteroclitus*. *Journal of Cell Biology*, 32: 121-138.
- NIEUWKOOP, N. (1973) The organization center of the amphibian embryo; its spatial organization and morphogenetic action. Adv. Morphogen., 10:1-39.
- OLSEN, M. & T. BYERLY (1932) Orientation of the hen's egg in the uterus and during laying. *Poultry* Sci., 11: 266-271.

SOLNICA-KREZEL, L & W DRIEVER (1994) – Microtubule arrays of the zebrafish yolk cell: organization and function during epiboly. *Development*, 120: 2443-2455.

TRINKAUS, J.P. (1984) - Mechanism of Fundulus epiboly: a current view. Amer. Zool., 24: 673-688.

TRINKAUS, J.P. (1996) - Ingression during early gastrulation of Fundulus. Dev. Biol., 177: 356-370.

- VAKAET, L. (1970) Cinephotomicrographic investigations of gastrulation in the chick blastoderm. Arch. Biol., (Liège) 81: 387-426.
- VAN NASSAUW, L., M. CALLEBAUT, F. HARRISSON, G. DANEELS & M. MOEREMANS (1989) Immunohistochemical localization of desmin in the quail ovary. Demonstration of a suspensory apparatus. *Histochemistry*, 90: 371-377.F

SHORT NOTE

BIOMETRIC STUDY OF EDWARDSIA CLAPAREDII (PANCERI) CNIDOME (ACTINIARIA: ANTHOZOA)

CHARITON CH. CHINTIROGLOU

,

Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology, Dept. Zoology Box. 134 GR-54006 Thessaloniki (Macedonia) (Greece)

Keywords: Edwardsia, Actiniaria, cnidome, biometry.

Most of the information concerning the taxonomy of the Edwarsiidae can be found in (Carlgren (2), England (7), Manuel (9) Williams (18)). A large number of the members of this family exhibit problems in their taxonomic classification (6). Of all their biometric and morphological characteristics (external morphology and histological), it appears that only enidom biometry and composition can provide satisfactory classification characteristics (7). Nevertheless, recent works have shown that enidom biometry can be influenced by body weight, resulting in a number of cases in an inability to use enidom as a diagnostic characteristic in the classification of Cnidaria (4). This paper presents the preliminary results of the biometric - allometric study of the enidom of *Edwardsia claparedii*, a characteristic Mediterranean representative of the Edwarsiidae, recently recorded for the first time in the North Aegean Sea (3).

Samples were collected from Thermaikos Gulf in the North Aegean Sea. All samples were collected from a depth of 20 m using a Van Veen sampler. Ten specimens of various sizes were preserved in 10% formalin/seawater solution. The following two morphological variables were measured for each specimen, after preservation: column height (HC, mm) and wet weight in crude units of biomass (wW). These variables were considered to reflect, with satisfactory credibility, the maturity state of the individuals, their different metabolic levels (e.g. energetic costs) or even their relative age (1, 4, 5, 6, 13). Cnidae measurements were taken on undischarged capsules of squash preparations. The terminology used was based mainly on (7).

Squash preparations, using a drop of 7.5% formalin solution, were prepared from small portions of preserved tissue (approximately 2 mm³), taken from different functional regions of the anemones' bodies, in order to identify the types of cnidae present and to measure their biometric parameters. The types of cnidae used in our comparative study were: basitrichs from tentacles and column, pterotrichs and t-mastigophores from nema-thybomes, and basitrichs, microbasic p-mastigophores and mi. amastigophores from mesenterial filaments. Forty undischarged capsules of each type were measured and their height (L) and width (W) were recorded. The ratio L/W is considered to be a significant parameter of cnidae biometry (16). This procedure was carried out for each anemone and for each examined body part (tentacles, column, nemathybomes and mesenterial fila-

ments) separately. All measurements were taken using an optical microscope (with 10 x 100 objectives) equipped with a camera lucida.

As the distribution of data was unknown, non-parametric testing was required. The presence of any relationship between anemone column height (HC, mm) and wet weight (wW) with the means of the nematocysts' length and the L/W ratio, was determined using the non-parametric test of Spearman's rank correlation coefficient, usually abbreviated as rs. This test has been frequently used, especially for small data sets (15). The sampled station belonged to the VTC biocoenosis (biocoenosis of terrigenous mud).

Tables 1 and 2 contain the results of the correlation tests between cnidae length and L/W ratio, and anemone's morphological variables (HC and wW). These are briefly summarised below.

TABLE 1

Spearman's rank correlation coefficients based on the relationship among length of cnidae and the body variables (HC=height of column and wet weight [wW] of Edwardsia claparedii [Panceri] individuals. Bold numbers: there is a positive correlation [p <0.05])

Type of cnidea	HC (mm)	wW (g) 0.6	
basitrich of tentacles	0.7		
spirocyst of tentacles	0.8	0.7	
pterotrichs of nemathybome	0.8	0.9	
t-mastig. of nemathybome	0.8	0.9	
basitrich of column	0.1	0.3	
basitrich of filaments	0.7	0.8	
p-mastig. of filaments	0.003	0.1	
micr. amastig. of filaments	0.7	0.7	

The only nematocyst types demonstrating a positive correlation with respect to body weight and column height were nematocysts of nemathybomes and microbasic amastigophores of the filaments. Spirocysts showed positive correlation only with respect to column height (rs = 0.8), whereas basitrichs of the mesenterial filaments were positively correlated only with respect to the organisms' wet weight (rs = 0.8). Similar results were obtained from the correlation of the L/W ratio with the morphological parameters of the body, however a few exceptions existed. One concerned the absence of any correlation between the L/W ratio of the basitrichs of the filaments and HC (rs = 0.7)

According to the data presented, it appears that certain nematocyst dimensions of sea anemones can be affected by various physiological conditions. Even though information about cnidogenesis is very limited (17), the existence of intraspecific variation with respect to cnidom biometry has been reported by various authors (6, 8, 13). Actinians are equipped with a wide range of cnidae which function in food capture, defense and aggres-

BIOMETRY STUDY OF EDWARDSIA CNIDOME

sion. Mariscal (10,11), Fautin (8) and Robson (13) reported that various biological factors can affect the cnidae categories found in individual actinians. Östman *et al.* (12) reported that differences in the dimensions of the nematocysts from one geographic area to another may be caused by differences in metabolism. Recently Zamponi & Acuna (19) have noted that size variation of cnidae can be employed as a tool for the determination of the cline of a given sea anemone population.

TABLE 2

Spearman's rank correlation coefficients based on the relationship among the ratio length/width (L/W) of cnidae and the body variables (HC=height of column and wet weight [wW] of Edwardsia claparedii [Panceri] individuals.

Bold numbers: there is a positive correlation (p < 0.05)

Type of cnidea	HC (mm)	wW (g)
basitrich of tentacles	0.005	0.0004
spirocyst of tentacles	0.4	0.5
pterotrichs of nemathybome	0.9	0.9
t-mastig. of nemathybome	0.7	0.7
basitrich of column	0.1	0.1
basitrich of filaments	0.7	0.8
p-mastig. of filaments	0.2	0.4
micr. amastig. of filaments	0.8	0.7

Results from the present paper indicate that for *E. claparedii* the following nematocysts must be considered as taxonomically reliable and constant : a) column basitrichs , b) tentacle basitrichs and c) mesenterial filament micr. p-mastigophores. Consequently, only these can be adequately used as diagnostic characteristics for classification, since the rest of the nematocysts, nemathybomes' pterotrichs and t-mastigophores, tentacles spirocysts, filament basitrichs and micr. amastigophores, appear to be influenced by several physiological and environmental factors. These results contradict those of England (7), who considers the nemathybome pterotrichs and t-mastigophores as significant characteristics for the classification of Edwardsiidae. Therefore it becomes obvious that the classification keys used for species determination in the Edwardsiidae family need to be reviewed under the new biometric methods based on cnidom analyses.

(Received 13 June 1995)

REFERENCES

- BOURNE, G.C. (1918) On some new Phelliinae from New Guinea. Q. Jl. Microsc. Sci., 63 (1): 31-90.
- CARLGREN, O. (1949) A survey of the Ptychodactaria, Corallimorpharia and Actiniaria. K. svenska Vetensk. Akad. Handl., 1: 1-121.

CHARITON CH. CHINTIROGLOU

- CHINTIROGLOU, Ch. and J. C. DEN HARTOG (1996) Additional records of Actiniaria (Anthozoa) from Greece. Zool. Med. Leiden 69. 353-364.
- CHINTIROGLOU, Ch. and M. SIMSIRIDOU (1996) Biometric investigations on the cnidae of the sea anemone Actinia equina mediterranea Form I sensu Schmidt, 1972. Istrael J. Zool., 42: (in press).
- 5. CRISP, D.J. (1971) Energy flow measurements. In: methods for the study of marine benthos. Ed. Holme, N.A. and McIntyre A.D., I.B.P. Handbook No 16, Oxford, 197-279.
- DOUMENC, D., CH. CHINTIROGLOU and A. FOUBERT (1989) Variabilite du genre *Telmatactis* Gravier, 1918 (Actiniaria, Acontiaria, Isophelliidae). Bull. Mus. nat. d'Hist. nat. Paris 4^e ser, 11 section A (3): 5-45.
- 7. ENGLAND, K.W. (1987) Certain Actiniaria (Cnidaria, Anthozoa) from the Red Sea and Tropical Ind-Pacific Ocean. Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool.)., 53: 205-292.
- FAUTIN, D.G. (1989) Importance of nematocysts to Actinian systematics. In: Hessinger & Lenhof., eds. The Biology of Nematocysts, Academic Press. 487-500.
- MANUEL, R.A. (1981) 18. British Anthozoa. Synopses of the British fauna, Academic Press, London, 241 pp.
- MARISCAL, R.N. (1973) The control of nematocyst discharge during feeding by sea anemones. Pub. seto Mar. Biol. Lab., Proc. Second Int. Symp. Cnidaria, 20: 695-702.
- 11. MARISCAL, R.N. (1974) Nematocysts. In L. Muscatine & H.M. Lenhoff (eds), Coelenterate Biology: Reviews and New Perspectives. Academic Press, NY: 129-178.
- ÖSTMAN, C., S. PIRAINO and I. ROCA (1987) Nematocyst comparisons between some Mediterranean and Scadinavian Campanulariids (Cnidaria, Hydrozoa). In: BOUILLON, J., BOERO, F., CICOGNAT F. & CORNELIUS, P.F.S. eds. Modern Trends in the Systematics Zoology and Evolution of Hydroids and Hydromedusae. Clarendon Press. Oxford, 299-310.
- ROBSON, E.A. (1989) Problems of supply and demand for cnidae in Anthozoa. In: HESSINGER, D.A. & LENHOFF, H.M., eds. Symposium on the Biology of Nematocysts, August 24-29, 1986, University of California.179- 207.
- 14. SHICK, J.M. (1992) A functional biology of sea anemones. Chapman & Hall., 395 p.
- 15. SIEGEL, S. (1956) Nonparametric statistics for the behavioral sciences. McGraw-Hill Kogakusha, Ltd. 312 p.
- THOMASON, C.J. (1989) The allometry of nematocysts. In: HESSINGER, D.A. & LENHOFF, H.M., eds. Symposium on the Biology of Nematocysts, August 24-29, 1986, University of California. 575-588.
- WEILL, R, (1934) Contribution a l'étude des Cnidaires et de leurs nématocystes. II : Valeur taxonomique du cnidome. Trav. St. Zool. de Wimereux, 10/11 : 1-701.
- WILLIAMS, R.B. (1981) A sea anemone, *Edwardsia meridionalis* sp. nov., from Antarctica and a preliminry revision of the genus *Edwardsia* de Quatrefages, 1841 (Coelenterata: Actiniaria). Recordos of the Australian Museum, 33(6): 325-360.
- ZAMPONI, O.M. and F. H. ACUNA (1994) La variabilidad de los cnidocistos y su importancia en la determinacion de clines. Physis (Buenos Aires), 49 (116-117): 7-18.

SHORT NOTE

MITES OF STORED CEREALS IN MID-BELGIUM: A QUALITATI-VE SURVEY

LAURENT VAN ASSELT*, JEAN CLAUDE GILSON** AND ERIC HAUBRUGE**

- * Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Département d'Entomologie, rue Vautier 29, 1000 Bruxelles (Belgium)
- ** Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Unité de Zoologie générale et appliquée, Passage des Déportés 2, B-5800 Gembloux (Belgium).

Key-words: Acari, mite, stored grain, Belgium

Several studies indicate that mite species, belonging to 36 genera and 10 families, can be found in grain silos (1, 2, 3). Four groups of mites are represented: Astigmata, Mesostigmata, Prostigmata and occasionally, Cryptostigmata (4). Species belonging to Astigmata are economically the most important since they consume human food supplies, inoculate fungi into clean food commodities and leave dead bodies and faecal pellets, making the stored food unfit for consumption. Furthermore, some species of mites commonly found in stored cereals (and also in house dust samples) are considered as a public health problem since they cause allergic reactions among sensitive people (5, 6, 7).

Mites of stored cereals and stored food products have been well studied in the world (8, 9, 10, 11, 12, 13). Nevertheless, the last survey made in Belgium was realized in 1956 (14). In order to update our knowledge in this field, we have studied populations of mites found in storage places in mid-Belgium. This study reported the occurence of some species without any precision concerning their origins.

During the month of June 1994, just before the harvesting of new cereals, 18 grain stores, chosen randomly in mid-Belgium, were visited. Samples were obtained from highly dusty places (endless screw, corner, sides, motors, etc.) located near the silos. In each place, 5 to 11 samples of 100 g of dust were taken. Samples were sieved by shaking thirty times in a 1 mm-mesh sieve and living mites were manually taken and conserved in a methanol solution. Mites were then removed, slidemounted in Hoyer medium and identified.

Table I presents localities and identities of the species found around the grain silos. The most commonly represented species (14 grain silos out of 18) is *Acarus siro* L. (Astigmata: Acaridae). *A. siro* is a cosmopolitan species, quantitatively dominant in our samples. This mite is frequently found in European grain silos and is responsible for important damage to stored grain. With its powerful chelicerae, *A. siro* rends the pericarp, penetrates into the grain and lives on germ or endosperm. In addition to the reduction of germinative quality of the grain, the presence of the mite leads to an accumulation of faecal material, exuvia and corpses, making stored products unfit for human consumption. Furthermore, *A. siro* facilitates the transfer of fungus spore in the silos. Cases of resistance to lindan, methacrifos and pirimiphos-methyl has been reported in Great-Britain (15,

L. VAN ASSELT, J. C. GILSON AND E. HAUBRUGE

16). The natural habitat of this mite seems to be the nests of small mammals (2). But the most important source of mite infections of fresh wheat could be considered as being the dust present in the uncleaned places. *A. farris* (Oudemans), a cosmopolitan species closely resembling *A. siro* (1) was not observed in this study.

TABLE I

Localities and identities of the mite species found around 18 grain silos in mid-Belgium. A.s.: Acarus siro; T.p.: Tyrophagus putrescientiae; L.d.: Lepidoglyphus destructor, C.e.: Cheyletus eruditus; T.sp.: Tarsonemus sp.; G.d.: Glycyphagus domesticus. Tot.: number of species found in each grain silos, n: number of samples.

Localities	Species					Tot.	n	
	A.s.	Т.р.	L.d.	C.e.	T.sp.	G.d.		
1. Sombreffe	_	-	_	-	-	-	0	5
2. Ambresin	+	+	-	+	-	-	3	7
3. Sombreffe	+	-	-	+	-	-	2	5
4. Thisnes	-	-	-	-	-	-	0	5
5. Hannut	+	-	-	-	-	-	1	5
6. Hammes-Mille	-	-	-	-	-	-	0	5
7. Ambresin	+	-	-	+	-	-	2	5
8. Beauchevin	+	-	+	+	-	-	3	5
9. Meeffe	+	-	-	-	-	-	1	7
10. Grand-Leez I	+	-	+	+	-	-	3	11
11. Grand-Leez II	+	+	-	+	-	-	2	5
12. Seneffe	+	-	-	-	-	-	1	7
13. Fleurus	+	-	+	+	-	+	4	6
14. Corbais	+	-	-	+	+	-	3	7
15. Genappe	+	-	-	-	-	-	1	7
16. Feluy	+	-	-	-	-	-	1	6
17. Nivelles I	-	-	+	+	-	-	2	6
18. Nivelles II	+	-	-	+	-	-	2	1

Cheyletus eruditus (Shrank) (Prostigmata: Cheyletidae) was observed in 9 of the 18 grain silos. This predatory species is associated with populations of *A. siro* and *Lepidoglyphus destructor* (Shrank). In natural conditions, their populations are not able to effectively control the presence of pest mites. *C. eruditus* is observed in great number in nests of birds.

L. destructor (Astigmata: Glycyphagidae) was present in 5 silos. It is frequently present in cereal storage and is associated with grain debris and dust (17). Damage caused by the presence of this mite is due to fungus spore propagation and to the presence of exuvia, corpses and dejections. Direct attacks on the grain seem to be rare.

Tarsonemus sp. (Prostigmata: Tarsonemidae) and Tyrophagus putrescentiae (Shrank) (Astigmata: Acaridae) are generally associated with fungi such as *Penicillium* sp. and Aspergillus sp. Their presence is linked to high humidity around the grain silos. It is

MITES OF STORED CEREALS IN MID-BELGIUM

important to note that even if *T. putrescentiae* is often considered as a fungivore, it is able to be nourished and to develop as a predator (18).

Glycyphagus domesticus (De.Geer) (Astigmata: Glycyphagidae) was found in a single location. This species is a typical fungivore (19), generally observed in humid habitats.

These six species belong to two orders and four families. Four of these six species are considered as frequently observed in British and Hungarian cereal storages (A. siro, T. putrescentiae, L. destructor, C. eruditus) and three in Polish cereal storages (A. siro, L. destructor, C. eruditus) (20). In mid-Belgium and during our sampling period, only A. siro and C. eruditus could be considered as common mites. The absence of mites from three stored places was not due to a low sample size. To explain this, we could hypothesize a recent chemical treatment, a better cleaning of the stores or the occurrence of hot dry conditions which do not favour astigmatid mites.

Most previous studies have mainly considered mites present in the grain silos and until now, little attention has been paid to mites present around stored cereals. The advantage of this study is that it highlights the presence of mite hotspots around cereal silos during the month of June. These mites could contaminate new wheat stocks collected during the month of August.

From the medical point of view, A. siro, G. domesticus, L. destructor, T. putrescentiae are able to induce allergenic reactions in sensitized healthy people (rhinitis, dermatitis, asthma). The risk is especially significant since the number of mites present in the grain storages can be elevated to several millions. Research to evaluate the degree of sensitivity of grain storage workers in Belgium to storage mites should be done. This could lead us to suggest new protection measures for the worker. Further research on the effects of Tarsonemus sp. and C. eruditus is required to evaluate their allergenic potential.

We would like to thank Prof. A. Fain for his help in systematics, Dr. P. Grootaert, Dr. G. Wauthy and two anonymous reviewers who gave a lot of useful suggestions for review of the manuscript.

(Received 28 February 1996)

REFERENCES

- 1. HUGHES, A.M. (1976) The mites of stored food and houses. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Technical bulletin n° 9, London : 400 p.
- O'CONNOR, B.M. (1979) Evolutionary origins of astigmatid mites inhabiting stored products. In: Rodriguez, J.G. (ed.) Recent advances in Acarology. Academic press, New York, Vol. 1: 273-278.
- 3. SINHA, R.N. & H.A.H. WALLACE (1966) Association of granary mites and seed-borne fungi in stored grain and outdoor and indoor habitats. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **59**(6) : 1170-1181
- ZDARKOVA, E. (1991) Stored product acarology. In : DUSBABEK & BUKVA (eds.), Modern Acarology. Academia, Prague and SPB Academic Publishing bv, The Hague, Vol. 1 : 211-218.
- 5. ANGRISANO, A., L. DI BERARDINO, A. FREGOSO, G. ZATTA, G. BAGLIANI & R. COMPOSTELLA (1990) – Dermatophagoides and storage mites: Statistical analysis of RAST results. Ann. Allergy, 64(4): 358-361.
- 6. REVSBECH, P. & M. DUENOLM (1990) Storage mite allergy among bakers. Allergy, 45(3): 204-208.

- 7. VAN HAGE-HAMSTEN, M. & S.G.O. JOHANSSON (1992) Storage mites. Exp. Appl. Acarol., 16(1-2): 117-128.
- FAIN, A. (1971) Notes sur les acariens des denrées alimentaires à Kinshasa (R. D. du Congo). Rev. Zool. Bot. Afr., 84 : 175-183.
- TSENG, Y.H. (1979) Studies on the mites infesting stored food products on Taiwan. In: Rodriguez, J.G. (ed.), Recent advances in Acarology. Academic press, New York, Vol. 1: 311-316.
- PAGLIRINI, N. (1979) Studies on the mites of stored cereals in Yugoslavia.: In: Rodriguez, J.G. (ed.), Recent advances in Acarology. Academic press, New York, Vol. 1: 305-309.
- LUNG-SHU, L. (1984) Stored grain mites in China: Their distribution and effects. In : D. A. Griffiths, and C.E. Bowman (eds.), Acarology VI. Ellis Horwood, Chichester, Vol. 2 : 1002-1005.
- 12. LOZZIA, G.C., F. OTTOBONI, I.E. RIGAMONTI & P. ROTA (1994) Hay mites in Italy. *Boll. Zool.* agr. Bachic. Ser. II, **26**(2) : 231-240.
- 13. GRIFFITHS, D.A., D.R. WILKIN, B.J. SOUTHGATE & S.M. LYNCH (1976) A survey of mites in bulk grain stored on farms in England and Wales. *Ann. Appl. Biol.*, **82**(1): 180-185.
- VAN DEN BRUEL, W.E. & D. BOLLAERT (1956) Une des principales causes de détérioration des stocks de grains: La pullulation des acariens. *Revue de l'agriculture*, 9: 304 - 315.
- 15. WILKIN, D.R. (1973) Resitance to lindane in Acarus siro from an english cheese store. J. stored Prod. Res., 9: 101 - 104.
- WILKIN, D.R. & L.M. STABLES (1985) The effects of dusts containing etrimfos, methacrifos or pirimiphos-methyl on mites in the surface layers of stored barley. *Exp. Appl. Acarol.*, 1:203-211.
- 17. SINHA, R.N. & J.T. MILLS (1968) Feeding and reproduction of the grain mite and the mushroom mite on some species of *Penicillium*. J. Econ. Ent., **61(6)** : 1548-1552.
- 18. BRUST, G.E. & G.J. HOUSE (1988) A study of *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae) as a facultative predator of southern Corn Rootworm eggs. *Exp. Appl. Acarol.*, **4** : 335-344.
- BOWMAN, C.E. (1984) Comparative enzymology of economically important astigmatid mites. In: D. A. Griffiths, and C.E. Bowman (eds.). Acarology VI. Ellis Horwood, Chichester, Vol. 2: 993-1001.
- SINHA, R.N. (1979) Role of acarina in the stored grain ecosystem. In: Rodriguez, J.G. (ed.), Recent advances in Acarology. Academic press, New York, Vol. 1 : 263-272.

NEW GUIDE FOR AUTHORS

- 1. The Belgian Journal of Zoology publishes, in English or French, original papers and notes in all fields of zoology. Reviews on topics of general interest or current importance may be considered after invitation by or agreement with the editors. Manuscripts must contain significant new findings and must not have been published elsewhere nor be simultaneously under consideration by any other journal. Single-species descriptions will not be accepted unless they have broader relevance such as implications for phylogeny or biogeography. Papers submitted in French must include English translations of the title and of the abstract.
- 2. Members of the Society, as well as non-members benefit from a waiver of page charges up to 15 printed pages. This waiver is subject to annual consideration of the Council of the Society. Additional pages are charged to authors at cost price (1300 BEF per page, incl. illustrations). Authors will receive 50 reprints free of charge. To order additional reprints, the completed order form must be returned together with the galley proofs.
- 3. Each manuscript is reviewed by at least two referees, usually one Belgian and one non-Belgian referee. After acceptance, authors remain fully responsible for their article.
- 4. Authors are requested to follow rigorously the lay-out as shown in the articles in this issue, paying particularly attention to the format of references. Papers should be written in clear, concise language and consist of an abstract (summarising 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 provide structure to the article. Author names in text citations should be in SMALL CAPITALS and in the following format: PERRIN & KOKKINN (1985) for two authors (with ampersand (&) and not «and» as previously used) or WILSON et al. (1987) for more than two authors. Consecutive references must be separated by a semicolon (;). Figures in the text are referred to by «Fig. n» or «Figs n-m». Names of species (and names of higher taxa in axonomic 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. Latin expressions (species names, e.g., et al. etc.) should be in italics.
- 5. Short notes not exceeding 4 printed pages (incl. figures) with new findings of temporary importance, comments on papers published in the journal, new records for (e.g.) the Belgian fauna, curiosa, etc. will be published in the next issue whenever possible. They should be written as continuous text without the various divisions of regular papers. 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. Reviews of books of interest to the members (max. 1 p.) are welcome.
- 6. All parts of the manuscript including text, references, tables and legends for illustrations should be type-written, double spaced (on one side of the page only) and all pages numbered. Figures, tables and legends should remain separated from the text. Scale bars should be drawn on figures where appropriate and size indicated in the legend. Three copies of text and three quality copies of figures (not exceeding the journal page size must be provided. In addition, authors are requested to provide a computer diskette with the manuscript (in WP, MSWord or RTF file, DOS or Macintosh) to allow electronic transmission with referees and authors. Please indicate on the manuscript the author e mail address for correspondence where available). Whenever possible, authors are asked to also include on the diskette(s) computer generated or scanned figures and photographs (as PICT or TIFF files with an indication of the program and system used). Indicate on the hard copy where figures and tables are to be inserted, and provide a short running title and keywords (separated by commas).
- 7. Following acceptance of the manuscript, authors must provide the originals of the figures together with the final version of the text. Photographs should be mounted and clearly labelled. Hand made drawing should be in black ink (clearly readable after reduction). All figures should be labelled in pencil on the reverse side with the number of the figure, the name of the author(s), title of the paper, number of the MS and intended degree of reduction. Photocopies of photographs or figures are not acceptable.

MEETINGS, MEMBERSHIP

The royal Belgian zoological Society organizes meetings by invitation of the members.

The contribution for members is 800 BEF. annually. For members living outside Belgium, the contribution is 900 BEF. Belgian students benifit from a contribution of 300 BEF. (foreign students, 400 BEF.). Familial contributions, comprising one subscription to the journal, are 900 BEF. Members receive the journal (two issues per year, resp. in June and December and the occasional special issues) free of charge.

The price for one volume (two issues) is 1.500 BEF.

C.C.P. 000-0049113-31, Société Royale Zoologique de Belgique, Bruxelles.

P.R. 000-0049113-31, Koninklijke Belgische Vereniging voor Dierkunde, Brussel

CONTENTS

G. SKOUFAS, M. POULICEK et C. Ch. CHINTIROGLOU: Etude préliminaire de la biométrie d' <i>Eunicella singularis</i> (Esper, 1794) (Gorgonacea, Anthozoa) à la	
mer Egée	85
Sabastino K. DA COSTA, Germain GOURÈNE et Guy G. TEUGELS: Embryologie, aspect extérieur du développement larvaire et maturité sexuelle du poisson- chat africain <i>Heterobranchus isopterus</i> (Siluroidei, Clariidae)	93
Jan SCHEIRS: <i>Pseudonapomyza hobokensis</i> sp. n. from Belgium (Diptera Agromyzidae)	111
Hendrik SEGERS, Willem H. DE SMET and Dries BONTE: Description of Lepadella deridderae deridderae n. sp., n. subsp. and L. deridderae alaskae n. sp., n. subsp. (Rotifera: Monogononta, Colurellidae)	117
Robert BOSMANS: The Genera Araeoncus Simon, Delorripis Simon and Diplocephalus Bertkau in northern Africa (Aranea: Linyphiidae: Erigoninae) studies on North African Linyphiidae VII	123
Thierry SMITH: Leptacodon dormaalensis (Mammalia, Lipotyphla), un nycti- thère primitif de la transition paléocène-éocène de Belgique	153
Marc CALLEBAUT, Luc VAN NASSAUW, Fernand HARRISSON and Anneleen SCHRE- VENS: Immunohistochemical localization of β -tubulin in the unincubated avian germ and in the peri-, para- and subgerminal ooplasm: homology with meroblastic teleost embryos	169
Short note	
Chariton Ch. CHINTIROGLOU: Biometric study of <i>Edwardsia claparedii</i> (Panceri) cnidome (Actiniaria: Anthozoa)	177
Laurent VAN ASSELT, Jean Claude GILSON and Eric HAUBRUGE: Mites of stored cereals in mid-Belgium: a qualitative survey	181

The BELGIAN JOURNAL OF ZOOLOGY is covered in Current Contents and in Science Citation index.