

Anatomie, structure et ultrastructure de la branchie d'un Mytilidae des sites hydrothermaux du Pacifique oriental

Branchie
Mytilidae
Sources hydrothermales
Gill
Mytilidae
Hydrothermal vents

Marcel Le Pennec, Anne Hily
Laboratoire de Zoologie, Université de Bretagne Occidentale, 29283 Brest Cedex.

Reçu le 17/1/84, révisé le 2/5/84, accepté le 9/5/84.

RÉSUMÉ

L'étude anatomique et histologique de la branchie d'un mytilidae profond renseigne sur le mode de fonctionnement et le rôle primordial joué par cet organe dans les activités nourricières. Le captage et le transport des particules nutritives vers les palpes labiaux sont assurés par une ciliature abondante, en rapport avec un développement extraordinaire des mucocytes.

La structure du filament branchial et l'ultrastructure des cellules qui le composent sont précisées par des observations en microscopie électronique. Ces dernières révèlent l'existence de microorganismes associés à l'épithélium branchial. Les uns, externes, sont vraisemblablement des bactéries filamenteuses et des actinomycètes. Les autres, intracellulaires, sont des bactéries Gram négatif. Leur localisation suggère une association de type symbiotique.

Oceanol. Acta, 1984, 7, 4, 517-523.

ABSTRACT

Anatomy, structure and ultrastructure of the gill of a deep sea hydrothermal vent Mytilid

Anatomical and histological studies of the gill from a deep-sea mytilid provide information on the function and important role of this organ in trophic activities. The collection and carriage of nutritive particles towards the labial palps are effected by a great number of ciliae, in association with highly-developed mucocytes.

The structure and ultrastructure of the gill filament are observed under SEM and TEM microscopes. These studies reveal the presence of numerous microorganisms. Some of them are external structures like bacterial filaments and actinomycetes. Others, intracellular, are Gram negative bacteria. Their situation suggests a symbiotic association.

Oceanol. Acta, 1984, 7, 4, 517-523.

INTRODUCTION

Lors de la découverte des communautés liées à l'hydrothermalisme, le long de la ride du Pacifique oriental, la question sur l'origine de la matière nutritive nécessaire au développement de cette biomasse a été soulevée. Actuellement, une meilleure connaissance de l'environnement particulier de cet écosystème profond et des organismes qui y vivent permet de donner des éléments de réponse.

Des analyses de fluides sortant des événements ont montré une forte concentration en bactéries capables de chimiosynthèse (Rau, Hedges, 1979; Jannasch, Wirsen, 1979; Cavanaugh *et al.*, 1981). Cette biomasse bactérienne a été longtemps considérée comme constituant la seule

source nutritionnelle pour les invertébrés (Corliss *et al.*, 1979), à tel point que ces écosystèmes ont été décrits par certains auteurs comme totalement indépendants de l'énergie solaire (Corliss, Ballard, 1977; Lutz, Hessler, 1983).

Des études plus récentes ont montré que des associations étroites existaient entre différentes populations bactériennes et les téguments de certains invertébrés dont *Alvinella pompejana* (Desbruyères *et al.*, 1983) et le mytilidae récolté (Le Pennec *et al.*, 1983). Ce dernier, en cours de description par une équipe américaine, serait dénommé *Bathymodiolus*. Ces associations pouvant être intratissulaires comme chez *Riftia pachyptila* (Pogonophore Vestimentifère), *Calyptogena magnifica* (Bivalve Vesicomidae : Cavanaugh *et al.*, 1981) et le

mytilidae (Le Pennec, Prieur, sous presse). Jusqu'à présent, le rôle possible des microorganismes dans la nutrition de ces invertébrés, bien que fort probable, n'a pas été démontré.

Enfin, d'autres travaux consacrés à l'observation du tractus digestif de ce mytilidae ont fourni des résultats surprenants (Le Pennec, Prieur, sous presse). Étant donné la composition du bol alimentaire riche en bactéries, mais aussi en débris divers : frustules de diatomées, tests d'invertébrés benthiques ou pélagiques, les auteurs ont conclu à l'existence d'un régime alimentaire mixotrophe. Cependant, la part respective des différentes sources trophiques utilisées par ces mytilidae n'a pas été quantifiée.

D'après ces résultats, on peut concevoir que chez les bivalves hydrothermaux le rôle nourricier de la branchie se réalise de deux façons :

- en captant les particules nutritives qui pénètrent dans la cavité palléale et en assurant leur transit jusqu'aux palpes labiaux qui les conduisent ensuite vers la bouche ou les rejettent sous forme de pseudo-fécès;
- par une association de type symbiotique avec des microorganismes procaryotiques. Ce qui implique une modification structurale ou ultrastructurale des cellules de l'épithélium branchial et nous a conduit à entreprendre une étude détaillée de l'organe cténidial.

Jusqu'à présent, deux espèces de bivalves découverts à proximité immédiate des événements hydrothermaux, ont été étudiées. Chez *Calyptogena magnifica* seule l'anatomie de la branchie a été décrite par Boss et Turner (1980), tandis que chez les mytilidae de grande taille, des travaux préliminaires ont montré l'existence de microorganismes à la surface des filaments branchiaux (Le Pennec *et al.*, 1983) et dans les cellules épithéliales (Le Pennec, Prieur, sous presse).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Lors de la campagne « Biocytherm », organisée par le CNEOX (Centre National pour l'Exploitation des Océans) en mars 1982 sur la dorsale du Pacifique oriental, des exemplaires d'un mytilidae ont été prélevés par le submersible Cyana, par 2 620 m, au 12°59'N et 103°56'W (Desbruyères *et al.*, 1982).

Dès leur remontée sur le navire, les échantillons ont été fixés dans du formol salé à 5%, puis conservés dans l'éthanol à 70°. Bien que cette fixation ne soit pas adéquate pour les travaux d'histologie et de cytologie, elle permet cependant la révélation de nombreux caractères ultrastructuraux.

Les prélèvements de branchie ont été étudiés à la loupe binoculaire, au microscope électronique à balayage (après passage éthanol-point critique) et au microscope électronique à transmission (après inclusion dans le Spurr et coupes à l'ultramicrotome).

Les mesures de surface de la branchie ont été effectuées à l'analyseur d'images Optomax. Cet appareil permet de calculer des surfaces non géométriques, par détection de différences de contraste.

RÉSULTATS

Présente de chaque côté du corps, la branchie est constituée de deux lames externe et interne (figure).

En section transversale, les deux branchies figurent un W.

Chaque lame est à son tour formée d'un feuillet descendant (ou interne, ou direct) en regard du pied, et d'un feuillet ascendant (ou externe, ou réfléchi) situé du côté du manteau.

Les feuilletts descendants sont directement soudés à la masse viscérale par toute leur base membraneuse ou axe branchial, tandis que les feuilletts ascendants sont reliés à cet axe par d'étroits ponts membraneux. C'est dans l'axe branchial que se trouvent les troncs vasculaires afférent et éfférent et les principaux muscles assurant les mouvements branchiaux.

Les feuilletts ascendant et descendant de chaque lame sont sensiblement d'égale longueur, mais il y a des variations selon les individus. Le volume d'un même feuillet diminue progressivement en gagnant les régions antérieure et postérieure du corps.

Les deux feuilletts de chaque lame sont séparés l'un de l'autre par une étroite cavité interfoliaire qui s'étend sur la moitié environ de la hauteur des feuilletts. Un septum interfoliaire occupe la région terminale.

L'élément de base de la branchie est le filament. Tous les filaments branchiaux sont disposés en séries unifor-

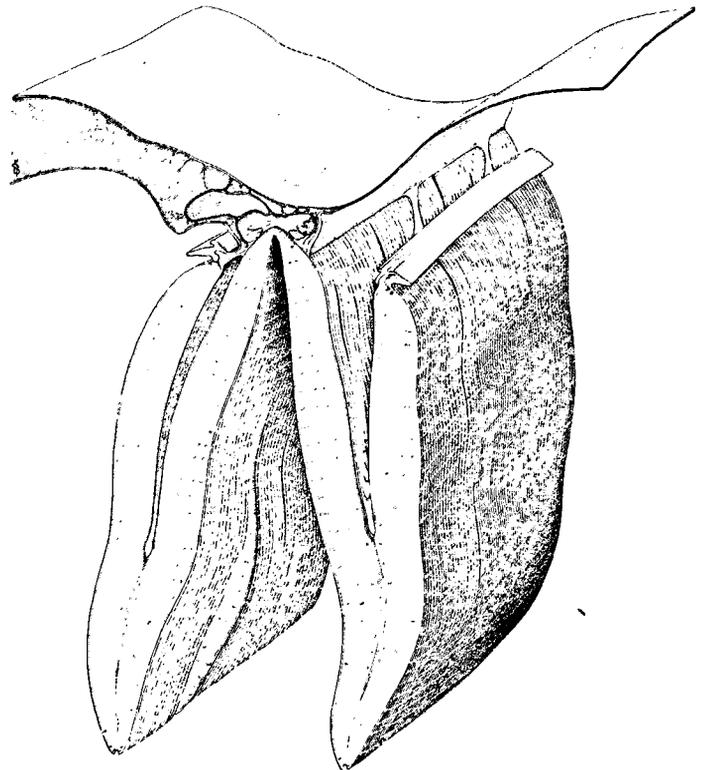


Figure
Représentation transversale schématique de la branchie.
Schematic transverse representation of the gill.

Planche I

Différents modes de réunion des filaments branchiaux :

1, cils; 2, raquettes; 3, plaquette (p) près de la gouttière alimentaire (ga).

● Ciliature de l'épithélium branchial : 4; cils latéraux (cl); latéro-frontaux (clf); frontaux (cf); balles de mucus (m).

● Gouttière alimentaire (ga) à l'apex des filaments branchiaux bordée de nombreux mucocytes déchargeant leur sécrétion (m) : 5.

● Épithélium pavimenteux des filaments branchiaux : 6.

● Coupes semi-fines de l'apex d'un filament branchial : 7, 8; cils (c); bactéries (b); mucocytes (mu); membrane basale (mb); endothélium (e).

Different types of connection of gill filaments:

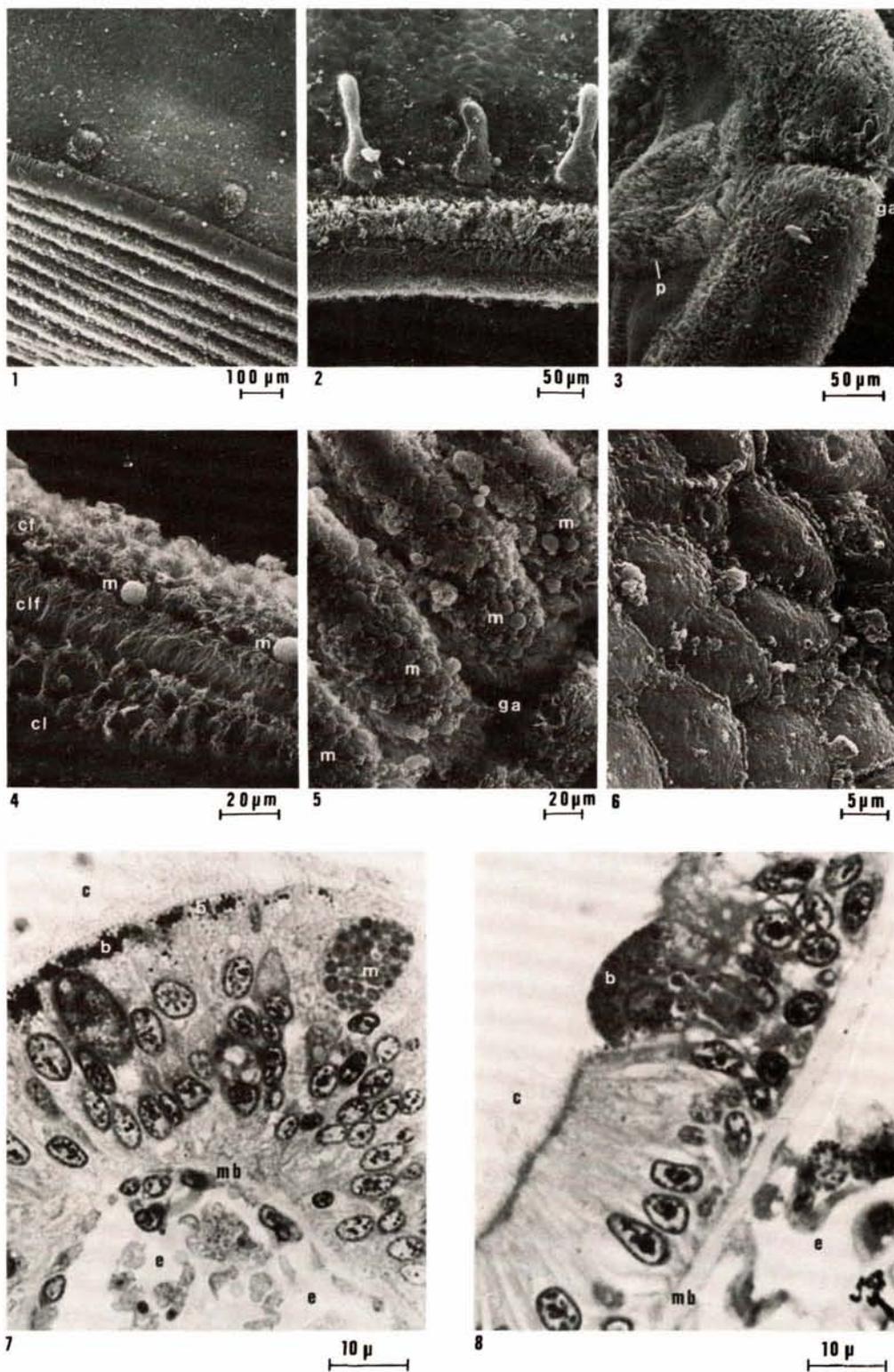
1, ciliae; 2, racquets; 3, plaquette (p) near the alimentary groove (ga).

● Ciliature of the branchial epithelium: 4; lateral ciliae (cl), fronto-lateral ciliae (clf); frontal ciliae (cf); mucocytes (m).

● Alimentary groove at the top of the gill filaments with many mucocytes (m) on the edge: 5.

● Pavimental epithelium of the gill filaments: 6.

● Thin sections of the apex of a gill filament: 7, 8; ciliae (c); bacteria (b); mucocytes (mu); basal membrane (mb); endothelium (e).



mes, tous parallèles entre eux. Ils sont tous bâtis sur le même type. Seules leurs dimensions sont différentes. Ils caractérisent une branche de type homorhabdique.

Les filaments adjacents sont unis entre eux par des brosses ciliaires qui s'imbriquent étroitement (planche I, 1). Ces dernières sont disposées en disques répartis en différents endroits (planche I, 1), en raquettes présentes surtout sur les bords (planche I, 2) et en plaquettes rectangulaires disposées uniquement à l'apex de chaque filament (planche I, 3).

Les bords latéraux et frontaux des filaments branchiaux sont pourvus de cils dont les battements créent des

courants permettant de véhiculer les particules entrant dans la cavité palléale.

La ciliature consiste essentiellement en cils latéraux implantés sur tout le pourtour des filaments. Ils sont à l'origine du courant inhalant. Plus latéralement, se trouvent les cils latéro-frontaux et les cils frontaux qui sont convoyeurs de nourriture et de mucus (planche I, 4).

Sur le bord marginal des lames, existe une gouttière alimentaire qui parcourt toute la longueur de la branche (planche I, 5). A la base, un profond sillon alimentaire parcourt aussi toute la longueur des lames branchiales (figure).

Les mouvements relatifs des lames, en liaison avec les battements ciliaires, permettent la circulation des particules nutritives, notamment dans les sillons alimentaires basaux. Un film de mucus élaboré par les nombreux mucocytes des régions frontales des filaments favorisent l'acheminement des proies vers les palpes labiaux.

Les cellules épithéliales des filaments branchiaux ont un pôle apical de forme hexagonale (planche I, 6). Hautes de 3 µm environ elles mesurent de 10 à 15 µm de large.

Des coupes histologiques semi-fines montrent que ces cellules reposent sur une membrane basale relativement épaisse. Leur noyau ovoïde est situé généralement dans

la partie basale. Leur cytoplasme est granuleux et vacuolisé (planche I, 7, 8).

Au-dessous de la membrane basale se trouve un tissu conjonctif renfermant des amœbocytes.

Au pôle apical des cellules épithéliales, immédiatement sous la membrane cytoplasmique, on observe de nombreuses granulations révélées par la microscopie électronique à transmission comme étant des cellules procaryotiques. De place en place des cellules en dôme jalonnent cet épithélium. Il s'agit de grosses cellules trapues, chargées de bactéries (planche I, 7, 8).

A l'apex des filaments branchiaux les mucocytes sont nombreux et actifs (planche I, 7; planche II, 1).

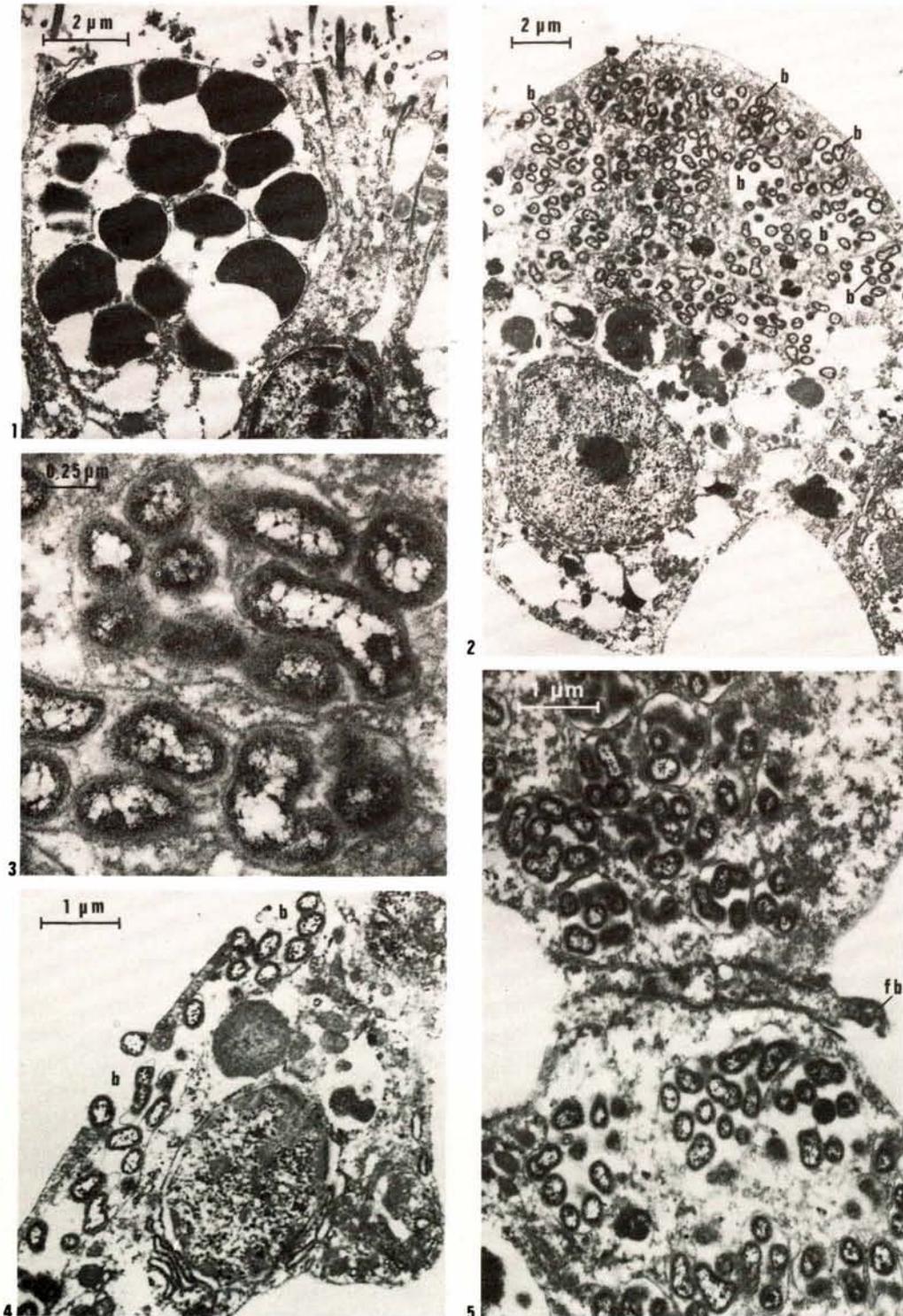


Planche II
 Mucocyte à l'apex d'un filament branchial : 1.
 Cellule en dôme renfermant de nombreuses « poches » à bactéries (b) : 2.
 Bactéries Gram négatif : 3.
 Cellule épithéliale présentant en surface des cratères remplis des bactéries (b) : 4.
 Jonctions intercellulaires et sortie de « filaments bactériens » (fb) : 5.
 Mucocyte at the top of a gill filament: 1.
 Dome cell containing many bacteria (b): 2.
 Gram negative bacteria: 3.
 Epithelial cell showing at the surface some craters filled up with bacteria (b): 4.
 Intercellular junctions with "bacterial filaments" (fb): 5.

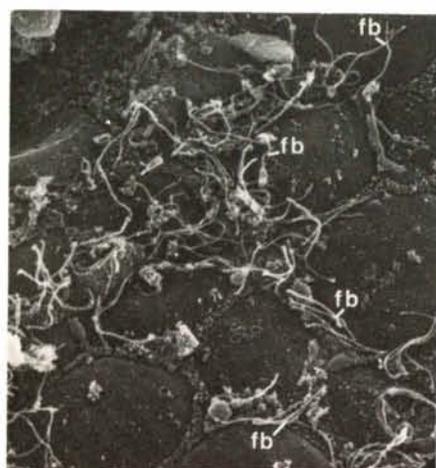
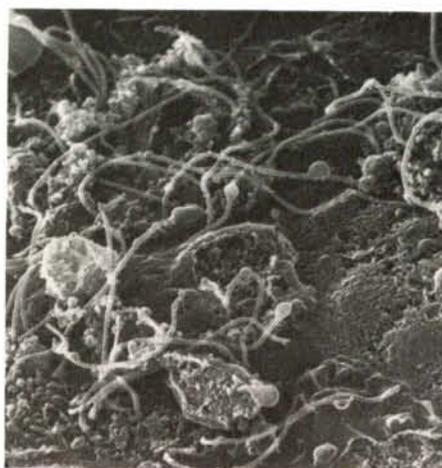
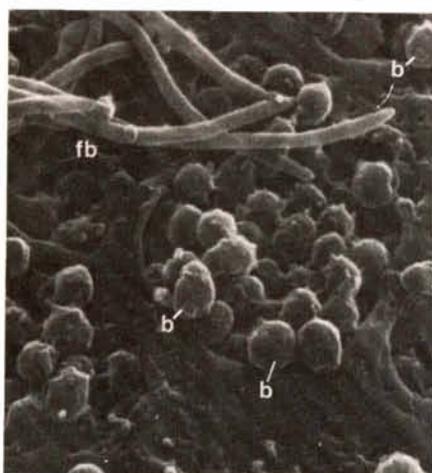
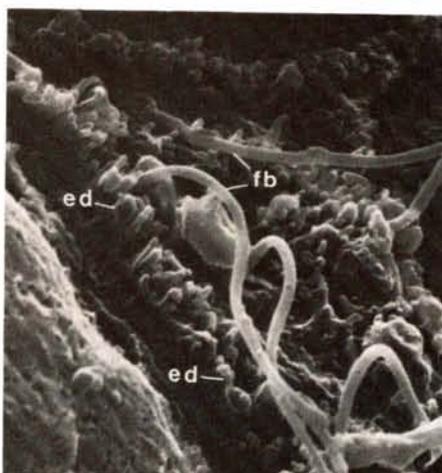
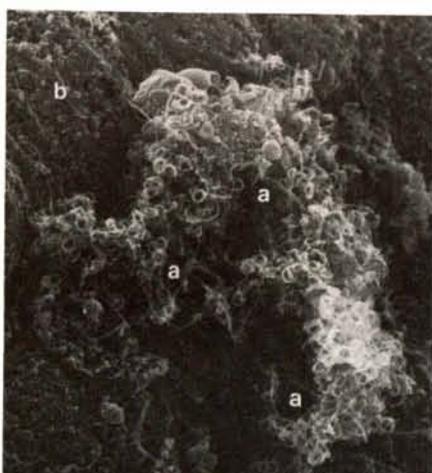
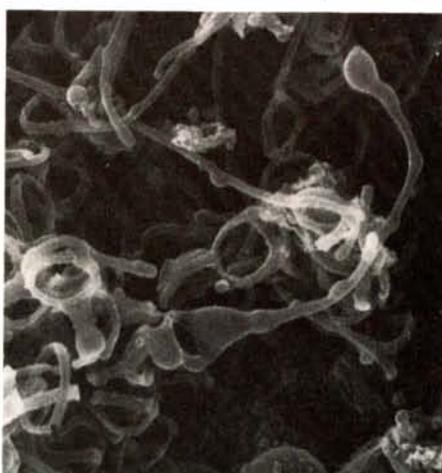
1 5 μm2 2 μm3 1 μm4 1 μm5 5 μm6 1 μm

Planche III

Épithélium branchial présentant des « filaments bactériens » (fb) : 1, 2; des bactéries Gram négatif (b) : 3; des expansions digitiformes (ed), des « filaments bactériens » (fb) et des actinomycètes (?) (a) : 5, 6.

Gill epithelium with bacterial filaments (fb): 1, 2; *Gram negative bacteria* (b): 3; *Finger-like expansions* (ed) and *bacterial filaments* (fb) and possibly *Actinomycete-like microorganisms* (a): 5, 6.

Observées au microscope électronique à transmission, les cellules en dôme présentent une abondance de corpuscules rassemblés en petits groupes pouvant atteindre une dizaine d'unités, ils sont surtout répartis au pôle apical des cellules (planche II, 2, 5). Une observation à un plus fort grossissement renseigne sur la nature procaryotique de ces organismes (planche II, 3). Il s'agit de bactéries Gram négatif.

Il existe à la périphérie de ces groupements de bactéries de nombreuses vacuoles remplies d'un matériel granu-

laire dont l'origine est peut-être en rapport avec l'activité bactérienne ou celle d'une phagocytose de ces bactéries par la cellule hôte (planche II, 2).

Le plus souvent les bactéries occupent une étroite bande au pôle apical cellulaire. Cependant, il arrive aussi que ces bactéries soient visibles à la surface de l'épithélium filamentaire. Elles se disposent alors au fond de petits cratères. Il est vraisemblable que les poches qui les renferment viennent crever au pôle apical des cellules épithéliales, libérant ainsi leur contenu bactérien (planche II, 4; planche III, 3).

Un autre fait remarquable est l'espace qui existe entre les cellules épithéliales voisines. Ce vaste espace intercellulaire est visible aux microscopes électroniques à transmission (planche II, 5) et à balayage (planche III, 1, 3). Rappelons que la fixation au formol salé peut entraîner des déformations cellulaires et que cet espace est peut-être, en partie, artéfactuel.

Au microscope électronique à transmission, les espaces intercellulaires apparaissent larges de 1 µm environ. Des prolongements digitiformes quittent ces régions intercellulaires du côté externe de l'épithélium branchial.

Une observation au microscope électronique à balayage montre que les prolongements digitiformes sont présents sur tout le pourtour des cellules. Ils mesurent au maximum 1 µm de haut. Ces évaginations sont problématiques.

De place en place, dans l'espace intercellulaire, des filaments longs de 10 à 20 µm maximum pour un diamètre de 0,5 µm rappellent par leur morphologie les bactéries filamenteuses (planche III, 1, 2, 3, 4). Aucune constriction n'est visible extérieurement sur ces filaments bactériens qui présentent accessoirement sur leur trajet des protubérances plus ou moins développées (planche III, 2). Ces organismes se retrouvent sur toute la branchie.

Plus rarement, on observe d'autres filaments, différents des précédents par des dimensions plus faibles, 10 µm de long au maximum pour 0,2 µm de diamètre, et par une morphologie plus tourmentée (planche III, 5, 6). Ils sont fréquemment enroulés en spirale ou en anneaux et leur paroi présente des dilatations de différents volumes. On les rencontre surtout près des disques de jonction interfilamentaires et près de la bordure ciliée. Leur morphologie permettrait de les rapporter de façon provisoire aux actinomycètes.

Le rapport pondéral de la branchie par rapport aux autres tissus est très élevé. Il est de 29,7% en poids alcoolique et de 23,5% en poids sec pour des individus en phase de reproduction. A titre de comparaison, ce rapport est de 6,5% en poids alcoolique et de 5,2% en poids sec chez *Mytilus edulis* en phase de reproduction, c'est-à-dire 4 à 5 fois moins que chez ce mytilidae profond (Le Pennec *et al.*, 1983).

La surface développée par les 4 lames branchiales a été calculée à l'analyseur d'images sur un exemplaire de longueur de coquille égale à 11 cm. Chaque demie branchie (droite et gauche) possède 522 filaments répartis sur une longueur de 9 cm, et possède une surface de 424 cm². La surface totale de l'épithélium branchial est de 828 cm². Par comparaison un exemplaire du mytilidae littoral *Modiolus barbatus* ayant une coquille de 7 cm possède une branchie de 5,7 cm de long. Chaque demi-branchie est composée de 751 filaments développant une surface épithéliale de 44,50 cm². La surface totale est dans ce cas de 89 cm².

La surface de la branchie du mytilidae profond est donc d'environ six fois supérieure à celle du mytilidae littoral.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

La simple observation macroscopique de la branchie permet de se rendre compte du volume extraordinaire de cet organe. La comparaison avec ce dernier chez des mytilidae littoraux (*Mytilus edulis* et *Modiolus barbatus*) est instructive et soulève immédiatement le problème des relations possibles entre le développement de cet organe et l'environnement physico-chimique particulier de l'écosystème profond où vivent ces mytilidae géants.

Grâce aux observations histologiques effectuées sur le tractus digestif on sait désormais que le régime alimentaire de ce mytilidae profond est mixotrophe. Cependant, si le flux particulaire en provenance des couches océaniques superficielles semble important en regard de la quantité de débris divers d'origine planctonique trouvés dans le tractus digestif, il semble que le rôle nourricier de la branchie soit loin d'être secondaire.

L'étude anatomique et histologique révèle des larges filaments branchiaux munis d'une ciliature latérale abondante et d'une gouttière marginale apicale qui, bien que plus restreinte que chez les mytilidae littoraux, n'en est pas moins bordée d'une quantité extraordinaire de mucocytes. Ce qui laisse supposer qu'un courant provoqué et entretenu par les battements ciliaires permet le transit de particules enrobées par du mucus vers ces organes de transfert de la nourriture que sont les palpes labiaux. Il semble cependant que l'essentiel du flux trophique circule à la base de la branchie au niveau du sillon alimentaire qui est d'une grande capacité. En effet, c'est à cet endroit que parvient la majorité des particules de toutes sortes captées par la branchie, comme le confirme une simple observation à la loupe binoculaire. Le sillon alimentaire apparaît engorgé de particules diverses (dont des composants sulfurés) plus ou moins noyées dans du mucus.

Enfin, il ne faut pas oublier que des particules nutritives de petite taille peuvent être absorbées au niveau de l'épithélium branchial grâce à des phénomènes de pinocytose. La surface extraordinaire des filaments branchiaux est peut-être en liaison avec ce mode d'absorption.

Cependant, le fait le plus remarquable est la découverte de microorganismes associés à l'épithélium branchial. Si de telles associations sont connues chez les invertébrés marins et notamment les éponges (Vacelet, Donadey, 1977), en revanche elles sont rares chez les mollusques bivalves (Henry *et al.*, 1981). Ces derniers auteurs ont mis en évidence des microorganismes de type bactérien chez un bivalve littoral *Cerastoderma glaucum*, sans pouvoir conclure s'il s'agissait d'une symbiose de type mutualiste ou d'un état d'équilibre précaire entre l'invertébré et les bactéries pathogènes. Ces bactéries étant capables d'entraîner la mort de leur hôte au cas où cet équilibre serait rompu.

Dans le cas du mytilidae profond, il semble qu'il s'agisse d'une association symbiotique. En effet, chez *Riftia pachyptila* (Pogonophore), Felbeck (1981), Felbeck *et al.* (1981), Cavanaugh *et al.* (1981) ont montré qu'il

existait une activité élevée des enzymes du cycle de Calvin-Benson intervenant dans la fixation du CO₂ en relation avec les organismes procaryotes. Ces microorganismes chemoautotrophes symbiontes seraient capables de produire de l'ATP grâce à l'oxydation des sulfures présents en grande quantité dans le milieu et la réduction du gaz carbonique en matière organique. Ces auteurs pensent que de telles associations symbiotiques peuvent exister chez d'autres invertébrés hydrothermaux.

Seules de nouvelles études histologiques et enzymatiques seraient susceptibles de fournir des arguments permettant de conforter cette hypothèse.

Remerciements

Nous remercions vivement Michel Salaun pour la réalisation du dessin de la branchie, Alain Le Mercier pour sa collaboration aux travaux photographiques et à l'analyseur d'images, Gérard Sinquin pour son aide en microscopie électronique à balayage, Jean-Pierre Gourret pour la détermination des bactéries en microscopie électronique à transmission et le CNEXO pour l'aide matérielle et financière fournie dans le cadre du contrat N° 83/7124.

RÉFÉRENCES

- Boss K. J., Turner R. D., 1980. The giant white clam from the Galapagos rift, *Calypptogena magnifica* species novum, *Malacologia*, **20**, 161-194.
- Cavanaugh C. M., Gardiner S. L., Jones M. L., Jannasch H. W., Waterbury J. B., 1981. Prokaryotic cells in the hydrothermal vent tube worm *Riftia pachyptila* Jones: possible chemoautotrophic symbionts, *Science*, **213**, 340-342.
- Corliss J. B., Ballard D., 1977. Oases of life in the cold abyss, *Nat. Geogr. Mag.*, **152**, 441-453.
- Corliss J. B., Dymond J., Gordon L. I., Edmond J. M., von Herzen R. P., Ballard R. D., Green K., Williams D., Baimbridge A., Crane K., Van Andel T. H., 1979. Submarine thermal springs on the Galapagos rift, *Science*, **203**, 1073-1083.
- Desbruyères D., Crassous P., Grassle J., Khripounoff A., Reyss D., Rio M., Van Praët M., 1982. Données écologiques sur un nouveau site d'hydrothermalisme actif de la ride du Pacifique oriental, *C. R. Acad. Sci. Paris*, **295**, 489-494.
- Desbruyères D., Gaill F., Laubier L., Prieur D., Rau G. H., 1983. Unusual nutrition of the Pompei worm" *Alvinella pompejana* (Polychaetous Annelid) from a hydrothermal vent environment: SEM, TEM, ¹³C and ¹⁵N evidence, *Mar. Biol.*, **75**, 201-205.
- Felbeck H., 1981. Chemoautotrophic potential of the hydrothermal vent tube worm *Riftia pachyptila* Jones (Vestimentifera), *Science*, **13**, 336-338.
- Felbeck H., Childress J. J., Somero G. N., 1981. Calvin-Benson cycle and sulphide oxidation enzymes in animals from sulphide rich habitats, *Nature*, **293**, 291-293.
- Henry M., Vicente N., Cornet C., 1981. Analyse ultrastructurale du filament branchial d'un mollusque bivalve *Cerastoderma glaucum* Poiret 1789. Association particulière avec des microorganismes, *Haliotis*, **11**, 101-114.
- Jannasch H. W., Wirsen C. O., 1979. Chemosynthetic primary production at East Pacific sea-floor spreading center, *Bio-Science*, **29**, 592-598.
- Le Pennec M., Prieur D., 1984. Observations préliminaires sur la nutrition d'un mytilidae originaire d'un site d'hydrothermalisme actif de la ride du Pacifique oriental. *C. R. Acad. Sci. Paris* (sous presse).
- Le Pennec M., Lucas A., Petit H., 1983. Études préliminaires sur un mytilidae des sources hydrothermales du Pacifique, *Haliotis*, **13**, 14 p.
- Lutz R. A., Hessler R. R., 1983. Life without sunlight. Biological communities of deep-sea hydrothermal vents, *The Science Teacher*, **50**, 22-29.
- Rau G. H., Hedges J. I., 1979. Carbon-13 depletion in a hydrothermal vent mussel: suggestion of a chemosynthetic food source, *Science*, **203**, 648-649.
- Vacelet J., Donadey C., 1977. Electron microscope study of the association between some sponges and bacteria. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **30**, 301-314.