

Le cas original d'une diatomée sigmoïde présentant des caractéristiques ultrastructurales à l'interface entre les genres *Gyrosigma* et *Haslea*

Guillaume MASSE^{ab}, Michel POULIN^a, Simon T. BELT^a, Yves RINCE^b, Jean-Michel ROBERT^b and Steve J. ROWLAND^a

^a Petroleum and Environmental Geochemistry Group, Department of Environmental Sciences, University of Plymouth, Drake Circus, Plymouth, Devon PL4 8AA, Royaume-Uni

^b Laboratoire de Biologie Marine, ISOMer, Université de Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes Cedex 3, France

^c Research Division, Canadian Museum of Nature, P.O. Box 3443, Station D, Ottawa, Ontario K1P 6P4, Canada

Introduction

Cleve, en 1894, rapporta le premier que des taxons appartenant au groupe des *Naviculales orthostichae* présentaient des similarités avec des espèces du genre *Gyrosigma*. Schrader (1973) nota lui aussi les similitudes de leurs nodules centraux alors que Cox (1977, 1979) confirme la présence de barres centrales des deux côtés de la fente du raphé chez *Haslea*, un caractère présent aussi chez les espèces des genres *Gyrosigma*/*Pleurosigma*. Robert & Prat (1973) et plus tard von Stosch (1985) ont complété la somme des connaissances sur le genre *Haslea* en mettant en évidence la présence de bandes longitudinales sur la face externe de la valve. Plus récemment, Massé et al. (soumis) ont confirmé la présence de ces bandes longitudinales chez 4 espèces du genre *Haslea* et les ont considérées comme un caractère générique.

Des échantillons de sédiment collectés dans la baie de Bourgneuf, France, contiennent des diatomées très particulières qui présentent des caractères morphologiques les rattachant à la fois aux genres *Haslea* et *Gyrosigma*. Si nos observations avaient été effectuées uniquement en microscopie optique (MO), nous aurions conclu d'après le contour sigmoïde et la striation des valves que ces spécimens appartenaient au genre *Gyrosigma*. Cependant nos observations en microscopie électronique (MEB) ont révélé de nombreuses caractéristiques ultrastructurales propres au genre *Haslea*. Nous présentons donc ici de plusieurs illustrations obtenues à la fois en microscopie optique et électronique qui confirment ce que nous avons observé et comparons nos spécimens avec des taxons proches afin de pouvoir les placer dans un des deux genres.

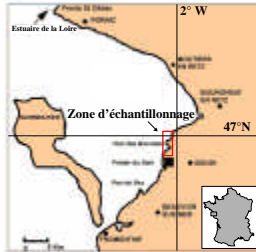


Figure 1: Localisation de la zone d'échantillonnage

Matériel et Méthodes

Des vasières intertidales de la baie de Bourgneuf (France, Fig. 1), ont été échantillonnées afin d'isoler des diatomées produisant des Hydrocarbures Hautement Ramifiés (HHB) dans le but de caractériser les organismes producteurs de ces molécules abondantes dans les sédiments.

De petites quantités de sédiments prises dans le centimètre superficiel ont été collectées au moyen d'une seringue stérile et placées immédiatement à l'obscurité dans une glacière. Différentes espèces de diatomées ont été ensuite isolées sous microscope inversé et mises en culture dans des fioles Erlenmeyer de 250ml contenant 150ml de milieu F/2 (Guillard, 1975) en conditions contrôlées (T : 14°C; L/D : 14/10h; 100 µmol.photon.m⁻².s⁻¹)

Pour l'observation microscopique, les cellules ont été nettoyées suivant le protocole décrit par Hendey (1974). Des montages permanents ont ensuite été réalisés en utilisant une résine Hyrax et observés en MO. Quelques gouttes contenant des frustules nettoyées ont été déposées sur des plots en aluminium, séchées à l'air et recouvertes d'une couche d'or/palladium pour les observations en MEB. Des coupes transapicales (250-500 nm) ont été aussi préparées après le protocole décrit par Nassiri et al. (1998) et déposées sur une lamelle en verre pour des observations au MEB.

Résultats

Les cellules vivantes sont faiblement silicifiées avec deux chloroplastes allongés reposant le long de chaque charge (Planche I, fig. A). Les valves, sigmoïdes, peuvent être décrites comme linéaires à très légèrement linéaires-lancolés, ressemblant à un parallélogramme avec deux marges opposées presque droites et les deux autres légèrement convexes ; longueur : 131-132 µm, largeur : 15,5-16,5 µm. Les apex sont sub-aigus à sub-rostrés.

Le sternum raphéen est central et droit sur la majeure partie de la valve, s'incurvant légèrement du côté convexe de la valve près des pôles (Planche I, fig. B). Une côte axiale très développée et légèrement indentée au centre de la valve recouvre le sternum raphéen excepté au centre et près des pôles (Planche I, fig. B; Planche II, figs. D-F; Planche III, figs. A-C). Sur la face interne de la valve, les terminaisons proximales du raphé sont très proches l'une de l'autre, séparées d'une distance inférieure à 1 µm (Planche II, figs. E, F), alors qu'aux apex, elles se terminent en une petite hélicotigesse (Planche II, fig. D). On observe, au centre, à l'opposé de la côte axiale, une étroite et courte barre centrale (Planche II, figs. E, F; Planche III, fig. A). Chez certains spécimens, sur la barre centrale, on observe 2 courtes excroissances de silice orientées transapicalement (Planche II, fig. F). Ces structures semblent être une reminiscence du pseudostaurus observé chez certaines espèces d'*Haslea* (Planche VI, fig. F). Sur la face externe de la valve, les extrémités proximales du raphé sont légèrement incurvées et se croisent de façon sigmoïde (Planche II, fig. C), alors que les extrémités distales se terminent en formant une bifurcation en forme de T (Planche II, fig. B) juste avant l'aire terminale très développée.

L'ornementation de la valve est difficile à résoudre en MO, seules les stries transapicales, parallèles sont visibles (Planche I, fig. B). Au MEB, sur la face interne de la valve, la striation est constituée de lignes d'aréoles, parallèles et orientées transapicalement (23-25/10 µm) se croisant à angle droit avec des stries longitudinales (31-33/10 µm); les aréoles sont de forme quadrangulaire à rectangulaire sur la plupart de la surface valvulaire excepté près des pôles où elles sont circulaires (Planche II, figs. E, F). La surface externe de la valve est composée de bandes de silice longitudinales, continues et parallèles séparées par des fentes droites et étroites (Planche III, figs. B, C) se joignant à une strie périphérique près des pôles (Planche II, fig. B).

Les coupes transapicales de notre diatomée sigmoïde révèlent une organisation particulière des structures associées au raphé. Sur la partie la plus large de l'aire axiale, entre la fissure du raphé et la première fente, on peut voir une crevasse incomplètement perforée qui est plus étroite que la strie longitudinale (flèche rouge, Planche III, fig. A). A l'intérieur, une côte axiale très développée d'un seul côté surplombe le sternum raphéen (flèche verte, Planche III, fig. A). La fissure interne du raphé s'ouvre latéralement sur une ride (flèche jaune, Planche III, fig. A). En face de la côte axiale, bordant le sternum raphéen, on observe une légère déviation correspondant à la barre centrale des figures E & F de la Planche II.



Planche I : Figs. A, B : *Haslea* sp. (sigmoïde) en MO. A : Cellule vivante montrant deux chloroplastes allongés. B : Frustule nettoyé. Barres d'échelle = 10 µm.

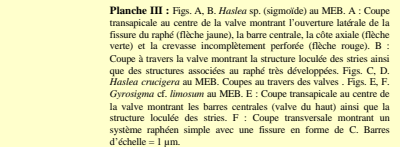
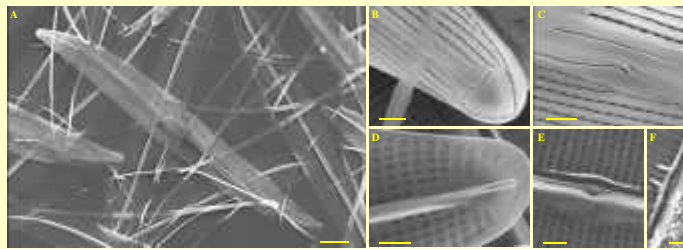


Planche III : Figs. A, B : *Haslea* sp. (sigmoïde) au MEB. A : Coupe transapicale au centre de la valve montrant l'ouverture latérale de la fissure du raphé (flèche jaune), la barre centrale, la côte axiale (flèche verte) et la crevasse incomplètement perforée (flèche rouge). B : Coupe à travers la valve montrant la structure localisée des stries ainsi que des structures associées au raphé très développées. Figs. C, D : *Haslea crucigera* au MEB. Coupes au travers des valves. Figs. E, F : *Gyrosigma cf. limosum* au MEB. E : Coupe transapicale au centre de la valve montrant les barres centrales (valve du haut) ainsi que la structure localisée des stries. F : Coupe transversale montrant un système raphéen simple avec une fissure en forme de C. Barres d'échelle = 1 µm.

Planche II : Figs. A-F : *Haslea* sp. (sigmoïde) au MEB. A : Vue externe de la valve en son entier. B : Vue externe de l'apex montrant l'aire terminale caractéristique, la terminaison distale en forme de T et les fentes longitudinales. C : Terminaison proximale du raphé en vue externe. D : Vue interne de l'apex montrant la côte axiale s'atténuant avant le pôle et l'hélicotigesse. E : Vue interne du centre avec les branches proximales du raphé bordées par la côte axiale d'un côté et par la barre centrale de l'autre. F : Barre centrale avec 2 petites excroissances transapicales. Barres d'échelle = 10 µm (fig. A), 1 µm (figs. B-F).

Discussion

Le genre *Haslea*, défini par Simonsen en 1974, est principalement caractérisé par des marges convexes rarement parallèles, des apex aigus, un raphé droit aux terminaisons centrales peu développées, des aires (centrale, axiale, terminales) réduites voire absentes et une striation composée par des aréoles disposées transapicalement, se croisant à angle droit avec des stries longitudinales. D'un autre côté, et en plus, la présence sur la face externe, d'étranges fentes parallèles se joignant près des pôles à une fente périphérique est une structure unique, observée à ce jour uniquement chez *Haslea* (Planche IV, figs. C, D) (Cox 1979, von Stosch 1985, Massé et al. Soumis). Chez les espèces du genre *Gyrosigma*, chaque aréole s'ouvre sur la face externe par un foramen allongé qui n'est jamais fusionné avec ceux qui lui sont adjacents (Planche IV, figs. E, K) (Siddolph 1992, Sterrenburg & Underwood 1997).

Il est clair que nos spécimens présentent des caractères morphologiques en contradiction avec les deux genres. En MO, le contour de la valve est en totale discordance avec la diagnose du genre *Haslea* de Simonsen (1974) alors qu'elle concorde avec celle des genres *Gyrosigma*/*Pleurosigma* (Planche IV, fig. D). En revanche, la striation orthogonale de nos spécimens est un caractère commun aux genres *Gyrosigma* et *Haslea*. Cependant, la présence sur la face externe, d'étranges fentes parallèles se joignant près des pôles à une fente périphérique est une structure unique, observée à ce jour uniquement chez *Haslea* (Planche IV, figs. C, D) (Cox 1979, von Stosch 1985, Massé et al. Soumis). Chez les espèces du genre *Gyrosigma*, chaque aréole s'ouvre sur la face externe par un foramen allongé qui n'est jamais fusionné avec ceux qui lui sont adjacents (Planche IV, figs. E, K) (Siddolph 1992, Sterrenburg & Underwood 1997).

Sur la face externe, les terminaisons proximales du raphé sont légèrement incurvées et se croisent de façon similaire à ce que l'on observe chez les espèces du genre *Pleurosigma* (Cardinal et al. 1989, Sterrenburg 1991, Siddolph 1993). Cependant, les terminaisons proximales du raphé chez de nombreuses espèces appartenant aux genres sigmoïdes ainsi que celles du genre *Haslea* présentent une grande variabilité (Planche IV, figs. I-K). Sur la face interne de la valve, les barres centrales correspondent à des barres fines, courtes, droites ou légèrement courbées, positionnées sur un seul côté de la région centrale, bordant le nodule et le système raphéen. Sterrenburg (1991) note que les barres centrales sont des structures trop variables chez les espèces sigmoïdes pour être considérées comme des caractères spécifiques. Chez les espèces des genres *Haslea*, les barres centrales présentent aussi une certaine variabilité.

Aux apex, au-delà de l'aire terminale, les aréoles sont plus petites que sur le reste de la valve comme chez certains spécimens d'*Haslea* (flèche rouge, Planche IV, fig. L). Cependant, il ne faut pas les confondre avec les "micropyles" observées chez *Gyrosigma* (flèche rouge, Planche IV, fig. M). Sur la face externe, la terminaison distale du raphé en forme de T n'a jamais été observée chez *Haslea*.

L'observation des coupes de valves de notre spécimen sigmoïde révèle une organisation des structures associées au raphé proche de celle observée chez *Haslea crucigera* (Planche III, figs. C, D). Un système raphéen plus simple semble prévaloir chez *Gyrosigma* (Planche III, figs. E, F).

Au regard des informations obtenues sur l'ultrastructure de leur valve, il semble que nos spécimens sigmoïdes soient très proche du genre fusiforme défini par Simonsen (1974). Il apparaît un peu étrange de classer une diatomée sigmoïde dans le genre *Haslea*, cependant il serait aussi aberrant d'inclure nos spécimens dans un des deux genres bien connus que sont *Pleurosigma* et *Gyrosigma* compte tenu de nos récentes observations en microscopie électronique. Une étude plus détaillée à propos de cette version sigmoïde d'une diatomée du genre *Haslea* devrait nous permettre de mieux définir la position de nos spécimens dans l'actuelle classification des diatomées.

Remerciements

Nous tenons à remercier Alain Barreau du Service commun de Microscopie de l'université de Nantes pour son aide ainsi que pour un accès illimité au MEB et F.A.S. Sterrenburg pour nos infatigables discussions.

Bibliographie

- Cardinal A., Poulin M., Béard-Therriaux L. 1989. New criteria for species characterization in the genera *Dankonia*, *Gyrosigma* and *Pleurosigma* (Naviculaceae, Bacillariophyceae). *Phycologia* 28: 15-27.
- Cleve P.T. 1894. Synopsis of the naviculoid diatoms. Part I. K. Svenska Vetensk.-Akad. Handl. 26: 1-194.
- Cox E.J. 1977. Raphé structure in naviculoid diatoms as revealed by the scanning electron microscope. *Nova Hedwigia*, Beih. 54: 261-274.
- Cox E.J. 1979. Symmetry and valve structure in naviculoid diatoms. *Nova Hedwigia*, Beih. 64: 193-206.
- Guillard R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In *Culture of Marine Invertebrates Animals* (Smith W.L. & Chanley M.H., editors), 26-60. Plenum Press, New York.
- Hendey N.I. 1974. The permanganate method for cleaning freshly gathered diatoms. *Microscopy* 32: 423-426.
- Masse G., Rince Y., Cox E.J., Allard G., Belt S.T., Rowland S.J. *Haslea saltonica* sp. nov. and *Haslea pseudostaurina* sp. nov. (Bacillariophyceae), two new epibiotic diatoms from the Kingsbridge Estuary, U.K. *C. R. Acad. Sci., Paris Sér. III (Soumis)*
- Nassiri Y., Robert J.-M., Rince Y., Ginsburger-Vogel T. 1998. The cytoplasmic fine structure of the diatom *Haslea ostrearia* (Bacillariophyceae) in relation to marenzeller production. *Phycologia* 37: 84-91.
- Robert J.-M., Prat D. 1973. Ultrastructure de la diatomée *Navicula ostrearia* Bory révélée par le microscope électronique à balayage. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sér. D*. 277: 1981-1983.
- Schrader H.-J. 1973. Types of raphé structures in the diatoms. *Nova Hedwigia*, Beih. 45: 195-230.
- Simonsen R. 1974. The diatom plankton of the Indian Ocean Expedition of R/V "Meteor" 1964-1965. Meteor Forschungsber. Reihe D 19: 1-107.
- Sterrenburg F.A.S. 1991. Studies on the genera *Gyrosigma* and *Pleurosigma* (Bacillariophyceae). The genus *Gyrosigma*, some presumed varieties and tentative species. *Bot. Mar.* 34: 165-169.
- Sterrenburg F.A.S., Underwood G.J.C. 1997. Studies on the genera *Gyrosigma* and *Pleurosigma* (Bacillariophyceae). The marine "*Gyrosigma spenceri*" records: *Gyrosigma limosum* Sterrenburg and Underwood nov. sp. *Proc. Acad. Nat. Sci. Phila.* 148: 165-169.
- Siddolph S.R. 1992. Observations and remarks on the morphology and taxonomy of the diatom genera *Gyrosigma* Hassall and *Pleurosigma* W. Smith. III. *Gyrosigma sterrenburgii* sp. nov. and *Pleurosigma amara* sp. nov. *Diatom Res.* 7: 345-366.
- Siddolph S.R. 1993. Observations and remarks on morphology and taxonomy of the diatom genera *Gyrosigma* Hassall and *Pleurosigma* W. Smith. II. *Gyrosigma waitangiensis* sp. nov. and *Gyrosigma sterrenburgii* sp. nov. *Nova Hedwigia* 56: 139-153.
- von Stosch, H.A. 1985. Some marine diatoms from the Australian Region, especially from Port Phillip Bay and tropical north-eastern Australia. *Brunonia* 8: 293-348.