



HAL
open science

Phylogénie moléculaire et analyse morphométrique des pédicellaires et du test des Cidaroida (Echinodermata, Echinoidea)

Olivier Brosseau

► **To cite this version:**

Olivier Brosseau. Phylogénie moléculaire et analyse morphométrique des pédicellaires et du test des Cidaroida (Echinodermata, Echinoidea). Systématique, phylogénie et taxonomie. Muséum national d'Histoire naturelle, 2005. Français. NNT: . tel-02177236

HAL Id: tel-02177236

<https://mnhn.hal.science/tel-02177236>

Submitted on 8 Jul 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

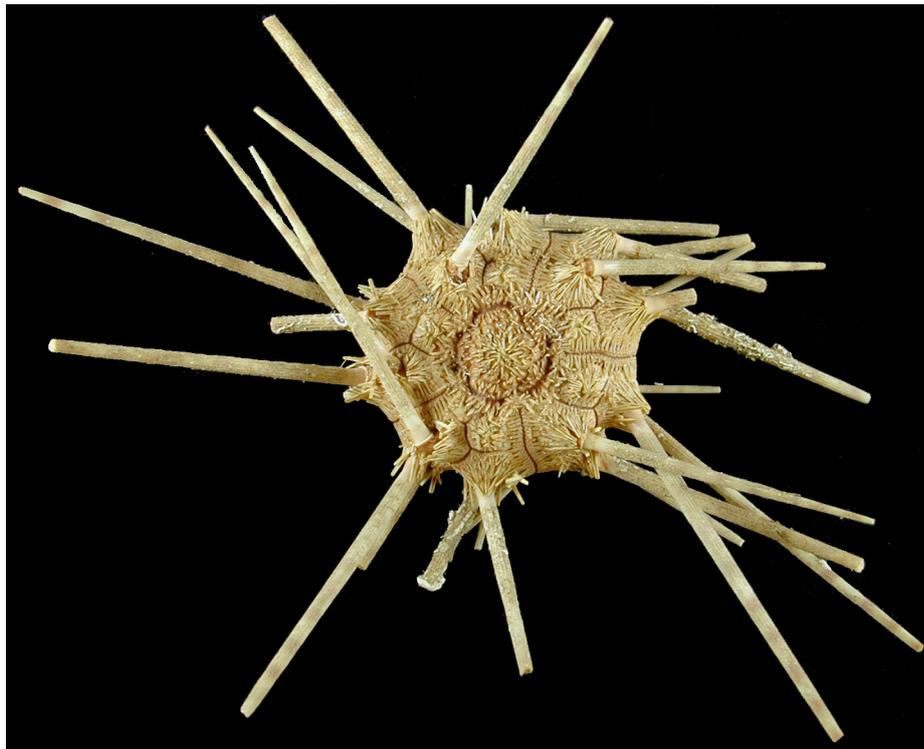
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Muséum National d'Histoire Naturelle - Paris
ÉCOLE DOCTORALE Sciences de la Nature et de l'Homme (ED 227)

Phylogénie moléculaire et analyse morphométrique des pédicellaires et du test des Cidaroida (Echinodermata, Echinoidea).

Olivier BROSSEAU



Thèse de Doctorat - 2005

*Laboratoire d'accueil :
USM 0401 Biologie des Organismes Marins et Ecosystèmes (BOME)
Département Milieux et Peuplements Aquatiques
Muséum National d'Histoire Naturelle - Paris*



Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN) - Paris
ECOLE DOCTORALE Sciences de la Nature et de l'Homme (ED 227)

Phylogénie moléculaire et analyse morphométrique des pédicellaires et du test des Cidaroida (Echinodermata, Echinoidea).

Olivier BROSSEAU

Thèse présentée en vue d'obtenir le titre de

DOCTEUR ÈS SCIENCES
du Muséum National d'Histoire Naturelle

Spécialités SYSTÉMATIQUE - BIOLOGIE MARINE - ZOOLOGIE.

Soutenue et présentée publiquement le 29 avril 2005, devant le jury composé de :

Chantal DE RIDDER	Professeur à l'Université Libre de Bruxelles	Rapporteur
Bruno DAVID	Directeur de Recherche à l'Université de Bourgogne	Rapporteur
Michel ROUX	Professeur à l'Université de Reims	Examineur
Dominique DOUMENC	Professeur au MNHN	Examineur
Nadia AMEZIANE	Maître de conférence au MNHN	Directrice de thèse

Thèse de Doctorat - 2005

Laboratoire d'accueil :

*USM 0401 Biologie des Organismes Marins et Ecosystèmes (BOME)
Département Milieux et Peuplements Aquatiques - MNHN- Paris*

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dominique Doumenc (désormais directeur du département «Milieux et Peuplements Aquatiques» dont je fais partie) pour m'avoir accueilli au sein du feu laboratoire du BIMM (Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie) depuis 2000 et le début de mon stage de DEA.

Je remercie également Guy Boucher, directeur de l'unité «Biologie des Organismes Marins et Ecosystèmes» (UMR 0401) à laquelle j'appartiens désormais.

Je souhaite remercier vivement Chantal de Ridder et Bruno David qui ont accepté de lire et de juger mon manuscrit en tant que rapporteurs.

Toute ma reconnaissance va vers Nadia Améziane, ma directrice de thèse, qui a été présente tout au long de cette thèse, en dépit des différences entre ses bêtes de prédilection (les crinoïdes) et les «miennes». Merci pour ses conseils, son amitié et sa gentillesse.

Je tiens à exprimer mon extrême gratitude envers Michel Roux pour toutes les discussions constructives que nous avons eues, pour ses conseils avisés et pour ses corrections attentives tout au long des mois consacrés à la rédaction.

Un grand merci à Marc Eleaume, ami et collègue de bureau avec lequel les échanges scientifiques et culturels ont été nombreux depuis le début de mon DEA en 2000. Merci à lui pour sa relecture de l'ensemble de mon travail en cette fin de rédaction.

Merci également à Frédrik Pleijel pour ses conseils en matière de phylogénie.

Je souhaite remercier Simon Tillier et les membres de la commission du Service de Systématique Moléculaire qui ont permis la réalisation d'une grande partie du travail moléculaire au sein du Service.

Je remercie vivement Delphine Pichon pour son aide dans l'obtention des dernières séquences moléculaires et pour ses conseils lors de l'initiation aux logiciels de préparation et d'alignement de séquence.

Merci à Gérard Mascarell pour sa disponibilité en cas de problèmes, lors de l'utilisation du Microscope Electronique à Balayage situé dans le laboratoire d'Entomologie.

Toute ma gratitude à Philippe Gaubert et Pedro Cordeiro qui ont pris le temps de corriger,

chacun, l'une de mes parties avec leurs compétences respectives (la phylogénie moléculaire pour Philippe et la morphométrie pour Pedro).

Merci à tous les membres de l'ex-BIMM pour leur gentillesse et pour les moments de détente. Une dédicace spéciale à Marie-Paule Bruneaux toujours disponible pour aider ou régler des problèmes administratifs et matériels, Alain Foubert dans la lutte quotidienne pour que les «machines» restent toujours des outils fonctionnels, Raymond Favia pour ses coups de main fréquents ainsi que Bernard Métivier, voisin de bureau. Je pense aussi à Mathieu Pernice pour les conversations scientifiques et les moments plus festifs.

Merci aux personnes de l'université du Maine (Marc Laulier, Nathalie Casse, Vincent Leignel...) qui m'ont permis de continuer à me consacrer à ma thèse tout en effectuant les enseignements associés à mon poste d'ATER en 2003-2004.

Je tiens à remercier Bertrand Richer-de-Forges qui m'a convié à participer à la mission SALOMON 1 ainsi que Verena Trenkel et Pascale Lorance de l'IFREMER pour m'avoir donné la chance de prendre part à la mission VITAL. Ces missions ont constitué des expériences particulièrement enrichissantes humainement, scientifiquement et intellectuellement.

Un grand merci à tous ceux que j'ai pu rencontrer au travers du GTEM (Groupe de Travail des Etudiants-Chercheurs au Muséum), de la CJC (Confédération des Jeunes Chercheurs) et de toutes les activités associatives et représentatives (tout particulièrement le Conseil Scientifique du MNHN) auxquelles j'ai participé. Toutes ses activités ont nécessité beaucoup de temps et d'énergie mais les gens que j'y ai rencontrés le valaient bien.

J'ai vécu la presque totalité de cette thèse (quatre ans !) en collocation avec Antoine Mantilleri, ancien camarade de DEA, biologiste et coléoptériste averti. Je le remercie pour tous les moments partagés (cinéma, musique, ami(e)s, soirées...), pour toutes les discussions intellectuelles, scientifiques et festives. Merci de m'avoir supporté toutes ces années! Merci pour cette riche amitié !

De tendres remerciements à Nathalie Charrier-Arrighi qui a quitté depuis peu le Muséum (où elle dirigeait la bibliothèque de Phanérogamie) mais qui continue de m'accompagner dans la vie après trois années. Merci à elle pour son soutien de tous les instants, pour la mise à

contribution de ses compétences bibliothéconomiques sur ma bibliographie et pour sa relecture orthographique.

Je n'oublierai pas la jolie Maël de Saint-Genois ainsi que Jonathan Villien, ex-voisins de la rue de la Clef et ami(e)s pour longtemps. Et également Elise-Anne Leguin ! Merci du fond du coeur pour leur amitié et leur soutien. Nous avons également passé du temps avec Kana : merci à lui pour les moments de réconfort et pour les fous rires.

Merci à tous les ami(e)s du Muséum (et les «pièces rapportées») pour leur amitié et les moments de détente partagés (Stéphane Grosjean, Aurélien Mirales...). Tout particulièrement mes camarades de badminton : Véronique Laborde (compagne cinéophile), Nicolas Pruvost, Laurent Defendini, Sébastien Soubzmaigne, Patrice Pruvost, Nicolas Lescureux («collègue» du GTEM), Grégory Lemkine (mon suppléant au Conseil Scientifique), Laurent Nandrin, Vincent Rommevaux... qui ont accepté de se faire battre... fréquemment...

Une pensée pour tous ceux que j'aurais oublié, par inattention....

Pour terminer, mes plus vifs remerciements vont à toute ma famille qui m'a soutenue tout au long de ces années de recherche : mes parents, mes deux frères, ma tante Geneviève, ma grand-mère maternelle et mes grands-parents paternels. Merci pour leur soutien logistique et psychologique, pour leur présence.

Je tiens à dédier ce mémoire à mon grand-père Jean Duhamel, amoureux des Sciences et de la Connaissance en général, qui aurait été heureux et enthousiaste à l'idée de me voir débiter cette thèse et de la concrétiser.

Sommaire général

Introduction générale	3
A - Morphologie des Cidaroida.....	7
B - La classification des Cidaroida.....	12
C - Objectifs.....	23
Partie I : Les pédicellaires	25
A - Présentation.....	29
B - Variations morphologiques.....	37
C - Morphométrie.....	55
D - Hétérochronies de développement.....	104
<i>Planches «Partie I»</i>	111
Partie II : Ontogenèse des plaques et des piquants	135
A - Introduction.....	139
B - Matériel et méthode.....	141
C - Résultats.....	151
D - Discussion.....	164
E - Conclusion.....	169
Partie III : Phylogénie moléculaire	171
A - Matériel et méthode.....	176
B - Résultats.....	193
C - Discussion.....	204
D - Conclusion.....	208
Conclusion générale	211
Bibliographie	217
Annexes	231
Liste des figures, tableaux et planches	283

Introduction générale

Table des matières «Introduction»

A - MORPHOLOGIE DES CIDAROIDA.....	7
1 - Le test.....	8
2 - Les appendices.....	8
2.1 - Piquants.....	8
2.2 - Pédicellaires.....	9
B - LA CLASSIFICATION DES CIDAROIDA.....	12
1 - Historique et controverses.....	12
1.1 - Du 19e siècle à Lambert et Thiéry (1925).....	12
1.2 - Mortensen (1928).....	16
1.3 - Depuis Mortensen (1928).....	19
2 - Analyse des travaux de A. B. Smith et Whright (1989).....	21
3 - Conclusion.....	22
C - OBJECTIFS.....	23

Au sein de la classe des Echinoidea, l'ordre des Cidaroida présente une extension stratigraphique allant du Trias supérieur jusqu'à aujourd'hui (A. B. Smith, 1984). Les représentants actuels sont répartis dans deux familles : les Cidaridae et les Psychocidaridae (H. B. Fell, 1966). Les travaux phylogénétiques récents portant sur les Echinoidea (A. B. Smith *et al.*, 1992 ; Littlewood et Smith, 1995) s'accordent pour placer les Cidaroida comme groupe-frère des autres échinides. Ils sont considérés comme un groupe monophylétique bien qu'aucun auteur n'ait défini les apomorphies du groupe par une analyse cladistique. Certains caractères sont pourtant susceptibles de constituer des apomorphies plus ou moins homoplasiques, tels que :

- les plaques ambulacraires simples ;
- la ceinture pérignatique composée d'apophyses interambulacraires ;
- la bordure du péristome dépourvue d'encoches péristomiales ;
- le péristome composée de plaques ambulacraires et de plaques non ambulacraires ;
- au niveau de la lanterne d'Aristote, le sommet de la jonction des deux héli-pyramides est plus haut que la base des épiphyses.

La dernière révision des Cidaroida date de Mortensen (1928). Depuis cette monographie, les travaux réalisés sur ce groupe sont rares et reprennent les résultats de Mortensen (H. B. Fell, 1954, 1966 ; F. J. Fell, 1976). Une seule approche phylogénétique (d'inspiration cladiste) a été publiée à ce jour (A. B. Smith et Whright, 1989). Ainsi, les Cidaroida constituent un groupe peu étudié qui est reconnu pour les difficultés de classification qu'il présente (A. B. Smith et Whright, 1989). Tous ces éléments constituent autant d'arguments pour réévaluer les caractères discriminants, notamment ceux des pédicellaires, classiquement utilisés dans la classification de ce groupe.

A - MORPHOLOGIE DES CIDAROIDA

Un spécimen de Cidaroida (*Stylocidaris affinis*) est présenté sur la figure 0.1.

Le squelette mésodermique des Cidaroida est constitué d'un arrangement d'ossicules calcitiques qui ont traditionnellement été divisés en trois catégories (Pearse et Pearse, 1975) :

- les plaques du test incluant quatre appareils : apical et périproctal situés sur la face aborale ; péristomial situé sur la face orale qui est tournée vers le substrat ; coronal qui regroupe

l'ensemble des plaques situées entre les faces aborale et orale ;

-les piquants et pédicellaires externes ;

-la lanterne d'Aristote constituée de près de 40 ossicules (Melville et Duram, 1966).

Récemment, David et Mooi (1999) ont proposé une nouvelle lecture des homologies des parties squelettiques des échinodermes qui les a conduit à l'élaboration du modèle «EAT» (*Extraxial Axial Theory*). Ce modèle permet de reconnaître deux grands types de squelettes : le squelette axial et le squelette extraxial. Le test des oursins est presque exclusivement axial et le squelette extraxial est réduit aux plaques génitales et aux plaques du périprocte. Le squelette axial est organisé en cinq zones de croissance dont le fonctionnement suit la règle dite de l'OPR (*Ocular Plate Rule*) (David *et al.*, 1995). Chaque zone comprend un ambulacre (deux rangées de plaques) encadré de chaque côté par une colonne de plaques interambulacraires (Fig. 0.2).

1 - Le test

Pour une présentation détaillée de la morphologie des Cidaroida, je renvoie le lecteur à Mortensen (1928) et à H. B. Fell (1966). Les principaux caractères du test qui seront utilisés dans cette thèse (en particulier dans la partie II, «Ontogenèse des plaques et des piquants») sont illustrés sur la figure 0.2.

2 - Les appendices

Les appendices sont portés par les tubercules disposés sur les plaques.

2.1 - Piquants

Selon leur taille et/ou leur position, les piquants (ou radioles) et les tubercules sur lesquels ils s'articulent sont dits primaires (les plus grands ; Fig. 0.1 et 0.2), secondaires (petits ; Fig. 0.1 et 0.2), scrobiculaires (petits au niveau du scrobicule ; Fig. 0.2), miliaires (très petits), ambulacraires (petits à très petits au niveau des ambulacres)... Chez les Cidaroida, chaque plaque interambulacraire porte un piquant primaire qui est entouré, à sa base, par des piquants secondaires ou scrobiculaires (Fig. 0.1 et 0.2). Les piquants primaires présentent une très grande variabilité morphologique (Mortensen, 1928). De plus, ils ont la particularité de posséder (une

fois leur croissance terminée) une couche externe de calcite (le cortex) qui permet la fixation d'une importante faune épibionte (Mortensen, 1928). Ils interviennent dans les fonctions de défense et de locomotion.

2.2 - Pédicellaires

Les pédicellaires sont des unités fonctionnelles, de taille microscopique à millimétrique, qui se répartissent à la surface des oursins et des étoiles de mer, entre les piquants. Ils sont constitués de valves mobiles (généralement trois, mais il peut y en avoir de deux à cinq) qui s'articulent entre elles comme une pince à sucre. Chez les oursins, un pédoncule fixé à un granule du test porte ces valves. Ces appendices peuvent s'agripper ou saisir des objets. Ainsi ils interviennent dans les fonctions de nettoyage du test (débris ou parasites), d'alimentation (déplacement de particules alimentaires vers la bouche) et de défense. Récemment, Campbell (1983) a réalisé une compilation des travaux morphologiques, histologiques et fonctionnels effectués sur les pédicellaires des échinides et des astérides.

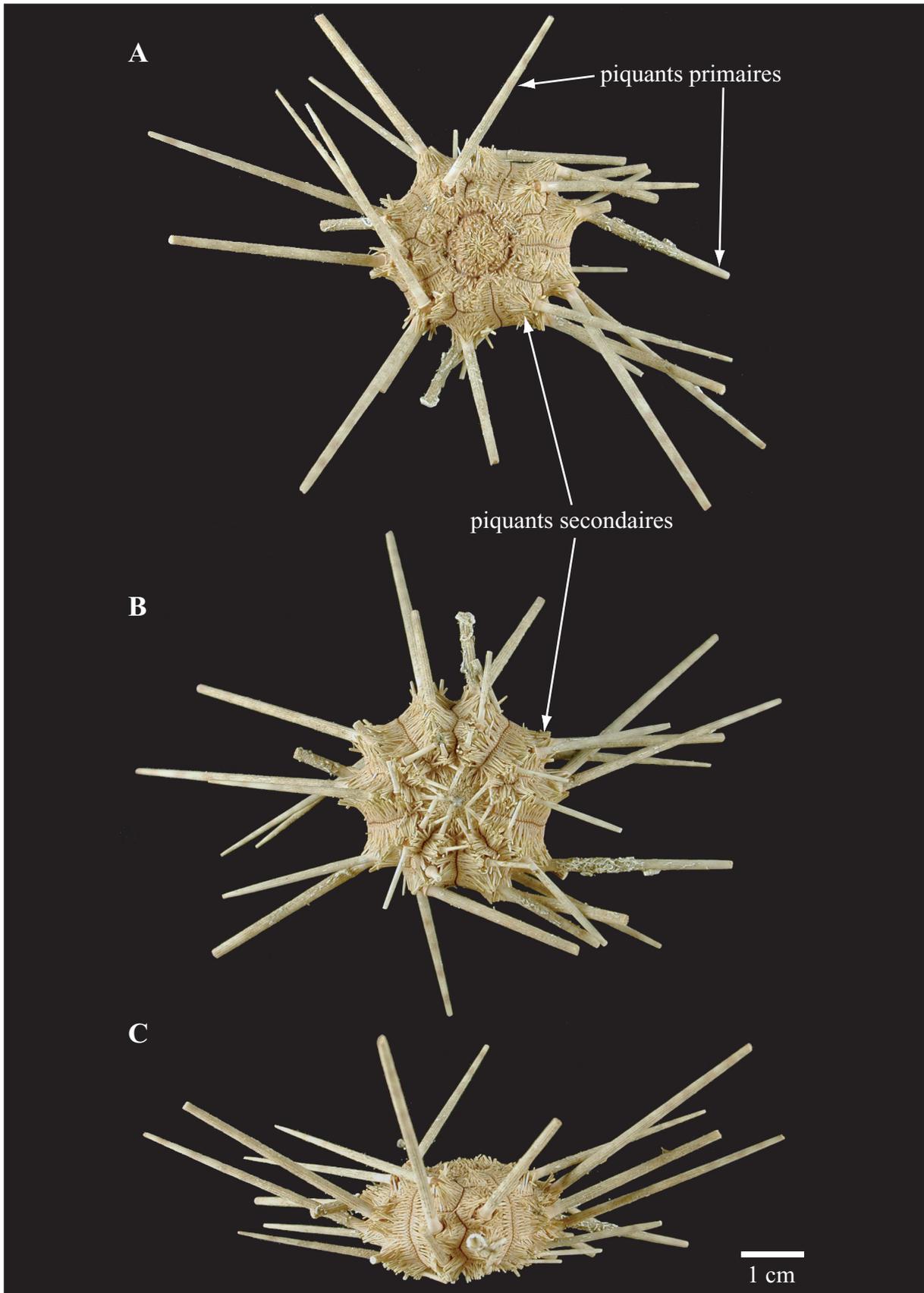


Figure 0.1 - Vue générale d'un spécimen de *Stylocidaris affinis*.
A = vue apicale ; B = vue orale ; C = vue ambitale.

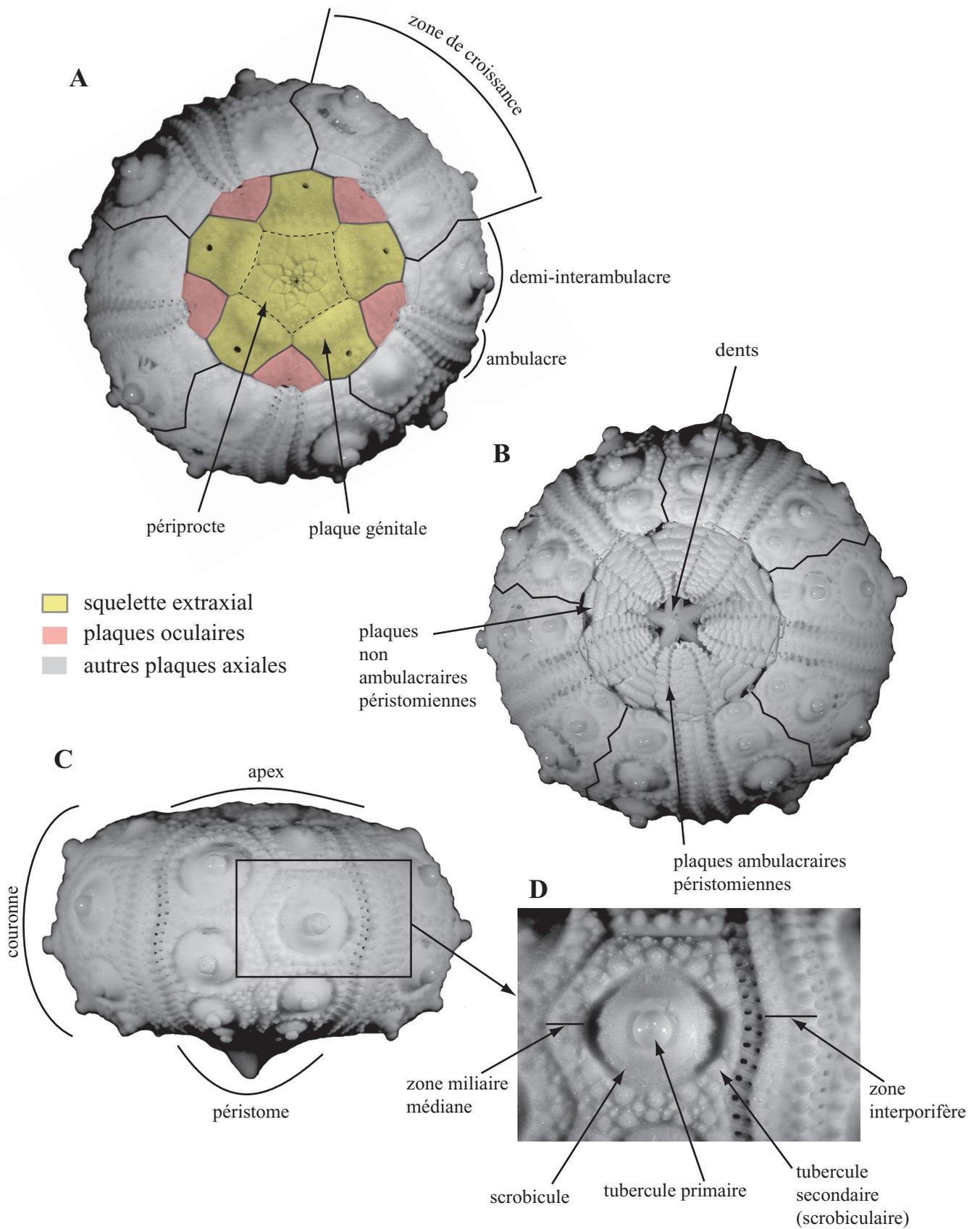


Figure 0.2 - Principales caractéristiques morphologiques du test de *Stylocidaris affinis*.
 A = vue apicale ; B = vue orale ; C = vue ambitale ; D = détail d'une plaque ambulacraire ambitale et de l'ambulacre adjacent.

B - LA CLASSIFICATION DES CIDAROIDA

1 - Historique et controverses

L'histoire précoce de la classification des Cidaroida est détaillée par Mortensen (1928). L'historique qui suit s'inspire de ce travail et le complète par les travaux postérieurs et par les controverses qui se sont récemment développées.

1.1 - Du 19^e siècle à Lambert et Thiéry (1925)

Le genre *Cidaris* est créé par Leske (1778). L'auteur reprend les travaux de Klein (1734) pour proposer des noms valides dans le cadre de la nomenclature binominale (Linné, 1758). Gray (1825) crée les familles Cidaridae et Echinidae qui regroupent les oursins réguliers connus à l'époque.

Au cours du 19^e siècle, le genre *Cidaris* est divisé en un grand nombre de genres, à la fois actuels et fossiles.

En 1869, Perrier décrit les pédicellaires d'un certain nombre d'espèces actuelles de Cidaroida. Il est alors persuadé de la constance des caractères morphologiques des pédicellaires pour chaque espèce qu'il décrit. Ces caractères ajoutés à ceux du test l'amènent à distinguer les Cidariens (équivalent des Cidaridae *sensu* Mortensen, 1928) des autres groupes d'échinides. Le groupe ne contenant alors que trois genres, il ne propose pas de division supra-générique.

Agassiz (1872-1874) considère que Perrier ne tient pas compte de la variabilité intraspécifique et interspécifique : «[...] the whole value of the method urged by Perrier becomes questionable. We do not know from his observations how far the pedicellariae vary in any one species of starfish or sea-urchin. [...] The generalizations regarding the nature of the pedicellariae in the regular and irregular Echini (as understood by Perrier) are not correct.» (p. 660). Agassiz recense la totalité des espèces actuelles de Cidaroida connues à cette époque, soit 15 espèces réparties dans six genres regroupés dans la famille des Cidaridae. Claus (1880) propose l'élévation de la famille au niveau ordinal (comme Cidarideae rectifié par la suite en Cidaroida).

Pomel (1883) est le premier à réaliser une classification des Cidaroida connus à l'époque. Il reconnaît trois groupes : les Cidariens avec des pores conjugués et sans fossette suturale ou

impression sur les plaques, les Goniocidariens avec des pores non conjugués et des fossettes suturales ou impressions sur les plaques et les Rhabdocidariens avec des pores conjugués et des plaques avec ou sans impressions.

Döderlein (1887) pose les bases des travaux à venir sur les relations entre les Cidaridae. Son travail porte en particulier sur les pédicellaires. Il en décrit plusieurs formes, notamment une «forme A» qui correspond aux gros pédicellaires globifères auxquels il n'attribue qu'une très faible valeur dans la classification. Au final, il propose une répartition hiérarchique des genres de Cidaridae dans six groupes: 1- avec un test mobile, 2- avec un test non mobile, 3- avec un test non mobile, des pores non conjugués, 4- avec un test non mobile, des pores non conjugués et des tubercules non crénelés, 5- avec un test non mobile, des pores conjugués et des tubercules crénelés, 6- avec un test non mobile, des pores conjugués et des tubercules non crénelés. En fait, la division qu'il donne a les caractéristiques d'une clef de détermination. En effet, de son point de vue, les pores «conjugués ou non conjugués» constituent de bons caractères discriminatoires mais n'ont aucune valeur classificatoire. C'est pourquoi, il ne donne pas de rang aux groupes qu'il constitue.

Lambert (1900) divise les Cidaroida en quatre sous-familles : les Streptocidaridae pour les formes avec les plaques du test mobiles, les Tetracidarinae comprenant seulement le genre *Tetracidaris*, les Orthocidarinae pour le genre *Orthocidaris* et les Stereocidarinae comprenant tous les autres Cidaroida. L'auteur rejette les groupements de Pomel, la présence de pores conjugués lui semblant un caractère trop inconstant pour être utilisé. Il reconnaît deux tribus à l'intérieur des Stereocidarinae : les Rhabdocidarini, pour les formes avec des tubercules fortement crénelés, et les Leiocidarini, pour celles avec des tubercules lisses. Son optique de paléontologue l'amène à négliger les pédicellaires, très rarement conservés chez les fossiles.

Mortensen (1903) effectue une étude approfondie des échinides réguliers récoltés lors de l'expédition océanographique «Ingolf». Donnant une place majeure aux pédicellaires, il arrive à des résultats en contradiction avec ceux de Döderlein (1887) : «[...] the pedicellariae of the Cidarids (as also of several other families of Echinoids) yield excellent generic characters, while they may only more rarely be used for distinguishing between the species» (p. 15). Les pédicellaires globifères semblent apporter des caractères taxonomiques importants qui le conduisent à effectuer de nouveaux regroupements au sein des Cidaroida actuels et à établir

cinq genres nouveaux. Il propose également l'utilisation de certains caractères des pédicellaires pour les niveaux supérieurs de la classification. Les pédicellaires n'apportent que des caractères supplémentaires : «It has already been emphasized above, and I shall here emphasize once more that all features must be thoroughly examined in order to get the mutual relations of the forms established. That I have here only treated the pedicellariae more thoroughly is a consequence of the fact that neither my material nor my time has permitted me to treat the other features more particularly. [...] What is given here is a provisional classification [...]» (p. 31). Ce travail préliminaire préfigure le premier tome de sa monographie qui paraîtra 25 ans plus tard.

De Meijere (1904) et Döderlein (1906) acceptent l'utilisation des nouveaux caractères proposés par Mortensen. Ainsi, Döderlein propose une classification des Cidaroida actuels qui identifie dix genres, cinq sous-genres, 57 espèces et 12 variétés. Bien que novateur, son effort pour concilier l'approche et les résultats de Mortensen ainsi que les travaux antérieurs l'amène à des contradictions.

A. Agassiz et H. L. Clark rejettent fermement la classification de Mortensen. Agassiz (1904) reproche à Mortensen de n'utiliser qu'un seul «caractère» (les pédicellaires) dans ses travaux : «Like all classifications based upon a single character, the results obtained culminate in such impossible associations that we are loath to follow his lead» (p. X). Pourtant, Mortensen (1903) a clairement expliqué que tous les caractères doivent être pris en considération. Il le rappellera d'ailleurs dans le premier tome de sa monographie (1928) : «As emphasized in the paragraph quoted above from the «Ingolf» Ech. I. (as in several other places) my opinion ; of course, was, - as it still is and will remain - that all characters must be taken into consideration and duly weighed, before we can expect to reach a truly natural classification, be these characters macro- or microscopical» (p. 46). En fait, la réaction d'Agassiz est surtout liée aux commentaires que Mortensen a fait de son travail sur le matériel récolté par l'HMS Challenger (Agassiz, 1879). L'opposition entre les hommes (Winsor, 1991, Chapitre 10) va persister jusqu'à la mort d'Agassiz en 1910 et apparaîtra dans tous les travaux postérieurs de Mortensen.

Agassiz et Clark (1907) débutent leur ouvrage sur les Cidaridae récoltés sur l'«Albatross» par le mot «Pedicellariae». En effet, les auteurs s'appuient essentiellement sur l'étude des pédicellaires. Certaines descriptions complètent les travaux d'Agassiz (1904) qui étaient basés uniquement sur les plaques et les piquants. Au travers des descriptions d'espèces, Agassiz et

Clark illustrent les problèmes de variabilité individuelle et de délimitation des trois catégories (pédicellaires dentés, petits et gros pédicellaires globifères) et remettent en question la valeur taxonomique que leur a donné Mortensen.

H. L. Clark (1907) propose une classification comportant 21 genres et 60 espèces actuelles. Il se refuse à les regrouper car il estime que les relations entre les genres sont obscures. Comme Agassiz (1904), il reproche à Mortensen de n'utiliser que les pédicellaires pour réaliser sa classification. Les pédicellaires présentent, de son point de vue, trop de variations individuelles pour qu'on leur accorde autant d'importance que Mortensen le fait. Il pense pourtant que ces structures doivent être prises en considération lorsqu'elles sont observables. Il propose une clef de détermination générique qui utilise essentiellement des caractères du test et des piquants ainsi que quelques caractères des pédicellaires.

Lambert et Thiéry (1910) reprennent la classification de Lambert (1900) précédemment détaillée. Ils font la liste de toutes les espèces de Cidaroides qui ont été décrites et assignent chaque espèce actuelle ou fossile à un genre. Ils se limitent à l'utilisation de caractères des plaques et des piquants. Sans citer explicitement Mortensen, Lambert et Thiéry (1910) considèrent qu'«il est aujourd'hui de mode de ne plus baser la classification que sur les différences très relatives qui existent entre des organes microscopiques. Tout en professant le plus grand respect pour les travaux des savants qui suivent cette voie, nous estimons qu'il n'est pas rationnel de fonder sur des organes caducs la classification d'animaux dont la plus grande partie est fossile» (p. 40). Mortensen (1911) répondra en réaffirmant la valeur taxonomique des pédicellaires et des spicules.

H. L. Clark (1925) dans un «Catalogue of the recent sea-urchins» discute des 18 genres dont il dispose en collection et propose une clef de détermination générique utilisant des caractères des pédicellaires. Sa position vis-à-vis des travaux de Mortensen a évolué comme il le dit (p. 2): «I am now inclined to lay more stress on the characters afforded by the pedicellariae than I did 17 years ago. I have become convinced that essentially different large globiferous pedicellariae do not occur in species of Cidaridae of the same natural genus [...]» (p. 2). Pourtant, compte tenu de la variabilité individuelle qu'il a déjà observée, il pense que les pédicellaires ne doivent pas servir à définir les genres : «[...] they prevent our regarding the form of the pedicellariae as the prime character of any genus.» (p. 2). Il reconnaît pourtant leur utilité pour réaliser des clefs de

détermination.

1.2 - Mortensen (1928)

En 1928, Mortensen publie le premier volume de sa monographie sur les échinides. Il y traite uniquement des Cidaroides actuels et fossiles. Il apporte d'abondantes données nouvelles sur leur morphologie, en particulier en ce qui concerne la structure des pédicellaires et des spicules de la paroi de l'intestin. Cela lui permet de proposer une nouvelle classification et une clef de détermination pour l'ensemble des espèces actuelles décrites. Il divise les Cidaroides en deux familles - les Archaeocidaridae paléozoïques et les Cidaridae, mésozoïques à récents. Il distingue trois sous-familles au sein des Cidaridae, les Streptocidarinae (formes avec les plaques du test imbriqués), les Diplocidarinae (formes avec les colonnes des pores ambulacraires bisériées) et les Stereocidarinae (formes avec les colonnes de pores ambulacraires unisériées et un test rigide constitué de plaques suturées). Ainsi, il inclut tous les Cidaroida actuels parmi les Stereocidarinae (Annexe 1), groupe qu'il subdivise ainsi:

Histocidarina : tubercules perforés et crénelés, pores ambulacraires non conjugués, aréoles profondes, piquants longs et fins, plus ou moins cylindriques, piquants secondaires longs et érigés, pas de pédicellaire globifère, plaques ambulacraires péristomiales avec une excroissance marginale sur la face interne.

Ctenocidarina : tubercules perforés, non crénelés, pores ambulacraires obliques avec un étroit muret qui est souvent perforé, piquants scrobiculaires aplatis, pédicellaires globifères présents avec ou sans dent terminale, pas de pédicellaire denté.

Gonicidarina : test avec des rainures distinctes, tubercules perforés et non crénelés, piquants primaires épineux avec une couche de poils corticaux très développée, gros pédicellaires globifères sans dent terminale et plutôt courts et larges, petits pédicellaires globifères habituellement avec une dent terminale, pas de pédicellaire denté.

Stereocidarina : tubercules perforés et non crénelés, test habituellement avec des rainures plus ou moins distinctes au niveau des sutures horizontales supérieures des interambulacres et plus rarement dans les ambulacres, pores non conjugués ou subconjugués, piquants primaires supérieurs et tubercules plus ou moins rudimentaires, petits et gros pédicellaires globifères sans dent terminale, avec une ouverture subterminale et sans lèvre inférieure bien formée, pédicellaires dentés présents.

Cidarina : tubercules perforés et non crénelés, pores non conjugués ou subconjugués, petits et grands pédicellaires globifères avec une dent terminale bien développée.

Stylocidarina : tubercules primaires crénelés ou non, pores conjugués ou non, pédicellaires dentés bien développés, gros pédicellaires globifères avec une ouverture terminale bien développée délimitée par une lèvre régulière dentée et sans dent terminale, petits pédicellaires globifères avec une dent terminale.

Rhabdocidarina : pores conjugués formant une double série sur le péristome, tubercules crénelés ou non crénelés, piquants primaires grands et larges, gros pédicellaires globifères avec une grande ouverture subterminale, petits pédicellaires avec ou sans dent terminale.

Le travail de Mortensen a constitué une avancée considérable dans la compréhension de la morphologie et de la taxonomie des Cidaroides. En effet, l'ouvrage publié en 1928 correspond à la synthèse de plus de 25 ans de recherches sur les Cidaridae qui l'ont amené à décrire 5 sous-tribus, 18 genres et 51 espèces. Le tableau 0.1 présente la contribution de Mortensen aux descriptions des sous-tribus, genres, espèces et variétés de Cidaroida qu'il prend en considération dans sa classification.

Rang taxonomique	Nombre total dans Mortensen (1928)	Nombre décrit par Mortensen	Contribution de Mortensen aux descriptions
sous-tribus	7	5	71%
genres	33	18	55%
espèces	123	51	41%
variétés	24	18	75%

Tableau 0.1 - Synthèse de la contribution de Mortensen aux descriptions de sous-tribus, genres, espèces, variétés de Cidaroida dans son ouvrage de 1928.

Ces résultats constituent une référence devenue incontournable pour les échinodermistes bien qu'ils firent l'objet de nombreuses critiques dans les décennies suivantes.

Mortensen accorde beaucoup d'importance à des caractères basés sur les pédicellaires et ce à tous les niveaux de la classification. En effet, comme beaucoup d'auteurs l'ont déjà constaté, les caractères du test sont trop peu variables dans cette famille pour permettre de les déterminer et de classer correctement les espèces. Mortensen différencie trois types de pédicellaires chez les Cidaridae : gros globifères, petits globifères et dentés. Les gros pédicellaires globifères auraient la plus grande valeur taxonomique. Sa clef de détermination illustre l'utilisation qu'il fait des pédicellaires à tous les niveaux de la classification. Ainsi, les débats concernant l'utilisation de ces structures microscopiques pour la taxonomie (voir Philip, 1963) ont persisté jusqu'à aujourd'hui, en particulier chez les paléontologues qui ne peuvent généralement pas les utiliser. H. B. Fell (1954), dans une étude des Cidaroides Tertiaires et récents de Nouvelle-Zélande, présente ainsi la controverse autour de la méthode de classification proposée par Mortensen : «This procedure initially met with great opposition, and was flatly rejected by Lambert and Thiéry, but at the present time it is generally admitted that it represents the closest approximation to a natural classification so far achieved. It has, however, introduced very serious difficulties for the paleontologist, who is seldom able to secure fossil material with pedicellariae attached»

(p. 8). Il est le premier à utiliser la classification de Mortensen avec succès chez des Cidaroides fossiles avec la combinaison de caractères du test et des piquants. Mayr (1954), se basant sur les travaux de Mortensen, effectue une analyse de la spéciation chez les échinides et reproche à Mortensen de donner une importance considérable à des organes de petite taille, fragiles et dont la préservation est difficile. Philip (1963, 1964) effectue une analyse particulièrement détaillée de l'approche taxonomique de Mortensen et des critiques formulées à l'encontre de ses travaux. Selon lui, le fait que Mortensen accorde une grande importance taxonomique à des caractères inutilisables par les paléontologues (pédicellaires, spicules de la paroi intestinale) n'est pas un argument pour rejeter sa classification. Il la considère particulièrement innovante.

De plus, la classification de Mortensen a été critiquée par Cooke (1946), Mayr (1954) et Philip (1963, 1964) comme étant excessivement fractionnée. Selon Cooke (1946), la plupart des genres de Cidaroida décrits par Mortensen repose sur des différences qui apparaissent plutôt comme des variations sous-génériques ou spécifiques. Mayr (1954) développe sa critique sur l'ensemble de la monographie de Mortensen (1928-1952). Pour lui, les populations allopatriques que Mortensen décrit comme des espèces devraient être considérées comme des sous-espèces. Cette multiplication du nombre d'espèces a des conséquences sur les rangs supérieurs de sa classification. En effet, Mortensen décrit de nombreux genres qui sont en fait des espèces polytypiques ou superespèces. Philip (1963, 1964) définit Mortensen comme un alpha-taxonomiste, autrement dit sa démarche scientifique consiste avant tout à distinguer, identifier, décrire et nommer des espèces. Ceci expliquerait en grande partie le fractionnement spécifique et générique important de sa classification. Pourtant Mortensen a toujours placé ses travaux taxonomiques et classificatoires dans une approche ontogénétique (Mortensen, 1927) et biogéographique (Mortensen, 1930). Il eut d'ailleurs le projet de faire construire un laboratoire de biologie marine tropicale aux Iles Kaï (Indonésie) afin de pouvoir étudier les problèmes d'embryologie, de développement larvaire, d'ontogenèse et d'hybridation chez les échinodermes. Ce projet ne vit jamais le jour mais témoigne du fait que la démarche de Mortensen n'était pas celle d'un alpha-taxonomiste *stricto sensu*.

Enfin, A. B. Smith et Whright (1989) ont formulé des critiques à l'encontre des groupes de rang supérieur au genre. Ils considèrent que ces groupements (sous-tribu) de Mortensen sont parfois définis sans justification véritable. Mais cette critique manque d'arguments bien développés.

Ainsi, les débats autour de la classification novatrice de Mortensen furent nombreux. Mais, ce sont essentiellement des paléontologues qui ont alimenté ces discussions. Ils ont d'ailleurs été les seuls à proposer des classifications alternatives. A l'exception de quelques travaux d'inventaires sur la faune actuelle (H. B. Fell, 1954 ; Phelan, 1970 ; F. J. Fell, 1976 ; Rowe et Hogget, 1986) et de descriptions de nouvelles espèces (Mooi, 2000), les Cidaroides actuels n'ont pas fait l'objet d'études approfondies.

1.3 - Depuis Mortensen (1928)

Mercier (1932) dans une révision des Cidaroida jurassiques propose une autre classification. Comme Lambert et Thiéry, il reconnaît trois groupes de rang familial : les Streptocidaridae pour les Cidaroida avec des interambulacres bisériés et un test imbriqué, les Stereocidaridae pour ceux avec des interambulacres bisériés et un test suturé, et les Tetracidaridae pour ceux avec des interambulacres tetrasériés. Il divise les Stereocidaridae en deux groupes: les «Choristoporidae» pour ceux avec des pores non conjugués et les «Clinoporidae» pour ceux avec des pores conjugués. Mais cette classification n'a pas été utilisée.

Parallèlement à ces travaux, Ikeda (1935, 1936) décrit un nouveau genre (*Psychocidaris*) qu'il place dans une nouvelle famille, les Psychocidaridae. Elle est l'objet de débats, certains auteurs (Durham et Melville, 1957) proposant d'intégrer ce groupe dans la famille des Cidaridae. Mortensen (1951, p. 555) accepte l'existence de cette famille : «The family of the Psychocidaridae, established for this form by Ikeda, I think acceptable [...]».

Durham et Melville (1957) reprennent tous les groupes de Mortensen mais augmentent leurs rangs taxonomiques. Ainsi les sous-familles Stereocidarinae et Streptocidarinae sont élevés au rang de famille sous des noms différents (Cidaridae et Miocidaridae). De plus, ils élèvent les sept sous-tribus de Mortensen au rang de sous-famille. Ils suggèrent également que la famille des Psychocidaridae, décrite par Ikeda (1936) pour une seule espèce de Cidaridae actuel, soit assignée au rang de sous-famille. Par ailleurs, ils désignent formellement le genre *Cidaris* comme genre-type de l'ordre des Cidaroida.

Philip (1963, 1964) propose une division en quatre groupes : Archaeocidaridae, Miocidaridae, Cidaridae et Psychocidaridae. Il discute également le problème de la subdivision des Cidaridae

et propose les trois groupes suivants sans leur assigner le même rang:

Section 1 (Histocidarina selon Mortensen) : tubercules fortement crénelés, pores non conjugués, plaques ambulacraires péristomiales avec une excroissance interne marginale, poils corticaux sur les piquants simples ou absents, spicules des parois intestinales petits et presque absents.

Section 2 (Cidarina, Stylocidarina et Rhabdocidarina selon Mortensen): tubercules lisses ou crénelés, pores non conjugués ou conjugués, poils corticaux sur les radioles habituellement bien développés, pédicellaires globifères généralement avec une ouverture terminale bien développée et souvent avec une couronne de baguettes projetées sur le pédoncule, spicules de la paroi de l'intestin formés de petites plaques lisses.

Section 3 (Stereocidarina, Goniocidarina et Ctenocidarina selon Mortensen) : souvent petits, généralement avec des tubercules lisses, des pores non conjugués et dans certains cas obliques, sutures des plaques souvent avec des rainures en particulier sur les interambulacres, piquants généralement avec des poils corticaux bien développés, pédicellaires globifères simples, spicules des parois de l'intestin triradiés.

Philip admet lui-même (1963) que la diagnose de la section 2 et plus particulièrement de la section 3 est difficile à réaliser sans ambiguïté en ce qui concerne les caractères du test.

H. B. Fell (1966) propose une classification (Annexe 2) largement calquée sur celle de Mortensen. Pourtant, quelques modifications importantes sont à noter. La sous-famille des Diplocidarinae est placée au même rang familial que les Cidaridae. Les sous-tribus sont élevées au rang de sous-famille comme Durham et Melville (1957) l'avaient déjà proposé. La sous-tribu Stylocidarina disparaît (pour des raisons non explicitées) et les genres qui la constituent sont répartis dans les sous-familles Cidarinae et Rhabdocidarinae selon qu'ils possèdent des pores non conjugués ou conjugués. Le sous-genre *Eurocidaris* de Mortensen est placé au rang générique par H. B. Fell. Enfin, les genres *Acanthocidaris* et *Chorocidaris* sont absents sans justification. Cette classification est présentée sans commentaire justifiant les modifications par rapport à celle de Mortensen. Du fait de sa parution dans un traité paléontologique de référence («Treatise on Invertebrate Paleontology»), cette classification a été utilisée dans les travaux taxonomiques postérieurs.

F. J. Fell (1976) réalise une thèse de doctorat (non publiée) sur les Cidaroida antarctiques. Il propose des modifications (non valides) qui ont été en partie reprises par David *et al.* sur CD-ROM (2000, Biogéosciences [UMR CNRS 5561]). Les genres *Ctenocidaris*, *Homalocidaris* et *Eurocidaris* sont mis en synonymie. Le nom *Eurocidaris* le plus ancien devrait être conservé ce qui induirait un changement du nom de la sous-tribu. Les auteurs (David, communication personnelle) préfèrent conserver le genre *Ctenocidaris*, en référence à l'article 23.2 du code de nomenclature zoologique qui stipule que «le principe de priorité n'est pas destiné à remettre

en cause un nom longtemps employé dans une acception habituelle par l'introduction d'un nom qui est plus ancien». Le genre *Ctenocidaris* est donc considéré dans un sens large, incluant *Homalocidaris* et *Eucidaris*.

A. B. Smith et Whright (1989) ont récemment proposé une nouvelle classification des Cidaridae (Annexe 3) issue des résultats d'une analyse phylogénétique d'inspiration cladiste, la seule à ce jour, reposant sur 28 caractères morphologiques du test, des piquants et des pédicellaires. La classification proposée présente d'importantes modifications par rapport à celle de Mortensen (1928) et de H. B. Fell (1966). Pour le moment, aucun auteur ne l'a utilisée ni critiquée.

2 - Analyse des travaux de A. B. Smith et Whright (1989)

Les taxons terminaux sont des entités morphologiques que A. B. Smith et Whright n'explicitent pas clairement. Ni les spécimens, ni les espèces étudiés n'apparaissent dans leur publication. La localisation institutionnelle et le nombre de spécimens étudiés ne sont pas indiqués. Ils prennent comme groupe externe les genres fossiles *Archaeocidaris* et *Miocidaris* pour lesquels ils considèrent que tous les caractères observés sont plésiomorphes (ancestraux). Dans le groupe interne, ils combinent certains genres qu'ils considèrent *a priori* comme constituant des clades. De plus, ils retirent certains genres ne contenant que peu d'espèces. Ce sont pour eux des hypothèses de travail qui visent à souligner certains groupes naturels et à simplifier les analyses.

Voici les hypothèses initiales qu'ils posent :

- le genre *Ctenocidaris* inclut tous les genres que Mortensen place dans les Ctenocidarina (*Notocidaris*, *Homalocidaris*, *Rhynchocidaris* et *Austrocidaris*).

- le genre *Schizocidaris* inclut les genres *Schizocidaris*, *Psilocidaris* et *Rhopalocidaris* de Mortensen.

- les genres *Actinocidaris*, *Hesperocidaris* et *Kionocidaris* sont retirés des analyses.

- le genre *Psychocidaris* est considéré comme un synonyme du genre fossile *Tylocidaris*.

Il s'avère que le genre *Aporocidaris* n'est cité ni dans la matrice, ni dans ces hypothèses alors qu'il se retrouve dans la classification finale. Les genres *Compsocidaris* et *Chorocidaris* décrits

par Ikeda en 1939a ne figurent à aucun moment dans l'analyse. Enfin, les auteurs donnent la matrice de caractères mais ne précisent pas le codage de ces derniers.

Pour l'analyse phylogénétique, la méthode utilisée n'est pas explicitée. Ont-ils utilisé un logiciel ? Si oui, quel logiciel de reconstruction phylogénétique ? Avec quelles options de travail (par exemple, comment ont-ils traité les caractères polymorphes chez certains taxa) ? Finalement, la classification qu'ils proposent repose - plus ou moins - sur l'arbre obtenu. Ils dissocient les genres préalablement associés et placent les genres fossiles au sein de cette classification établie à partir des genres actuels.

Dans un récent travail de DEA, Bonhomme (2002) a effectué des analyses phylogénétiques avec le logiciel PAUP à partir de la matrice proposée par A. B. Smith et Whright. En effet, il est possible de déduire le codage utilisé par les auteurs à partir de la discussion sur les transformations de chaque caractère. Compte tenu de l'imprécision des informations méthodologiques des auteurs, plusieurs traitements ont été réalisés. Aucune des analyses effectuées ne permet d'obtenir la topologie de l'arbre publiée par A. B. Smith et Whright.

Finalement, la méthodologie que A. B. Smith et Whright (1989) ont utilisée pour cette analyse est obscure. La classification qu'ils proposent ne peut donc sérieusement être prise en considération.

3 - Conclusion

Les travaux taxonomique et de classification de Mortensen (1928) sont les plus complets réalisés à ce jour. L'étendue de ses recherches sur des caractères utilisés par ses prédécesseurs (plaques, piquants) et sur d'autres jusque là plus ou moins ignorés (pédicellaires, spicules des parois intestinales) lui a permis de fournir non seulement une classification novatrice mais également la seule clé de détermination réalisée sur l'ensemble des Cidaroida actuels décrits à l'époque. La classification de H. B. Fell (1966), très proche de la classification de Mortensen, a été largement utilisée, surtout par la communauté des paléontologues. Elle présente des différences liées à la hiérarchisation des caractères. En effet, les caractères généralement non observés chez les fossiles (pédicellaires, spicules) sont relégués au second plan. Cette classification sera prise en considération dans les discussions ultérieures.

C - OBJECTIFS

Au vu des éléments précédents, l'étendue du travail à réaliser sur ce groupe est indiscutable. J'ai réalisé au cours de cette thèse un travail de «débroussaillage». En effet, j'ai exploré de nombreuses voies pour étudier les Cidaroida. Les résultats présentés ici se divisent en trois parties distinctes :

1- Les travaux de Mortensen (1928) sur les pédicellaires ont généré de nombreux débats sur la pertinence de l'utilisation de ces structures microscopiques dans la classification des Cidaroida. Le premier et le principal objectif de cette thèse est donc d'aborder pour la première fois l'étude de l'ontogenèse et de la variabilité des pédicellaires afin de tester la pertinence des caractères proposés par Mortensen. Pour cela, j'ai utilisé des outils tels que le Microscope Electronique à Balayage et la morphométrie.

2- La croissance post-larvaire chez les Cidaroida a été très peu étudiée (Cutress, 1965 ; Märkel, 1981). Or, des modifications importantes peuvent survenir lors de la croissance des échinides (David, 1985). Les conséquences de ce phénomène sur la variabilité des caractères observés sur le test des Cidaroida ne sont pas connues. J'aborde donc ici l'analyse morphométrique de l'ontogenèse du test et des piquants chez l'espèce *Stylocidaris affinis*.

3- Aucune phylogénie des Cidaroida basée sur des caractères moléculaires n'a été réalisée jusqu'à aujourd'hui. Compte tenu du matériel récent en alcool dont je dispose dans les collections du Muséum national d'Histoire naturelle, j'ai entrepris de réaliser une phylogénie moléculaire de l'ensemble du groupe à partir de l'étude de deux marqueurs (28S-D1 et COI) et d'en confronter les résultats avec les interprétations issues des analyses morphologiques traditionnelles.

Je vise ainsi à dégager des méthodes et des axes d'exploration des Cidaroida permettant de sortir d'un certain empirisme dans la classification traditionnelle du groupe et de mieux comprendre son histoire évolutive.

Partie I :
Les pédicellaires

Table des matières «Partie I»

A - PRESENTATION.....	29
1 - Historique de leur découverte.....	29
2 - Méthodes.....	30
2.1 - Loupe binoculaire.....	30
2.2 - Microscope Electronique à Balayage (MEB).....	31
2.2.1 - Prélèvement.....	31
2.2.2 - Nettoyage.....	31
2.2.3 - Préparation du porte-objet.....	31
2.2.4 - Métallisation et observation.....	31
2.2.5 - Problèmes rencontrés.....	32
2.3 - Mesures.....	32
3 - Les différentes catégories.....	33
3.1 - Pédicellaires globifères.....	33
3.1.1 - Petits pédicellaires globifères (PPG).....	33
3.1.2 - Gros pédicellaires globifères (GPG).....	35
3.1.3 - Conclusion.....	35
3.2 - Pédicellaires dentés (PD).....	35
B - VARIATIONS MORPHOLOGIQUES.....	37
1- Ontogenèse.....	38
1.1- Petits pédicellaires globifères (PPG).....	39
1.2 - Gros pédicellaires globifères (GPG).....	41
1.3 - Pédicellaires dentés (PD).....	41
1.3.1 - Chez <i>Stylocidaris affinis</i>	42
1.3.2 - Chez <i>Prionocidaris</i> sp.....	42
1.3.3 - Chez <i>Histocidaris</i> sp.....	43
1.4 - Discussion.....	43
1.4.1- Processus de croissance.....	43
1.4.2- Limites.....	44
2 - A l'échelle de l'individu.....	45
2.1 - Variation qualitative.....	45
2.1.1 - Forme de l'ouverture terminale.....	45
2.1.2 - Morphologies extrêmes.....	47
2.2 - Variations quantitatives.....	47
2.3 - Conclusion.....	50
3- Au niveau générique.....	51
3.1 - Petits pédicellaires globifères (PPG).....	51
3.2 - Gros pédicellaires globifères (GPG).....	52
3.3 - Pédicellaires dentés (PD).....	52
3.4 - Conclusion.....	53
4- Conséquences taxonomiques.....	53
C - MORPHOMETRIE.....	55
1 - Matériel et méthode.....	55
1.1 - Matériel.....	55
1.1.1 - <i>Stylocidaris affinis</i>	55
a) Choix des spécimens.....	55
b) Caractéristiques des pédicellaires.....	56
c) Pédicellaires étudiés.....	56
1.1.2 - <i>Prionocidaris</i> sp.....	56
a) Choix des spécimens.....	56
b) Caractéristiques générales des pédicellaires.....	57
c) Pédicellaires étudiés.....	57
1.1.3 - Logiciels de traitements statistiques.....	58

1.2 - Méthode.....	59
1.2.1 - Acquisition des données.....	59
a) Mesures.....	59
b) Corrections.....	61
1.2.2 - Statistiques élémentaires.....	62
a) <i>Stylocidaris affinis</i>	62
b) <i>Prionocidaris</i> sp.....	62
1.2.3 - Analyses bivariées.....	64
1.2.4 - Analyses multivariées.....	65
a) Approche descriptive.....	65
b) Approche explicative.....	66
2 - Résultats.....	69
2.1 - Observations.....	69
2.1.1 - <i>Stylocidaris affinis</i>	69
2.1.2 - <i>Prionocidaris</i> sp.....	71
2.2 - Statistiques élémentaires.....	72
2.2.1 - <i>Stylocidaris affinis</i>	72
2.2.2 - <i>Prionocidaris</i> sp.....	72
2.3 - Distinction PPG/GPG.....	72
2.4 - Variation morphologique des PPG.....	75
2.4.1 - <i>Stylocidaris affinis</i>	75
2.4.2 - <i>Prionocidaris</i> sp.....	78
a) Ldist.....	79
b) Lint.....	81
c) Lbas.....	81
d) W.....	81
e) Conclusion.....	84
2.5 - Analyses multivariées.....	86
2.5.1 - Analyse de variance multiple (MANOVA).....	86
2.5.2 - Analyse en Composantes Principales (ACP).....	88
a) Axes factoriels 1 et 2.....	88
b) Axes factoriels 1 et 3.....	89
c) Conclusion.....	94
2.5.3 - Analyses Factorielles Discriminantes (AFD).....	94
a) AFD sur les parties (apex, couronne, péristome).....	94
b) AFD sur les spécimens (sp1, sp2, sp3).....	96
3 - Discussion.....	98
3.1 - Cas particulier de <i>Prionocidaris</i> sp.....	98
3.2 - Diversité morphologique.....	100
D - HETEROCHRONIES DE DEVELOPPEMENT.....	104
1- Cadre théorique et hypothèses.....	104
2 - Résultats.....	105
2.1 - Allométries.....	105
2.2 - Ontogenèse et hétérochronies de développement.....	106
2.2.1 - (L/Wbas) en fonction de (L+Wbas).....	106
a) Chez <i>Prionocidaris</i> sp.....	106
b) Chez <i>Stylocidaris affinis</i>	106
2.2.2 - (Llimbe/L) en fonction de (L+Wbas).....	107
a) Chez <i>Prionocidaris</i> sp.....	107
b) Chez <i>Stylocidaris affinis</i>	107
3 - Conclusion.....	107
PLANCHES «PARTIE I».....	111

A - PRÉSENTATION

1- Historique de leur découverte

En 1788, Müller décrit les pédicellaires comme des polypes parasites à la surface de l'échinide *Echinus saxatilis* (= *Psammechinus miliaris*). Il décrit trois espèces : *Pedicellaria globifera*, *P. triphylla*, *P. tridens*. Valentin (1841) reconnaît que ces structures appartiennent à l'échinide lui-même. Il distingue trois types correspondant respectivement aux trois espèces précédentes: gemmiformes, ophicéphales et tridactyles. L. Agassiz pense que les pédicellaires sont des embryons d'échinides. Il ajoute à ce propos une note dans l'ouvrage de Valentin (1841). Gosse (1856) réfutera cette hypothèse par l'observation des pédicellaires d'un oursin sur une longue période. Perrier (1869) ajoute un quatrième type par la description des pédicellaires trifoliés chez le groupe des Echiniens. De plus, il distingue et adopte une terminologie particulière pour les pédicellaires des Cidariens (groupe équivalent aux Cidaroida) parmi les quatre groupes qu'il définit. Il observe ainsi deux types de pédicellaires : armés et inermes. Cette distinction n'est pas reprise par les auteurs postérieurs. En 1910a, Mortensen décrit une nouvelle catégorie chez les Spatangues : les pédicellaires rostrés. Ces derniers ressemblent beaucoup aux pédicellaires tridactyles ce qui est à l'origine de nombreuses confusions. Cette catégorie n'est d'ailleurs pas reprise par Melville et Durham (1966) dans leur chapitre consacré à la morphologie des échinides. Pourtant, une étude statistique récente des valves de pédicellaires rostrés (Campbell et Jensen, 1993) montre qu'il s'agirait bien d'un type distinct. Madon-Senez (1998) effectue une courte révision des différentes catégories et réintègre les pédicellaires rostrés comme étant un type distinct. Elle propose également (de façon non formelle) quelques modifications des dénominations. Ainsi, elle propose de supprimer le préfixe «tri» des types tridentés et trifoliés, dans la mesure où le nombre de valves de ces pédicellaires varie de deux à quatre. Finalement, les auteurs reconnaissent généralement cinq grands types de pédicellaires qui sont qualifiés selon la terminologie récente de globifères, (tri)dentés, ophicéphales, (tri)foliés et rostrés. Les problèmes de délimitation des catégories et les différences morphologiques suivant le groupe étudié sont à l'origine de fréquentes discussions dans la littérature quant à la dénomination de chaque catégorie. Le tableau 1.1 résume les correspondances de terminologie pour chaque

catégorie suivant les auteurs précédemment cités.

Auteur	Année	Dénomination				Dénomination		
Müller	1788	<i>Pedicellaria globifera</i>		<i>Pedicellaria tridens</i>		<i>Pedicellaria triphylla</i>		-
Valentin	1841	gemmiforme		tridactyle		ophicéphale	-	-
Gosse	1856	globifera		tridens		triphylla et stereophylla		-
Perrier	1869	gemmiforme (chez tous les échinides non Cidaroida)	armé	tridactyle (chez tous les échinides non Cidaroida)	inermes	ophicéphale	trifolié	-
Mortensen	1910a	globiferous		tridentate		ophicephalous	triphylloous	rostrate
Melville et Durham	1966	globiferous		tridentate		ophicephalous	triphylloous	-
Madon-Senez	1998	globifère		(tri)denté		ophicéphale	(tri)folié	rostré

Tableau 1.1 - Dénomination des différentes catégories de pédicellaires suivant les auteurs. En grisé figurent les catégories présentes chez les Cidaroida.

2 - Méthodes

La loupe binoculaire et le microscope photonique sont utilisés depuis le 19^e siècle pour observer la structure des pédicellaires. Campbell (1972) est le premier auteur à utiliser le microscope électronique à balayage pour observer les valves des pédicellaires d'*Echinus esculentus*. Par la suite, plusieurs travaux sur d'autres espèces sont réalisés par Jensen (1974, 1982), Oldfield (1976), Hilgers et Splechtna (1976, 1979 et 1981), Splechtna et Hilgers (1980, 1985), Campbell et Jensen (1993), Madon-Senez (1998). Les pédicellaires de Cidaridae restent pour leur part peu observés avec cet outil (Brosseau et Eléaume, 2003).

2.1 - Loupe binoculaire

Les pédicellaires positionnés sur le test ou détachés sont observés à l'aide d'une loupe binoculaire Leica (MZ8, grossissement de 6,3 à 50 fois). Les observations comme les prélèvements qui sont effectués, donnent un bilan de la présence, de l'état et de l'abondance des pédicellaires après de nombreuses manipulations. Ainsi, les spécimens ont pu perdre une partie ou la totalité d'un ou plusieurs types de pédicellaires sous les effets du mode de récolte, du stress induit au moment du prélèvement, du mode de conservation, du temps passé en collection et des nombreuses manipulations qui conduisent enfin le spécimen sous la loupe.

2.2 - Microscope Electronique à Balayage (MEB)

Les éléments de calcite des pédicellaires se prêtent particulièrement bien à cette technique. En effet, une fois les structures nettoyées de leur matière organique, la pièce de calcite est prête pour la métallisation et l'observation. Les images obtenues donnent une vision en trois dimensions de la structure observée avec une excellente profondeur de champ. Ceci présente un avantage considérable sur la microscopie photonique. La méthode pour l'observation au MEB se décompose en plusieurs étapes : prélèvement, nettoyage, préparation des porte-objets, métallisation et observation.

2.2.1 - Prélèvement

Les pédicellaires sont prélevés sous la loupe binoculaire à l'aide d'un outil muni d'une aiguille fine (Fig. 1.1, A). L'électricité statique (à sec) ou la capillarité (avec alcool) permettent de les manipuler sans utiliser de pinces qui risquent de les casser.

2.2.2 - Nettoyage

Les pédicellaires observés entiers sont trempés quelques secondes dans de l'alcool à 85% mélangé à quelques gouttes d'hypochlorite de sodium afin de supprimer la matière organique qui recouvre les valves. Pour observer les valves dissociées, les pédicellaires sont trempés dans un bain d'hypochlorite de sodium pendant environ cinq minutes. Ensuite, trois rinçages successifs dans de l'éthanol à 85% sont réalisés, avant séchage.

2.2.3 - Préparation du porte-objet

Les pédicellaires non dissociés et les valves sont manipulés avec l'outil utilisé précédemment (Fig. 1.1, A). Les pédicellaires et les valves sont positionnés un à un dans une direction commune afin de faciliter les prises de vue au MEB (Fig. 1.1, B).

2.2.4 - Métallisation et observation

Le métalliseur utilisé est un modèle JEOL JFC-1200. Suivant la taille des pédicellaires, la métallisation dure de 20 à 90 secondes. Le MEB utilisé pour ces travaux est un modèle JEOL JSM-840 dépendant du service de microscopie électronique du MNHN. L'appareil est équipé

d'un appareil photographique argentique au format 120 ainsi que d'une station photographique numérique. Les prises de vue sont effectuées à 5kV.

2.2.5 - Problèmes rencontrés

Lors de ces différentes étapes de nombreux pédicellaires ou valves sont cassés du fait de leur petite taille et de leur fragilité. Ces difficultés de manipulations sont à l'origine des écarts quantitatifs qui pourront être notés par la suite entre le nombre de pédicellaires prélevés et le nombre d'observations ou de mesures réellement effectué à partir des photographies.

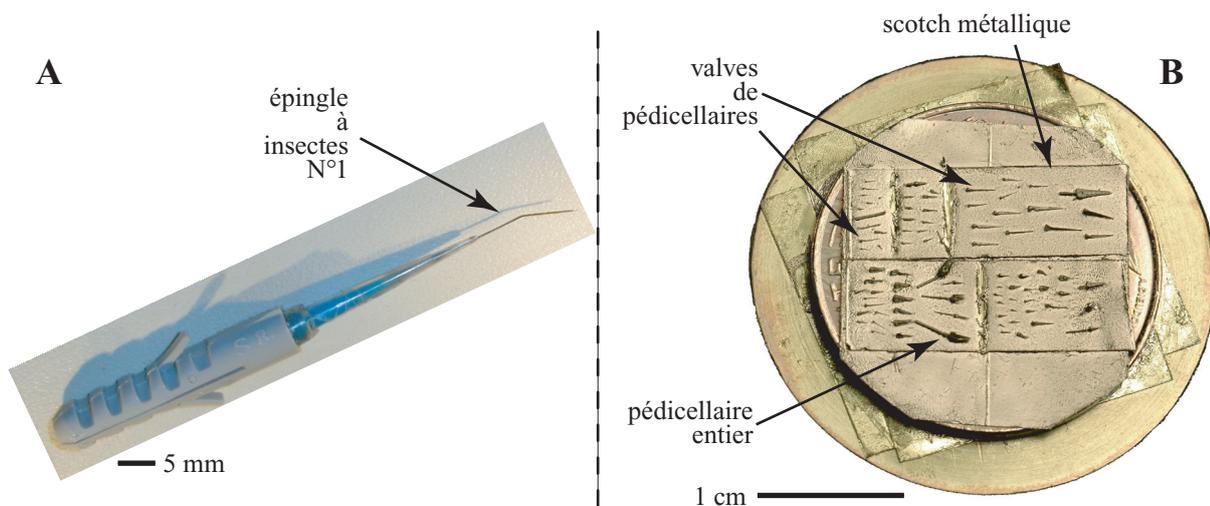


Figure 1.1 - Outil et porte-objet utilisés lors de la préparation des pédicellaires pour le MEB.
A = Outil utilisé pour manipuler les pédicellaires. B = Surface du porte-objet métallisé avant passage au MEB.

2.3 - Mesures

Les prises de mesures sont réalisées soit à partir des planches contactes à l'aide d'une règle graduée, soit directement à partir des photographies numériques obtenues au MEB avec l'outil «règle» de Photoshop 7.0. Les deux techniques ont été utilisées car seules les prises de vue en argentique étaient possibles jusqu'en janvier 2002 au service de microscopie électronique du Muséum. Il faut noter que l'outil «règle» de Photoshop apporte plus de précision dans les mesures d'autant plus qu'il est possible d'effectuer des grossissements des zones à mesurer à l'aide de l'outil «loupe» du logiciel.

3 - Les différentes catégories

Les pédicellaires de *Stylocidaris affinis* sont utilisés pour décrire avec précision la morphologie des trois catégories présentes chez les Cidaroida : les pédicellaires globifères qui sont divisés en petits globifères et gros globifères et les pédicellaires dentés.

Les pédicellaires sont constitués d'un pédoncule supportant une tête composée de valves. Pour chaque catégorie, le diamètre du pédoncule s'amincit distalement. Des fibres musculaires assurent la jonction entre la tête et le pédoncule (Fig. 1.2, A1, B1, C1). Le pédoncule présente un stéréome avec une structure réticulée.

Les valves de chacune des catégories présentent deux parties (Fig. 1.2, A4, B4, C4) :

- 1- un limbe distal plus ou moins long qui peut se terminer par une ou plusieurs dents terminales ;

- 2- une partie basale (côté proximal) constituée d'un arc basal plus ou moins marqué, d'une surface articulaire proximale et de deux cavités d'insertion musculaire séparées par une apophyse longitudinale.

L'arc basal et l'apophyse longitudinale interviennent dans la fixation des fibres musculaires qui permettent le mouvement des valves (Fig. 1.2, A2, B2, C2).

3.1 - Pédicellaires globifères

La tête est globuleuse. Les valves contiennent, dans le squelette calcaire du limbe et de la partie basale, des glandes à venin qui sont caractéristiques de cette catégorie de pédicellaires (Fig. 1.2, A5). Le limbe se termine par une ouverture délimitée par une lèvre plus ou moins dentée. Je nommerai la partie basse de cette lèvre qui sépare l'ouverture du reste du limbe «crête transversale» (Fig. 1.2, A3 et B3). La valve peut se terminer distalement par une ou plusieurs dents (Fig. 1.2, A4 et A5).

3.1.1 - Petits pédicellaires globifères (PPG)

La tête est enflée du côté du pédoncule et de plus en plus mince en allant vers l'extrémité distale. Les valves fermées sont jointes sur toute la longueur de la tête (Fig. 1.2, A1).

Les valves mesurent entre 50 et 600 µm de longueur. Le pédoncule ne présente jamais de

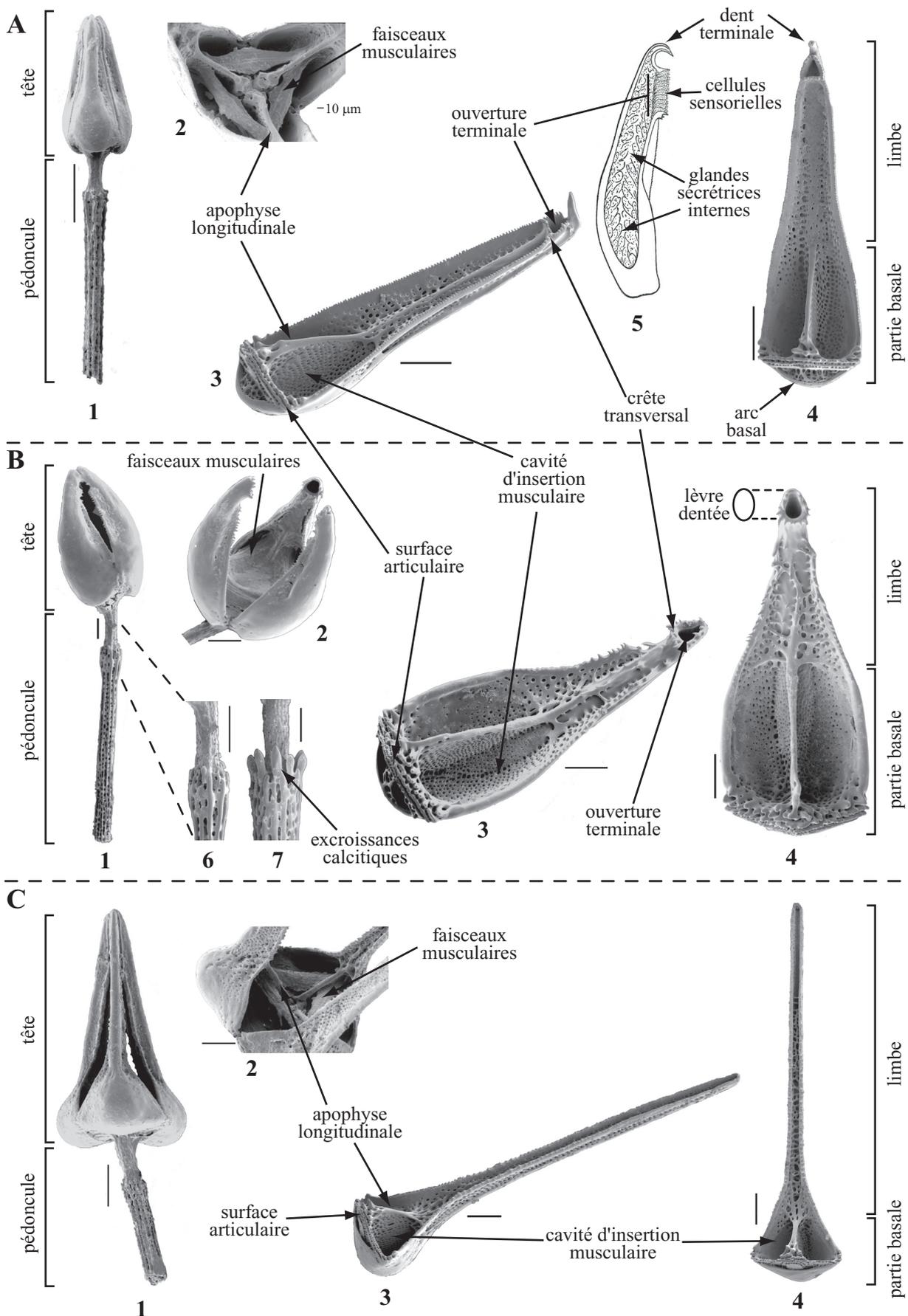


Figure 1.2 - Description des catégories de pédicellaires chez *Stylocidaris affinis*.

A = petit pédicellaire globifère (PPG) ; B = gros pédicellaire globifère (GPG) ; C = pédicellaire denté (PD). 1 = vue globale (tête+pédoncule) ; 2 = tête ouverte, vue interne ; 3 = valve, vue latérale ; 4 = valve, vue de face ; 5 = valve, coupe longitudinale (d'après Prouho, 1888) ; 6 = pédoncule sans collerette ; 7 = pédoncule avec collerette. Photographies au MEB. Echelle : 100 μm (sauf indication).

collerette. Les valves ont une dent terminale traversée par un canal dont l'orifice est situé à l'extrémité de la dent (Fig. 1.2, A5). L'ouverture terminale est fermée par des cellules ciliées (Fig. 1.2, A5) ayant une fonction sensorielle (Prouho, 1888 ; Mortensen, 1928). Je les nommerai PPG.

3.1.2 - Gros pédicellaires globifères (GPG)

La tête présente une forme plus globuleuse que les PPG. Comme pour les PPG, la partie proximale est enflée. En position fermée, des espaces sont visibles entre les valves qui sont jointes au niveau de l'ouverture terminale (Fig. 1.2, B1). La base de la partie amincie du pédoncule peut présenter une collerette formée de baguettes calcitiques projetées vers les valves (Fig. 1.2, B6, B7).

Les valves mesurent de 0,5 à 1 mm de longueur et ne présentent pas de dent terminale. En conséquence, l'ouverture contenant les cellules sécrétrices présente un orifice qui assure l'excrétion du venin (Mortensen, 1928). Je les nommerai GPG.

3.1.3 - Conclusion

Les caractéristiques morphologiques générales des pédicellaires globifères (PPG et GPG) sont globalement identiques. Cependant on peut distinguer des caractères différents. Chez *Stylocidaris affinis*, la principale différence est la présence sur les valves des petits pédicellaires globifères d'une dent terminale (qui est absente chez les gros globifères). Ils diffèrent également par leur forme générale, les valves des gros pédicellaires globifères étant plus trapues (rapport «largeur à la base/longueur» plus grand) et par leur taille, les valves des petits globifères étant théoriquement plus petites.

3.2 - Pédicellaires dentés (PD)

Le terme «tridenté» utilisé par la majorité des auteurs implique la présence de trois valves. Or ce caractère n'est pas constant puisque certains pédicellaires tridentés peuvent être bidentés ou quadridentés. J'ai donc décidé, comme le suggère Madon-Senez (1998), de conserver la racine du mot et de parler de pédicellaires dentés.

La tête présente une forme tétraédrique avec un côté proximal enflé et un côté distal qui se termine

en une pointe arrondie. Un espace est visible entre les valves, de la base jusqu'à l'extrémité distale (Fig. 1.2, C1). Elle présente généralement trois valves bien que j'aie pu observer de très rares à deux valves (Annexe 4, suite - 2/6).

Les valves des pédicellaires dentés mesurent de 0,5 à 1 mm de longueur. Elles n'ont pas de glande à venin ou à mucus. Le limbe est particulièrement long et effilé par rapport à la partie basale, formant une gouttière plus ou moins remplie d'un réseau lâche de calcite. La partie proximale de cette gouttière s'élargit légèrement formant un petit triangle qui prolonge la partie basale (Fig. 1.2, C3 et C4). J'appellerai ces pédicellaires, les PD.

Ces caractéristiques morphologiques permettent de distinguer facilement les pédicellaires dentés des pédicellaires globifères.

B - VARIATIONS MORPHOLOGIQUES

Les pédicellaires de *Stylocidaris affinis* ont permis de présenter les caractéristiques morphologiques des trois types présents chez les Cidaroida.

Mortensen (1928) a proposé dans sa classification l'utilisation de nombreux caractères basés sur les pédicellaires. Ces choix étaient justifiés par l'observation sur ces structures microscopiques de caractères variables au niveau spécifique et générique permettant de clarifier la classification du groupe.

Dans un premier temps, il convient donc d'illustrer l'ontogenèse des pédicellaires. Ensuite, je rendrai compte de la variabilité à l'échelle du spécimen et des conséquences sur l'observation des caractères. Enfin, dans un dernier palier d'intégration, j'illustrerai la diversité morphologique au niveau générique en présentant les caractères à valeur systématique et les limites de leur utilisation. Les observations réalisées et les espèces étudiées à chacun de ces paliers sont présentées dans le tableau 1.2.

Ontogenèse

Espèce	<i>Prionocidaris</i> sp.	<i>Goniocidaris tubaria</i>	<i>Stylocidaris affinis</i>	<i>Histocidaris</i> sp.
Catégories étudiées	# PPG (valves)	# GPG (valves)	# PD (entiers)	# PD (valves et entiers)
	# PD (valves)			

Variabilité au niveau de l'individu

Espèce	<i>Goniocidaris</i> sp.	<i>Goniocidaris indica</i>
Observations réalisées	# Forme de l'ouverture terminale des PPG	# Variation quantitative des différentes catégories de pédicellaires
	# Extrême variabilité de la morphologie des PPG	# Convergence morphologique des PPG et des piquants scrobiculaires

Variabilité générique

Espèces étudiées	<i>Psychocidaris oshimai</i> , <i>Cidaris cidaris</i> , <i>Tretocidaris bartletti</i> , <i>Phyllacanthus imperialis</i> , <i>Chondrocidaris indica</i> , <i>Stereocidaris microtuberculata</i> , <i>Goniocidaris indica</i> .
------------------	---

Tableau 1.2 - Observations réalisées et espèces étudiées aux trois paliers d'études de la variation des pédicellaires. PPG = petits pedicellaires globifères ; GPG = gros pédicellaires globifères ; PD = pédicellaires dentés.

1- Ontogenèse

L'ontogenèse est l'enchaînement des étapes qui conduisent un organisme de l'oeuf à l'adulte. Elle intègre la croissance, mais également des phénomènes d'embryogenèse, de métamorphose, de maturation. Il s'agit d'un processus d'agencement spatial et temporel qui aboutit à l'élaboration d'un phénotype (David, 1985). L'ontogenèse peut être appréhendée au niveau d'un organe ou d'une unité fonctionnelle sur un individu (Brosseau, 2000 ; Ameziane et Roux, sous presse). Les travaux de ce type sur les pédicellaires des échinides sont à l'heure actuelle inexistantes. Les observations de pédicellaires entiers ou valves en régénération sont rares (Agassiz, 1872-1874 ; Mortensen, 1903 et 1928 ; Prouho, 1888) et abordent souvent le problème d'un point de vue histologique (Prouho, 1888). Dans certains cas, ces pédicellaires en croissance ont été interprétés comme de nouvelles catégories (Döderlein, 1887). Quelques publications plus récentes (Pérès, 1950 ; Chia, 1970 ; Holland et Holland, 1975, Campbell et Savill, 1998) abordent la régénération des pédicellaires d'un point de vue histologique, physiologique et cellulaire, sans que soit présentée la croissance du squelette de calcite.

Dans l'incapacité d'élever des Cidaroida sur lesquels seraient observés la croissance d'un pédicellaire isolé, il est nécessaire de comparer plusieurs pédicellaires d'un même type à différents stades de croissance. Ceci dans le but de définir au mieux les étapes de l'ontogenèse. Toutefois, compte tenu de la variabilité individuelle, il convient de manier avec précaution les informations obtenues afin d'éviter des reconstructions ontogénétiques erronées.

L'identification d'un pédicellaire dont la croissance est en cours est relativement aisée une fois les valves dissociées et nettoyées de leur matière organique. En effet, le stéréome s'accroît en fabricant de petits spicules calcitiques (Fig. 1.3). Les étapes de croissance du stéréome sont illustrées par A. B. Smith (1980) et David (1985).

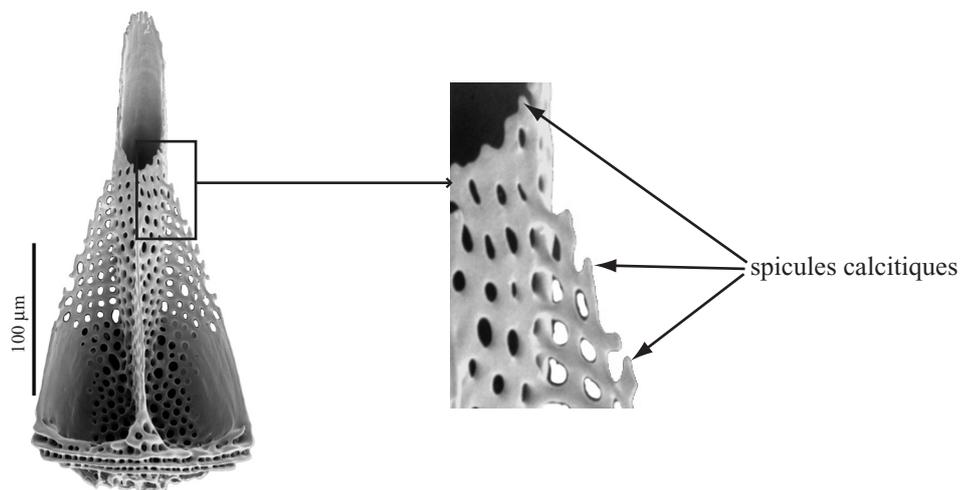


Figure 1.3 - Spicules calcitiques sur une valve de pédicellaire en croissance chez les Cidaroida. Photographies au MEB.

L'observation de pédicellaires à différents stades de croissance se fait dans l'idéal sur un seul et même individu. Il s'agit ensuite de définir à quelle catégorie ils appartiennent avant de tenter de reconstituer une série ontogénétique. Bien que j'aie observé des milliers de pédicellaires sur des centaines de spécimens, les pédicellaires permettant de contribuer à la compréhension de l'ontogenèse restent proportionnellement rares. En conséquence, j'ai parfois utilisé des pédicellaires prélevés sur plusieurs spécimens. Dans ce cas, j'ai privilégié des individus appartenant à une seule et même population (prélèvement unique).

Par commodité, je parlerai fréquemment de pédicellaires ou valves «juvéniles» ou «adultes». Le terme «juvénile» se réfère à des pédicellaires en cours de croissance tandis que le terme «adulte» se réfère à des pédicellaires dont la croissance est terminée (stade terminal).

Ainsi, au travers de quelques exemples, je vais illustrer l'ontogenèse des pédicellaires suivants :

- PPG chez *Prionocidaris* sp.
- GPG chez *Goniocidaris tubaria*
- PD chez *Stylocidaris affinis*, *Prionocidaris* sp. et *Histocidaris* sp.

1.1- Petits pédicellaires globifères (PPG) (Pl. 1.1)

Bien que ce type de pédicellaires soit présent en grand nombre, il est rare d'en observer à différents stades de croissance. Six pédicellaires ont été isolés sur les spécimens d'une population

appartenant au genre *Prionocidaris* sp. Ils ont été dissociés afin d'observer les valves présentées sur la planche 1.1.

La valve F (Pl. 1.1) est identique à celle déjà décrite chez *Stylocidaris* (partie A, 3.1.1). La comparaison de la morphologie de cette valve «adulte» avec celle de la valve la plus «jeune» (Pl. 1.1, A) va permettre d'établir les étapes de la croissance. La valve A mesure environ 250 μm et la valve F environ 540 μm . L'arc basal n'est pas visible sur la valve A. Les surfaces articulaires des valves sont bien différenciées. La calcite qui constitue la valve A forme un réseau lâche relativement uniforme tandis que pour la valve F, la calcite présente des zones différenciées (disparition du réseau qui donne un aspect lisse à certaines zones). L'apophyse longitudinale de la valve A est formée mais ne présente pas d'épaississement calcitique de type «bourrelet» à son sommet comme celui de la valve F. Le limbe de la valve A est court (relativement à la longueur de la partie proximale) et peu différencié. Il se présente comme une «languette» courbée selon la largeur. Dans sa partie proximale, les extrémités latérales de la «languette» se rejoignent formant un cône. Le limbe de la valve F est complètement formé. Il se termine par une ouverture et une dent.

L'observation des valves B, C, D, E (Pl. 1.1) permet de reconstituer les étapes de l'ontogenèse de ce pédicellaire. Ainsi, le réseau calcitique de la partie basale s'épaissit, la calcite présentant une structure uniformément lisse latéralement (valves B et C). Le cône s'allonge formant un tube (valves B, C et D): une languette est toujours présente en position distale tandis que le tube de calcite est de plus en plus long. De part et d'autre de ce tube, se forment de petites «ailes» dans le prolongement de la partie basale (valve C et D). L'apophyse longitudinale présente un épaississement de calcite à son sommet sur la valve C et les suivantes. De la même façon, les limites latérales de la valve se différencient présentant un épaississement calcitique de plus en plus denté de la valve D à la valve F. L'ouverture terminale prend sa forme finale sur la valve E en même temps qu'apparaît une ébauche de dent terminale réduite à une petite gouttière courbée vers le haut. Enfin, la lèvre dentée entourant l'ouverture terminale se différencie ainsi que la dent terminale.

D'un point de vue fonctionnel, le tube formant le limbe contiendra des cellules sécrétrices. La dent terminale est un tube par lequel pourra s'écouler le venin.

1.2 - Gros pédicellaires globifères (GPG) (Pl. 1.2)

Les GPG sont généralement peu abondants sur un même spécimen. L'observation de pédicellaires en cours de croissance est donc rare.

Quatre pédicellaires ont été isolés sur un spécimen de *Goniocidaris tubaria*. Ils ont été dissociés afin d'observer les valves présentés sur la planche 1.2.

La valve « adulte » du pédicellaire de ce spécimen (Pl. 1.2, valve D) mesure environ 800 µm. Sa largeur basale est grande par rapport à la longueur donnant un aspect trapu à la valve. Le limbe a la même longueur que la partie basale. L'ouverture terminale de forme triangulaire s'individualise à l'extrémité distale du limbe. Hormis ces différences de forme, les caractéristiques morphologiques sont les mêmes que les valves de GPG déjà décrites (Fig. 1.2, B4).

La valve A (Pl. 1.2), la plus « jeune », mesure environ 370 µm. La surface articulaire est visible mais peu différenciée, l'arc basal absent. Les deux zones d'insertion musculaire sont constituées d'un réseau calcitique lâche et non différencié. L'apophyse longitudinale est formée. Le limbe est très court constitué d'une « languette » de calcite courbée latéralement dont la partie proximale est en forme de cône. Sur la valve B, le cône s'est allongé et constitue une ébauche de tube orienté vers le haut. La valve C présente les caractéristiques de la valve finale (valve D) : la surface articulaire est plus large et mieux différenciée, les « ailes » de calcite bordant le tube central sont plus larges et présentent des zones différenciées, l'ouverture terminale présente sa forme triangulaire finale. Les dernières étapes (valve C à D) sont la différenciation de l'arc basal, la formation des épaissements de calcite plus ou moins dentés bordant la valve ainsi que la formation de la lèvre dentée entourant l'ouverture terminale.

1.3 - Pédicellaires dentés (PD)

Suivant le genre, la population ou le spécimen étudié, la fréquence des PD peut beaucoup varier. J'ai isolé des pédicellaires en cours de croissance sur trois espèces. D'une part *Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp. qui présentent les mêmes caractéristiques générales en ce qui concerne leurs PPG, GPG et PD, d'autre part chez *Histocidaris* sp. qui appartient à un groupe dont l'une des caractéristiques est de ne présenter que des PD (Mortensen, 1928).

1.3.1 - Chez *Stylocidaris affinis* (Pl. 1.3)

Six pédicellaires ont été isolés sur une population de *Stylocidaris affinis*. Afin de les observer entiers, ils ont été nettoyés à l'alcool sans hypochlorite de sodium ce qui conserve la matière organique qui assure la cohésion des valves (Pl. 1.3, Figure I).

Le pédicellaire F «adulte» mesure environ 550 μm de longueur sans le pédoncule. Il est identique au PD précédemment décrit (Fig. 1.2, C4) : il a une forme tétraédrique avec une partie proximale enflée. La partie basale du tétraèdre se prolonge par des limbes étroits. Les espaces entre les valves lorsque le pédicellaire est fermé, sont longs et larges. Le pédicellaire A, le plus « jeune », mesure environ 200 μm de longueur sans le pédoncule. Les valves sont de forme triangulaire, courbées et sont constituées d'un réseau calcitique non différencié. Des espaces existent entre les valves. Les valves qui forment le pédicellaire B sont plus allongées et plus bombées. Elles se terminent en position distale par des pointes qui s'individualisent du fait d'une structure calcitique différente. Les limbes s'allongent de plus en plus sur les valves C, D et E avec une différenciation de la calcite.

Quel que soit le pédicellaire observé, les valves fermées sont toujours en contact par l'extrémité distale et des espaces sont toujours présents entre les valves, de la base à l'extrémité distale.

1.3.2 - Chez *Prionocidaris* sp.

Quatre pédicellaires ont été isolés sur une population de *Prionocidaris* sp. Ils ont été dissociés afin d'observer les valves en vue interne (Pl. 1.3, Figure II).

La valve D mesure environ 1,2 mm de longueur. La partie proximale large forme un triangle avec la base du limbe. Celui-ci se prolonge sous la forme d'une gouttière plus ou moins remplie de calcite. La structure est identique à celle de la valve de PD de *Stylocidaris affinis* (partie A, 3.2). La valve A mesure environ 200 μm . La partie basale présente une surface articulaire peu différenciée sans arc basal. L'apophyse est formée d'un réseau calcitique lâche. Le limbe se limite à une languette de calcite formant un cône à sa base. Sur la valve B, la partie proximale est différenciée : l'arc basal est formé, l'apophyse longitudinale présente un «bourrelet» de calcite à son sommet. Le limbe qui est plus long, forme une gouttière étroite dont la base est élargie par de petites « ailes » de calcite non différenciées. Sur la valve C, le limbe s'est encore allongé et la gouttière est remplie par un réseau lâche de calcite. L'allongement du limbe et le

remplissage de la gouttière se poursuivent de la valve C à la valve D. De plus, le pourtour de la valve se différencie par un épaississement de la calcite (de type «bourrelet»). De petites dents se forment sur le contour épaissi du limbe.

1.3.3 - Chez *Histocidaris* sp. (Fig. 1.4)

Huit pédicellaires ont été prélevés sur un spécimen d'*Histocidaris* sp. Cinq d'entre eux ont été dissociés afin d'observer les valves à plusieurs stades de croissance (Pl. 1.4, A). Compte tenu de la résistance physique de ces valves, peu d'entre elles ont été cassées. Ainsi des photographies en vues interne, latérale et externe ont été prises dans la majorité des cas afin de visualiser la forme tridimensionnelle. Trois pédicellaires entiers qui correspondent aux stades 2, 3 et 5 des valves dissociées ont été nettoyés à l'alcool pour des observations générales (Pl. 1.4, B). Ainsi, la mise en correspondance de la structure d'une valve avec la forme générale du pédicellaire est possible pour trois des cinq stades observés.

Au stade 1, la valve mesure 700 μm . Elle présente une forme générale triangulaire. Le réseau de calcite est lâche et non différencié. Au niveau de la surface articulaire, le réseau présente un début de différenciation. La partie basale présente les deux cavités d'insertion musculaire séparées par l'apophyse longitudinale. Le limbe se limite à un court prolongement de la partie basale terminée par des baguettes longitudinales de calcite. Au stade 5, la valve mesure 4.7 mm. Elle est constituée d'une partie basale carrée et un long limbe (3.4 mm) de type «baguette aplatie». La partie basale présente une apophyse longitudinale plus large et plus haute du côté proximal. En vue interne, le limbe est formé d'un réseau calcitique grossier à surface légèrement concave. En vue externe, le limbe présente un réseau différencié en cannelures longitudinales et une surface convexe. L'extrémité distale est légèrement courbée vers le haut en vue latérale. Les stades 2 à 4 montrent que le limbe s'allonge rapidement tandis que la partie basale s'agrandit et se différencie passant d'une forme triangulaire à une forme carrée par ajout de calcite. De petites baguettes de calcite sont observables en position distale lors de l'allongement du limbe.

1.4 - Discussion

1.4.1- Processus de croissance

Les observations faites permettent de distinguer deux groupes de pédicellaires en fonction du

processus de croissance. Le premier constitué par les PPG de *Prionocidaris* sp, les GPG de *Goniocidaris tubaria* et les PD de *Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp. ; le second constitué par les PD d'*Histocidaris* sp.

Dans le premier groupe, la partie basale présente les mêmes caractéristiques morphologiques et se forme toujours avant que le limbe ne se différencie. Les stades les plus précoces (Pl. 1.1, A ; Pl. 1.2, A et Pl. 1.3 ; Fig. II, A) présentent le même type de réseau calcitique non différencié ainsi qu'une ébauche de limbe constituée d'une languette de calcite courbée latéralement dont la partie proximale est refermée en forme de cône. Ainsi même si la forme générale diffère, rien ne permet de dire à ce stade ontogénétique et en l'absence des stades suivants, si le limbe va se différencier en pédicellaire globifère, gros ou petit, ou en pédicellaire denté.

Dans le deuxième groupe, la partie basale se forme également avant le limbe. Mais le réseau calcitique très épais qui constitue la valve présente une structure grossière différente de celle du groupe précédent. La différenciation finale de la structure calcitique de la valve est beaucoup moins marquée que dans le premier groupe.

1.4.2- Limites

L'observation d'un spécimen de *Stylocidaris affinis* a permis d'identifier quelques valves en croissance. Deux d'entre elles (Fig. 1.4, c et d) ont été identifiées comme étant des valves de PPG et de PD après comparaison avec les séries ontogénétiques de *Prionocidaris* sp (Pl. 1.1). Une troisième valve à un stade beaucoup plus «juvénile» (Fig. 1.4, a et b) n'a pu être attribuée à l'un des types. En effet, l'absence de stades intermédiaires entre les stades «a» et «c» ne permet pas d'associer ce dernier au PPG ou au PD. De plus, cette valve pourrait être un stade «juvénile» de GPG mais aucune valve en croissance de cette catégorie n'a pu être isolée sur cette espèce. D'autres questions se posent. Le pédicellaire est-il déterminé à ce stade ? Peut-il donner l'une des trois catégories suite à un stimulus particulier ?

Ainsi, la reconstitution de séries ontogénétiques dépend dans un premier temps du nombre de pédicellaires en croissance qu'il est possible d'observer. Dans un second temps, la réalité de l'ontogénèse déduite dépend de l'interprétation que l'observateur fait des différents stades de croissance. Le seul moyen de vérifier avec certitude les résultats obtenus serait d'observer l'ontogénèse *in vivo* d'un seul et même pédicellaire.

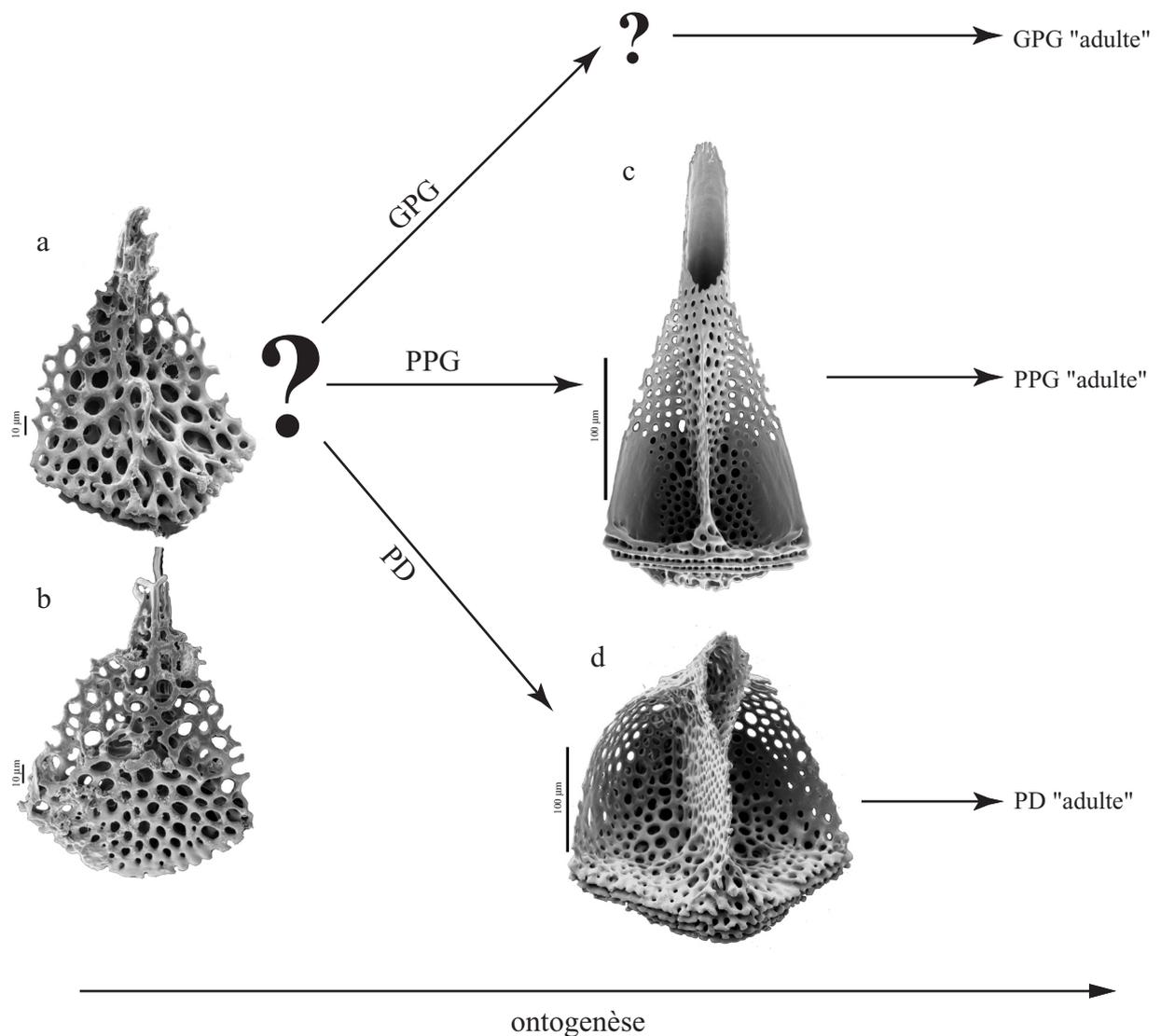


Figure 1.4 - Ontogenèse possible d'une valve de pédicellaire chez *Stylocidaris affinis*.

a = valve indéterminée en vue interne ; b = valve indéterminée en vue externe ; c = valve de PPG «juvénile» en vue interne ; d = valve de PD «juvénile» en vue interne ; prélèvement sur un spécimen de *Stylocidaris affinis*, SEAMOUNT 2, station DW259. Photographies au MEB.

Afin de prolonger l'analyse de la variabilité des pédicellaires, je vais maintenant m'intéresser aux valves «adultes» observables sur un même spécimen.

2 - A l'échelle de l'individu

Les variations morphologiques des pédicellaires et de leurs valves à l'échelle de l'individu ont été rarement décrites (Mortensen, 1928). Cherbonnier (1967) a observé sur un spécimen de *Paracentrotus lividus* des variations morphologiques (forme, nombre de dents terminales et latérales) des pédicellaires globifères. Les problèmes d'identification et de description des catégories qui sont liés à la variabilité morphologique ont déjà été évoqués chez les Cidaroida

par certains auteurs (Agassiz et Clark, 1907 ; Mortensen, 1928). Au travers de quatre exemples pris sur quatre spécimens appartenant au genre *Goniocidaris*, je propose d'illustrer la variabilité qualitative des PPG ainsi que la variabilité quantitative des PPG et GPG.

2.1 - Variation qualitative

2.1.1 - Forme de l'ouverture terminale (Pl. 1.5)

Mortensen (1928) utilise la forme de l'ouverture terminale comme caractère systématique. Deux valves de PPG en vue interne et en vue latérale sont présentées sur la planche 1.5 (Fig. I). La valve A mesure environ 230 µm tandis que la valve B mesure environ 580 µm. Les mailles du réseau calcitique de la zone d'insertion musculaire sont plus nombreuses sur la valve B du fait de la différence de taille. Mais les différences principales concernent l'ouverture terminale. Ainsi l'ouverture de la valve B est plus longue et plus étroite relativement à la taille de la valve (la longueur de l'ouverture a un rapport 1/3 pour la valve A contre 1/2 pour la valve B). Cette différence de forme de l'orifice terminal pourrait être liée à la différence de taille entre les deux valves (allométrie de croissance).

Deux valves en vue interne sont présentées sur la planche 1.5 (Fig. II). Ces deux valves sont de même longueur soit environ 180 µm. La différence principale entre les deux valves réside là encore dans la forme de l'ouverture. Ainsi, par rapport à la longueur totale, la valve D présente une ouverture plus longue et plus effilée que celle de la valve C. La longueur de l'ouverture a un rapport 1/4 pour la valve C contre 1/3 pour la valve D ; la largeur de l'ouverture de la valve C est environ deux fois celle de la valve D. Il en résulte une modification considérable de la forme générale de chacune de ces valves. Cette différence de forme n'est pas associée à une différence de taille.

L'ouverture terminale peut donc présenter des différences de forme entre les pédicellaires d'une même catégorie prélevés sur un même spécimen, indépendamment de la taille des valves.

2.1.2 - Morphologies extrêmes (Pl. 1.6)

Neuf valves appartenant à neuf pédicellaires d'un même spécimen de *Goniocidaris* sp. sont présentées sur la planche 1.6. Il s'agit dans tous les cas de valves dont la croissance est terminée

(«adultes») et non de valves en cours de croissance. En effet, aucun spicule calcitique n'est visible et les valves présentent les épaissements calcitiques (type «bourrelets») qui marquent la fin de la croissance. Cette série morphologique rend donc compte, non pas de l'ontogenèse d'une valve mais bien de trajectoires ontogénétiques différentes conduisant à des morphologies finales contrastées.

Nous commencerons par décrire les valves 1 (Pl. 1.6, 1 et 1b) et 9 (Pl. 1.6, 9 et 9b) . La valve 1 mesure 260 µm. Elle possède une dent terminale. Son ouverture terminale est presque circulaire et de petite taille. La valve 9 mesure environ 1 mm. Le limbe très large (environ 1/3 de la longueur dans la partie la plus large) est constitué par un épais réseau calcitique réticulé. La valve ne présente ni dent terminale, ni ouverture terminale. Ces deux valves ont donc des caractéristiques morphologiques très différentes. Les valves 2 et 3 présentent un allongement de l'ouverture terminale en même temps qu'un allongement du limbe. A partir de la valve 4 et sur les valves suivantes, l'ouverture terminale apparaît de plus en plus déformée et difficilement identifiable jusqu'à disparaître sur la valve 9. Parallèlement, le réseau calcitique qui constitue le limbe apparaît de plus en plus épais, dense et réticulé. Le limbe est de plus en plus large par rapport à la partie basale. La dent terminale dont une ébauche est encore visible sur la valve 3, disparaît totalement sur la valve 4 et les suivantes.

Ainsi, les valves 2 à 8 présentent des morphologies intermédiaires qui permettent de faire le lien entre les deux valves 1 et 9 précédemment décrites. Il s'agit dans tous les cas de PPG, la valve 9 étant extrêmement modifiée. Il est rare d'observer un spécimen qui présente autant d'intermédiaires entre les deux morphologies extrêmes décrites. La valve 9 présente donc la taille et l'apparence d'une valve de PD. Cette structure similaire pourrait être associée à un rôle fonctionnel de remplacement des PD (Mortensen, 1928).

2.2 - Variations quantitatives (Pl. 1.7)

L'étude a porté sur des spécimens de *Goniocidaris indica*. Selon Mortensen (1939), l'espèce *Goniocidaris indica*, décrite à partir d'un prélèvement de sept spécimens, présente des PD et des PPG et ne possède pas de GPG.

J'ai identifié dans les collections du MNHN un riche matériel prélevé au large de la côte ouest de Madagascar entre 12° et 24° de latitude sud. L'observation de quelques spécimens montre

n° invent.	prof.(m)	latitude	longitude	D (mm)	H (mm)	état	PPG	PPG modifiés	GPG
EcEs9937	375-380	12°42'S	48°14'E	16,8	10,3	AB	nombreux	1 à 4 / ambulacre	1+1 dans 2 interambulacres
EcEs9941	445-455	12°42'S	48°12'E	12,7	7,5	AB	nombreux	1 à 2 / ambulacre	aucun
				15,7	9,6	M	nombreux	2+3 dans deux ambulacres	aucun
				21,3	13,5	AB	nombreux	2 dans un ambulacre	aucun
EcEs9945	435-440	12°42'S	48°12'E	21,9	12,7	M	nombreux	1 à 4 / ambulacre	aucun
				8,9	4,7	M	nombreux	1 dans un ambulacre	aucun
EcEs9947	350-360	12°43'S	48°13'E	13,7	8,5	AB	nombreux	3 dans un ambulacre	1 dans un interambulacre
				15	8,9	M	nombreux	2 dans un ambulacre	aucun
				18,7	10,7	M	nombreux	2 dans un ambulacre	aucun
				9,1	4,9	B	nombreux	3+3 dans deux ambulacres	aucun
EcEs9959	370	12°43'S	48°14'E	9,6	5,5	AB	nombreux	1 dans un ambulacre	aucun
				12	7,2	B	nombreux	1 dans un ambulacre	1 dans un interambulacre
				12,8	7,1	AB	nombreux	3+1 dans deux ambulacres	1 dans un interambulacre
				13,9	8,4	AB	nombreux	2+2+1 dans trois ambulacres	aucun
				16,8	11,2	B	nombreux	1 dans un ambulacre	aucun
				16,9	10,3	nettoyé	nombreux	?	?
				18,2	12,4	B	nombreux	3 à 7 dans quatre ambulacres	aucun
				18,5	10,4	B	nombreux	3 / ambulacre	aucun
				16,9	10,6	B	nombreux	1 à 3 / ambulacre	2 dans un interambulacre
				26,1	17,6	M	nombreux	3 dans un ambulacre	aucun
EcEs9939	400	15°19'S	46°11'E	26,1	16,4	TM	nombreux	aucun	aucun
				25,8	17,3	B	nombreux	1 à 3 dans quatre ambulacres	1+3 dans 2 interambulacres
				25,2	17,1	AB	nombreux	2 dans un ambulacre	1 à 12 / interambulacre
EcEs9957	280-310	18°54'S	43°55'E	27,1	18,1	TM	nombreux	3+3 dans deux ambulacres	aucun
				27,3	19,1	M	nombreux	2+2 dans deux ambulacres	1 dans un interambulacre
				25,7	17,8	TB	nombreux	1 dans un ambulacre	3 à 5 / interambulacres
EcEs10005	400-410	22°19'S	43°06'E	25,7	17,8	M	nombreux	aucun	2+2 dans deux interambulacres
				25,9	17,6	B	nombreux	1 dans un ambulacre	aucun
				27,1	17,6	M	nombreux	1 dans un ambulacre	aucun
				26,3	17,9	M	nombreux	3 dans un ambulacre	aucun
EcEs9985	450	22°21'S	43°05'E	26,6	18,1	M	nombreux	1 à 2 / ambulacre	aucun
				16,5	9,4	TM	nombreux	aucun	aucun
EcEs9949	510	23°36'S	43°30'E	18,5	10,7	TM	nombreux	1 dans un ambulacre	aucun
				23,6	14,9	nettoyé	nombreux	?	?

Tableau 1.3 - Dénombrement des pédicellaires sur des spécimens de *Goniocidaris indica*.

n° invent. = numéro d'inventaire du Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN) ; prof. = profondeur ; D = diamètre du test ; H = hauteur du test ; état = état de conservation du spécimen (TM = très mauvais ; M = mauvais ; AB = assez bon ; B = bon ; nettoyé = test nu sans piquant ni pédicellaire) ; PPG = petit pédicellaire globifère ; GPG = gros pédicellaire globifère.

un nombre important de PPG sur la totalité du test alors que les GPG semblent rares et localisés sur le test. D'autres pédicellaires présentent la morphologie d'un PPG à la morphologie extrême illustrée précédemment (Planche 1.6, 9 et 9b). Les trois types de pédicellaires sont illustrés sur la planche 1.7 (Fig. I). Je parlerai de PPG et de «PPG modifié» pour la morphologie extrême de PPG présentant les caractéristiques d'un PD. Compte tenu de la répartition régulière des échantillons le long d'un axe nord-sud et du nombre apparemment réduit de GPG et de «PPG modifiés», j'ai effectué un dénombrement des pédicellaires sur tous les spécimens.

Deux questions se posent :

1- Existe-t-il une variabilité quantitative ?

2- Les différences observées peuvent-elles être liées à la répartition géographique ?

La première question est intéressante compte tenu de l'utilisation dans la classification de Mortensen (1928) du caractère «absence/présence d'une catégorie de pédicellaire». Par ailleurs, j'ai vérifié d'éventuelles relations entre les différences de proportions des GPG/«PPG modifiés» et la bathymétrie ou la taille (D) des spécimens. Dans tous les cas, j'ai tenu compte de l'état de conservation des spécimens.

Les résultats sont présentés dans le tableau 1.3. Les PPG sont très nombreux sur chaque spécimen et sont répartis sur tout le test. En revanche, le nombre de «PPG modifiés» varie de zéro à une vingtaine. Ils sont localisés au niveau des ambulacres. Le nombre de GPG est compris entre zéro et une vingtaine également avec 9 spécimens qui en possèdent sur les 35 observés. Ces pédicellaires sont localisés au niveau des interambulacres. La présence simultanée des GPG et des «PPG modifiés» n'est pas obligatoire. Aucun PD n'a été observé. Deux spécimens ne présentent aucun des deux types. Le très mauvais état de conservation pourrait expliquer leur absence. La fréquence des deux types de pédicellaires ne semble pas liée à la répartition géographique. De même, la bathymétrie et la taille des spécimens n'interviendraient pas.

Les observations faites montrent que les GPG sont bien présents chez cette espèce contrairement aux conclusions de Mortensen (1928). Ils sont néanmoins rares (75% des spécimens n'en possèdent pas). Aucun PD n'a été observé. Il est probable que les PD décrits par Mortensen soient en fait mes «PPG modifiés». La description du genre *Goniocidaris* (Mortensen, 1928)

semble confirmer cette hypothèse puisque le genre est caractérisé par la présence de PPG dont la morphologie rappelle celle des PD et par l'absence de PD. Concernant les «PPG modifiés», l'observation de traces de l'ouverture terminale sous la forme d'une fente plus ou moins différenciée à l'extrémité distale des valves confirme cette hypothèse. En revanche, les intermédiaires entre les deux extrêmes morphologiques de PPG semblent très rares chez cette espèce. Enfin, les «PPG modifiés» sont parfois très difficiles à identifier. Leur localisation en bordure de l'ambulacre au milieu des piquants scrobiculaires entourant la base des piquants primaires est à l'origine de ces problèmes d'identification. La face visible (par un observateur extérieur) d'un piquant scrobiculaire et la vue externe d'une valve d'un «PPG modifié» adjacent sont présentées sur la planche 1.7 (Fig. II). Ces piquants sont presque de même taille et la structure de la calcite est identique avec une différenciation du réseau calcitique en cannelure longitudinale grossière. L'extrémité proximale du piquant présente une petite collerette. L'extrémité proximale de la valve présente un renflement qui correspond aux cavités d'insertion musculaire visibles en vue interne. La partie proximale du piquant est légèrement plus large au-dessus de la collerette tandis que la partie proximale du limbe est légèrement plus mince que le reste de la valve. Malgré ces différences mineures, la morphologie externe de la valve et celle du piquant sont identiques. Une fois identifiés, la distinction est malgré tout aisée sachant que les pédicellaires sont constitués de trois valves à l'extrémité d'un pédoncule (très court et peu visible pour cette catégorie).

2.3 - Conclusion

Sur un même spécimen, les PPG peuvent présenter une importante variabilité morphologique liée à des trajectoires ontogénétiques différentes. A ces variations morphologiques se superposent des variations qualitatives chez un même individu. Cela peut conduire à de mauvaises interprétations des catégories de pédicellaires présentes chez une espèce.

Je vais illustrer au travers de quelques exemples la variabilité des pédicellaires au niveau générique afin de présenter les caractéristiques morphologiques utilisées au niveau taxonomique par Mortensen (1903, 1928).

3- Au niveau générique

Les pédicellaires de cinq espèces appartenant à trois sous-tribus (selon Mortensen, 1928) de la famille des Cidaridae ainsi que ceux de l'espèce *Psychocidaris oshimai* appartenant à la famille des Psychocidaridae sont utilisés pour illustrer la diversité des pédicellaires au rang générique. Chaque type de pédicellaire est présenté «entier» c'est-à-dire avec sa tête constituée de valves. Le pédoncule est parfois absent du fait de la fragilité de l'articulation entre tête et pédoncule. Chaque valve est présentée, nettoyée de sa matière organique, en vue interne et en vue latérale (dans la majorité des cas) afin de rendre compte de sa forme tridimensionnelle.

3.1 - Petits pédicellaires globifères (PPG) (Pl. 1.8)

La tête constituée de trois valves apparaît plus ou moins globuleuse suivant l'espèce observée (Planche 1.8). Ainsi, chez les Cidarina, les têtes sont plus grandes et effilées que chez les Rhabdocidarina. Le calcul des rapports longueur/largeur confirme cette observation. Les valves fermées sont jointes de la base à l'extrémité distale.

La taille des valves est variable. La forme générale de la valve, la forme et la taille relative de l'ouverture terminale sont également très variables. Chez *Phyllacanthus imperialis*, l'ouverture est distinctement triangulaire tandis que chez *Stereocidaris microtuberculata*, celle-ci est ovale, très allongée par rapport à la longueur de la valve. Enfin, les valves peuvent présenter une ou plusieurs dents terminales. La lèvre bordant l'ouverture peut être plus ou moins épaisse et plus ou moins dentée.

Le cas de *Psychocidaris oshimai* est particulier puisque Ikeda (1939b) ne décrit qu'un seul de type de pédicellaire globifère chez cette espèce. Ce pédicellaire présente d'ailleurs des caractéristiques très particulières puisqu'il ne dispose ni de glande sécrétrice, ni d'orifice terminal. Ce sont par des aspects histologiques qu'Ikeda l'a rangé dans la catégorie des pédicellaires globifères sans faire de choix entre petit et gros.

3.2 - Gros pédicellaires globifères (GPG) (Pl. 1.9)

Comme pour les PPG, la taille et la forme générale des GPG varient : la tête peut-être plus ou moins globuleuse (Pl. 1.9). Chez *Tretocidaris bartletti*, *Phyllacanthus imperialis* et *Chondrocidaris*

brevispina un espace est visible entre les valves fermées tandis que chez *Cidaris cidaris*, *Stereocidaris microtuberculata* et *Psychocidaris oshimai*, les valves sont jointes. L'espace mesure environ 1/3 de la longueur de la valve et sa position par rapport à la base est variable.

Les valves présentent également des différences de taille et de forme générale. La forme et la taille relative de l'ouverture varient largement. Il faut noter deux formes extrêmes : *Tretocidaris bartletti* avec une ouverture circulaire de très petite taille et *Stereocidaris microtuberculata* avec une ouverture relativement allongée plus étroite en position distale. Enfin, les valves diffèrent également par la présence ou l'absence d'une ou plusieurs dents terminales et par la dentelure de la lèvre qui borde l'orifice terminal.

Aucun pédicellaire de cette catégorie n'est présenté pour *Psychocidaris oshimai* puisque le seul pédicellaire globifère connu chez cette espèce est illustré sur la planche 1.8.

3.3 - Pédicellaires dentés (PD)

Ce type de pédicellaires présente une morphologie très différente des pédicellaires globifères (Pl. 1.10). De façon générale, ils sont de plus grande taille et plutôt allongés. Chez *Cidaris cidaris*, *Tretocidaris bartletti* et *Psychocidaris oshimai*, un espace plus ou moins long et large est visible tandis que chez les trois autres espèces les valves sont jointes.

Les valves de *Cidaris cidaris*, *Tretocidaris bartletti*, *Chondrocidaris brevispina* et *Stereocidaris microtuberculata* présentent une partie basale courte et large relativement au limbe très fin et allongé qui ressemble à une longue gouttière plus ou moins rempli de calcite. Chez *Phyllacanthus imperialis*, le limbe est beaucoup plus large et rempli avec un réseau calcitique épais et réticulé qui rappelle les «PPG modifiés» illustrés dans la partie précédente chez *Goniocidaris*. Chez *Psychocidaris oshimai*, la forme générale diffère par le fait que les valves ne se touchent qu'à l'extrémité distale en position fermée. En effet, les valves sont fortement courbées vers l'intérieur et présentent un élargissement de l'extrémité distale. Le réseau calcitique interne du limbe présente une structure organisée longitudinalement. Selon Ikeda (1939b), *Psychocidaris oshimai* posséderait deux types de pédicellaires dentés (petit et grand) de même forme générale. Les valves seraient plus larges sur le type le plus grand et le pédoncule aurait une structure calcitique différente. Mes observations ne m'ont pas permis d'identifier deux types de PD. Une analyse de la variabilité des PD chez cette espèce permettrait de clarifier les choses.

En général, les valves ne présentent pas de dent terminale. Chez *Phyllacanthus imperialis*, quelques dents plus ou moins marquées sont visibles.

3.4 - Conclusion

L'observation de chaque catégorie de pédicellaires chez ces six espèces montre une diversité morphologique importante caractérisée par des différences de forme générale des pédicellaires entiers et des valves. A ces différences pour chacune des catégories s'ajoute le fait qu'un individu observé présente une combinaison de pédicellaires. Ainsi, les GPG de *Phyllacanthus imperialis* et *Chondrocidaris brevispina* sont très similaires tandis que les PPG présentent des ouvertures terminales de formes différentes ainsi qu'une différence au niveau du nombre de dents terminales. Les PD de ces deux espèces ont eux des différences morphologiques bien marquées.

4- Conséquences taxonomiques

Il existe donc une importante diversité de la morphologie des pédicellaires au niveau générique. Mais quels caractères des pédicellaires ont une valeur systématique chez les Cidaroida depuis les travaux de Mortensen (1903, 1928)? A quels rangs de la classification sont-ils utilisés ? Comme nous l'avons vu dans l'historique de la classification, Mortensen (1903, 1928) a développé l'utilisation de caractères des pédicellaires à tous les niveaux de la classification. De façon générale, la présence ou l'absence d'une ou plusieurs catégories de pédicellaires constituent un élément important aux niveaux supra-générique et plus rarement spécifique. Or, j'ai montré que la présence des catégories attendues n'est pas systématique sur chaque spécimen d'une espèce. En ce qui concerne les pédicellaires globifères (petits et grands), la taille relative et la forme de l'ouverture ainsi que la présence ou l'absence d'une ou plusieurs dents terminales sont des caractères informatifs aux niveaux supra-générique (sous-tribus selon Mortensen, 1928) et générique. Ces mêmes caractères sont rarement pertinents au niveau spécifique. Ces caractères ont montré une variabilité importante sur un même spécimen. La taille du pédoncule ainsi que la présence ou l'absence d'une collerette sont utilisées au niveau spécifique même si Mortensen (1903) lui-même émet des réserves liées aux variations qu'il a pu observer. Je n'ai pas illustré

la variabilité de la collerette dans ce chapitre mais mes observations confirment les réserves de Mortensen : la collerette peut varier en taille jusqu'à être absente suivant le pédicellaire observé sur un même spécimen. Les pédicellaires dentés offrent de bons caractères au niveau spécifique, essentiellement au sein de la sous-tribu *Histocidarina* (*Histocidaris*, *Porocidaris*) qui se caractérisent par l'absence de pédicellaires globifères. Une analyse approfondie de ce caractère semble nécessaire pour vérifier ou infirmer les conclusions de Mortensen à ce niveau.

Ces résultats préliminaires ne remettent pas en question l'utilisation des pédicellaires dans la taxonomie des Cidaroida tel que Mortensen l'a proposée. Pourtant, il s'avère nécessaire de prendre des précautions lors de l'observation des pédicellaires d'un prélèvement : il ne faut pas se limiter à l'observation d'un pédicellaire de chaque catégorie et si possible ne pas se limiter aux pédicellaires d'un seul spécimen. De plus, il semble pertinent de vérifier la variabilité des pédicellaires des spécimens types avant d'inclure un ou plusieurs caractères basés sur ces structures dans la diagnose d'une espèce ou de tout autre groupe supraspécifique.

Les résultats que j'ai obtenus en ce qui concerne l'ontogenèse posent la question de l'homologie des pédicellaires chez tous les groupes. En effet, j'ai mis en évidence deux processus de croissance. Ces processus différents impliquent-ils des évolutions convergentes des pédicellaires nommés PD chez *Histocidaris* et *Stylocidaris* par exemple ? Il faut noter que la dénomination des types de pédicellaires a eu avant tout un rôle pratique, les auteurs cherchant à distinguer des classes au sein d'un champ de variation (Geis, 1936). De plus, à l'échelle de l'individu, j'ai mis en évidence des gradients morphologiques conduisant d'une valve extrême (PPG) à une autre (PPG avec une morphologie de PD). Ces dernières observations compliquent encore la compréhension des homologies sur les pédicellaires.

Une approche morphométrique sur les valves de pédicellaires nous apporterait-elle des informations sur la variabilité que j'ai présentée dans cette première partie ?

C - MORPHOMÉTRIE

J'ai montré précédemment que les pédicellaires globifères (PPG et GPG) présentent une importante variabilité morphologique des rangs supra-génériques jusqu'au niveau de l'individu.

Afin de tenter de quantifier cette variabilité, j'ai réalisé des analyses morphométriques.

Une approche préliminaire a été réalisée sur un prélèvement de spécimens de l'espèce *Stylocidaris affinis*. Dans un premier temps, l'objectif est d'illustrer quantitativement les différences entre les PPG et les GPG. Les PPG ont montré une variabilité de forme qu'il a semblé pertinent d'étudier plus finement. Dans un second temps, je me suis intéressé à un genre présent dans l'océan Pacifique et l'océan Indien et très proche par les caractéristiques de ses pédicellaires du genre *Stylocidaris* : le genre *Prionocidaris*. Les approches réalisées dans cette partie sur deux espèces sont résumées dans le tableau 1.4.

Espèce	<i>Stylocidaris affinis</i>	<i>Prionocidaris</i> sp.
Analyses réalisées	# Distinction PPG/GPG	# Distinction PPG/GPG
	# Champ de variation des PPG	# Champ de variation des PPG >> général, par partie (apex, couronne, péristome), par spécimen

Tableau 1.4 - Approches morphométriques réalisées sur les pédicellaires de deux espèces.
PPG = petits pédicellaires globifères ; GPG = gros pédicellaires globifères.

Les travaux réalisés sur *Stylocidaris affinis* ont fait l'objet d'une publication (Brosseau et Eleaume, 2003 ; Annexe 4). Les analyses présentées ci-après diffèrent de celles décrites dans l'article car depuis la parution, j'ai affiné et développé le traitement des données.

1 - Matériel et méthode

1.1 - Matériel

1.1.1 - *Stylocidaris affinis*

a) Choix des spécimens

Cette première approche a porté sur un prélèvement de 30 individus de l'espèce *Stylocidaris affinis*, récoltés dans l'océan Atlantique nord près des Açores par 665 mètres de profondeur.

b) Caractéristiques des pédicellaires

Les PD sont rares et généralement de grosse taille. Ils mesurent de 1 à 3 mm avec le pédoncule. Les valves complètement formées mesurent de 0,4 à 1 mm de longueur. Un PD à deux valves a été identifié. Sa tête mesure environ 1,3 mm de longueur. Il résulte probablement d'une croissance anormale. Les GPG sont rares : ils ont été observés sur six spécimens parmi les 30 examinés. Ils mesurent jusqu'à 2 mm avec le pédoncule (qui présente parfois une collerette). La tête mesure entre 0,55 et 0,8 mm de longueur. Les PPG sont, eux, abondants et de tailles très variables. Ils mesurent de 0,1 mm à 2 mm avec le pédoncule. Les valves ne mesurent jamais plus de 0,6 mm de longueur.

c) Pédicellaires étudiés

Sept spécimens de tailles différentes ont servi aux analyses (Tab. 1.5).

spécimen	D(mm)	H(mm)	Dap(mm)	Dper(mm)	Niap	Nap-iap	Lls(mm)
sp1	24,1	12,3	12,2	11	6	12	38,1
sp2	36,2	19,2	18,8	16,3	7	12	37,0
sp4	12,1	6,5	6,5	6,2	5	8	33,8
sp5	11,2	5,5	6,1	4,9	4	8	18,0
sp6	22,7	11,6	11,8	11,2	6	10	31,9
sp7	36,7	20,7	19,1	18,2	7	11	45,7
sp8	28,6	16,4	14,3	13	6	10	45,1

Tableau 1.5 - Caractéristiques des spécimens de *Stylocidaris affinis* étudiés.

D = diamètre du test ; H = hauteur du test ; Dap = diamètre de l'apex ; Dper = diamètre du péristome ; Niap = nombre de plaques interambulacraires ; Nap-iap = nombre de plaques ambulacraires le long d'un interambulacre ambital ; Lls = longueur du piquant primaire le plus long.

Selon le protocole décrit précédemment (Partie A- 1.2-), environ 200 pédicellaires (PD, PPG, GPG) ont été prélevés sur les sept spécimens et préparés pour des prises de vue au MEB. Les PD, relativement rares, ont été observés sans effectuer de prises de mesures. Cependant quelques valves ont été mesurées afin de les intégrer dans certaines figures. J'y reviendrai en fin de chapitre. Au final, 46 valves de PPG et 6 de GPG ont pu être mesurées.

1.1.2 - *Prionocidaris* sp.

a) Choix des spécimens

Dans un second temps, je me suis intéressé à un prélèvement de 16 individus récoltés dans l'indo-ouest Pacifique au nord-ouest de Nouvelle-Calédonie par 88 mètres de profondeur

(Annexe 5). Tous les spécimens récoltés appartiennent au genre *Prionocidaris*. L'espèce n'a pas été déterminée.

b) Caractéristiques générales des pédicellaires

Les PD sont globalement rares et généralement de grosse taille. Ils mesurent de 1,5 à 6 mm pédoncule compris. Les valves «adultes» mesurent de 0,5 à 1,5 mm de longueur.

Un seul GPG a été observé sur un spécimen (sur les 16 observés). Ceci confirme les observations faites par Mortensen (1928) qui caractérise ce genre par l'extrême rareté de ces GPG. La tête mesure 0,8 mm de longueur. Le pédoncule qui présente une collerette mesure 4 mm. Les PPG sont, eux, abondants et de tailles très variables. Ils mesurent de 0,1 mm à 6 mm pédoncule compris. Les valves ne mesurent jamais plus de 0,8 mm de longueur. Le pédoncule peut atteindre entre les piquants scrobiculaires plus de 5 mm de longueur.

c) Pédicellaires étudiés

Dans un premier temps, des observations portant sur la répartition, la densité et la morphologie externe des PD et des pédicellaires globifères sont réalisées à la loupe binoculaire sur les trois spécimens.

Dans un second temps, l'étude a porté sur trois spécimens de tailles différentes (Tab. 1.6).

spécimens	D(mm)	H(mm)	Dap(mm)	Dper(mm)	Niap	Nap-iap	Lls(mm)
sp1	45,5	28,8	19,2	19,3	7	14	101,8
sp2	29,6	18,1	12,7	12,7	7	12	79,5
sp3	13,8	7	6,4	5,8	5	8	37

Tableau 1.6 - Caractéristiques des spécimens de *Prionocidaris* sp. étudiés.

D = diamètre du test ; H = hauteur du test ; Dap = diamètre de l'apex ; Dper = diamètre du péristome ; Niap = nombre de plaques interambulacraires ; Nap-iap = nombre de plaques ambulacraires le long d'un interambulacre ambital ; Lls = longueur du piquant primaire le plus long ; sp. = spécimen.

Trois parties sont distinguées sur le test : l'apex, la couronne et le péristome. Selon le protocole décrit précédemment (Partie A- 1.2-), des pédicellaires sont prélevés sur chacune des trois parties du test (Tab. 1.7) et préparés pour des prises de vue au MEB.

spécimens	D(mm)	H(mm)	Apex		Couronne		Péristome	
			Nb de PD	Nb de PPG	Nb de PD	Nb de PPG	Nb de PD	Nb de PPG
sp1	45,5	28,8	3	27	8	22	[1]	27
sp2	29,6	18,1	2	18	10	12	[1]	24
sp3	13,8	7	[1]	25	[3]	21	[0]	20

Tableau 1.7 - Nombre de pédicellaires prélevés sur les trois spécimens de *Prionocidaris* sp. [entre crochets] signifie que le nombre de pédicellaires récoltés correspond à la totalité des pédicellaires présents sur la partie du test observée (dans les autres cas, il s'agit d'un échantillonnage). D = diamètre du test ; H = hauteur du test ; Nb = nombre ; PD = pédicellaire denté ; PPG = petit pédicellaire globifère.

Les PD, rares et difficiles à préparer correctement pour les prises de vue (long limbe très fragile ; partie basale renflée et relativement étroite rendant difficile le positionnement sur le porte-objet), ne permettent pas les mesures préalables à un traitement statistique. Cependant quelques valves ont été mesurées comme chez *Stylocidaris affinis*. Ainsi, 174 valves de PPG ont été mesurées (Tab. 1.8).

spécimen	Apex	Couronne	Péristome	total partie
sp1	33	12	19	64
sp2	8	10	25	43
sp3	20	26	21	67
total spécimens	61	48	65	

Tableau 1.8 - Nombre de valves de petits pédicellaires globifères mesurées, par partie et par spécimen.

1.1.3 - Logiciels de traitements statistiques

Deux logiciels ont été utilisés pour traiter les données :

- R avec lequel a été appliquée la méthode du LogShapeRatio décrite plus loin.
- Statistica avec lequel les analyses ont été réalisées, ce logiciel proposant une interface

fonctionnelle.

*Environnement R 1.7.1

Il s'agit d'un système logiciel pour la manipulation de données, les calculs et la représentation graphique créé par Ihaka et Gentleman (1996). Le logiciel est distribué librement *via* Internet (<http://www.R-project.org>). L'environnement R ne prend pas en compte les données manquantes.

*Logiciel Statistica 6.1

Il s'agit d'un logiciel d'analyses de données commercialisé par la société Statsoft (<http://www.statsoft.com/french/welcome.html>).

1.2 - Méthode

Dans la mesure où l'utilisation de certaines méthodes statistiques est conditionnée par certaines hypothèses (indépendance, homogénéité des variances...), les résultats des tests de ces hypothèses sont présentés dans cette partie. La partie suivante sera consacrée aux résultats des analyses.

1.2.1 - Acquisition des données

a) Mesures

Cinq paramètres ont été mesurés sur chaque valve prélevée sur les sept spécimens de *Stylocidaris affinis* : L (longueur totale), Lter (longueur de l'ouverture terminale), Lint (longueur de la partie intermédiaire entre la base de la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale), Lbas (longueur de la partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire), et Wbas (largeur maximale de la surface articulaire) (Fig. 1.5). Certaines valeurs de Wbas n'ont pas pu être mesurées du fait du mauvais positionnement de certaines valves sur le porte-objet. Ainsi, 242 mesures ont été réalisées sur ces pédicellaires.

Les cinq paramètres précédents ont été mesurés sur les valves prélevées sur les trois spécimens de *Prionocidaris* sp. Trois paramètres supplémentaires ont été considérés : Ldist (longueur de l'extrémité distale entre la base de la crête transversale et la dent terminale), Wter (largeur de la crête transversale), Wint (largeur de la partie intermédiaire au niveau de l'extrémité de l'apophyse longitudinale). Ainsi, 1389 mesures ont été réalisées sur ces pédicellaires.

Lors de la mesure des quelques valves de PD évoquées précédemment, seuls trois paramètres ont été pris en compte : L, Wbas et la longueur du limbe (Llimbe ; Fig. 1.6). Sur un pédicellaire globifère, je considère que : $L_{limbe} = L_{int} + L_{dist}$.

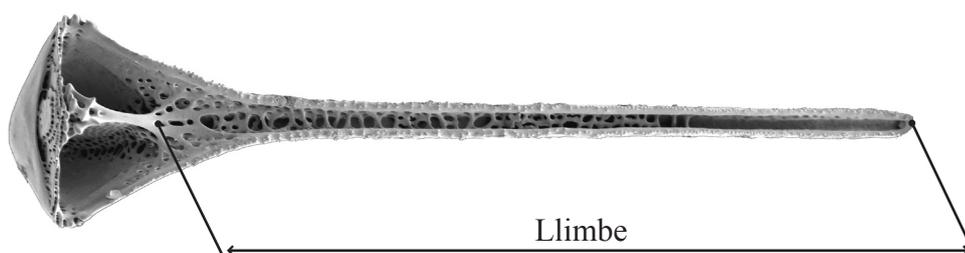


Figure 1.6 - Paramètre Llimbe mesuré sur les valves de pédicellaires dentés (PD).
Llimbe = longueur du limbe.
Photographie au MEB.

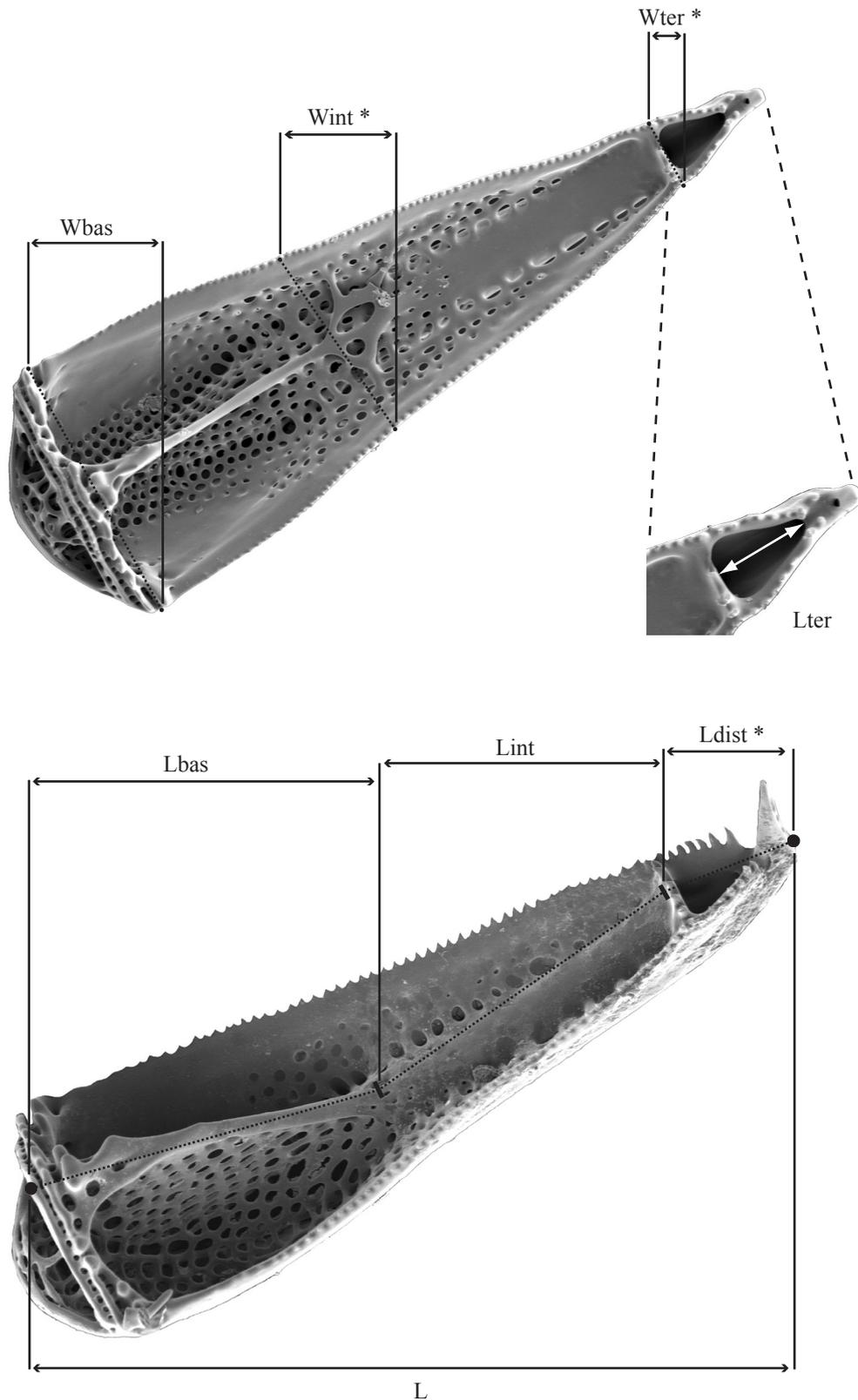


Figure 1.5 - Paramètres mesurés sur les valves de pédicellaires.

L (longueur totale), Ldist (longueur de l'extrémité distale entre la base de la crête transversale et la dent terminale)
 Lter (longueur de l'ouverture terminale), Lint (longueur de la partie intermédiaire entre la base de la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale), Lbas (longueur de la partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire), Wter (largeur de la crête transversale), Wint (largeur de la partie intermédiaire au niveau de l'extrémité de l'apophyse longitudinale), Wbas (largeur maximale de la surface articulaire).
 * = paramètres supplémentaires mesurés sur les valves de *Prionocidaris* sp.

Photographies au MEB.

b) Corrections

Suivant l'angle de prise de vue de chacune des valves (figure 1.7), les paramètres W_{ter} , W_{int} et W_{bas} présentent des mesures dont les valeurs peuvent être biaisées. Afin de conserver dans les analyses le maximum de valeurs, j'ai mis au point une méthode de correction des mesures. En effet, aucune méthode géométrique ne permet de calculer l'angle d'inclinaison des valves selon l'axe longitudinal, compte tenu de l'absence de repères fixes. L'angle a donc été estimé pour les valves dont la face interne n'est pas à plat (valve paralaxe). Ces corrections ont été effectuées sur les valves prélevées sur les spécimens de *Prionocidaris* sp., aucune méthode de correction n'ayant été envisagée lors de l'approche préliminaire sur *Stylocidaris affinis*. Trois valeurs d'approximation des angles ont été considérées : 0° (41% des valves), 15° (29% des valves), 30° (25% des valves). Les valves présentant un angle supérieur à 30° (5% des valves) ont été retirées des analyses car le risque d'erreur d'estimation et de correction était trop grand.

La formule suivante est utilisée pour effectuer les corrections:

$$\text{largeur réelle} = \text{largeur mesurée} / \cos(\text{angle estimé})$$

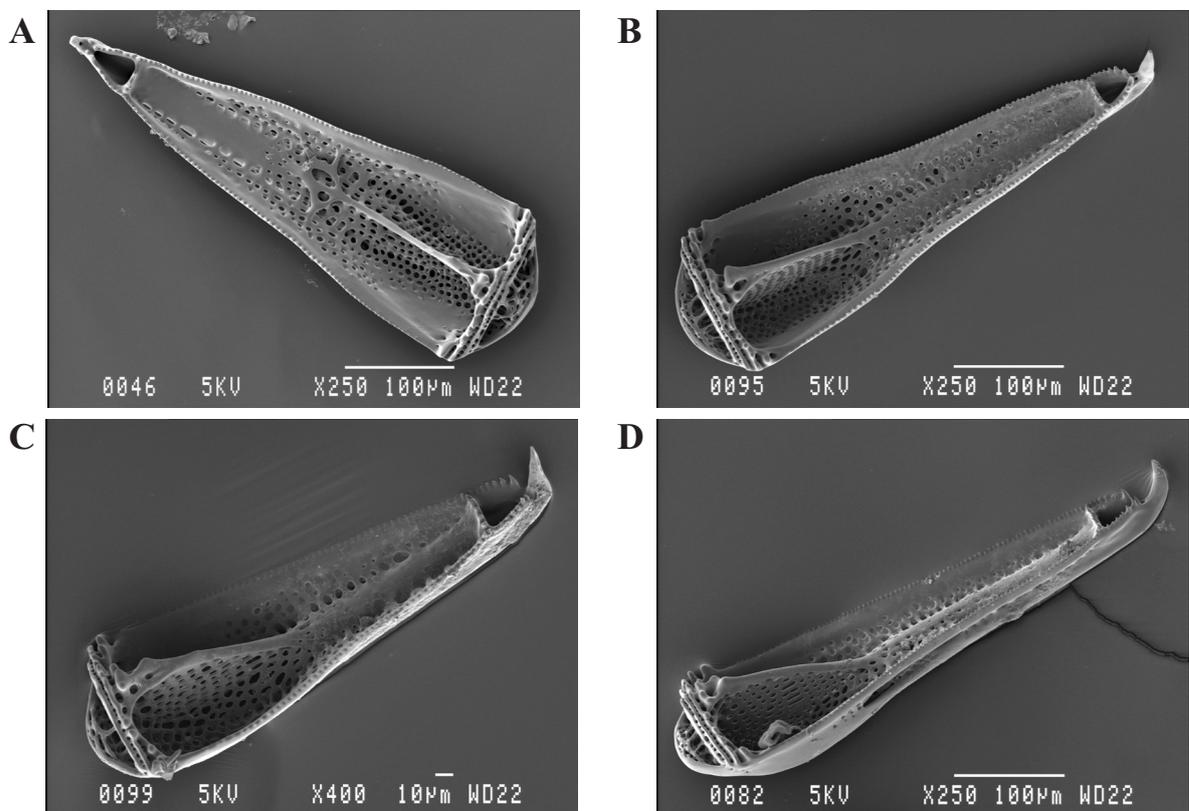


Figure 1.7 - Estimation de l'inclinaison des valves prélevées sur les spécimens de *Prionocidaris* sp. Quatre estimations : A --> angle de 0° ; B --> angle de 15° ; C--> angle de 30° ; D --> angle de 45° . Photographies au MEB.

1.2.2 - Statistiques élémentaires

Les caractères mesurés sont quantitatifs et continus.

a) *Stylocidaris affinis*

A partir d'un histogramme de fréquence et d'analyses bivariées pour chaque paramètre, je vérifie qu'aucune valve ne présente de valeurs aberrantes. Sur les 46 valves de PPG mesurées, seules trois s'éloignent de la distribution pour deux ou trois paramètres. Après retour sur ces valves, il s'avère qu'il n'est pas justifié de les retirer des analyses car il s'agit de valves de très grande taille présentant des paramètres plus extrêmes. Les six valves de GPG sont conservées. Le test de Shapiro-Wilk (Shapiro *et al.*, 1968) est utilisé pour tester la normalité de chaque paramètre, pour les PPG. L'hypothèse nulle (Ho) est que l'échantillon est issu d'une population ayant une distribution normale. Lorsque le test est significatif, cette hypothèse peut être rejetée. Les résultats du test de Shapiro-Wilk pour chaque paramètre sont présentés dans le tableau 1.9.

Nb.	L	Lter	Lint	Lbas	Wbas
46	W=,924 p=,00539	W=,957 p=,09038	W=,898 p=,00075	W=,958 p=,09913	W=,943 p=,13835

Tableau 1.9 - Résultats du test de Shapiro-Wilk pour les PPG de *Stylocidaris affinis*.

Nb. = nombre de valves mesurées ; L = longueur totale ; Lter = longueur de l'ouverture terminale ; Lint = longueur de la partie intermédiaire entre la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; Lbas = longueur de la partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire ; Wbas = largeur maximale de l'articulation ; en **gras** = hypothèse de normalité rejetée au seuil 0.01 ; W = statistique de Shapiro-Wilk ; p = probabilité associée à la statistique du test.

Les paramètres L et Lint ne passe pas le test de normalité au seuil 0.01. La représentation sur un histogramme de classes de valeurs montre un déplacement de la distribution vers des valeurs faibles. Cet écart à la normalité pour L et Lint semble lié à l'échantillonnage. La normalité n'est pas testée sur les données fournies par les GPG car les effectifs sont trop réduits (six mesures au maximum). A partir de ces données vérifiées, les moyennes, écart-types, variances, minima et maxima pour chaque paramètre sont calculés.

b) *Prionocidaris* sp.

Les valves 323, 330 et 353 partiellement cassées présentent des données manquantes et sont retirées des analyses. Je vérifie, pour chaque paramètre, qu'aucune valve ne présente de valeurs aberrantes à partir d'un histogramme de fréquences et d'analyses bivariées. Sur les 19 valves ayant un ou plusieurs paramètres hors des distributions normales, huit valves ont été retirées des analyses : six d'entre elles sont des valves en cours de croissance (n° 74, 111, 143, 273, 302,

307), les deux autres sont des valves présentant une anomalie de croissance (n° 284, 382). Les 11 valves restantes correspondent à des pédicellaires «adultes» de tailles extrêmes (très grands ou très petits). Elles sont conservées dans la suite des analyses. Au final, 154 valves sur les 174 mesurées sont conservées dans la suite des analyses.

Les résultats du test de Shapiro-Wilk pour chaque paramètre, d'une part par partie, d'autre part par spécimen sont présentés dans le tableau 1.10.

partie	Nb.	L	Ldist	Lter	Lint	Lbas	Wter	Wint	Wbas
apex	55	W=,954 p=,03448	W=,977 p=,36800	W=,970 p=,18849	W=,946 p=,01511	W=,955 p=,03676	W=,973 p=,26146	W=,972 p=,21923	W=,942 p=,01062
couronne	43	W=,889 p=,00059	W=,953 p=,07789	W=,960 p=,13535	W=,859 p=,00009	W=,945 p=,04056	W=,968 p=,27337	W=,923 p=,00678	W=,919 p=,00511
péristome	56	W=,927 p=,00226	W=,970 p=,18033	W=,964 p=,09689	W=,891 p=,00011	W=,958 p=,04786	W=,926 p=,00202	W=,951 p=,02267	W=,941 p=,00862

spécimen	Nb.	L	Ldist	Lter	Lint	Lbas	Wter	Wint	Wbas
sp1	56	W=,954 p=,03077	W=,966 p=,11723	W=,950 p=,02112	W=,950 p=,02221	W=,952 p=,02674	W=,962 p=,07490	W=,954 p=,03380	W=,945 p=,01289
sp2	40	W=,955 p=,11503	W=,971 p=,39133	W=,957 p=,12786	W=,940 p=,03374	W=,963 p=,21932	W=,979 p=,64045	W=,964 p=,22033	W=,975 p=,51005
sp3	58	W=,937 p=,00503	W=,974 p=,24496	W=,971 p=,17867	W=,915 p=,00061	W=,965 p=,09506	W=,980 p=,41585	W=,963 p=,07827	W=,955 p=,03082

Tableau 1.10 - Résultats du test de Shapiro-Wilk pour chaque paramètre, par partie et par spécimen.

Nb. = nombre de valves mesurées ; L = longueur totale ; Ldist = longueur de l'extrémité distale ; Lter = longueur de l'ouverture terminale ; Lint = longueur de la partie intermédiaire entre la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; Lbas = longueur de la partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire ; Wter = largeur de la crête transversale ; Wint = largeur de la partie intermédiaire au niveau de l'extrémité de l'apophyse longitudinale et Wbas = largeur maximale de l'articulation ; en **gras** = hypothèse de normalité rejetée au seuil 0,01 ; W = statistique de Shapiro-Wilk ; p = probabilité associée à la statistique du test.

Il apparaît que l'hypothèse de normalité est rejetée au seuil 0,01 pour dix groupes.

Deux hypothèses peuvent être formulées pour expliquer ce résultat :

1- Il existe vraisemblablement des problèmes d'échantillonnage. En effet, l'observation et la préparation (prélèvement, nettoyage, collage sur le porte-objet) de valves inférieures à 0,1 mm de longueur sont très difficiles. Ceci engendre un déséquilibre dans la distribution des mesures ;

2- Les valves de tailles extrêmes qui ont été conservées dans les analyses contribuent à modifier la distribution.

Je constate également que le nombre de paramètres qui ne passe pas le test est plus grand lorsque j'analyse les pédicellaires par partie. Or les pédicellaires observés pour chaque partie

appartiennent à trois spécimens de tailles différentes. Ceci peut être à l'origine de la superposition de trois distributions normales. La réalisation du test de Shapiro-Wilk spécimen par spécimen pour chaque partie permettrait de tester l'existence de distributions bi ou trimodales (correspondant à des différences de distribution entre spécimens). Mais les effectifs pour chacun de ces neuf groupes (apex-sp1 / couronne-sp1 / péristome-sp1 / apex-sp2 / couronne-sp2 / péristome-sp2 / apex-sp3 / couronne-sp3 / péristome-sp3) sont trop réduits.

Suite à ces vérifications du jeu de données, les moyennes, variances, écarts-types, minimums et maximums pour chaque paramètre sont calculés.

1.2.3 - Analyses bivariées

Mes objectifs sont de deux types :

1- à partir de l'ensemble de pédicellaires de *S. affinis*, comparer morphométriquement les PPG et les GPG ;

2- à partir des PPG de *S. affinis* et de *Prionocidaris* sp. (analyses séparées), étudier le champ de variation morphologique de ce type de pédicellaires pour chaque prélèvement. Chez *S. affinis*, un seul ensemble de pédicellaires est considéré tandis que chez *Prionocidaris* sp., des groupes peuvent être distingués (parties du test et spécimens étudiés).

Les analyses bivariées ont été réalisées sur les valves de *Stylocidaris affinis* et de *Prionocidaris* sp. Elles ont porté sur les données brutes et sur des rapports.

Ainsi, chaque paramètre a systématiquement été porté sur un graphique en fonction de la longueur totale (L). Dans la majorité des cas, la distribution est bien expliquée par une régression linéaire. Dans certains cas, une régression de type logarithmique décrit mieux la distribution. J'ai fait le choix entre ces deux types de régression de manière empirique autrement dit en testant les deux options et en conservant celle pour laquelle le coefficient de corrélation (r) est le plus élevé. Puis chacun des paramètres a été divisé par L afin de rendre compte de tailles relatives parfois interprétables en terme de forme. Par exemple, W_{bas}/L traduit la forme triangulaire générale d'une valve. Bien sûr, il ne s'agit pas de descripteur géométrique mais cette interprétation en terme de forme facilite généralement la visualisation et la compréhension des modifications des paramètres. Ces rapports ont été portés sur un graphique en fonction de L afin de montrer les modifications de taille relative ou de forme des valves en fonction de la taille globale.

Dans certains cas, d'autres rapports ont été calculés pour rendre compte des caractéristiques morphométriques des valves. J'ai figuré, dans la plupart des cas, des droites de régression de type linéaire ou logarithmique, après avoir testé les deux options empiriquement (comme précédemment). Dans quelques cas, aucune régression ne permettait de décrire la distribution de façon satisfaisante.

Il est important de rappeler ici que les valves étudiées sont «adultes» (comme je l'ai déjà expliqué précédemment, ce qualificatif «adulte» correspond à des valves dont la croissance est terminée). Autrement dit, je ne me place pas dans un schéma d'étude des étapes de l'ontogenèse des valves mais bien dans une optique de comparaison de stades terminaux qui sont le résultat de profils ontogénétiques différents.

1.2.4 - Analyses multivariées

Des analyses multivariées ont été réalisées sur les pédicellaires de *Prionocidaris* sp.

Dans le prolongement de l'étude du champ de variation des PPG entrepris avec les analyses bivariées, l'objectif est de tester (en prenant en compte tous les paramètres simultanément) la variabilité des pédicellaires selon leur localisation sur le test (apex, couronne, péristome) et suivant le spécimen observé (sp1 de grande taille, sp2 de taille moyenne, sp3 de petite taille).

a) Approche descriptive

Analyse en Composante Principale (ACP)

Le but de la méthode est la réduction des dimensions de l'espace de représentation des données en projetant le nuage de points dans un ou plusieurs graphiques plan, en essayant de limiter la perte d'informations au cours de cette réduction. Les «composantes principales» seront de nouvelles variables, indépendantes, combinaisons linéaires des variables initiales, possédant une variance maximum. Cette technique ne s'applique qu'à des variables quantitatives. Une ACP recherche donc les directions orthogonales de variance maximale. Il est ainsi possible de faire apparaître des groupes mais non de les discriminer.

Une ACP est réalisée sur une matrice de corrélation des données transformées par le Log Shape Ratio (LSR) afin de décrire les différences de formes entre les pédicellaires suivant leur position sur le test ou en fonction du spécimen. La méthode du LSR (Mosiman, 1970) permet de s'abstraire de la taille des «individus» à partir d'une matrice de données brutes.

Cette transformation consiste à diviser, à partir de la matrice des données log transformées, chaque variable par la moyenne arithmétique de l'ensemble des variables, appelée taille isométrique. Cette transformation est réalisée à partir du programme ci-dessous utilisable sous l'environnement R (Baylac, communication personnelle). «Mat» correspond à la matrice de données brutes.

```
> lmosi <- function(mat, transf=TRUE)
> if (transf == TRUE) mat <- log(mat)
> taille <- apply(mat,1,mean)
> lsr <- scale(t(mat), center = TRUE, scale = FALSE)
> lsr <- t(lsr)
> return(taille, lsr)
```

b) Approche explicative

Analyse de variances multiples (MANOVA)

L'objectif de l'analyse de variance (ANOVA) est de tester s'il existe des différences significatives entre les moyennes de différents groupes sur une (ANOVA) ou plusieurs (MANOVA) variables.

L'analyse de variance présuppose les hypothèses suivantes :

- les échantillons de chaque population sont statistiquement indépendants ;
- les variables suivent une loi normale ;
- les variables ont toutes la même variance (homoscédasticité).

Toutes les mesures étant faites sur des valves différentes, la première condition d'indépendance est remplie. Compte tenu des écarts à la normalité observés sur les données brutes, celles-ci sont transformées par le logarithme décimal. Les résultats du test de Shapiro-Wilk présentés dans le tableau 1.11 montrent que la transformation a permis de normaliser la distribution des données divisées par partie et par spécimen.

partie	Nb .	L	Ldist	Lter	Lint	Lbas	Wter	Wint	Wbas
apex	55	W=,953 p=,03181	W=,962 p=,07611	W=,985 p=,72622	W=,950 p=,02344	W=,952 p=,02816	W=,989 p=,89959	W=,960 p=,06410	W=,945 p=,01342
couronne	43	W=,964 p=,18767	W=,983 p=,76834	W=,973 p=,41269	W=,972 p=,37457	W=,980 p=,65780	W=,986 p=,87169	W=,956 p=,09679	W=,968 p=,28028
péristome	56	W=,947 p=,01551	W=,974 p=,26379	W=,957 p=,04534	W=,936 p=,00536	W=,943 p=,01021	W=,980 p=,46555	W=,942 p=,00937	W=,969 p=,16214

spécimen	Nb.	L	Ldist	Lter	Lint	Lbas	Wter	Wint	Wbas
sp1	56	W=,946 p=,01436	W=,964 p=,09355	W=,986 p=,74936	W=,944 p=,01173	W=,944 p=,01206	W=,982 p=,57070	W=,959 p=,05300	W=,943 p=,01096
sp2	40	W=,931 p=,01684	W=,948 p=,06378	W=,924 p=,01024	W=,918 p=,00660	W=,923 p=,00966	W=,984 p=,83735	W=,922 p=,00923	W=,951 p=,08273
sp3	58	W=,975 p=,28197	W=,981 p=,50746	W=,982 p=,56468	W=,973 p=,21535	W=,975 p=,26855	W=,980 p=,45166	W=,970 p=,16496	W=,977 p=,34765

Tableau 1.11 - Résultats du test de Shapiro-Wilk sur les données transformées par le logarithme décimal.

Nb. = nombre de valves mesurées ; L = longueur totale ; Ldist = longueur de l'extrémité distale ; Lter = longueur de l'ouverture terminale ; Lint = longueur de la partie intermédiaire entre la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; Lbas = longueur de la partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire ; Wter = largeur de la crête transversale ; Wint = largeur de la partie intermédiaire au niveau de l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; Wbas = largeur maximale de l'articulation ; en **gras** = hypothèse de normalité rejetée au seuil 0,01 ; W = statistique de Shapiro-Wilk ; p = probabilité associée à la statistique du test.

La dernière condition sur les variances, aussi appelée condition d'homoscédasticité, est vérifiée avec les tests de Lévène et de Bartlett pour les mesures groupées d'une part par partie, d'autre part par spécimen.

Le tableau 1.12 présente les résultats des test de Lévène et Bartlett pour chaque partie. Les hypothèses d'homogénéité des variances ne sont pas rejetées au seuil 0,001.

paramètres	Lévène F	ddl	p	paramètres	Bartlett Chi-Deux	ddl	p
Log L	2,324	2	0,101	Log L	1,894	2	0,388
Log Ldist	1,227	2	0,296	Log Ldist	2,461	2	0,292
Log Lter	5,327	2	0,006	Log Lter	8,957	2	0,011
Log Lint	4,114	2	0,018	Log Lint	2,788	2	0,248
Log Lbas	3,135	2	0,046	Log Lbas	2,814	2	0,245
Log Wter	2,603	2	0,077	Log Wter	3,380	2	0,185
Log Wint	2,776	2	0,066	Log Wint	5,089	2	0,079
Log Wbas	3,879	2	0,023	Log Wbas	4,076	2	0,130

Tableau 1.12 - Résultats des tests de Lévène et de Bartlett d'homogénéité de variance par partie.

Lévène F = statistique du test de Lévène ; Bartlett Chi-Deux = statistique du test de Bartlett ; ddl = nombre de degré de liberté ; p = probabilité associée à la statistique du test.

Le tableau 1.13 présente les résultats de ces tests pour chaque spécimen. Au seuil 0.001, le test de Lévène rejette l'hypothèse d'homoscédasticité pour Log L, Log Wint et Log Wbas tandis que seule l'hypothèse pour Log Wint est rejetée avec le test de Bartlett. La probabilité du test

de Lévène est très proche du seuil 0,001 pour Log L et Log Wbas.

paramètres	Lévène F	ddl	p	paramètres	Bartlett Chi-Deux	ddl	p
Log L	7,662	2	0,001	Log L	10,760	2	0,005
Log Ldist	5,510	2	0,005	Log Ldist	10,794	2	0,005
Log Lter	5,330	2	0,006	Log Lter	11,972	2	0,003
Log Lint	5,745	2	0,004	Log Lint	10,298	2	0,006
Log Lbas	5,485	2	0,005	Log Lbas	7,076	2	0,029
Log Wter	2,470	2	0,088	Log Wter	5,545	2	0,063
Log Wint	10,534	2	0,000	Log Wint	18,042	2	0,000
Log Wbas	7,255	2	0,001	Log Wbas	9,854	2	0,007

Tableau 1.13 - Résultats des tests de Lévène et de Bartlett d'homogénéité de variance par spécimen.

Lévène F = statistique du test de Lévène ; Bartlett Chi-Deux = statistique du test de Bartlett ; ddl = nombre de degré de liberté ; p = probabilité associée à la statistique du test ; **gras** = hypothèse d'homogénéité des variances rejetée au seuil 0.001.

Une MANOVA à deux facteurs (parties et spécimens) est réalisée sur les données transformées par le logarithme décimal. Les résultats de cette MANOVA sur l'interaction parties-spécimens ne sont pas considérés compte tenu des effectifs limités de chacun des neuf groupes (distributions non normales, variances non homogènes). Ces analyses permettent de savoir s'il existe des différences significatives des moyennes entre les groupes à partir des paramètres mesurés. L'hypothèse H_0 est qu'il n'y a pas d'effet du facteur considéré et qu'il n'existe pas de différence significative entre les moyennes des groupes considérés (parties ou spécimens). Quatre tests sont réalisés : le lambda de Wilk, la trace de Pillai-Bartlett, la trace de Hotelling-Lawley et la plus grande racine de Roy. Si le résultat de la MANOVA est significatif, le test *post-hoc* de Scheffé permet de savoir quelles sont les moyennes qui sont significativement différentes (au seuil 0,05).

Analyse Factorielle Discriminante (AFD)

L'AFD conduit à élaborer des variables discriminantes (ou axes principaux). Les axes sont ici élaborés à partir des variables qui permettent de séparer au mieux les groupes en maximisant la variance inter-groupe et en minimisant la variance intra-groupe.

L'analyse discriminante vise à déterminer si les variables permettent de discriminer les pédicellaires en fonction d'une part de leur localisation sur le test et d'autre part du spécimen observé. Ce type d'analyse permet également d'identifier les variables qui séparent au mieux

les différents groupes. Enfin, la réalisation *a posteriori* d'une matrice de classification permet de connaître les pourcentages de reclassement des individus (les valves) dans chacun des groupes.

L'analyse est réalisée à partir des données transformées par le LSR. Parmi les paramètres initiaux, sept sont conservés. En effet, le logiciel Statistica ne peut réaliser les analyses compte tenu de problèmes de redondance de la variable Lter. Comme cette variable est fortement corrélée à Ldist, elle peut être retirée des analyses sans risquer de perdre beaucoup d'informations. Deux AFD sont donc réalisées sur sept paramètres avec comme facteur discriminant d'une part la position sur l'une des trois parties, d'autre part l'appartenance à l'un des trois spécimens. Les analyses sont réalisées avec un lot d'apprentissage distinct du lot testé afin de vérifier la pertinence des résultats.

De plus, des analyses ont été réalisées à partir des composantes principales de l'ACP (au nombre de sept). En effet, chaque composante est expliquée par les contributions d'une ou plusieurs variables et associe une valeur réelle à chaque individu. Les axes de l'ACP peuvent donc être très pertinents pour réaliser une AFD (Baylac *et al.*, 2003 ; Baylac et Friess, 2005). Ces analyses supplémentaires ont été effectuées avec les mêmes facteurs discriminants que précédemment (parties et spécimens). De plus, chaque spécimen a été considéré indépendamment en prenant la position sur le test comme facteur (soit trois analyses supplémentaires, une pour chaque spécimen). Les résultats ne sont pas présentés car ils n'apportent pas d'informations supplémentaires par rapport aux analyses précédentes.

Les étapes des traitements statistiques réalisés sur chacun des jeux de données sont résumées sur la figure 1.8.

2 - Résultats

2.1 - Observations

2.1.1 - *Stylocidaris affinis*

Les PPG sont nombreux. Ils sont présents sur toute la surface du test. Les GPG sont rares. Ils sont plus fréquents sur les spécimens de grosse taille même s'ils peuvent être absents d'un spécimen quelle que soit sa taille. Lorsqu'ils sont observés, ils sont localisés sur les plaques

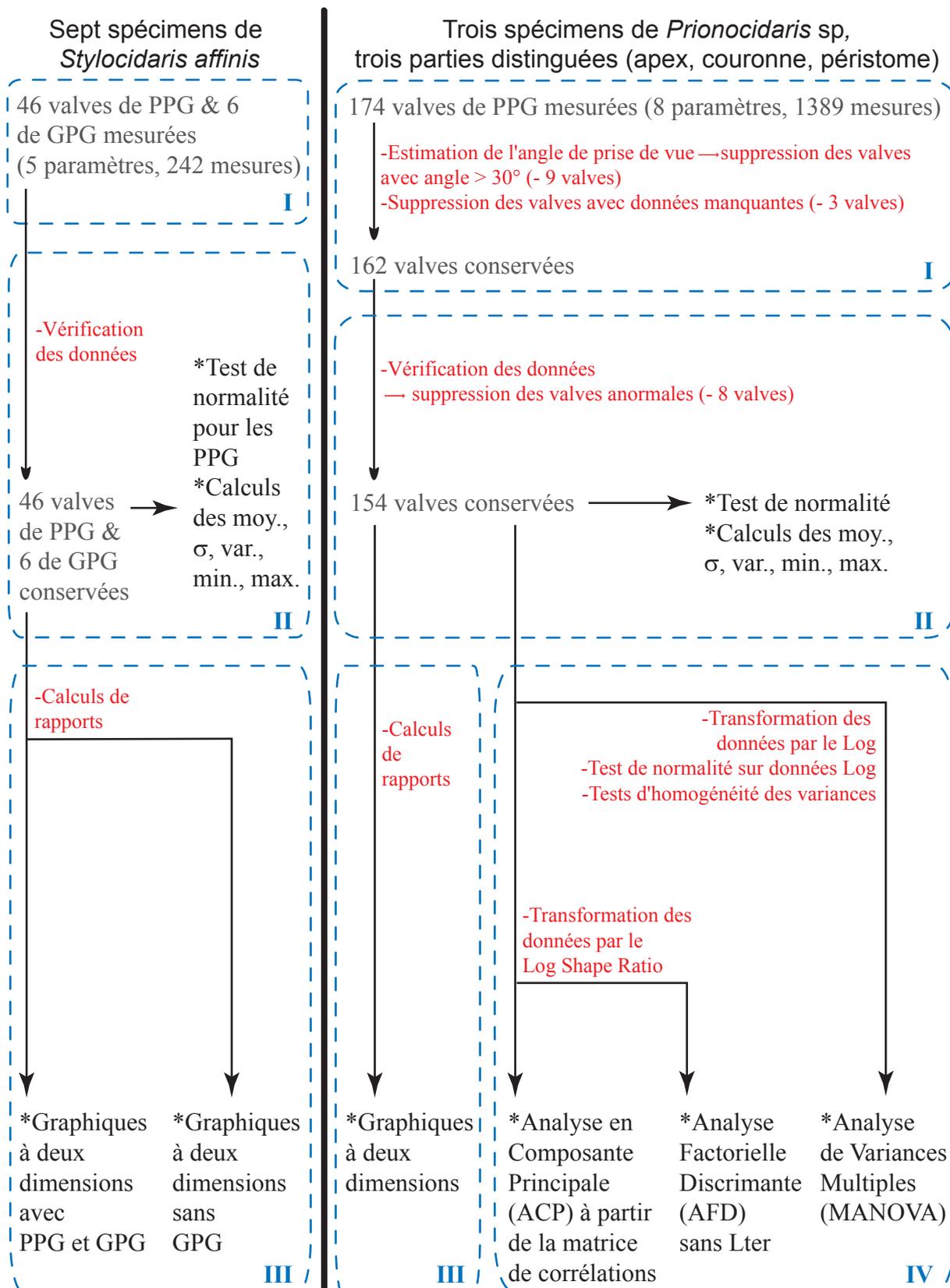


Figure 1.8 - Schéma récapitulatif des analyses réalisées sur les deux jeux de données (*S. affinis* et *Prionocidaris* sp.). I = acquisition des données ; II = statistiques élémentaires ; III = analyses bivariées ; IV = analyses multivariées. moy. = moyenne ; σ = écart-type ; var. = variance ; min. = minimum ; max = maximum ; PPG = petit pédicellaire globifère ; GPG = gros pédicellaire globifère.

coronales entourant l'apex. Les PD sont présents en nombre variable sur les plaques de la couronne au niveau des anneaux scrobiculaires. Ils sont également présents à l'apex ainsi que sur le pourtour du péristome des spécimens de grosse taille (sur lesquels ils sont également plus nombreux).

2.1.2 - Prionocidaris sp.

Les observations de répartition et de quantité de pédicellaires sur chacun des spécimens sont résumées dans le tableau 1.14. Ainsi, la localisation des PD est identique quel que soit le spécimen observé. Il en est de même pour les PPG. Les PD semblent plus rares sur sp3 de petite taille. La taille du spécimen pourrait être à l'origine de ces différences quantitatives. Cette hypothèse devrait être confirmée par l'observation d'un plus grand nombre de spécimens de tailles variables.

Les observations faites sur *S. affinis* sont similaires en ce qui concerne la répartition des types de pédicellaires sur le test et la fréquence de chaque type en fonction de la taille du spécimen. Ainsi, les PD sont plus nombreux sur des spécimens de grosse taille (*a priori* plus âgés).

partie	spécimen	D (mm)	PD		PPG	
			localisation	quantité	localisation	quantité
apex	sp1	45,5	plaques apicales	1 à 2 par plaque	plaques apicales et périprocte	nombreux
			périprocte	2 à 3		
	sp2	29,6	plaques apicales	1 à 2 par plaque		
			périprocte	non observé		
	sp3	13,8	plaques apicales	1 sur une plaque oculaire		
			périprocte	non observé		
couronne	sp1	45,5	anneaux scrobiculaires	0 à 3 par anneau	ambulacres et interambulacres	nombreux
	sp2	29,6	anneaux scrobiculaires	0 à 3 par anneau		
	sp3	13,8	anneaux scrobiculaires	3 en croissance ou en régénération		
péristome	sp1	45,5	pourtour du péristome	4 entiers + 1 en croissance ou régénération	péristome	nombreux
	sp2	29,6	pourtour du péristome	1		
	sp3	13,8	pourtour du péristome	non observé		

Tableau 1.14 - Répartition et quantité de PPD et PD selon le spécimen et la localisation sur le test. D = diamètre du test ; PD = pédicellaires dentés ; PPG = petits pédicellaires globifères.

2.2 - Statistiques élémentaires

2.2.1 - *Stylocidaris affinis*

Les moyennes, écart-type, variance, minimum et maximum pour chaque paramètre, pour les PPG et GPG sont présentés dans le tableau 1.15.

		L	Lter	Lint	Lbas	Wbas
PPG	Nb.	46	46	46	46	28
	Moy. (µm)	294,5	35,5	130,0	111,2	106,9
	Var.	17545,7	78,7	7020,2	1526,8	1506,1
	σ	132,5	8,9	83,8	39,1	38,8
	Min. (µm)	122,0	21,4	36,0	55,0	50,0
	Max. (µm)	587,0	60,9	347,8	200,0	173,9
GPG	Nb.	6	6	6	6	5
	Moy. (µm)	690,0	51,7	280,6	346,1	274,6
	Var.	11328,6	38,8	3135,4	2852,5	2475,8
	σ	106,4	6,2	56,0	53,4	49,8
	Min. (µm)	569,6	43,9	224,4	278,3	221,7
	Max. (µm)	800,0	58,8	335,3	400,0	329,4

Tableau 1.15 - Variabilité des paramètres mesurés sur les PPG et les GPG de *Stylocidaris affinis*.

Nb. = nombre de valves mesurées ; Moy. = moyenne ; Var. = variance ; σ = écart-type ; Min. = minimum ; Max. = maximum ; L = longueur totale ; Lter = longueur de l'ouverture terminale ; Lint = longueur de la partie intermédiaire entre la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; Lbas = longueur de la partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire ; Wbas = largeur maximale de l'articulation.

2.2.2 - *Prionocidaris* sp.

Les moyenne, écart-type, variance, minimum et maximum pour chaque paramètre, par partie ou par spécimen sont rassemblés dans le tableau 1.16.

2.3 - Distinction PPG/GPG

Des analyses bivariées ont été réalisées en intégrant les PPG et les GPG.

Parmi les représentations graphiques réalisées, deux paramètres permettent plus particulièrement de distinguer les PPG des GPG. Il s'agit de Lint et Lbas. La figure 1.9 présente les graphiques [Lint/L=f(L)] (A) avec en encart [Lint=f(L)] (B) et [Lbas/L=f(L)] (C) avec en encart [Lbas=f(L)] (D). Deux photographies de valves de PPG et trois de GPG ont été insérées afin de visualiser quelques formes au sein du nuage de points.

La valve «a» de PPG est de petite taille. Elle présente une valeur [Lint/L] faible et une valeur

		L	Ldist	Lter	Lint	Lbas	Wter	Wint	Wbas
apex	Nb.	55	55	55	55	55	55	55	55
	Moy. (µm)	375,4	57,7	29,3	176,0	143,7	31,8	93,0	120,8
	Var.	25967,8	178,0	38,7	9238,0	2909,7	61,5	1020,5	2076,8
	σ	161,1	13,3	6,2	96,1	53,9	7,8	31,9	45,6
	Min. (µm)	135,3	32,1	18,0	37,7	59,8	17,6	38,2	49,4
	Max. (µm)	753,7	93,4	49,3	407,9	255,1	55,5	175,8	237,9
couronne	Nb.	43	43	43	43	43	43	43	43
	Moy. (µm)	376,3	59,3	30,3	177,7	140,2	32,3	98,1	121,4
	Var.	24556,0	158,0	29,1	10712,3	2017,8	38,1	760,2	1410,4
	σ	156,7	12,6	5,4	103,5	44,9	6,2	27,6	37,6
	Min. (µm)	164,0	38,8	21,3	48,9	70,2	21,5	58,8	66,5
	Max. (µm)	733,3	93,9	43,3	441,1	250,6	47,0	157,5	207,0
péristome	Nb.	56	56	56	56	56	56	56	56
	Moy. (µm)	309,6	54,2	29,9	136,7	119,9	29,6	86,6	107,6
	Var.	19596,7	187,6	60,5	7765,7	1744,6	45,0	883,2	1505,8
	σ	140,0	13,7	7,8	88,1	41,8	6,7	29,7	38,8
	Min. (µm)	110,8	29,4	16,3	30,9	47,7	16,8	35,2	41,5
	Max. (µm)	764,1	96,1	45,8	443,8	225,8	54,7	184,4	246,1
		L	Ldist	Lter	Lint	Lbas	Wter	Wint	Wbas
sp1	Nb.	56	56	56	56	56	56	56	56
	Moy. (µm)	387,3	59,4	28,2	180,6	148,9	34,1	93,5	126,9
	Var.	30846,9	229,2	57,3	11383,1	3215,3	66,3	1201,4	2318,0
	σ	175,6	15,1	7,6	106,7	56,7	8,1	34,7	48,1
	Min. (µm)	134,2	33,9	16,3	30,9	62,4	20,0	44,5	59,5
	Max. (µm)	764,1	96,1	49,3	443,8	255,1	55,5	184,4	246,1
sp2	Nb.	40	40	40	40	40	40	40	40
	Moy. (µm)	370,4	55,9	31,5	184,3	131,3	29,0	91,7	114,8
	Var.	28767,1	215,4	46,8	12161,1	2186,6	43,1	1187,9	1832,5
	σ	169,6	14,7	6,8	110,3	46,8	6,6	34,5	42,8
	Min. (µm)	110,8	29,4	18,3	31,6	47,7	16,8	35,2	41,5
	Max. (µm)	733,3	84,4	44,0	441,1	217,1	47,0	157,5	207,0
sp3	Nb.	58	58	58	58	58	58	58	58
	Moy. (µm)	304,5	55,1	30,2	129,2	121,6	29,8	91,0	106,9
	Var.	11137,6	98,8	25,0	4053,6	1266,9	26,4	461,8	881,0
	σ	105,5	9,9	5,0	63,7	35,6	5,1	21,5	29,7
	Min. (µm)	148,7	38,2	20,9	46,9	64,4	19,8	56,0	61,7
	Max. (µm)	561,6	80,1	44,1	295,1	210,2	40,3	146,3	185,3

Tableau 1.16 - Variabilité des paramètres mesurés sur les PPG de *Prionocidaris* sp., par partie et par spécimen. Nb. = nombre de valves mesurées ; Moy. = moyenne ; Var. = variance ; σ = écart-type ; Min. = minimum ; Max. = maximum ; L = longueur totale ; Ldist = longueur de l'extrémité distale ; Lter = longueur de l'ouverture terminale ; Lint = longueur de la partie intermédiaire entre la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; Lbas = longueur de la partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire ; Wter = largeur de la crête transversale ; Wint = largeur de la partie intermédiaire au niveau de l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; Wbas = largeur maximale de l'articulation

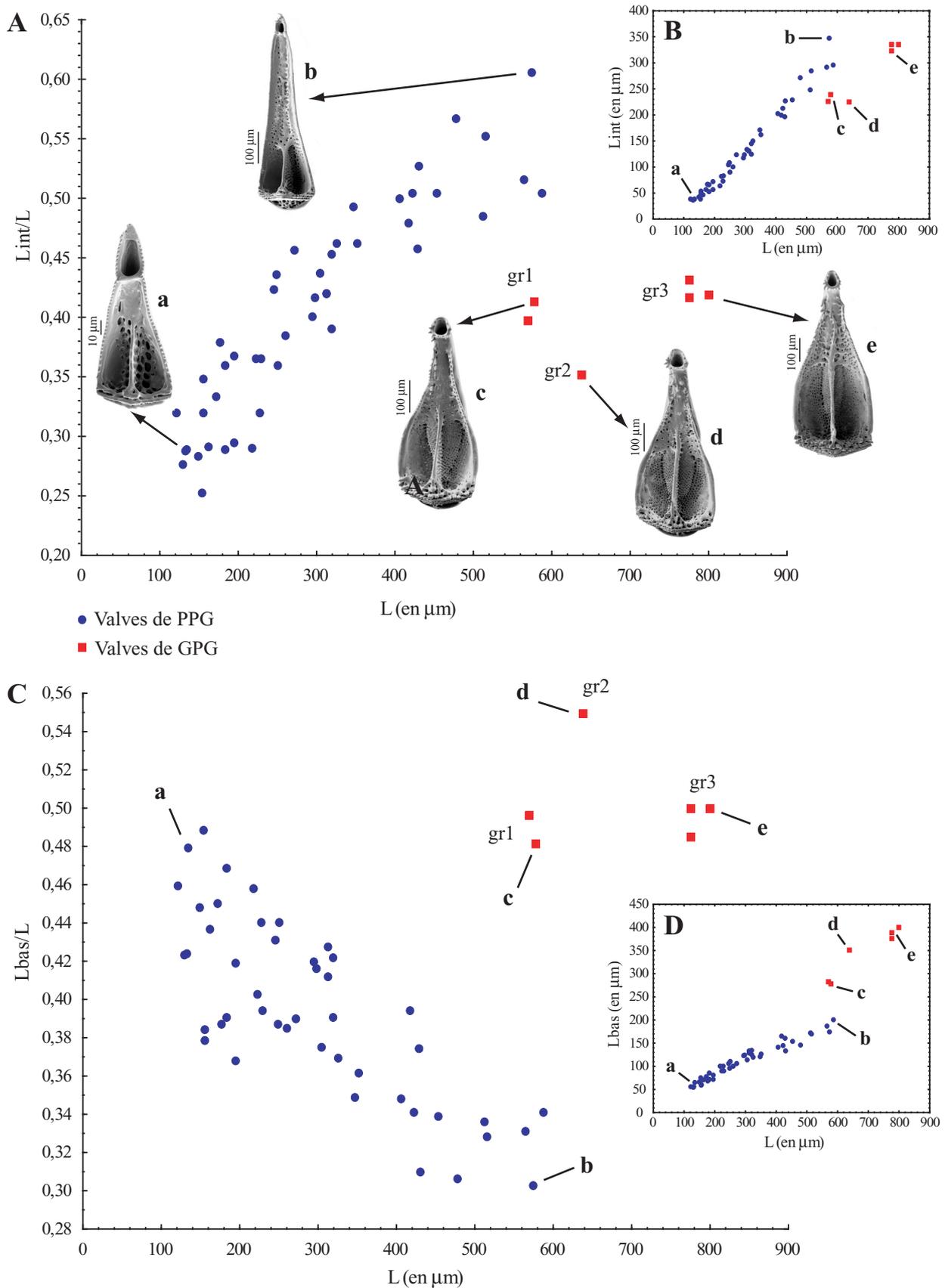


Figure 1.9 - Distinction des PPG et des GPG par des analyses bivariées chez *S. affinis*.

L = longueur totale ; Lint = longueur de la partie intermédiaire entre la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; Lbas = longueur de partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire. a et b = PPG ; c, d et e = GPG ; PPG = petit pédicellaire globifère ; GPG = gros pédicellaire globifère.

Photographies au MEB.

[Lbas/L] forte. La valve «b» de grande taille présente une valeur de [Lint/L] forte et une valeur [Lbas/L] faible. Ces deux valves de PPG correspondent, sur chaque graphique, à deux points ayant des positions extrêmes au sein d'un nuage de points continu formé par les PPG. Je reviendrai en détail dans la partie suivante sur cette gradation de taille absolue et relative.

Si l'on considère les valves de PPG et les valves de GPG dans leur ensemble, les représentations graphiques avec Lint/L et Lbas/L discriminent les deux catégories. Ainsi, les valves de GPG sont en moyenne plus grandes que celles des PPG. Pourtant, ce critère de taille impliqué dans la discrimination et la dénomination des deux catégories (Mortensen, 1928) est mis en défaut par les GPG du groupe 1 (gr1) qui sont plus courts ($570 < L < 578 \mu\text{m}$) que le plus long des PPG ($L = 587 \mu\text{m}$). Pour ces valves de longueur équivalente, la discrimination provient des axes des ordonnées. Ainsi Lint/L pour les GPG est inférieur à Lint/L pour les PPG, et Lbas/L pour les GPG est supérieur à Lbas/L pour les PPG. Les groupes 2 et 3 (gr2 et gr3) sont discriminés des PPG sur l'axe des ordonnées (idem gr1) ainsi que sur l'axe des abscisses (L supérieure).

Il faut noter que la représentation de Wbas/L en fonction de L permet également de discriminer les deux catégories de pédicellaires mais de façon moins nette (Annexe 6, A). Enfin, la représentation de Lter/L en fonction de L ne permet pas de discriminer les PPG des GPG (Annexe 6, B).

Ainsi, les GPG sont bien discriminés par les rapports Lint/L et Lbas/L. En revanche, la longueur totale (L) doit être considérée avec précaution puisque les GPG ne sont pas systématiquement plus longs que les PPG. Enfin, cette approche a mis en évidence un large champ de variation des PPG. Je vais donc étudier plus finement ces variations de forme des PPG, dans un premier temps sur *S. affinis*, dans un second temps, sur *Prionocidaris* sp.

2.4 - Variation morphologique des PPG

2.4.1 - *Stylocidaris affinis*

Les PPG présentent des tailles très variables puisque les valves mesurent entre 122 et 582 μm de longueur (L). Tous les intermédiaires de taille entre ces deux extrêmes ont été observés.

Les rapports [Lint/L] et [Lter/L] en fonction de L (Fig. 1.10, A et C) avec en encart Lint et

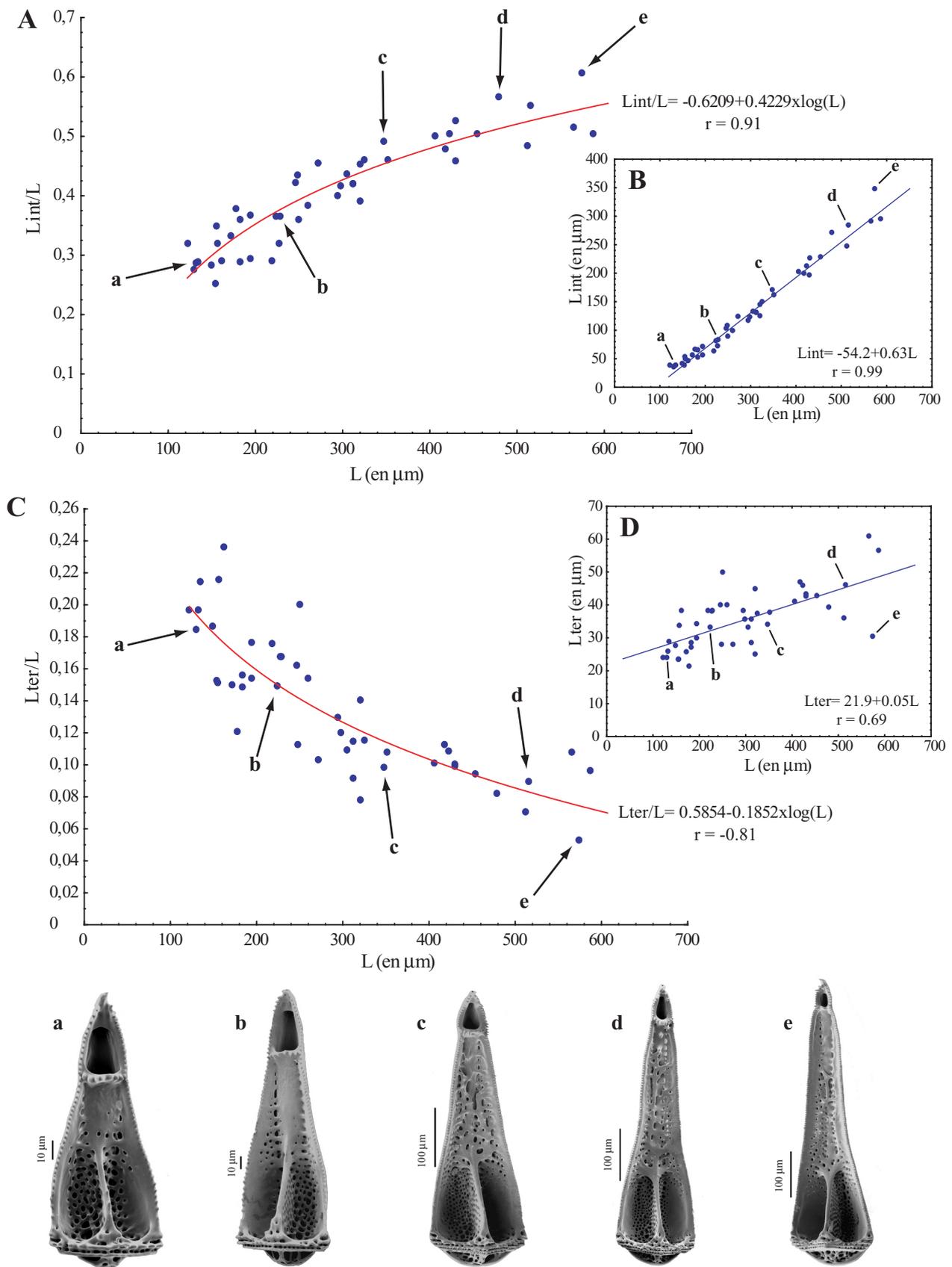


Figure 1.10 - Champs de variation morphométrique des valves de PPG chez *S. affinis*.
 L = longueur totale ; Lter = longueur de l'ouverture ; Lint = longueur de la partie intermédiaire entre la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.
 Photographies au MEB.

Lter en fonction de L (Fig. 1.10, B et D) sont présentés. Ces rapports traduisent d'éventuelles différences de forme entre les valves. Cinq photographies de valves ont été ajoutées afin d'illustrer certains points sur les graphiques.

Le nuage de points du graphique A présente une tendance logarithmique croissante peu marquée (la régression linéaire explique moins bien la distribution). Les variables sont bien corrélées ($r = 0,91$). Ainsi Lint croît plus vite que L mais le taux d'accroissement de Lint n'est pas proportionnel à L (il diminue lorsque L augmente).

Le nuage de points du graphique C présente une tendance logarithmique décroissante. La corrélation est plus faible ($r = -0,81$), la régression n'expliquant que 66% de la variance ($r^2 = 0,66$). Cela est probablement dû en partie à la très petite taille (entre 10 et 60 μm) de l'ouverture terminale (Lter) et aux erreurs de mesures que cela entraîne. De plus, la variabilité semble importante compte tenu de la faible corrélation ($r = 0,61$) de $[L_{\text{ter}}=f(L)]$ (D). J'ai pourtant choisi d'illustrer ce caractère (la taille de l'ouverture terminale) qui est utilisé pour certains groupes (ex : *Tetrocidaris*) dans la classification de Mortensen (1928). Ainsi Lter croît moins vite que L et le taux de décroissance diminue lorsque L augmente. L'ouverture terminale sur les valves de grande taille est donc proportionnellement beaucoup plus petite que sur les petites valves.

L'annexe 7 présente $[L_{\text{bas}}/L=f(L)]$ (A) avec en encart $[L_{\text{bas}}=f(L)]$ (B) ainsi que $[W_{\text{bas}}/L=f(L)]$ (C) avec en encart $[W_{\text{bas}}=f(L)]$ (D). Ces deux paramètres s'accroissent moins vite que L avec une tendance linéaire. Les corrélations sont relativement faibles (respectivement $r = -0,79$ et $r = -0,66$). Ainsi, L croît plus vite que Lbas ou Wbas. Les taux de décroissance de Lbas et Wbas semblent proportionnels à L.

La contribution de chacun des paramètres à l'apparence générale des valves est présentée sur la figure 1.11. Les deux valves correspondent aux valves «a» (petite) et «e» (grande) de la figure 1.10. Lbas contribue le plus à la longueur totale des petites valves tandis que sur les valves de grande taille c'est Lint qui contribue le plus à la longueur. Lter, Lbas et Wbas croissent plus lentement que L. D'un côté (à gauche) se trouve une valve trapue avec une grande ouverture terminale et une partie basale large et allongée, de l'autre côté (à droite) une valve effilée avec une petite ouverture terminale et une partie intermédiaire remarquablement allongée. Ces deux formes sont aisément distinguées et pourraient être considérées comme deux catégories

différentes. Or, cette approche morphométrique témoigne du fait qu'il s'agit de deux formes extrêmes au sein d'un champ de variation morphologique dans lequel tous les intermédiaires sont observés. Ce schéma illustre donc les allométries de croissance qui expliquent le passage d'une forme extrême à l'autre. Mais il ne rend pas compte de l'évolution non linéaire de certains rapports (L_{int}/L et L_{ter}/L) en fonction de la longueur.

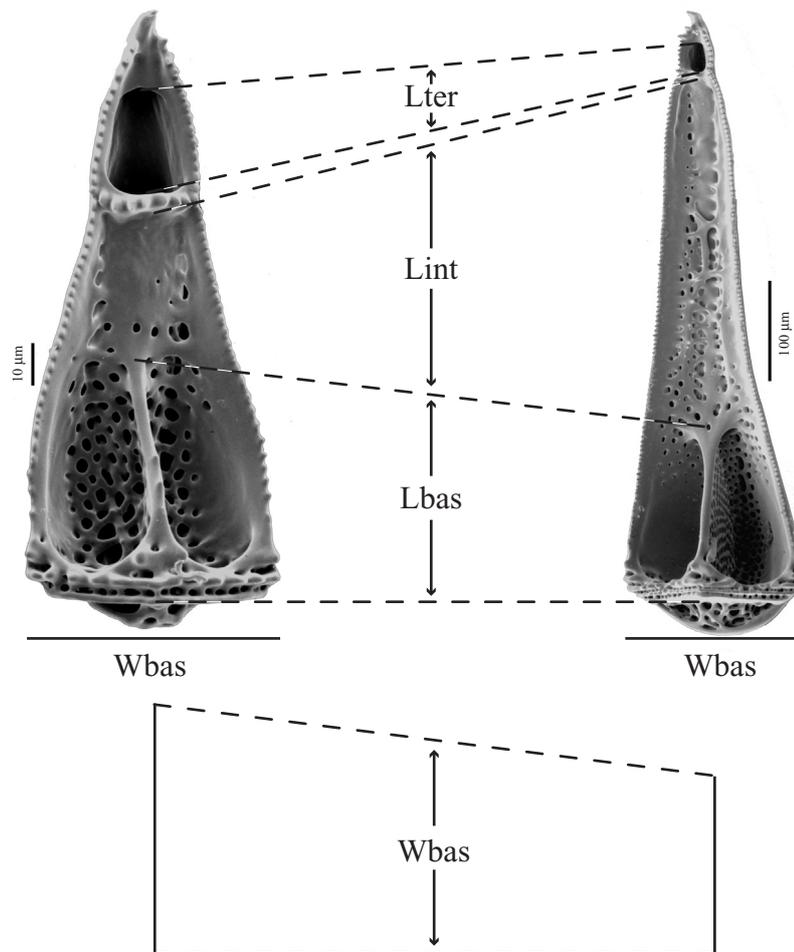


Figure 1.11 - Contribution de L_{ter} , L_{int} , L_{bas} et W_{bas} à la forme générale de deux valves de PPG de taille extrême chez *Stylocidaris affinis*.

L_{ter} = longueur de l'ouverture terminale ; L_{int} = longueur de la partie intermédiaire entre la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; L_{bas} = longueur de partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire ; W_{bas} = largeur maximale de l'articulation.

Photographies au MEB.

Une approche similaire a été réalisée sur les pédicellaires de *Prionocidaris* sp. La variabilité est-elle aussi importante ? Des différences sont-elles observées entre spécimens de taille différente ?

La localisation des pédicellaires sur le test a-t-elle une incidence sur la variabilité ?

2.4.2 - *Prionocidaris* sp.

La longueur (L) des PPG de *Prionocidaris* sp. est très variable puisque les valves mesurent

entre 110.8 et 764.1 μm . Comparé aux valves de *S. affinis* ($122 < L < 582 \mu\text{m}$), le champ de variation de L est plus grand, en particulier du fait de l'observation de pédicellaires de grande taille. Tous les intermédiaires entre ces deux extrêmes ont été observés.

a) Ldist (Annexe 8 ; Fig. 1.12)

[Ldist=f(L)] est présenté en annexe 8 (A). Une régression logarithmique décrit mieux le nuage de points qu'une régression linéaire. La pente de la courbe est positive. Autrement dit Ldist augmente avec L mais cette tendance s'atténue lorsque L croît. Le coefficient de corrélation de la droite de régression est de 0,91.

[Ldist/L=f(L)] est présenté sur la figure 1.12, d'une part pour l'ensemble des valves en distinguant les trois spécimens, d'autre part pour les valves de chaque spécimen en distinguant les trois parties du test (Apex, Couronne, Péristome). Cinq photographies de valves illustrent certains points des graphiques.

Le nuage de points pour l'ensemble des valves présente une tendance logarithmique décroissante. Ainsi Ldist croît moins vite que L et le taux de décroissance diminue lorsque L augmente. [Ldist/L] et L sont bien corrélés pour chaque spécimen et les corrélations sont du même ordre de grandeur (entre -0,87 et -0,89). De plus, les équations des droites de régression logarithmique sont similaires.

Les représentations par spécimen montrent que suivant le spécimen observé, des différences de taille pour chacune des parties sont observées en particulier au niveau du péristome. Ainsi, la majorité des valves situées sur le péristome de sp1 (le plus grand spécimen) est de petite taille (< 210 μm) tandis que la majorité des valves situées sur le péristome de sp2 (le spécimen de taille moyenne) mesure entre 350 et 520 μm . Le spécimen le plus petit (sp3) présente des valves sur le péristome de taille intermédiaire comprise entre 160 et 340 μm . Globalement, les valves de l'apex et de la couronne ont des tailles plus variables. Cette observation est intéressante dans la mesure où l'existence de ces classes de taille implique des différences de forme. Les valves situées sur le péristome de chacun des spécimens présentent des caractéristiques morphologiques liées à leur taille. En revanche, il faut noter que les distributions (en particulier pour sp2) présentent des *gaps* qui sont peut-être liés à des problèmes d'échantillonnage.

Enfin, ces graphiques mettent en avant le fait qu'aucune valve de plus de 600 μm de longueur n'a été observée sur sp3 (petit), contre 5 sur sp2 (moyen) et 7 sur sp1 (grand).

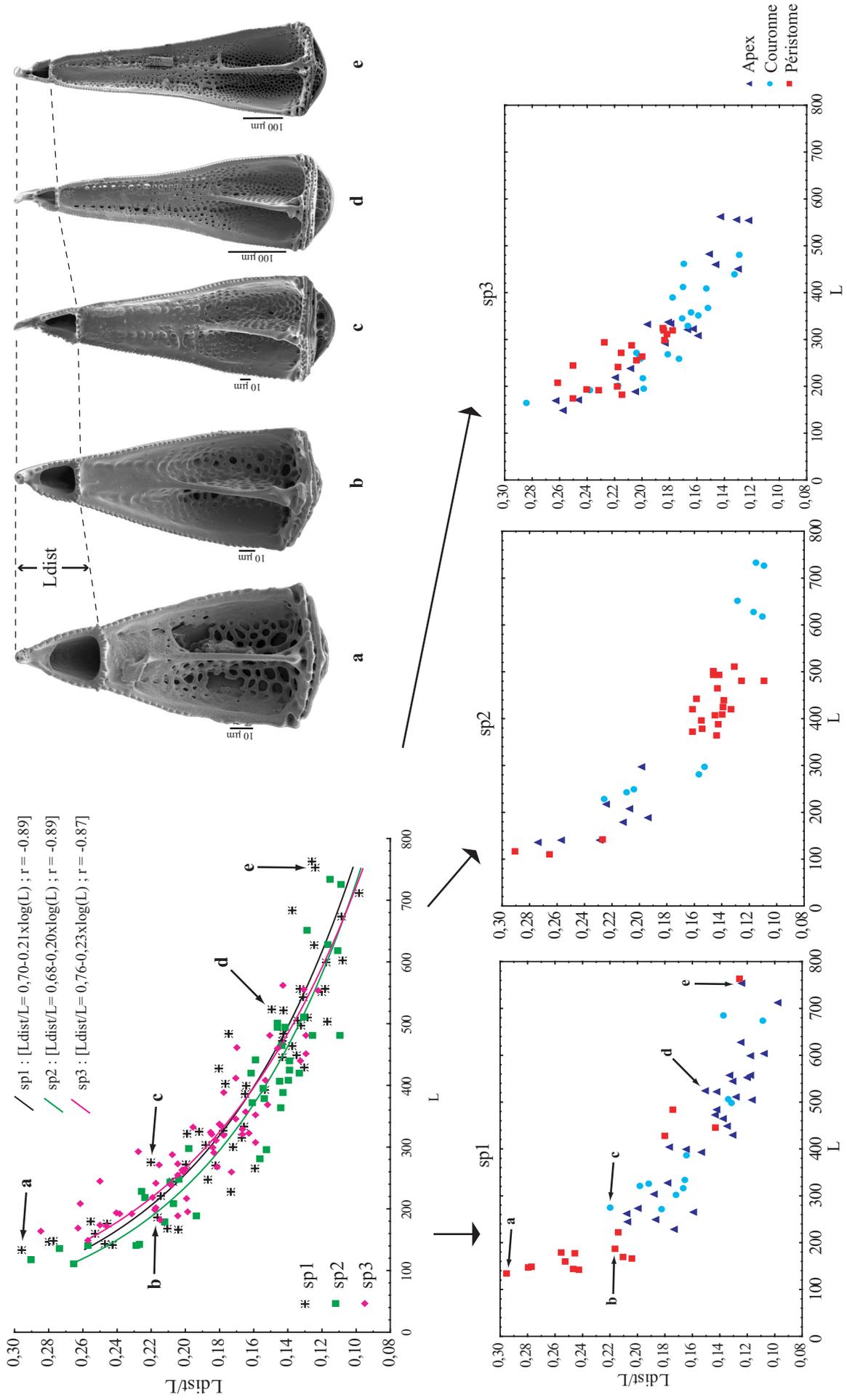


Figure 1.12 - Champs de variation morphométrique de Ldist des valves de PPG de *Prionocidaris* sp. L = longueur totale ; Ldist = longueur de l'extrémité distale. Photographies au MEB.

b) Lint (Annexe 8 ; Fig. 1.13)

[Lint=f(L)] est présenté en annexe 8 (B). La pente de la droite de régression linéaire est positive autrement dit, lorsque L augmente, Lint augmente aussi. Le coefficient de corrélation de la droite de régression est de 0,99.

Sur le même principe que la figure précédente (Fig. 1.12), la figure 1.13 présente [Lint/L=f(L)], d'une part pour l'ensemble des valves en distinguant les trois spécimens, d'autre part pour les valves de chaque spécimen en distinguant les trois parties du test (Apex, Couronne, Péristome). Cinq photographies de valves illustrent certains points des graphiques.

Le nuage de points pour l'ensemble des valves présente une tendance logarithmique croissante. Ainsi Lint croît plus vite que L et le taux d'accroissement n'est pas proportionnel à L (il diminue lorsque L augmente). Lint et L sont fortement corrélés pour chaque spécimen. Les coefficients de corrélation des spécimens 1 et 2 sont similaires (0,92 et 0,94) et le coefficient du spécimen 3 est plus faible (0,83). Les spécimens 1 et 3 présentent la même droite de régression logarithmique. La droite de régression du sp2 a une équation légèrement différente des deux autres.

Les représentations par spécimen montrent, comme avec Ldist, que suivant le spécimen observé, des différences de taille pour chacune des parties sont observées en particulier au niveau du péristome. Comme précédemment, les distributions (en particulier pour sp2) présentent des *gaps* qui sont peut-être liés à des problèmes d'échantillonnage.

c) Lbas (Annexe 8, C ; Fig. 1.14, A)

[Lbas=f(L)] est présenté en annexe 8 (C). Lorsque L augmente, Lbas augmente. Les deux variables sont fortement corrélées ($r=0.97$).

Le graphique A de la figure 1.14 présente [Lbas/L=f(L)]. Le nuage de points présente une tendance logarithmique décroissante. Ainsi Lbas croît moins vite que L et le taux d'accroissement n'est pas proportionnel à L (il diminue lorsque L augmente).

d) W (Annexe 8, D, E et F ; Fig. 1.14, A, B et C)

Les paramètres Wter, Wint et Wbas en fonction de L sont présentés en annexe 8 (D, E et F). Dans chaque cas, lorsque L augmente, W augmente aussi. Les coefficients de corrélation sont compris entre 0.85 et 0.97.

Afin de rendre compte le plus clairement possible de l'évolution des largeurs des valves en fonction de la longueur (L), les rapports Wter/Wint, Wter/Wbas et Wint/Wbas ont été calculés et portés

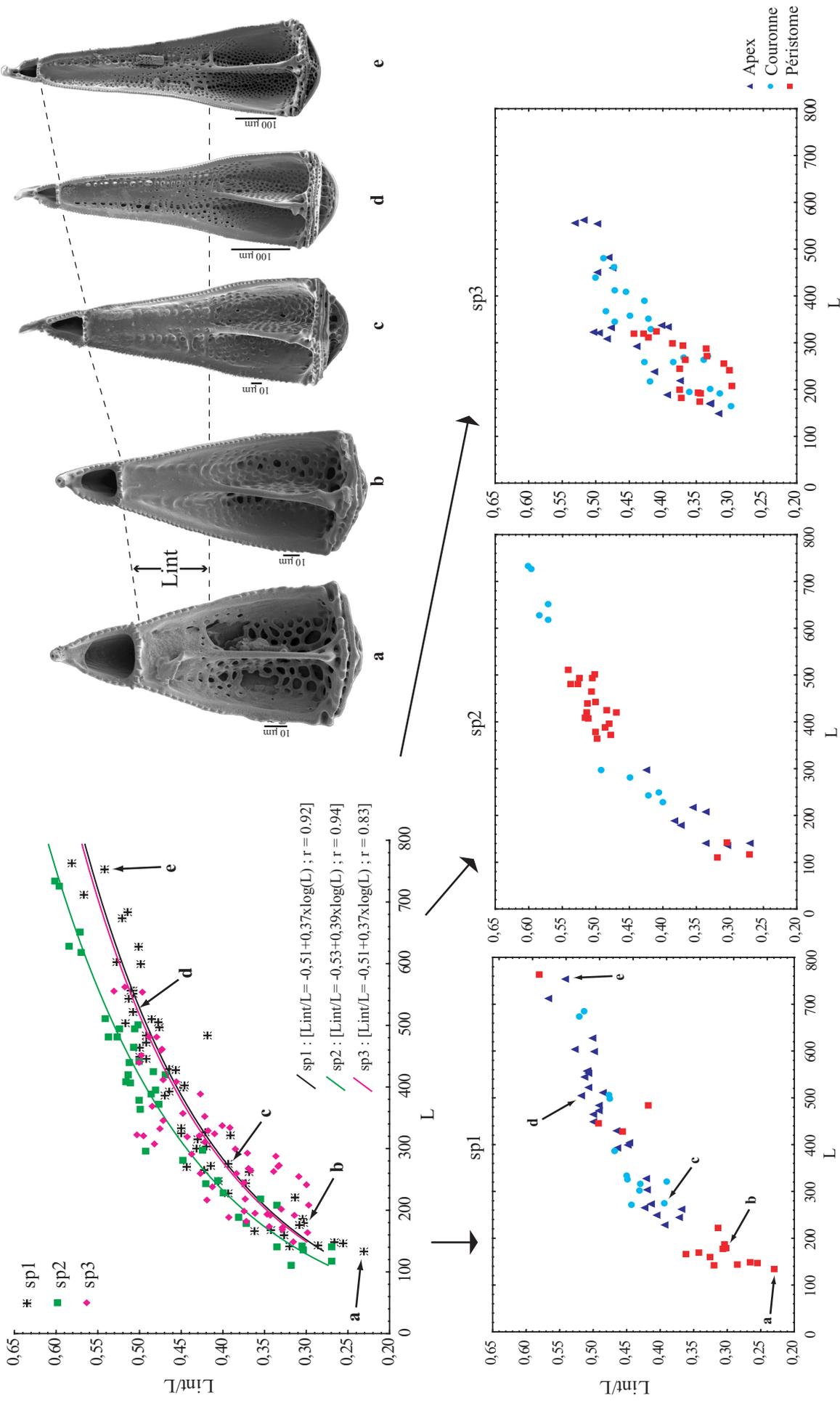


Figure 1.13 - Champs de variation morphométrique de Lint des valves de PPG chez *Prionocidaris* sp. L = longueur totale ; Lint = longueur de la partie intermédiaire entre la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale. Photographies au MEB.

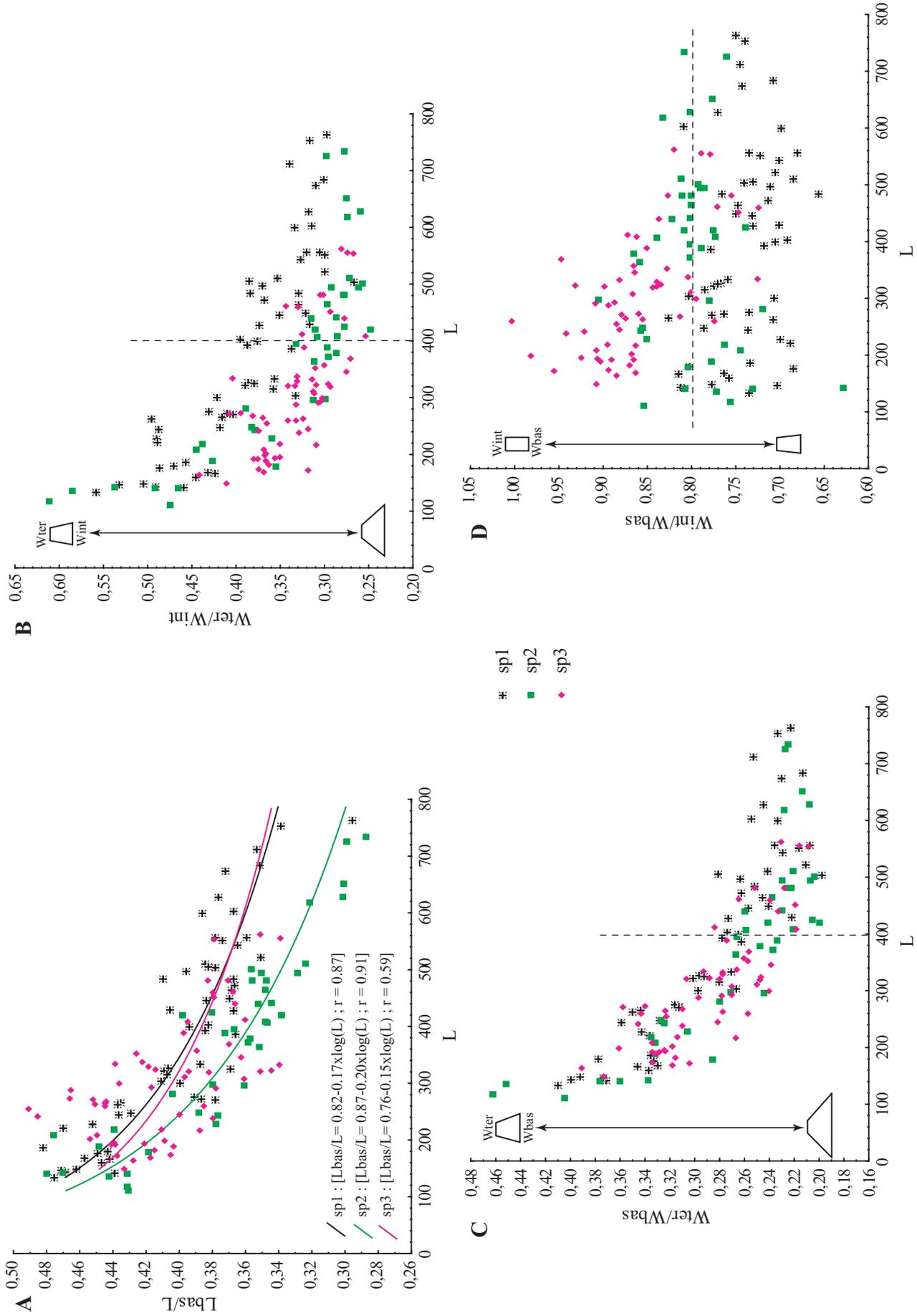


Figure 1.14 - Champs de variation morphométrique de L_{bas} et W sur les valves de *Prionocidaris* sp.

L = longueur totale, L_{bas} = longueur de partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire, W_{ter} = largeur de la crête transversale, W_{int} = largeur de la partie intermédiaire au niveau de l'extrémité de l'apophyse longitudinale, W_{bas} = largeur maximale de la surface articulaire ; photographies au MEB.

graphiquement en fonction de la longueur. Ces rapports illustrent une forme parallépipédique par deux des côtés. Il est ainsi plus facile de visualiser d'éventuelles différences de formes. $[W_{ter}/W_{int}=f(L)]$ (B), $[W_{ter}/W_{bas}=f(L)]$ (C) et $[W_{int}/W_{bas}=f(L)]$ (D) sont présentés sur la figure 1.14. Sur chacun des graphiques est représenté schématiquement les formes associées aux valeurs extrêmes de l'axe des abscisses.

Deux phases peuvent être distinguées sur les graphiques B et C. Ainsi, entre 100 et 400 μm , les rapports W_{ter}/W_{int} et W_{ter}/W_{bas} diminuent rapidement. W_{int} et W_{bas} augmentent donc plus rapidement que W_{ter} . Entre 400 et 800 μm , les rapports sont sensiblement constants. W_{int} et W_{bas} augmentent donc dans les mêmes proportions que W_{ter} . Le graphique C montre que le champ de variation de W_{int}/W_{bas} est peu structuré. Globalement, les valves du spécimen sp3 ont des valeurs $[W_{int}/W_{bas}]$ inférieures à 0,80, celle de sp2 ont des valeurs de part et d'autre de 0.80 et celles de sp1 ont des valeurs supérieures à 0,80. Mais compte tenu du faible champ de variation de ce rapport, les différences de forme sont minimales. Ainsi les différences de formes sont plus marquées si l'on observe des valves dont la longueur est inférieure à 400 μm .

e) Conclusion

Une valve d'une longueur donnée peut être associée à une forme particulière comme j'en ai fait l'observation avec *S. affinis*. La figure 1.15 présente la contribution de chacun des paramètres à l'apparence générale des valves. Les deux valves correspondent aux valves «a» (petite) et «e» (grande) des figures 1.12 et 1.13. Comme pour *S. affinis*, ce schéma de synthèse illustre les allométries de croissance mises en évidence. Il ne rend pas compte de l'évolution non linéaire des rapports en fonction de la longueur. L_{bas} contribue le plus à la longueur totale des petites valves tandis que sur les valves de grande taille c'est L_{int} qui contribue le plus à la longueur. L_{dist} et L_{bas} augmentent plus lentement que L . W_{int} et W_{bas} augmentent plus vite que W_{ter} . D'un côté se trouve une valve trapue avec une grande ouverture terminale et une partie basale large et allongée, de l'autre côté une valve effilée avec une petite ouverture terminale et une partie intermédiaire remarquablement allongée. Ces deux formes sont deux extrêmes au sein d'un champ de variation morphologique. Ainsi, les différences de tailles relatives des paramètres sont plus marquées entre deux valves de 100 et 400 μm qu'entre deux valves de 400 et 700 μm .

Il apparaît également que le champ de variation de tailles est plus limité pour de petits spécimens. En effet, le nombre de valves de grande taille augmente avec la taille du spécimen. Enfin, des amas plus ou moins homogènes de valves dans certaines classes de tailles sont observés sur chaque spécimen suivant la partie considérée. Ces observations doivent retenir l'attention car des classes de tailles impliquent des différences de forme. Sur les spécimens qui m'intéressent, l'observation des valves du péristome peut conduire à des conclusions erronées de différences de formes des valves entre les trois spécimens. L'observation de valves de l'apex et de la couronne permet de retrouver le gradient morphologique. Il serait intéressant de vérifier si les différences observées entre les valves du péristome sont liées à la différence de taille (et donc *a priori* d'âge) entre les trois spécimens.

Ces deux dernières conclusions devraient être vérifiées par l'analyse d'un plus grand nombre de spécimens.

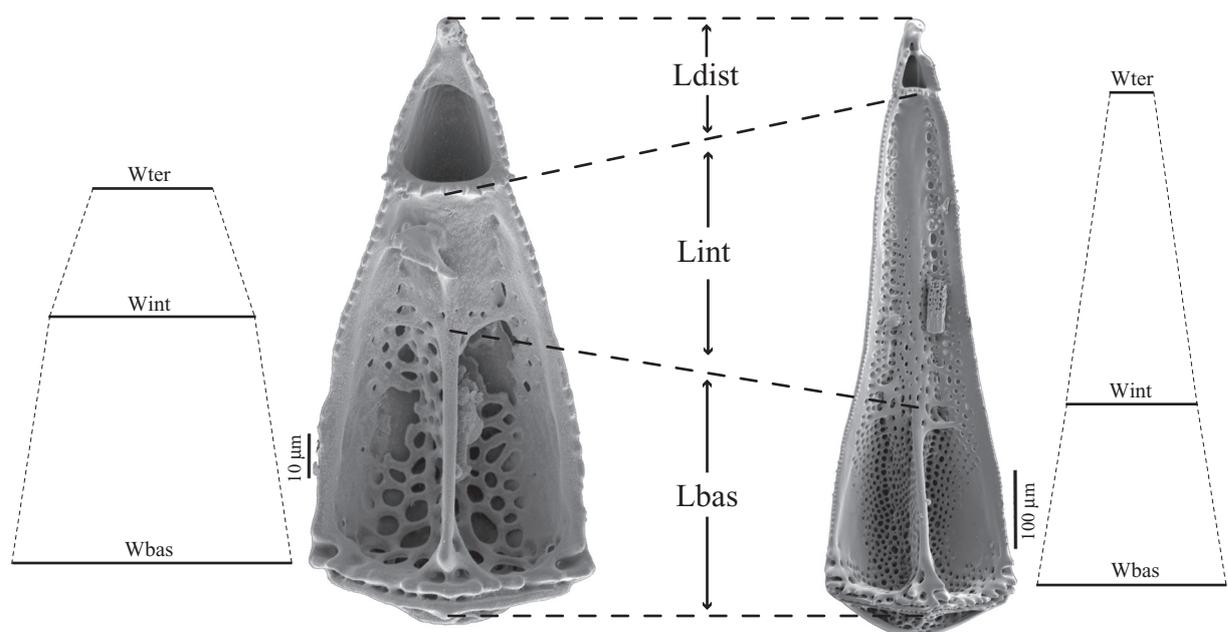


Figure 1.15 - Contribution des paramètres mesurés à la forme générale de deux valves de PPG de taille extrême chez *Prionocidaris* sp.

L = longueur totale ; Ldist = longueur de l'extrémité distale entre la base de la crête transversale et la dent terminale ; Lint = longueur de la partie intermédiaire entre la base de la crête transversale et l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; Lbas = longueur de partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire ; Wter = largeur de la crête transversale ; Wint = largeur de la partie intermédiaire au niveau de l'extrémité de l'apophyse longitudinale ; Wbas = largeur maximale de la surface articulaire.

Photographies au MEB.

2.5 - Analyses multivariées

2.5.1 - Analyse de variance multiple (MANOVA)

Les statistiques élémentaires (nombre, moyenne, minimum, maximum) sur les données transformées par le logarithme décimal sont présentées dans le tableau 1.17.

Les résultats de la MANOVA pour chacun des facteurs sont présentés dans le tableau 1.18.

Ainsi, les facteurs «spécimens» et «parties» sont hautement significatifs (seuil 0,001) pour les quatre tests. Cela signifie qu'il existe une différence entre les moyennes des valves selon les parties et selon les spécimens.

Le test *post-hoc* de Scheffé nous permet de comparer les moyennes pour chaque paramètre et entre les groupes (parties ou spécimens). Il ressort que les valves du péristome sont significativement plus petites que les valves de la couronne et de l'apex pour les paramètres log L, log Lint et log Lbas. Entre les spécimens, les résultats sont moins nets puisqu'il apparaît que les valves de sp3 sont significativement plus petites que les valves de sp1 pour les paramètres log L et log Lbas. D'autre part, les valves de sp1 sont significativement plus petites que les valves de sp2 pour log Lter. Enfin, les valves de sp1 sont significativement plus grandes que celles de sp2 et sp3 pour Log Wter.

Ces résultats sont résumés sur la figure 1.16.

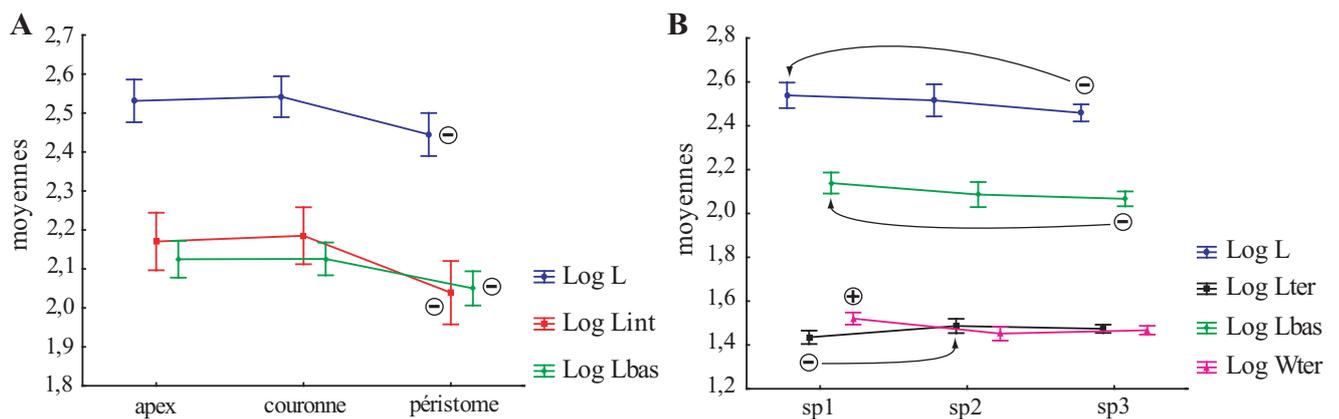


Figure 1.16 - Synthèse des résultats de la MANOVA.

A- Comparaison des moyennes entre les parties pour logL, logLint et logLbas.

B- Comparaison des moyennes entre les spécimens pour logL, logLter, logLbas et logWter.

[barres verticales = intervalles de confiance à 95%] ; une flèche indique la moyenne qui diffère de la moyenne notée + ou - ; l'absence de flèche indique que les deux autres moyennes diffèrent de celle notée + ou -.

		Log L	Log Ldist	Log Lter	Log Lint	Log Lbas	Log Wter	Log Wint	Log Wbas
apex	Nb.	55	55	55	55	55	55	55	55
	Moy. (µm)	2,5	1,7	1,5	2,2	2,1	1,5	1,9	2,1
	Min. (µm)	2,13	1,51	1,25	1,58	1,78	1,25	1,58	1,69
	Max. (µm)	2,88	1,97	1,69	2,61	2,41	1,74	2,25	2,38
couronne	Nb.	43	43	43	43	43	43	43	43
	Moy. (µm)	2,54	1,76	1,47	2,19	2,13	1,50	1,98	2,07
	Min. (µm)	2,22	1,59	1,33	1,69	1,85	1,33	1,77	1,82
	Max. (µm)	2,87	1,97	1,64	2,64	2,40	1,67	2,20	2,32
péristome	Nb.	56	56	56	56	56	56	56	56
	Moy. (µm)	2,44	1,72	1,46	2,04	2,05	1,46	1,91	2,00
	Min. (µm)	2,04	1,47	1,21	1,49	1,68	1,23	1,55	1,62
	Max. (µm)	2,88	1,98	1,66	2,65	2,35	1,74	2,27	2,39

		Log L	Log Ldist	Log Lter	Log Lint	Log Lbas	Log Wter	Log Wint	Log Wbas
sp1	Nb.	56	56	56	56	56	56	56	56
	Moy.	2,54	1,76	1,44	2,17	2,14	1,52	1,94	2,07
	Min.	2,13	1,53	1,21	1,49	1,80	1,30	1,65	1,77
	Max.	2,88	1,98	1,69	2,65	2,41	1,74	2,27	2,39
sp2	Nb.	40	40	40	40	40	40	40	40
	Moy.	2,52	1,73	1,49	2,17	2,09	1,45	1,93	2,03
	Min.	2,04	1,47	1,26	1,50	1,68	1,23	1,55	1,62
	Max.	2,87	1,93	1,64	2,64	2,34	1,67	2,20	2,32
sp3	Nb.	58	58	58	58	58	58	58	58
	Moy.	2,45	1,73	1,47	2,05	2,06	1,46	1,94	2,01
	Min.	2,17	1,58	1,32	1,67	1,81	1,30	1,75	1,79
	Max.	2,75	1,90	1,64	2,47	2,29	1,61	2,17	2,27

Tableau 1.17 - Variabilité des paramètres mesurés transformés par le logarithme décimal, par partie ou par spécimen.

Nb. = nombre de valves mesurées; Moy. = moyenne; Min. = minimum; Max. = maximum.

	test	valeur	F	effet dl	erreur dl	p
spécimens (3 groupes)	Lambda de Wilk	0,189	22,38	16	276,000	0,000
	Trace de Pillai-Bartlett	1,105	21,44	16	278,000	0,000
	Trace de Hotelling-Lawley	2,725	23,33	16	274,000	0,000
	Plus grande racine de Roy	1,913	33,23	8	139,000	0,000
parties (3 groupes)	Lambda de Wilk	0,678	3,70	16	276,000	0,000
	Trace de Pillai-Bartlett	0,345	3,63	16	278,000	0,000
	Trace de Hotelling-Lawley	0,440	3,76	16	274,000	0,000
	Plus grande racine de Roy	0,336	5,83	8	139,000	0,000

Tableau 1.18 - Résultats des tests multivariés de significativité de la MANOVA.

F = statistique du test mentionné, dl = nombre de degré de liberté, p = probabilité associée à la statistique du test.

2.5.2 - Analyse en Composantes Principales (ACP)

Environ 90% de la variance est décrite par les trois premières composantes principales (Fig. 1.17, A). Ce sont ces facteurs que je vais étudier. Les corrélations entre les variables et les quatre premiers facteurs sont présentées dans le tableau 1.19. De la même façon, la projection des vecteurs représentant les variables dans les plans formés par les facteurs 1 et 2 (Fig. 1.17, B) et par les facteurs 1 et 3 (Fig. 1.19, B) informe sur leur participation à l'élaboration de ces facteurs. De plus, ces projections nous indiquent les corrélations qui existent entre les variables (Annexe 8).

Variables	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3	Facteur 4
L	0,981	0,139	0,067	0,047
Ldist	-0,900	0,278	-0,050	0,043
Lter	-0,861	0,299	0,215	-0,020
Lint	0,958	0,030	0,258	0,088
Lbas	0,534	0,327	-0,686	-0,356
Wter	-0,825	-0,179	-0,419	0,071
Wint	-0,218	-0,835	0,310	-0,395
Wbas	0,200	-0,812	-0,419	0,266

Tableau 1.19 - Corrélations entre les variables et les facteurs, suite à une ACP.
En gras = contribution importante d'une variable à l'élaboration d'un facteur.

a) Axes factoriels 1 et 2

Dans le plan formé par les facteurs 1 et 2 (Fig. 1.17, B), j'observe trois ensembles de variables fortement corrélées entre elles : 1- les variables de la partie distale des valves et de l'ouverture terminale (Lter, Ldist et Wter), négativement corrélées sur F1 ; 2- les variables de longueur L et Lint ainsi que Lbas (dans une moindre mesure), positivement corrélées sur F1 ; 3- les variables de largeur Wint et Wbas, négativement corrélées sur F2. Les deux premiers ensembles participent fortement à l'élaboration du premier facteur auquel est associé 56,04% de la variance totale. Le troisième ensemble participe principalement à l'élaboration du second facteur (21,03% de la variance totale).

La transformation LSR des données brutes implique que l'interprétation des résultats de l'ACP est à faire en terme de taille relative à la taille globale de la valve. Ainsi, les valves situées à gauche, sur l'axe des abscisses, ont une extrémité distale grande relativement à la longueur totale de la valve (Fig. 1.17, C et Fig. 1.18, A : valve «c»). A l'opposé, les valves à droite ont une extrémité distale petite relativement à la longueur totale (Fig. 1.17, C et Fig. 1.18, A , valve

«a»). Les valves situées en haut, sur l'axe des ordonnées, ont les largeurs W_{bas} et W_{int} petites relativement à la longueur de la valve (Fig. 1.17, C et Fig. 1.18, A : valve «a»).

La distribution des valves en fonction des parties du test est présentée sur la figure 1.17 (C). Les distributions pour chaque partie se chevauchent largement. Une majorité des valves de l'apex et de la couronne a des valeurs positives sur l'axe des abscisses tandis qu'une majorité des valves du péristome a des valeurs négatives. Cette observation va dans le sens des résultats de l'analyse de variance. En effet, les valves du péristome sont en moyenne significativement plus petites que celles de la couronne et du périprocte. Or, les valeurs négatives sur l'axe des abscisses caractérisent des valves avec une extrémité distale plus grande relativement à la longueur totale. Cela correspond en général aux valves de petite taille.

La distribution par spécimen montre là aussi un large chevauchement de la distribution des valves pour chaque spécimen (Figure 1.18, A). La grande majorité des valves de sp2 présente des valeurs positives sur l'axe des abscisses tandis que la majorité des valves de sp3 présente des valeurs négatives sur l'axe des abscisses et sur l'axe des ordonnées. Les valves de sp1 sont plus régulièrement réparties dans l'espace.

La distribution des points en fonction des neuf groupes définis par la position sur le test et le spécimen est présentée sur la figure 1.18 (B). Aucune information claire ne ressort de ce nuage de points.

b) Axes factoriels 1 et 3

Dans le plan formé par les facteurs 1 et 3 (Fig. 1.19, A), les deux ensembles de variables qui participent à l'élaboration du facteur 1 sont retrouvés : 1- les variables de la partie distale des valves contenant l'ouverture terminale avec L_{ter} , L_{dist} et W_{ter} ; 2- les variables de longueur L et L_{int} . Le facteur 3 correspondant à 12,97% de la variance est expliqué essentiellement par L_{bas} et dans une moindre mesure par W_{ter} et W_{bas} (Tab. 1.19). Les valves situées à droite sur l'axe des abscisses et en bas sur l'axe des ordonnées ont donc une L_{bas} grande relativement à la longueur totale de la valve (Fig. 1.19, C et Fig. 1.20, A : valve «b»). A l'opposé, les valves, à gauche et en haut, ont une L_{bas} petite relativement à la longueur totale (Fig. 1.19, C et Fig. 1.20, A : valve «a»).

La distribution des valves en fonction des parties du test, n'apporte pas d'information supplémentaire par rapport à la distribution sur les axes factorielles 1 et 2 (Fig. 1.19, C). La

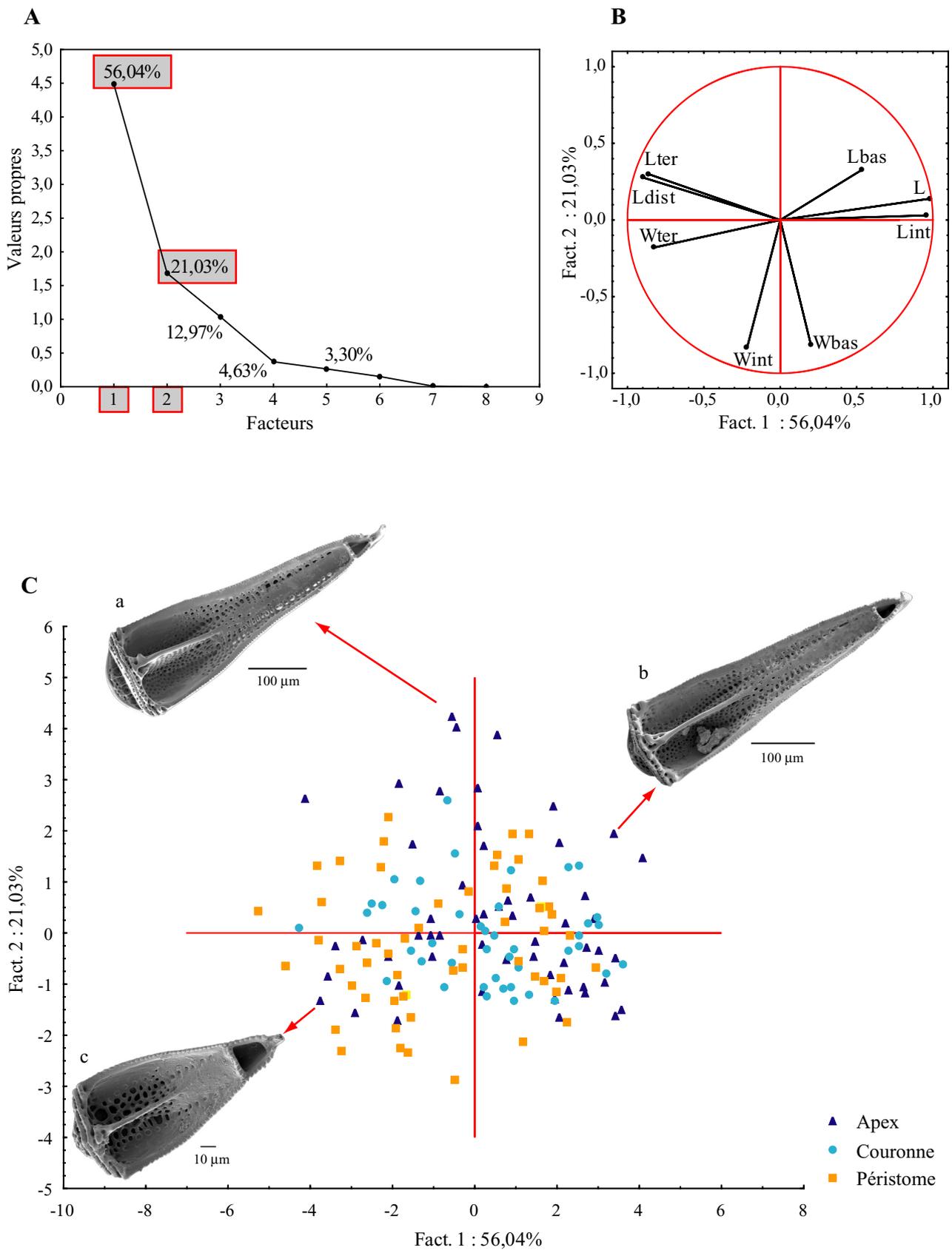


Figure 1.17 - Analyse en Composantes Principales sur données transformées par le LSR chez *Prionocidaris* sp.
 A - Valeurs propres et pourcentage total de la variance
 B - Représentation des variables sur les axes factoriels 1 et 2 (par partie).
 C - Projection des valves sur les axes 1 et 2 (comptant pour 77.07% de la variance totale).
 Photographies au MEB.

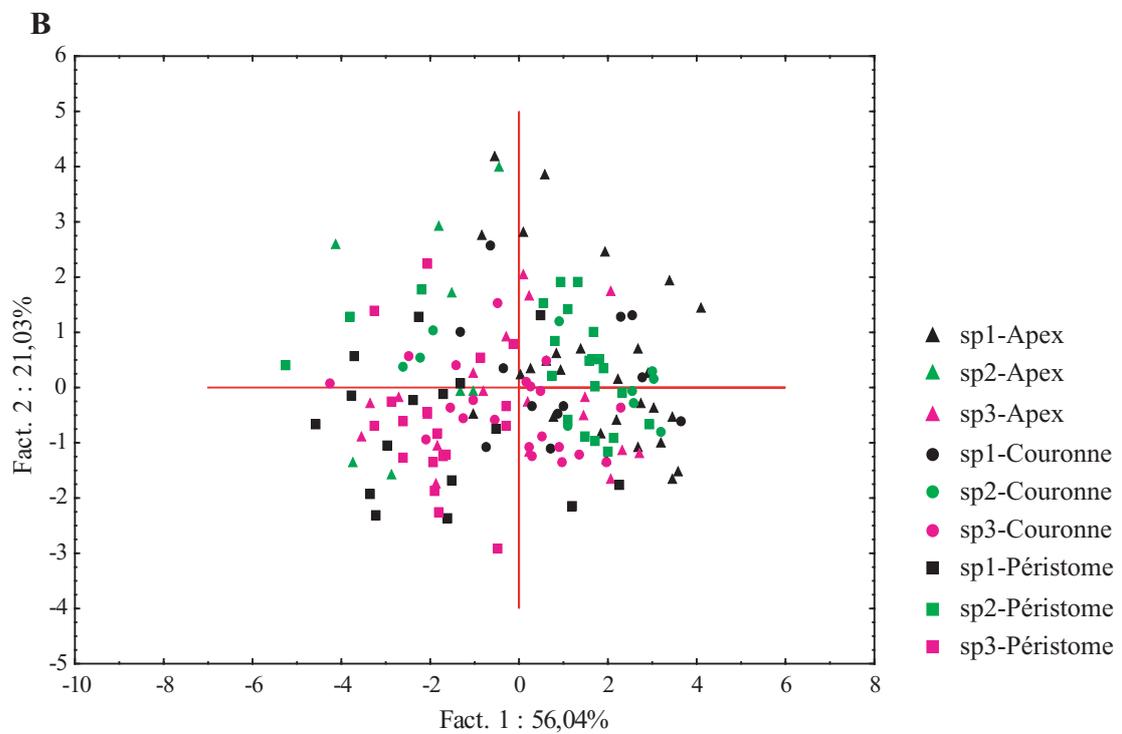
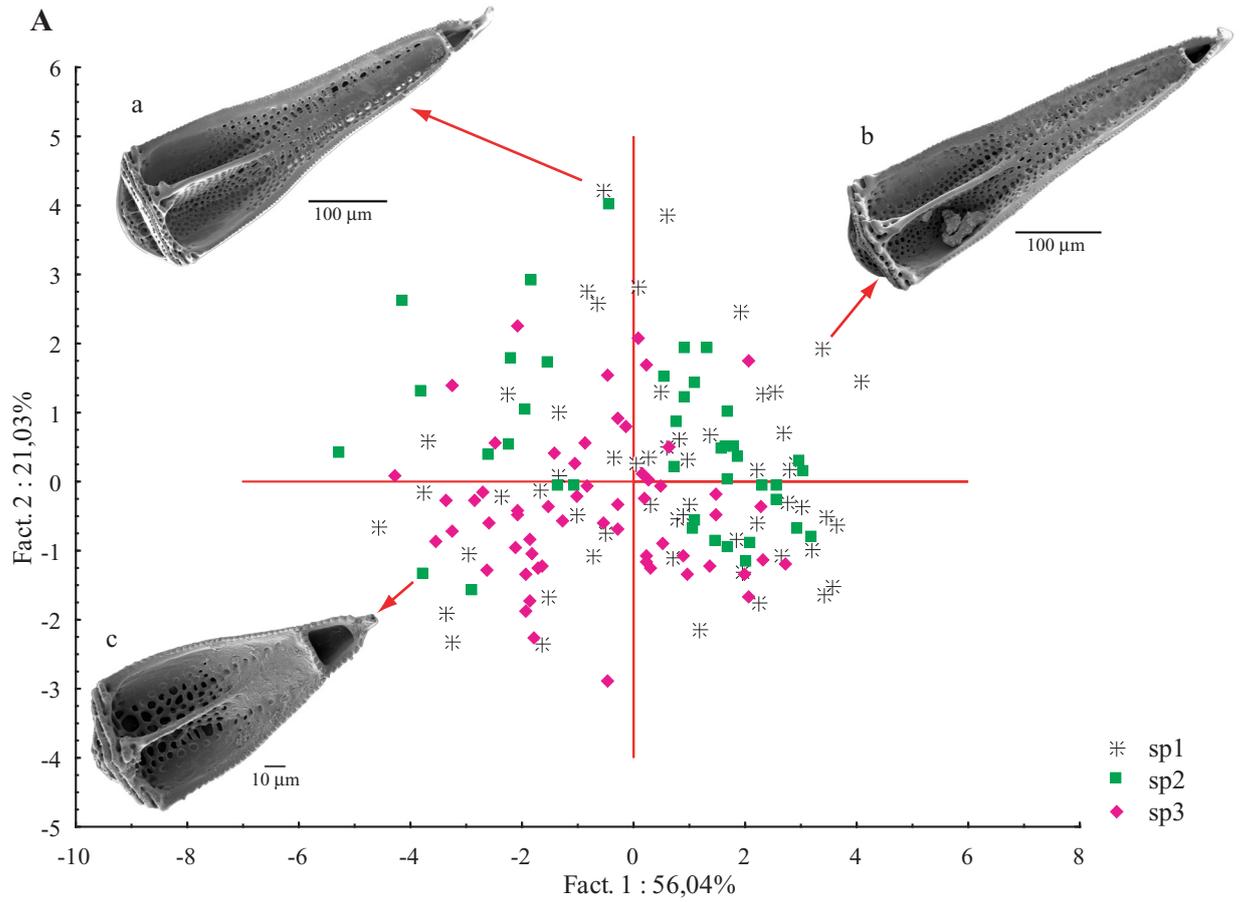


Figure 1.18 - Analyse en Composantes Principales sur données transformées par le LSR chez *Prionocidaris* sp.
 A - Projection des valves sur les axes 1 et 2 (par spécimen)
 B - Projection des valves sur les axes 1 et 2 (par spécimen et par partie)
 Photographies au MEB.

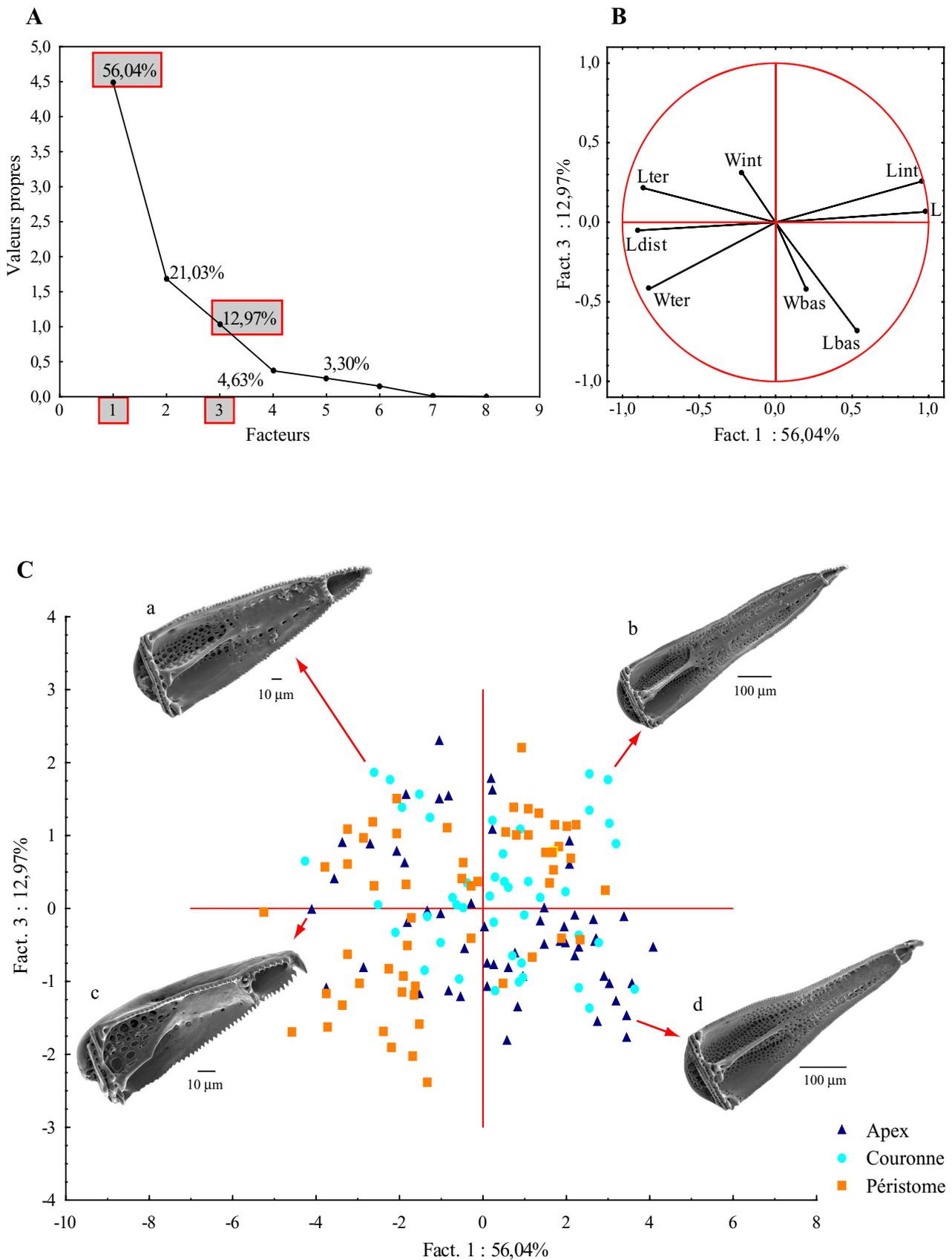


Figure 1.19 - Analyse en Composantes Principales sur données transformées par le LSR chez *Prionocidaris* sp.
 A - Valeurs propres et pourcentage total de la variance.
 B - Représentation des variables sur les axes factoriels 1 et 3.
 C - Projection des valves sur les axes 1 et 3 (par partie).
 Photographies au MEB.

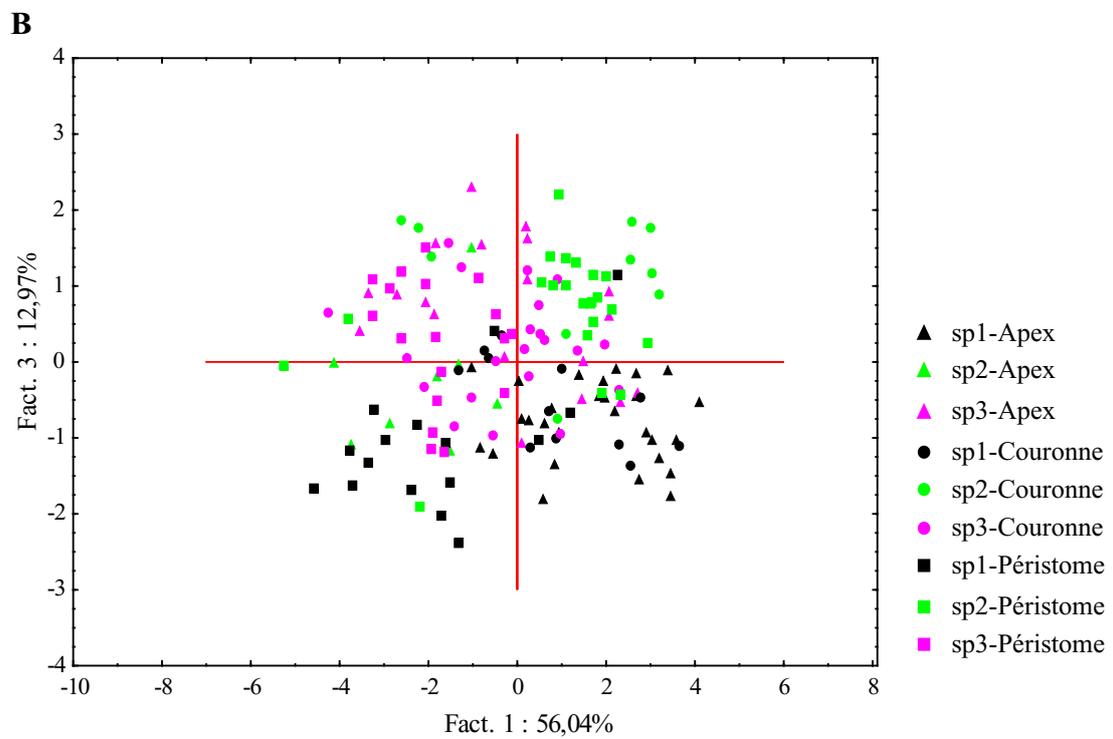
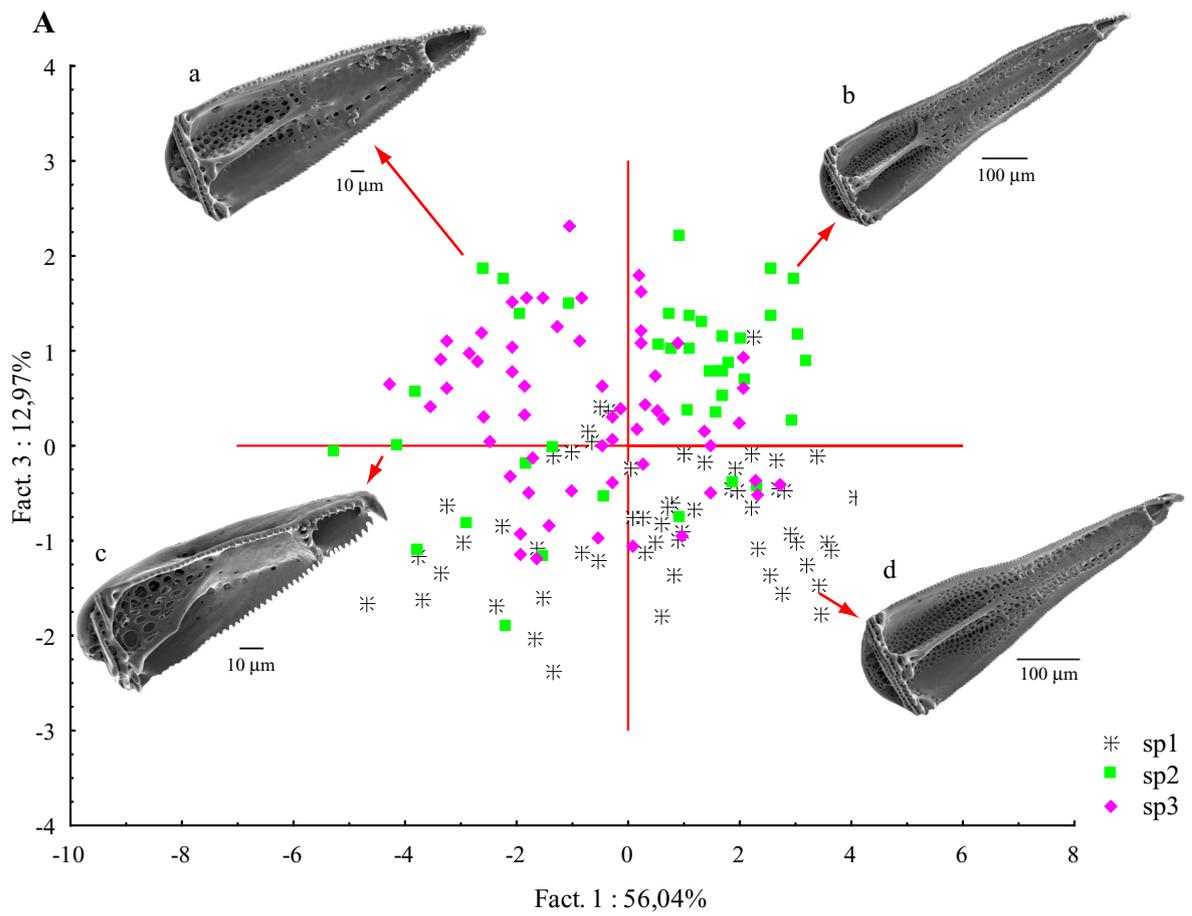


Figure 1.20 - Analyse en Composantes Principales sur données transformées par le LSR chez *Prionocidaris* sp.
 A - Projection des valves sur les axes 1 et 3 (par spécimen)
 B - Projection des valves sur les axes 1 et 3 (par spécimen et par partie)
 Photographies au MEB.

distribution des points selon les spécimens montre une relative répartition de chacun des groupes (Fig. 1.20, A). Ainsi, les valves de sp1 sont en majorité dans la partie inférieure (ordonnées négatives) du graphique ce qui caractérise des valves avec Lbas grand relativement à leur longueur ainsi que Wbas grand et Wint petit par rapport à L. Les valves de sp2 sont situées en majorité dans la partie supérieure droite ce qui caractérise des valves avec une petite ouverture, Lint grand et Lbas petit relativement à la longueur totale (Fig. 1.20, A : valve «b»). Enfin, les valves de sp3 sont majoritairement situées dans la partie supérieure gauche ce qui caractérise des valves avec Lter et Ldist grand ainsi que Wbas grand et Lbas petit relativement à la longueur des valves.

La distribution des points en fonction des neuf groupes définis par la position sur le test et le spécimen est présentée sur la figure 1.20 (B). Les pédicellaires prélevés sur le sp1 au niveau du péristome sont majoritairement regroupés en bas à gauche du nuage de points ce qui correspond à des pédicellaires avec Lter, Ldist, Wter et Lbas élevés par rapport à la taille soit des valves trapues avec une grande ouverture (Fig. 1.20, A : valve «c»). Les pédicellaires prélevés sur le sp1 au niveau de l'apex sont majoritairement regroupés en bas à droite du nuage de points ce qui correspond à des valves avec Lint et Lbas élevés par rapport à la taille soit des valves trapues à la base et effilées dans la partie intermédiaire avec une petite ouverture terminale (Fig. 1.20, A : valve «d»).

c) Conclusion

Les spécimens semblent être mieux identifiés que les parties, en particulier sur les axes factoriels 1 et 3. Les nuages de points correspondant à chaque spécimen se chevauchent malgré tout largement. Il est donc difficile de conclure sur des différences de formes bien définies entre les pédicellaires considérés par partie et par spécimen. Ces résultats sont peut-être liés à un problème d'échantillonnage déjà évoqué précédemment.

2.5.3 - Analyses Factorielles Discriminantes (AFD)

L'ACP nous a fourni des éléments descriptifs. L'AFD va nous permettre de tester les différences observées.

a) AFD sur les parties (apex, couronne, péristome)

Les résultats de l'AFD sont présentés dans le tableau 1.20.

Variables	Axe 1	Axe 2	WL	WL partiel	p
L	2,548	2,081	0,787	0,974	0,144
Ldist	-0,773	0,517	0,778	0,985	0,337
Lint	-4,585	-0,488	0,816	0,940	0,011
Lbas	-1,108	-0,534	0,811	0,944	0,016
Wter	-1,321	0,444	0,819	0,935	0,008
Wint	-0,009	1,082	0,787	0,973	0,141
Wbas	0,376	-0,439	0,782	0,980	0,238
% Var. Cum.	81,8	100,0			

Tableau 1.20 - Synthèse de l'AFD sur les parties, réalisée à partir de sept variables transformées par le LogShapeRatio.

% Var. Cum. = pourcentage de variance cumulée ; p = probabilité associée à la valeur du Lambda de Wilk (WL).
En gras = variables discriminantes (valeur significative au seuil 0.05).

L'AFD est significative (WL = 0.766 ; $p < 0.0003$). Le détail par variable montre que les variables Lint, Lbas et Wter contribuent à la discrimination des trois parties. Les valeurs du WL partiel (proches de 1) indiquent que ces contributions restent très réduites. Les trois groupes sont donc significativement séparés morphologiquement. Cependant, ce résultat n'implique pas qu'ils soient tous différents mais simplement que l'hypothèse nulle «pas de différence morphologique entre les parties» peut être rejetée.

Une analyse sur trois groupes génère deux axes. Le premier axe est le plus informatif puisqu'il explique 81,8% de la variance totale. Seule la première variable canonique (correspondant à l'axe 1) est statistiquement significative (Tab. 1.21). Cet axe 1 est principalement la synthèse de la variance expliquée par la variable Lint (Tab. 1.20).

Exclusion Racines	Valeur propre	R canonique	Lambda de Wilk	Chi ²	dl	niveau p
0	0,239	0,439	0,766	39,401	14	0,000316
1	0,053	0,225	0,950	7,654	6	0,264548

Tableau 1.21 - Test du Chi² avec suppression des racines successives suite à l'AFD sur les parties.

dl = degré de liberté ; p = probabilité associée à la valeur du lambda de Wilk ; **en gras** = valeur significative au seuil 0.05.

La première fonction discriminante (axe 1) discrimine surtout le péristome des deux autres parties (Tab. 1.22). Mais cette discrimination est très imparfaite comme en témoigne la figure 1.21 (A) et les pourcentages d'observations qui sont correctement classifiés dans chaque groupe par les fonctions de classification (apex : 60%, couronne : 23,3%, péristome : 66,1%).

groupe	Axe 1	Axe 2
apex	-0,475	-0,209
couronne	-0,206	0,353
péristome	0,625	-0,066

Tableau 1.22 - Moyennes des variables canoniques suite à l'AFD sur les parties.

Ainsi, l'AFD sur les parties ne permet pas de discriminer de façon nette les trois parties. Elle confirme certaines des observations des analyses bivariées et l'une des conclusions de la MANOVA : les valves sont de plus petites tailles au niveau du péristome. En effet, un rapport Lint/L petit correspond à des valves de petites tailles.

b) AFD sur les spécimens (sp1, sp2, sp3)

Les résultats de l'AFD sont présentés dans le tableau 1.23.

Variables	Axe 1	Axe 2	WL	WL partiel	niveau p
L	-0,870	-3,005	0,255	0,937	0,009131
Ldist	-0,888	2,113	0,296	0,810	0,000000
Lint	-1,310	4,489	0,269	0,890	0,000211
Lbas	-0,077	1,756	0,305	0,786	0,000000
Wter	-1,592	0,622	0,325	0,736	0,000000
Wint	0,903	0,863	0,358	0,669	0,000000
Wbas	-0,925	0,492	0,329	0,728	0,000000
% Var. Cum.	77,1	100			

Tableau 1.23 - Synthèse de l'AFD sur les spécimens, réalisée à partir de sept variables transformées par le LogShapeRatio.

% Var. Cum. = pourcentage de variance cumulée ; p = probabilité associée à la valeur du Lambda de Wilk (WL).

En gras = variables discriminantes (valeur significative au seuil 0.05).

L'AFD est significative (WL = 0,239 ; $p < 0,0000$). Le détail par variable montre que toutes les variables contribuent à la discrimination des trois spécimens en particulier Wter, Wint et Wbas (d'après les valeurs de WL partiel). Les trois groupes sont donc significativement séparés morphologiquement.

L'axe 1 est le plus informatif puisqu'il explique 77,1% de la variance totale. Les deux variables canoniques (les deux axes) sont statistiquement significatives (Tab. 1.23). Toutes les variables, hormis Lbas, contribuent à l'élaboration de l'axe 1. Il faut noter que Wint s'oppose à toutes les autres variables (seule valeur positive). L'axe 2 est élaboré principalement par L, Ldist, Lint et Lbas, la variable L s'opposant à toutes les autres (seule valeur négative).

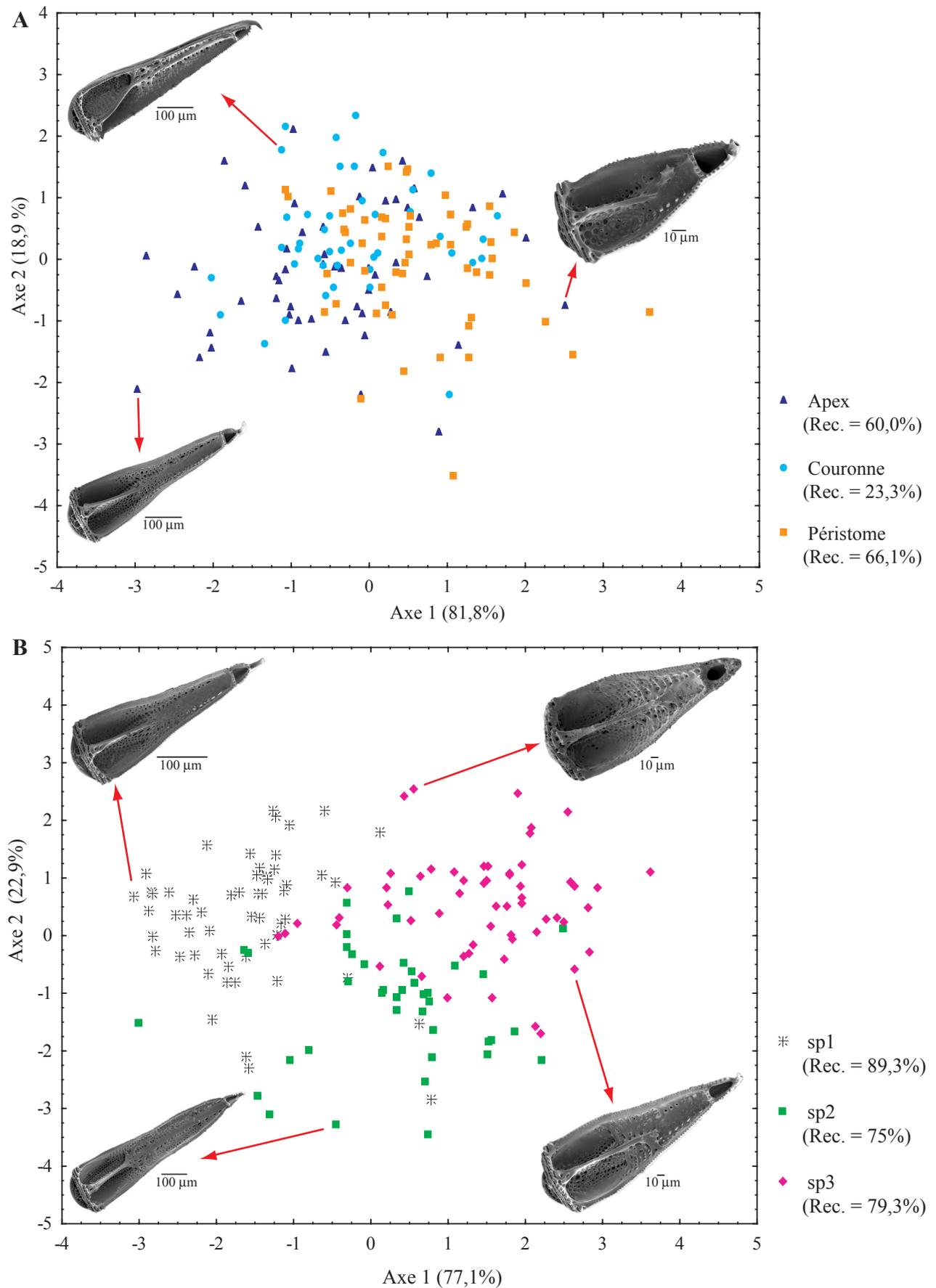


Figure 1.21 - Analyse factorielle discriminante, projection des valves sur les axes 1 et 2.
 A - Par partie (reclassement total de 51,9%).
 B - Par spécimen (reclassement total de 81,8%).
 Rec. = pourcentage de reclassement. Photographies au MEB.

Exclusion Racines	Valeur propre	Racines canoniques	Lambda de Wilk	Chi ²	dl	niveau p
0	1,748	0,798	0,239	211,543	14	0,000000
1	0,520	0,585	0,658	61,948	6	0,000000

Tableau 1.23 - Test du Chi² avec suppression des racines successives suite à l'AFD sur les spécimens.
dl = degré de liberté ; p = probabilité associée à la valeur du lambda de Wilk.

En gras = valeur significative au seuil 0.05.

D'après le tableau 1.24, la première fonction (axe 1) discrimine surtout sp1 des deux autres spécimens tandis que la seconde fonction (axe 2) discrimine surtout sp2 des deux autres. La figure 1.21 (B) nous montre que les groupes sont relativement bien individualisés. Les pourcentages d'observations qui sont correctement classifiés dans chaque spécimen sont d'ailleurs supérieurs ou égaux à 75% (sp1 : 89,3%, sp2 : 75%, sp3 : 79,3%).

spécimen	Axe 1	Axe 2
spécimen 1	-1,631	0,317
spécimen 2	0,268	-1,196
spécimen 3	1,390	0,519

Tableau 1.24 - Moyennes des variables canoniques suite à l'AFD sur les spécimens.

Ainsi, l'AFD sur les spécimens permet de discriminer les trois spécimens. L'axe 1 permet de distinguer sp1 de sp2 et sp3. Sp1 serait discriminé par l'opposition de Wint avec les autres variables. L'axe 2 permet de distinguer sp2 de sp1 et sp3. Sp2 serait discriminé par l'opposition de L avec les autres variables.

3 - Discussion

3.1 - Cas particulier de *Prionocidaris* sp.

Le genre *Prionocidaris* est défini par une combinaison de caractères, en particulier les pores conjugués et les caractères des piquants (voir diagnose, annexe 10). Mortensen (1928) décrit six espèces appartenant au genre. Rowe et Hogget (1986) et Hogget et Rowe (1986) décrivent deux nouvelles espèces et proposent la mise en synonymie de deux espèces (*P. australis* et *P. glandulosa*) pour lesquelles Mortensen doutait de la validité. Chez certaines espèces de ce genre, la variabilité observée des caractères des piquants et les variations de coloration sont telles que

de nombreuses variétés et formes ont été décrites par les auteurs (Clark, 1925 ; Mortensen, 1928). Ainsi, le genre comprend actuellement sept espèces sans tenir compte des formes et variétés (Annexe 10). Selon Mortensen, le genre *Prionocidaris* est très étroitement apparenté au genre *Acanthocidaris* et *Stylocidaris* (Annexe 1), ces trois genres étant placés dans la sous-tribu des Stylocidarina. Cette sous-tribu est caractérisée par ses gros pédicellaires globifères sans dent terminale avec une ouverture terminale bien développée délimitée par une lèvre régulière dentée. H. B. Fell (1966) place les genres *Prionocidaris* et *Stylocidaris* dans deux sous-familles différentes (Annexe 2), respectivement les Rhabdocidarinae et les Cidarinae. Cette différence majeure dans la classification réside dans le fait que H. B. Fell définit les Rhabdocidarinae et les Cidarinae par des caractères des plaques ambulacraires et des piquants (Rhabdocidarinae avec des pores conjugués ou subconjugués et Cidarinae avec des pores non conjugués).

Si je me réfère aux travaux récents de Rowe et Hogget (1986) et Hogget et Rowe (1986) décrivant deux nouvelles espèces appartenant au genre *Prionocidaris*, le spécimen sp1 pourrait être *Prionocidaris popeae* et sp2, *Prionocidaris callista*. D'après les descriptions de Mortensen (1928), le spécimen sp3 correspondrait à *P. australis*. Le prélèvement choisi comporterait dans ce cas non pas une espèce mais trois : *P. australis*, *P. popeae*, *P. callista* (Annexe 11). Selon Hogget et Rowe (1986), les pédicellaires de *P. popeae* sont similaires à ceux de *P. australis*. De même, selon Rowe et Hogget (1986), les petits pédicellaires globifères de *P. callista* ne présentent pas de différences avec ceux de *P. australis*. Les principales différences relevées par les auteurs sont liées à la coloration des piquants et du test. Si l'on compare les caractéristiques morphométriques des spécimens analysés avec celles des spécimens correspondants étudiés par Rowe et Hogget, sp1 est de grosse taille au sein de *P. popeae*, sp2 de taille moyenne au sein de *P. callista* et sp3 de petite taille au sein de *P. australis* (Annexe 12). Si sp3 appartenait à l'espèce *P. australis*, cela étendrait l'aire de répartition jusqu'en Nouvelle-Calédonie soit vers l'est par rapport aux descriptions existantes.

Cependant la distinction de trois espèces dans le prélèvement étudié me semble problématique. En effet, la variabilité, en particulier de coloration et de forme des piquants, a été soulignée par de nombreux auteurs (Clark, 1925 ; Mortensen, 1928) chez la plupart des espèces du genre. Afin de clarifier les choses, il est donc nécessaire de réaliser une étude approfondie

de ce groupe pour délimiter avec plus de précision les champs de variations morphologiques des espèces qui le constituent. Il est bien entendu nécessaire de se référer aux spécimens types. Mais une analyse de ce groupe (comme de tout autre) doit se faire sur un ensemble de spécimens échantillonnés au sein d'aires de répartition des espèces souvent très vastes (Annexe 11). D'autre part, les aspects ontogénétiques liés en particulier à la croissance du test et des piquants doivent être pris en considération. Les aspects biogéographiques et ontogénétiques apparaissent en effet nécessaires à une bonne appréhension de la variabilité morphologique au sein d'un groupe. Enfin, une approche moléculaire de type génétique des populations pourrait apporter les informations complémentaires nécessaires à la compréhension de ce groupe dont la répartition est limitée à l'océan Indien et l'océan Pacifique. Contrairement à mon opinion, les résultats de l'analyse discriminante indiquent que les spécimens pourraient être distingués avec les pédicellaires (Rappelons que Rowe et Hogget n'ont pas observé de différences entre les pédicellaires des trois espèces). L'analyse ayant porté sur des spécimens de tailles différentes, il est impossible de trancher entre une discrimination des espèces et une discrimination de la taille. Il est nécessaire d'inclure un plus grand nombre de spécimens.

3.2 - Diversité morphologique

Cette approche morphométrique nous a permis de discriminer les PPG des GGP chez *S. affinis* et de mettre également en évidence un gradient morphologique concernant les PPG. L'analyse de ce gradient chez *S. affinis* puis chez *Prionocidaris* sp. a fait ressortir un champ de variation morphologique important qui associe variation de la taille des valves et variation de leur forme, «taille» et «forme» étant fortement corrélées. Les différences de taille relative des paramètres mesurés sont à l'origine des différences de forme observées entre les valves. Mais, l'évolution des proportions relatives n'est généralement pas proportionnelle à la taille. Chez *Prionocidaris* sp., par exemple, cela se traduit par le fait qu'une valve de 400 µm présentera plus de différence de forme avec une valve de 100 µm qu'avec une valve de 700 µm. Chez *Prionocidaris* sp., le choix de trois spécimens de tailles différentes et la distinction de trois parties sur le test (apex, couronne, péristome) a permis de mettre en évidence des différences de forme des valves en particulier au niveau du péristome. En moyenne, les valves du péristome sont significativement plus petites que celles de la couronne et de l'apex. Mais, les classes de taille diffèrent suivant

le spécimen observé. Il est possible que ces différences entre spécimens soient liées à la taille et donc *a priori* à l'âge des individus mais il est nécessaire de prolonger cette étude sur un plus grand nombre de spécimens de tailles différentes pour le confirmer. D'autre part, les différences de taille (et donc de forme) des valves recouvrant le test mériteraient d'être décrites plus en détail. En effet, l'observation à la loupe binoculaire témoigne, par exemple, du fait que les pédicellaires situés entre les piquants scrobiculaires sont beaucoup plus grands que ceux situés le long de l'ambulacre. Ces différences sont probablement associées à des contraintes fonctionnelles fortes qui se situent à deux niveaux, souvent étroitement liées :

1- la localisation sur le test (position par rapport au substrat, par rapport aux différents types de piquants recouvrant l'oursin) ;

2- le rôle fonctionnel (nettoyage du test, défense).

Ainsi, la petite taille des pédicellaires du péristome est peut-être une illustration du premier niveau de contrainte. En effet, le péristome est la seule partie en contact direct avec le substrat ce qui peut être à l'origine de la plus petite taille (en moyenne) des valves. La régénération est-elle plus importante, impliquant une croissance plus rapide qui limiterait la taille ? La forme particulière des piquants secondaires (en forme de spatule) et leur densité con raignent-elles la croissance ? Dans tous les cas, ce résultat pourrait être confirmé par des prises de mesures sur des spécimens de grosse taille appartenant à des genres différents (afin d'éviter le biais lié aux patrimoines génétiques). Ces contraintes fonctionnelles qui se situent à l'échelle du spécimen se superposent aux contraintes mécaniques qui se situent au niveau du pédicellaire. En effet, les différences de formes des valves sont dépendantes du mode de fonctionnement d'un pédicellaire.

Chaque valve observée est ainsi le résultat d'une ontogenèse dont le processus se place dans un champ de contraintes fonctionnelles et structurelles. L'étude de l'ensemble des formes des valves témoigne d'une large variabilité morphologique des valves de PPG, une variabilité qui est expliquée par des processus allométriques. La série ontogénique des PPG de *Prionocidaris* sp. (même prélèvement que pour l'approche morphométrique) présentée sur la planche 1.1 et le champ de variation morphologique des PPG «adultes» sont replacés l'un par rapport à l'autre sur la figure 1.22.

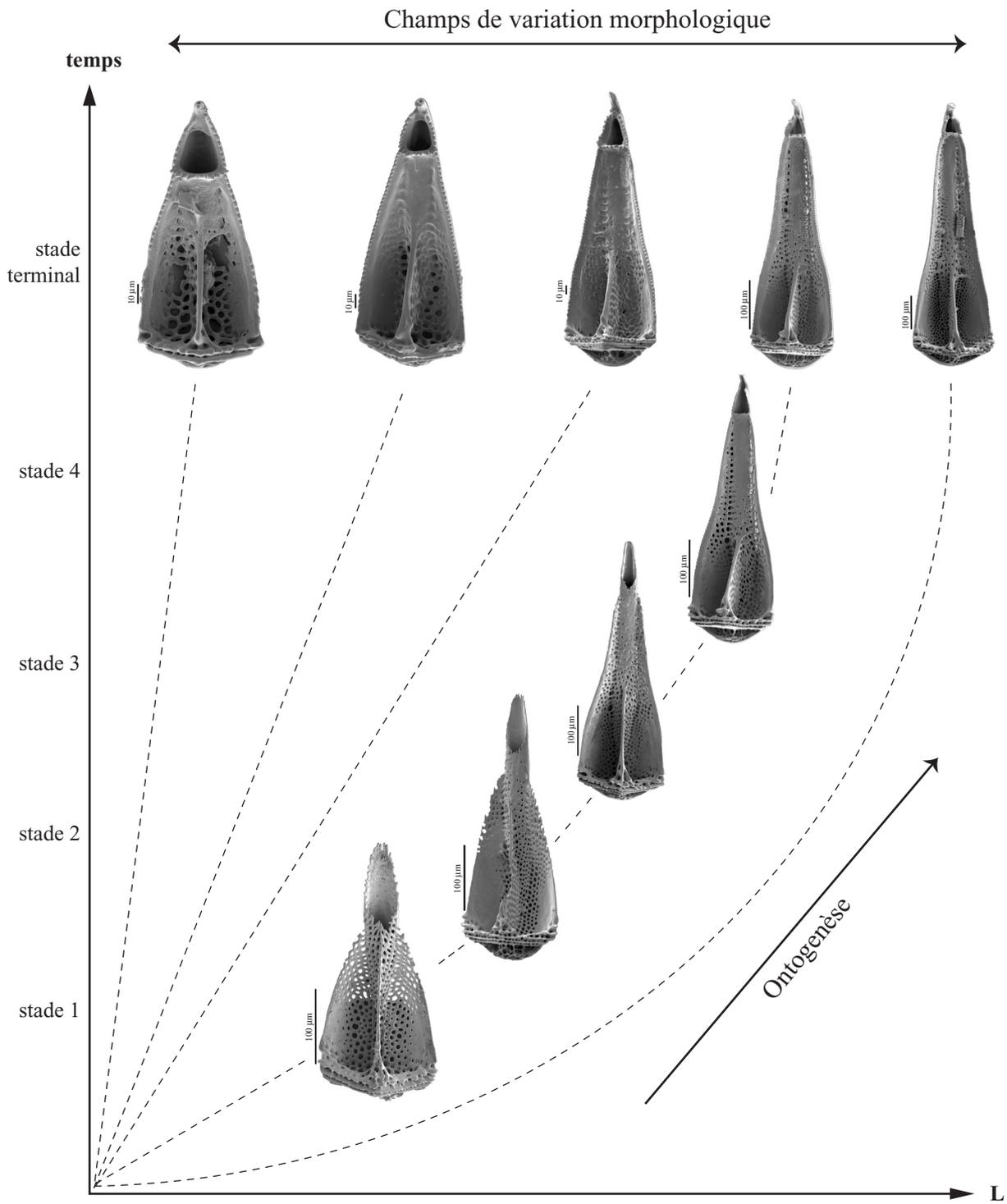


Figure 1.22 - Schéma de synthèse récapitulant l'ontogenèse et les champs de variation morphologique des valves de PPG chez *Prionocidaris* sp.

Valves prélevées sur une population de *Prionocidaris* sp, CHALCAL, station CP2

Photographies au MEB.

L'utilisation de la morphométrie géométrique s'est développée en biologie depuis le début des années 90 (David et Laurin, 1991 ; Rohlf et Marcus, 1993 ; Adams et *al.*, 2004). L'application de certaines de ces méthodes, comme les méthodes de superposition (méthodes Procrustes) ou/et de plaques minces (méthode TPS pour Thin Plate Splines) constituerait d'excellents outils pour analyser les différences de forme des valves de pédicellaires.

D - HÉTÉROCHRONIES DE DÉVELOPPEMENT

1- Cadre théorique et hypothèses

L'étude de l'ontogenèse et des hétérochronies de développement a donné lieu à de nombreux travaux en biologie (voir Gould, 1977 ; McKinney et McManara, 1991 ; Hall, 1992 ; Klingenberg, 1998). Les études sur l'hétérochronie analysent les relations entre la forme, la taille et l'âge ontogénétique de différents organismes (Penin et Berge, 2001). Les hétérochronies sont des décalages qui modifient la séquence ontogénétique d'une forme par rapport à celle d'une autre forme. Pour certains auteurs, cela implique de définir une référence (Dommergues *et al.*, 1986). Mais d'autres avancent la notion de gradient et/ou de mosaïques d'hétérochronies (David, 1990 ; Roux *et al.*, 1997 ; Améziane et Roux, sous presse). Les hétérochronies sont également utilisées pour l'interprétation de la variabilité intraspécifique (Reilly *et al.*, 1997 ; Courville et Crônier, 2003 ; Roux *et al.*, 1997 ; Améziane et Roux, sous presse).

Les résultats présentés sur les pédicellaires tout au long de ce chapitre ont mis en évidence chez *Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp.:

- des séries ontogénétiques (qui peuvent être décrites par des allométries de croissance) ;

- des caractéristiques morphologiques «adultes» avec, dans certains cas, des champs de variation importants qui peuvent être décrits par des allométries statiques (c'est à dire portant sur les pédicellaires au même stade de croissance ; Yoccoz, 1993).

Je dispose donc, chez deux espèces étroitement apparentées selon Mortensen (1928), d'observations sur la morphologie «adulte» et l'ontogenèse des trois catégories de pédicellaires (PPG, GPG et PD) présentes chez les Cidaroida. Il s'agit en conséquence d'une démarche d'anatomie et de développement comparés : je vais étudier la morphogenèse de structures calcitiques observées sur un échinide.

Une interprétation de la variabilité observée à l'aide des hétérochronies de développement nécessite de définir trois variables :

- la taille : l'addition de la longueur totale (L) et de la largeur à la base (Wbas) ;
- la forme : deux rapports sont utilisés pour traduire des changements de forme. D'une

part, L/W_{bas} qui peut être interprété comme la forme triangulaire générale de la valve, d'autre part L_{limbe}/L (longueur du limbe sur la longueur) qui peut être interprété comme l'allongement relatif du limbe.

-l'âge : faute d'informations réelles sur l'âge de mes valves «adultes», je considère que toutes mes valves «adultes» ont le même âge, autrement dit la taille est indépendante de l'âge. Dans les analyses, sont incluses les valves utilisées pour reconstituer les séries ontogénétiques (PPG et PD chez *Prionocidaris* sp.) ainsi que les valves «adultes» utilisées précédemment pour illustrer la diversité morphologique (PPG et PD de *Prionocidaris* sp. et *S. affinis* ainsi que les GPG de *S. affinis*). Une valve «juvénile» de PPG et une de PD chez *S. affinis* ont été ajoutées bien que les séries ontogénétiques de cette espèce n'aient pu être reconstituées. L'approche réalisée va se situer à deux niveaux : comparaison des valves «adultes» au sein d'une même catégorie de pédicellaires et comparaison des valves «adultes» entre catégories. Compte tenu des particularités de cette approche (analyse d'une structure calcitique, âge inconnu), je vais définir clairement les hétérochronies (au sens large i. e. incluant gigantisme et nanisme) que je considère :

-paedomorphose : progénèse (forme juvénile associée à une petite taille «adulte») et néoténie (forme juvénile associée à une grande taille «adulte») ;

-péramorphose : accélération (forme «hyper-adulte» associée à une petite taille «adulte») et hypermorphose (forme «hyper-adulte» associée à une grande taille «adulte») ;

-nanisme (petite taille sans changement de forme «adulte») et gigantisme (grande taille sans changement de forme «adulte»).

2 - Résultats

2.1 - Allométries (Fig. 1.23)

L/W_{bas} est présenté en fonction de L_{limbe}/L sur la figure 1.23. Six valves de PPG qui correspondent aux points extrêmes des champs de variation et de l'ontogénèse sont figurées. La distribution met en évidence deux tendances allométriques : d'une part, un nuage constitué par les pédicellaires globifères de *S. affinis* et *Prionocidaris* sp, d'autre part un profil constitué

par les PD de *S. affinis* et *Prionocidaris* sp. Les deux tendances montrent que lorsque L/Wbas augmente, Llimbe/L augmente, autrement dit plus la valve est effilée plus la taille relative du limbe est grande. La tendance allométrique des pédicellaires globifères a moins d'amplitude que celle des PD et correspond à la superposition d'allométries de croissance (ontogenèse des PPG) et d'allométries statiques (valves «adultes» des PPG et GPG). La distribution des PD semble présenter deux phases allométriques (Fig. 1.23, «phase 1?» et «phase 2?»). Cependant, cette dernière observation ne reposant que sur une série ontogénétique de quatre valves et deux valves supplémentaires, les interprétations proposées devront être testées sur un échantillonnage plus large.

2.2 - Ontogenèse et hétérochronies de développement

Chacun de ces rapports est présenté en fonction de la taille (L+Wbas) sur la figure 1.24 (A et B). Une valve de GPG est figurée sur le graphique A et quatre valves de PD sur le graphique B. En l'absence d'une série ontogénétique complète pour *S. affinis* et compte tenu de la tendance allométrique commune des PPG chez *Prionocidaris* sp. et *S. affinis*, je considère que les ontogenèses des PPG de *Prionocidaris* sp. et de *S. affinis* sont similaires (Fig. 1.23 et 1.24). Les deux valves en croissance de PPG et PD chez *S. affinis* ont été placées à titre indicatif. Elles témoignent par leur position sur les graphiques de la similarité des premiers stades ontogénétiques illustrés chez les deux espèces .

2.2.1 - (L/Wbas) en fonction de (L+Wbas) (Fig. 1.24, A)

Toutes les interprétations de cette partie se réfèrent au caractère L/Wbas.

a) Chez *Prionocidaris* sp.

Le champ de variation des PPG s'explique d'un côté par une tendance paedomorphique par progenèse, de l'autre côté par du gigantisme.

Les PD sont interprétés comme une morphogenèse de type péramorphique par hypermorphose que l'on peut associer à du gigantisme.

b) Chez *Stylocidaris affinis*

Le champ de variation des PPG s'explique essentiellement par une tendance paedomorphique par progenèse.

Les PD s'expliquent par une pérarmorphie par hypermorphose que l'on peut associer à du gigantisme. La morphogenèse des GPG est de type paedomorphique et elle peut se rapporter à une néoténie.

2.2.2 - (Llimbe/L) en fonction de (L+Wbas) (Fig. 1.24, B)

Toutes les interprétations de cette partie se réfèrent au caractère L/Llimbe.

a) Chez *Prionocidaris* sp.

Le champ de variation des PPG s'explique d'un côté par une légère tendance paedomorphique par progenèse, de l'autre côté par du gigantisme.

Le PD montre une tendance pérarmorphique par hypermorphose que l'on peut associer à du gigantisme.

b) Chez *Stylocidaris affinis*

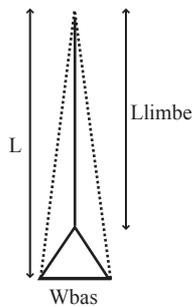
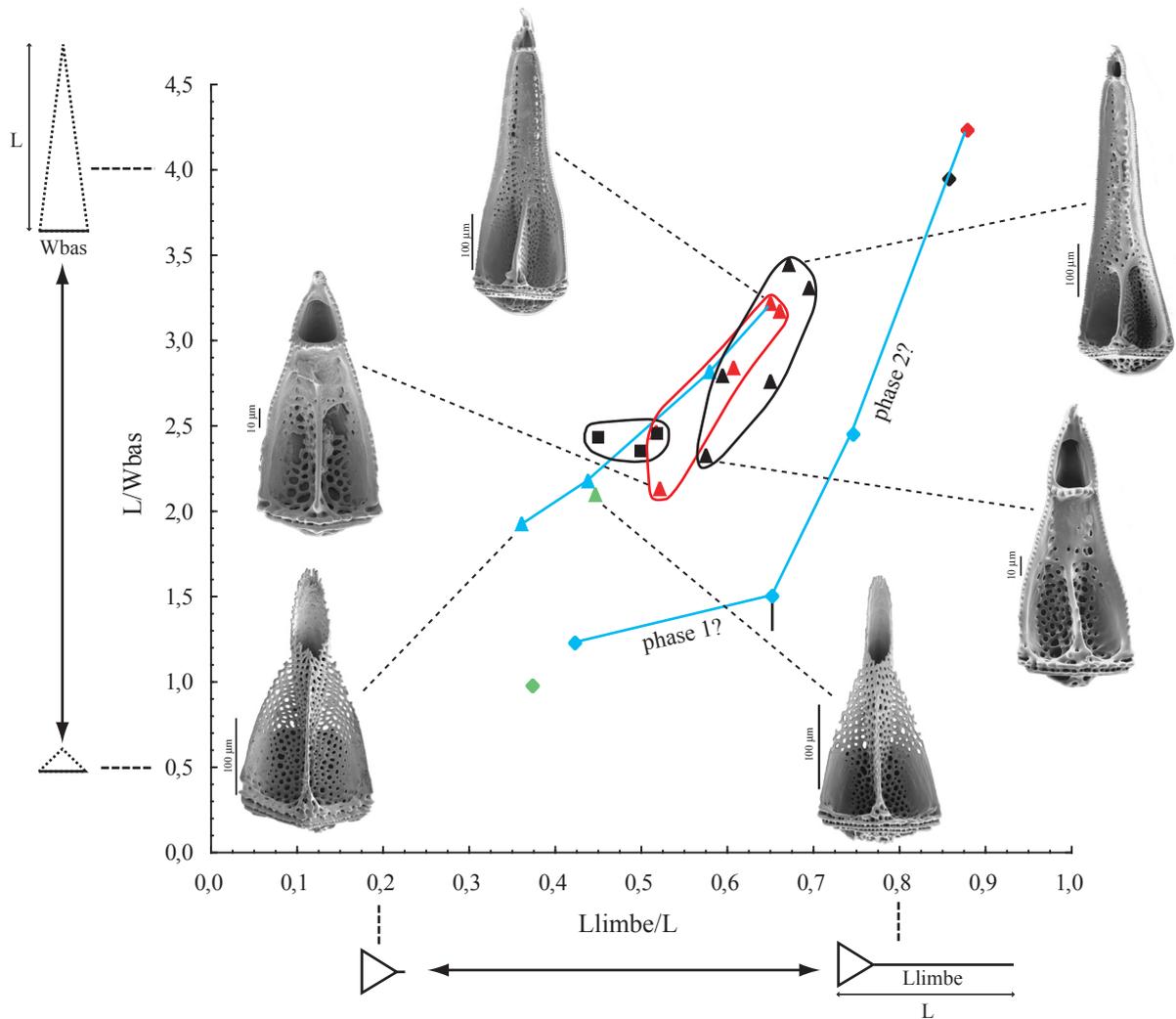
Le champ de variation des PPG s'explique essentiellement par une légère tendance paedomorphique par progenèse.

Le PD s'interprète comme une tendance pérarmorphique par hypermorphose que l'on peut associer à du gigantisme. Les GPG correspondent à une tendance paedomorphique par néoténie.

3 - Conclusion

Ainsi, les deux caractères observés (L/Wbas et Llimbe/L) présentent les mêmes tendances hétérochroniques pour les deux espèces considérées. De façon générale, les PD peuvent être interprétés comme une morphogenèse pérarmorphique par hypermorphose associée à du gigantisme et les GPG comme une morphogenèse paedomorphique par néoténie. Le champ de variation des PPG est expliqué essentiellement par une paedomorphose par progenèse et dans une moindre mesure par du gigantisme.

Le chapitre suivant va être l'occasion de présenter des résultats associées à l'étude de l'ontogenèse du test et des piquants chez *Stylocidaris affinis*.



	<i>Stylocidaris affinis</i>	<i>Prionocidaris</i> sp.
Petit Pédicellaire Globifère (PPG)	▲ valve "juvénile"	▲ valve "juvénile"
Globifère (GPG)	▲ valve "adulte"	▲ valve "adulte"
Gros Pédicellaire Globifère (GPG)	■ valve "adulte"	
Pédicellaire Denté (PD)	◆ valve "juvénile"	◆ valve "juvénile"
	◆ valve "adulte"	◆ valve "adulte"

- champ de variation morphologique des pédicellaires globifères (PPG et GPG) "adultes" chez *Stylocidaris affinis*
- champ de variation morphologique des pédicellaires globifères (PPG) "adultes" chez *Prionocidaris* sp
- profil ontogénétique

Figure 1.23 - Allométrie et croissance des pédicellaires de *Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp. PPG = petit pédicellaire globifère ; GPG = gros pédicellaire globifère ; PD = pédicellaire denté. Photographies au MEB.

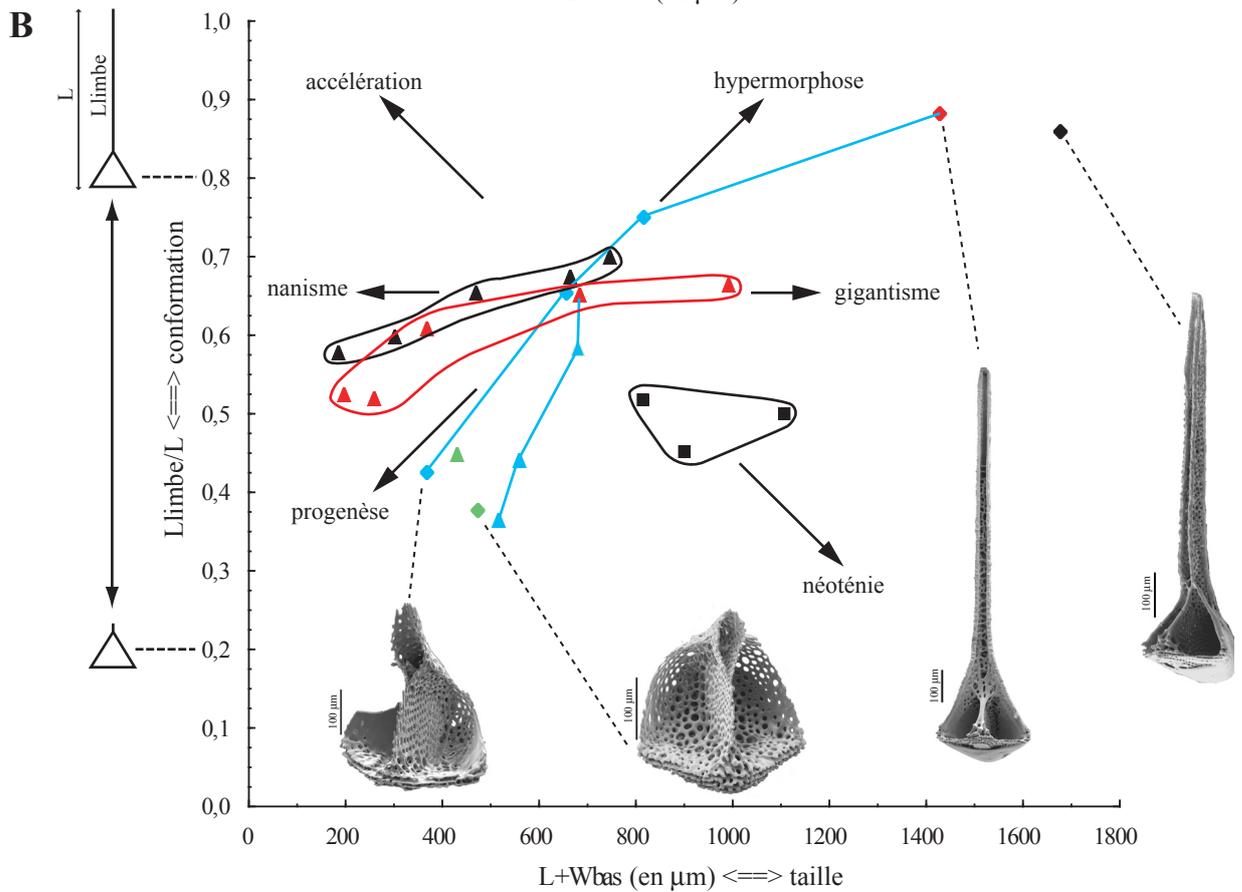
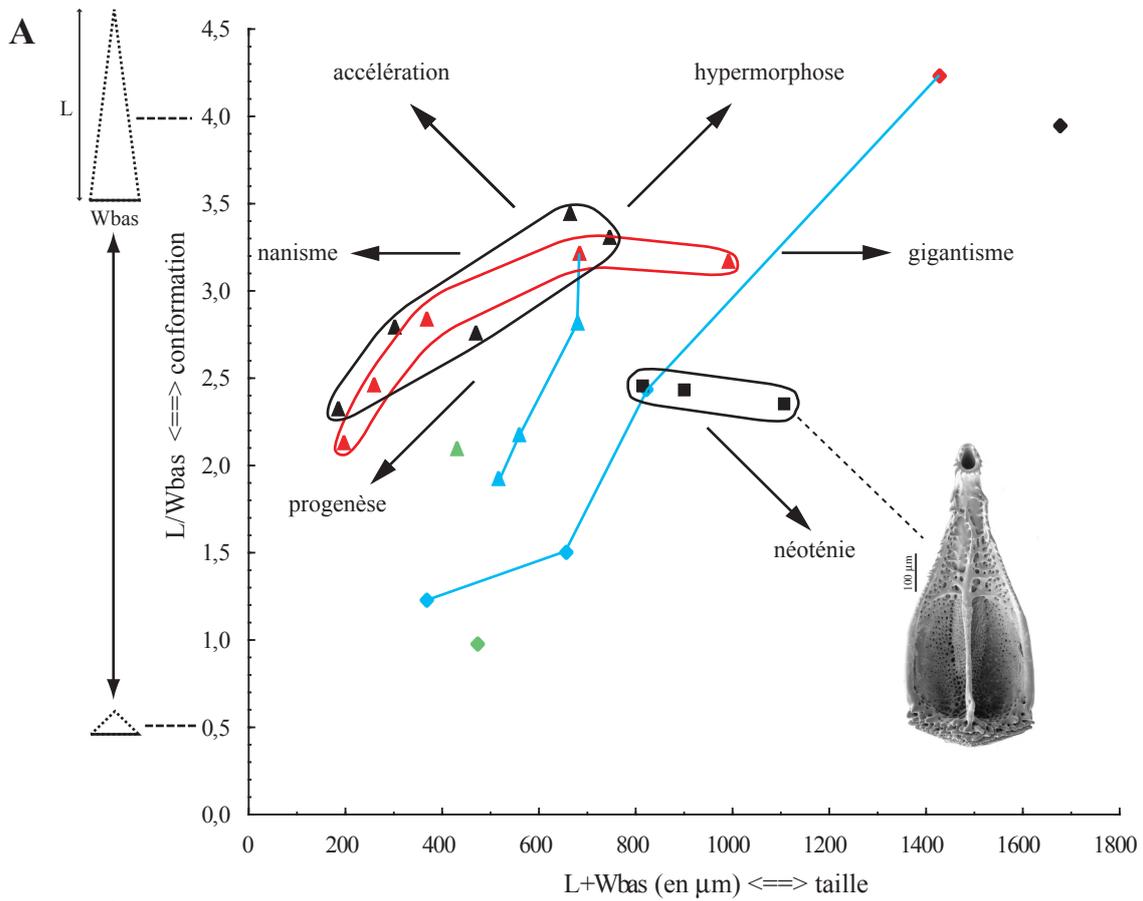


Figure 1.24 - Ontogenèse et variation des pédicellaires de *Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp.
 A- rapport longueur (L) sur largeur (W_{bas}) en ordonnée.
 B- rapport longueur du limbe (L_{limbe}) sur longueur (L) en ordonnée.
 PPG = petit pédicellaire globifère ; GPG = gros pédicellaire globifère ; PD = pédicellaire denté.
 Photographies au MEB. La légende est la même que celle de la figure 1.23 (ci-contre).

Planches «Partie I»*

* = Les coordonnées détaillées des missions et stations de prélèvements notées sur les planches se trouvent en annexe 13.

Table des matières «Planches Partie I»

Planche 1.1.....	115
Valves de petits pédicellaires globifères (PPG) à différents stades de croissance de plusieurs spécimens de <i>Prionocidaris</i> sp.	
Planche 1.2.....	117
Valves de gros pédicellaires globifères (GPG) à différents stades de croissance chez <i>Goniocidaris tubaria</i> .	
Planche 1.3.....	119
Ontogenèse des pédicellaires dentés (PD).	
Planche 1.4.....	121
Pédicellaires dentés (PD) à différents stades de croissance chez <i>Histocidaris</i> sp.	
Planche 1.5.....	123
Valves de petits pédicellaires globifères (PPG) illustrant la forme de l'ouverture terminale.	
Planche 1.6.....	125
Diversité morphologique des petits pédicellaires globifères (PPG) chez <i>Goniocidaris</i> sp.	
Planche 1.7.....	127
Pédicellaires et piquants de <i>Goniocidaris indica</i> .	
Planche 1.8.....	129
Illustration de la diversité morphologique des petits pédicellaires globifères (PPG) chez les Cidaroida.	
Planche 1.9.....	131
Illustration de la diversité morphologique des gros pédicellaires globifères (GPG) chez les Cidaroida.	
Planche 1.10.....	133
Illustration de la diversité morphologique des pédicellaires dentés (PD) chez les Cidaroida.	

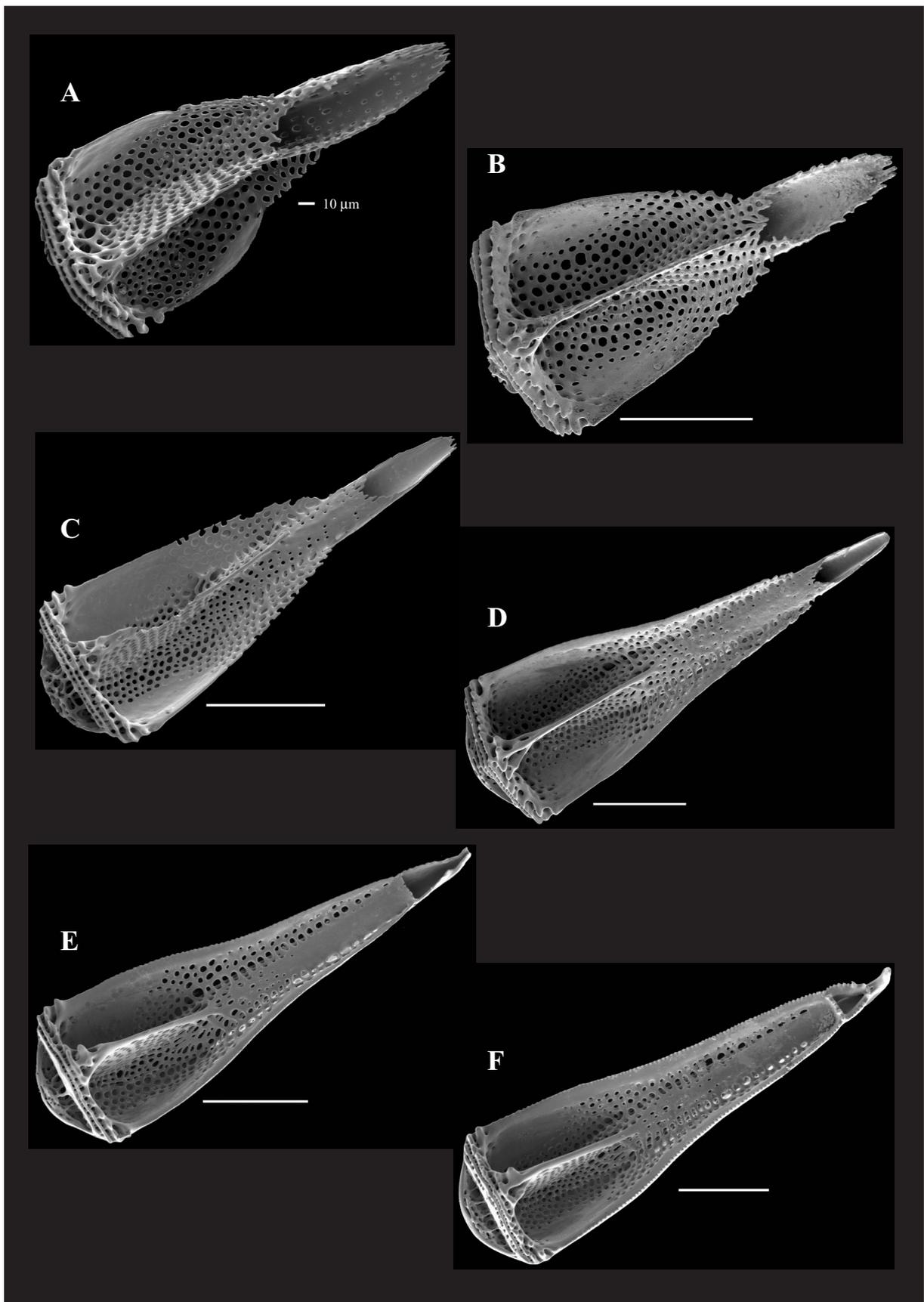


Planche 1.1 - Valves de petits pédicellaires globifères (PPG) à différents stades de croissance de plusieurs spécimens de *Prionocidaris* sp.

Valves prélevées sur une population de *Prionocidaris* sp, CHALCAL, station CP2.

Vues internes. Photographies au MEB. Echelle 100 µm sauf indications.

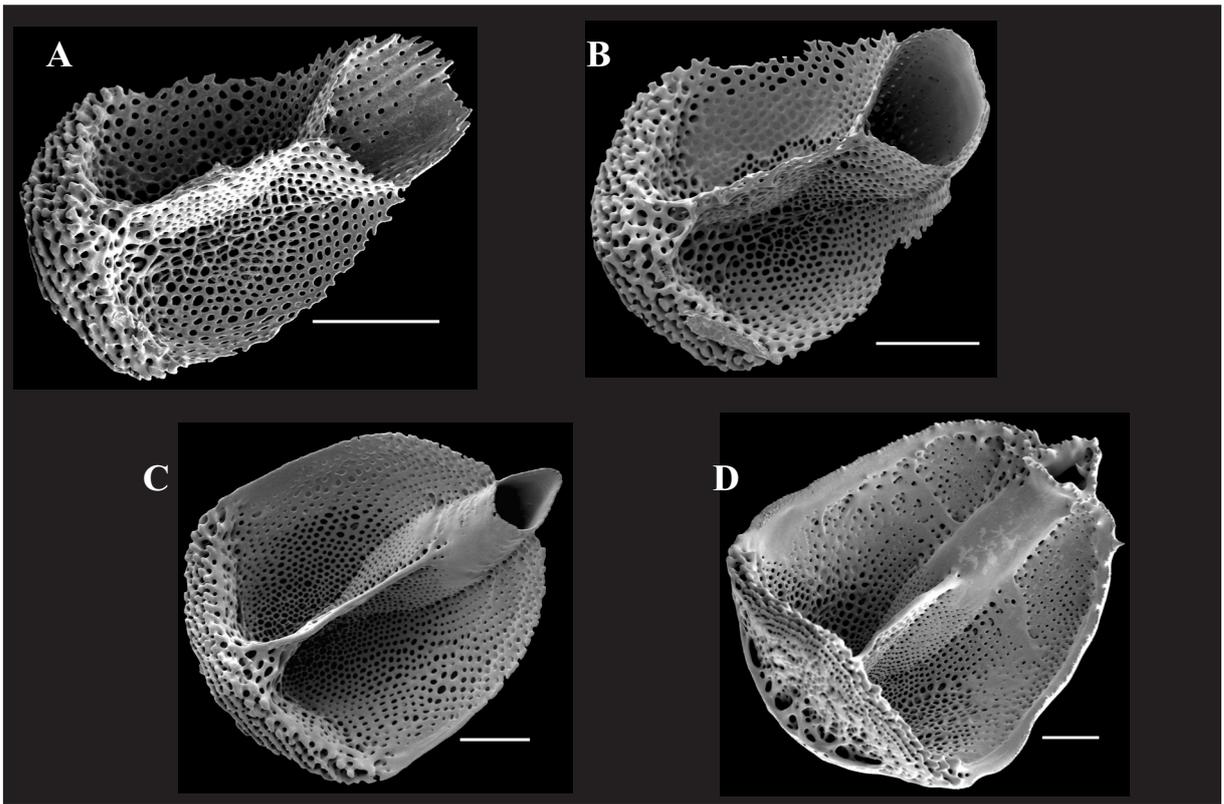


Planche 1.2 - Valves de gros pédicellaires globifères (GPG) à différents stades de croissance chez *Goniocidaris tubaria*.

Pédicellaires prélevés sur un spécimen de *Goniocidaris tubaria*, MNHN EcEs5070, Port Philippe, Sydney. Vues internes. Photographies au MEB. Echelle 100 μm sauf indication.

Figure I

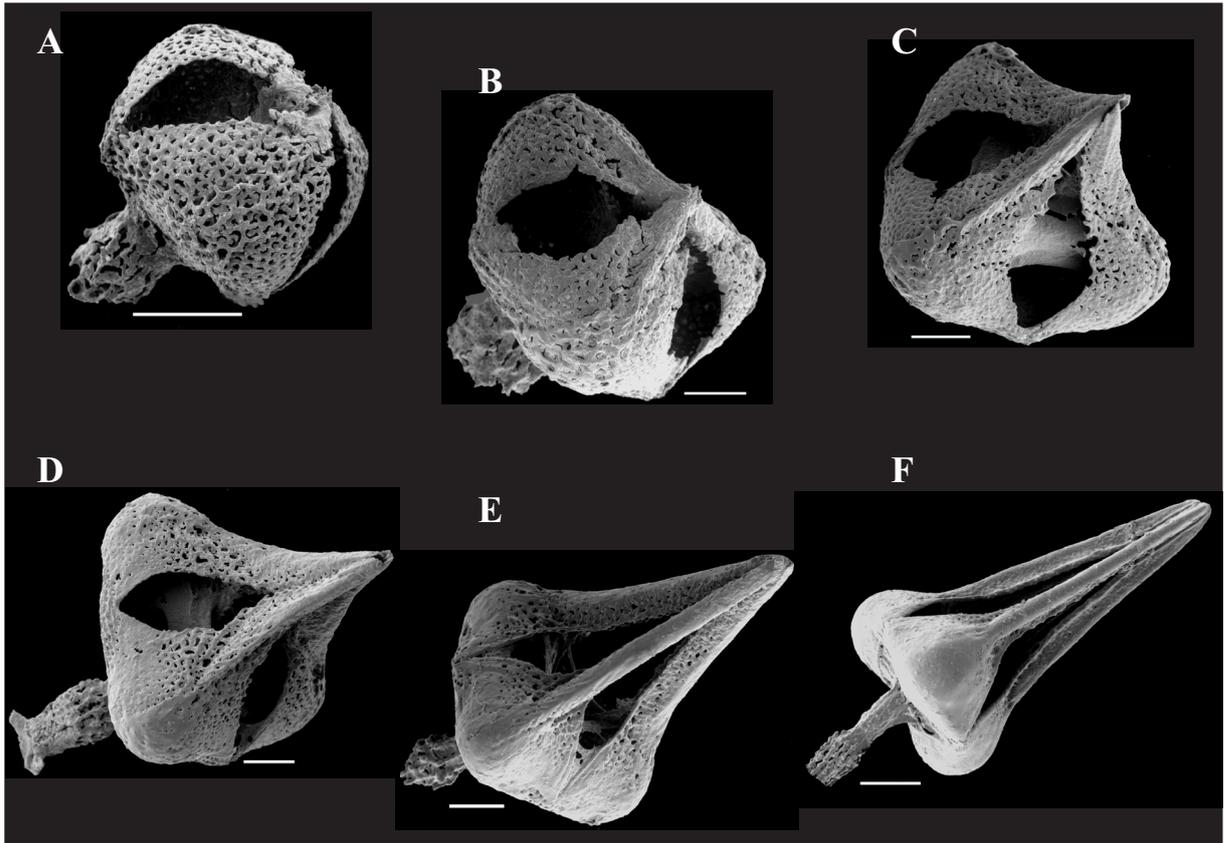


Figure II

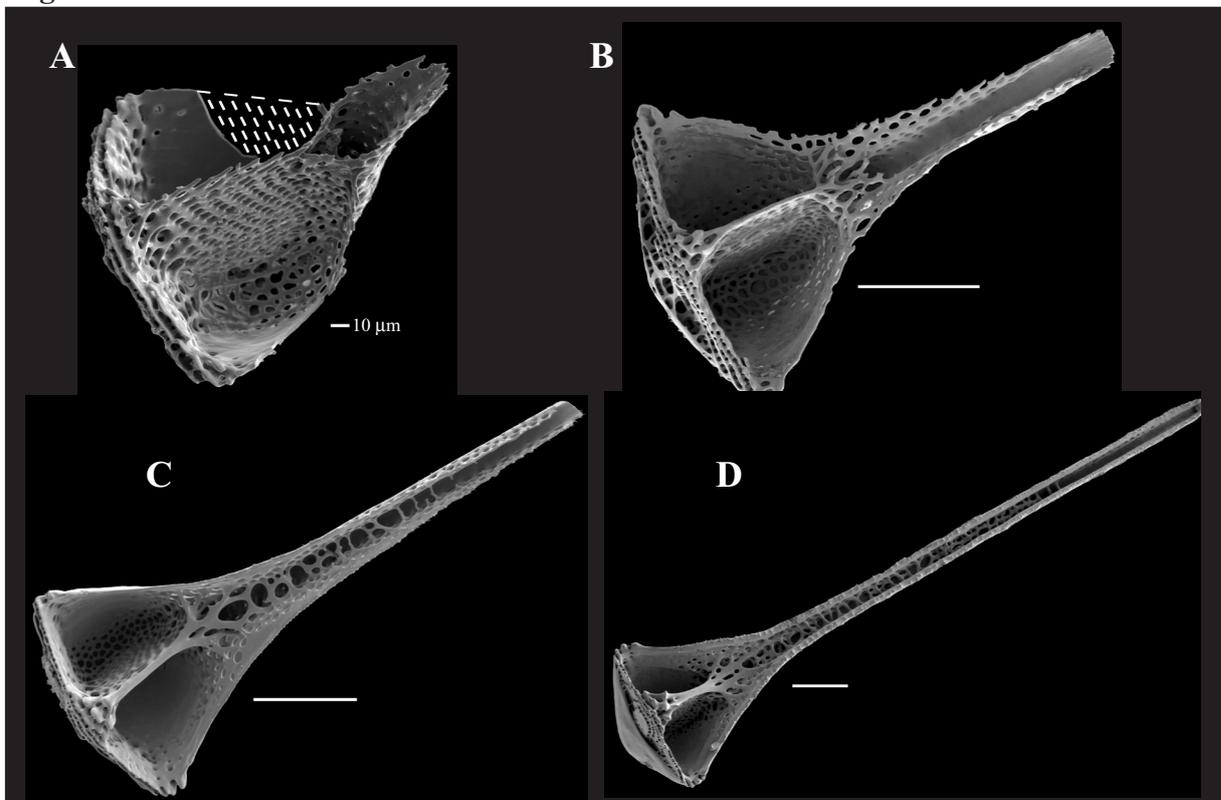


Planche 1.3 - Ontogenèse des pédicellaires dentés (PD).

*Fig. I - Pédicellaires entiers prélevés sur une population de *Stylocidaris affinis*, SEAMOUNT 2, station DW259.

*Fig. II - Valves en vue interne prélevées sur une population de *Prionocidaris* sp., CHALCAL, station CP2.

La valve A est cassée : la partie manquante est figurée par des tirets blancs.

Photographies au MEB. Echelle 100 µm sauf indication.

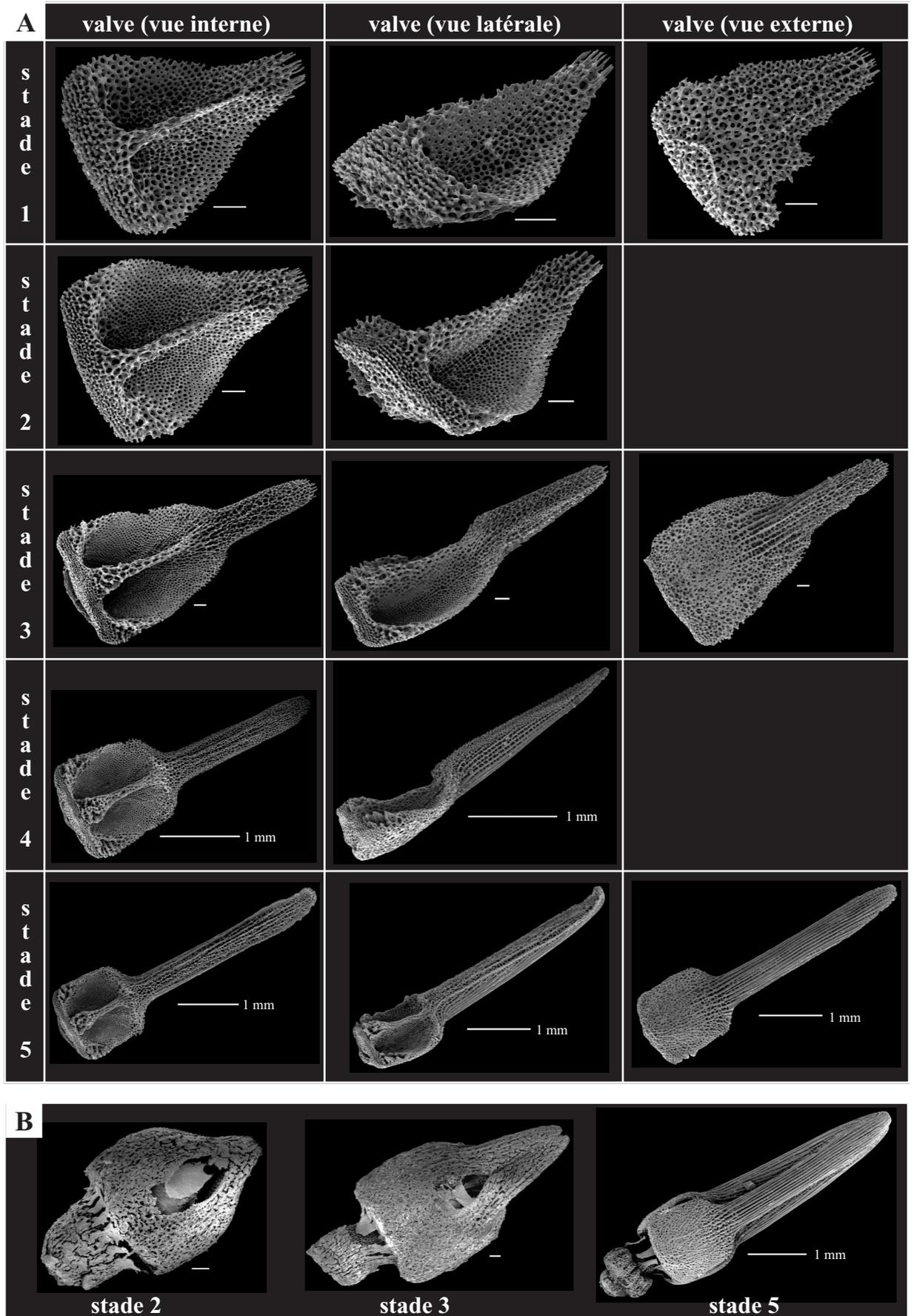


Planche 1.4 - Pédicellaires dentés (PD) à différents stades de croissance chez *Histocidarid* sp.
Pédicellaires prélevés sur un spécimen d'*Histocidarid* sp., MNHN EcEs9627, Biocal, station CP52.
A = valves ; B = pédicellaires entiers (tête et pédoncule).
Photographies au MEB. Echelle 100 µm sauf indication.

Figure I

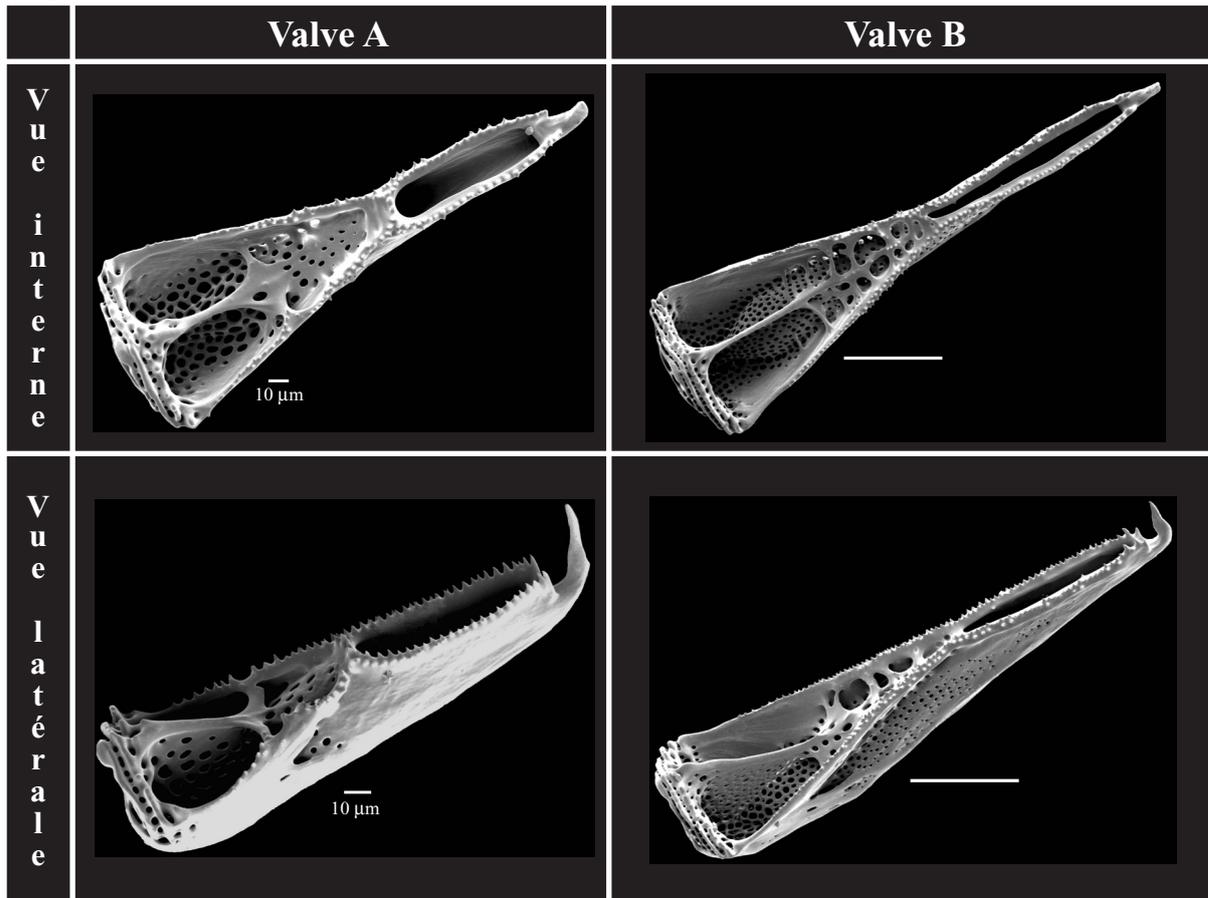


Figure II

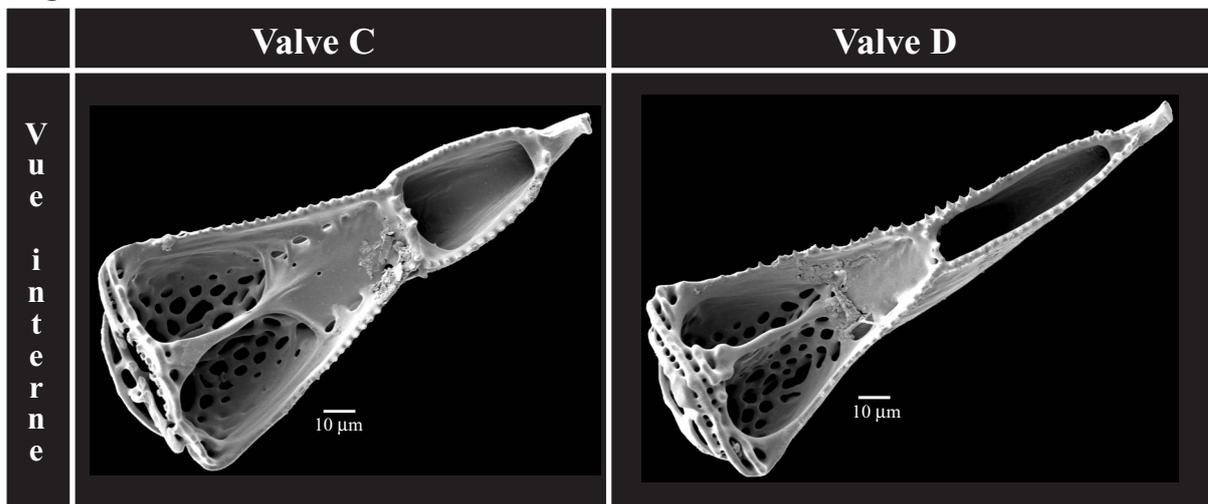


Planche 1.5 - Valves de petits pédicellaires globifères (PPG) illustrant la forme de l'ouverture terminale.

Fig. I - Chez un spécimen de *Goniocidaris* sp., MNHN EcEh1234, MUSORSTOM 5, station DW339.

Fig. II - Chez un spécimen du genre *Goniocidaris* sp., MNHN EcEs9974, MUSORSTOM 2, station DR33.

Photographies au MEB. Echelle 100 μ m sauf indication.

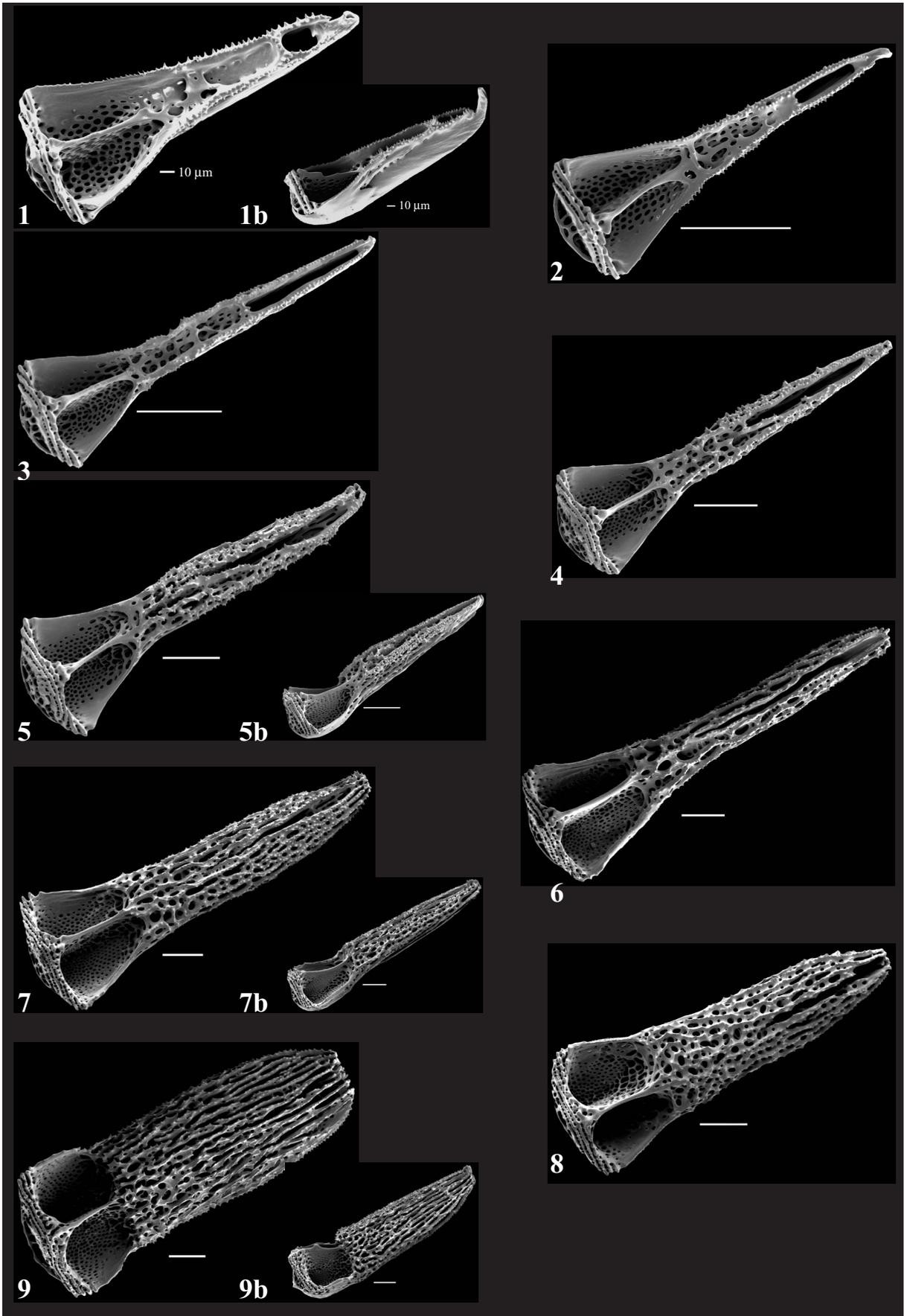


Planche 1.6 - Diversité morphologique des petits pédicellaires globifères (PPG) chez *Goniocidaris* sp. Pédicellaires prélevés sur un spécimen de *Goniocidaris* sp., MNHN EcEs9682, BATHUS 2, station DW735. Valves en vue interne excepté les valves notées «b» en vue latérale. Photographies au MEB. Echelle 100 µm sauf indications.

Figure I

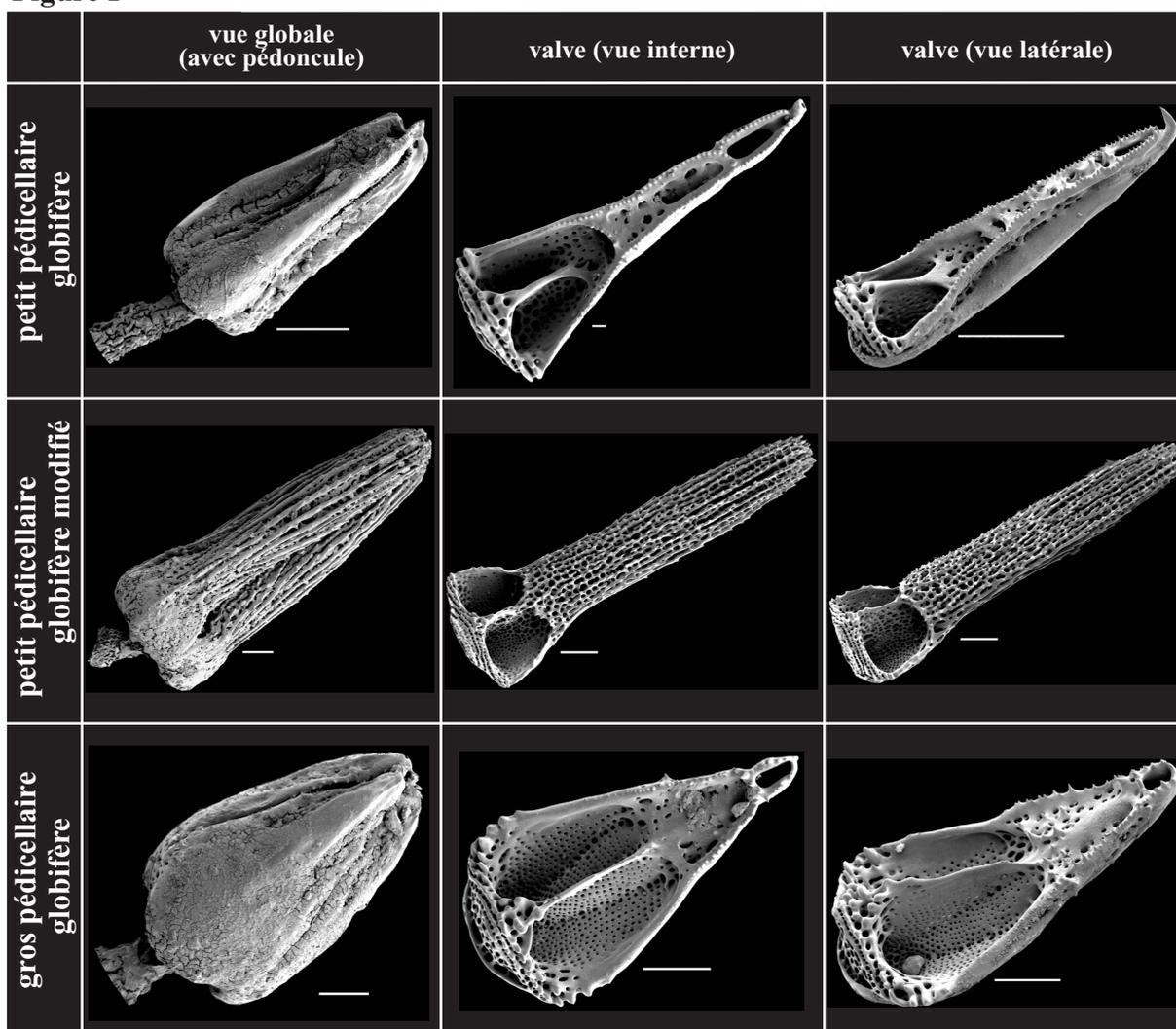


Figure II

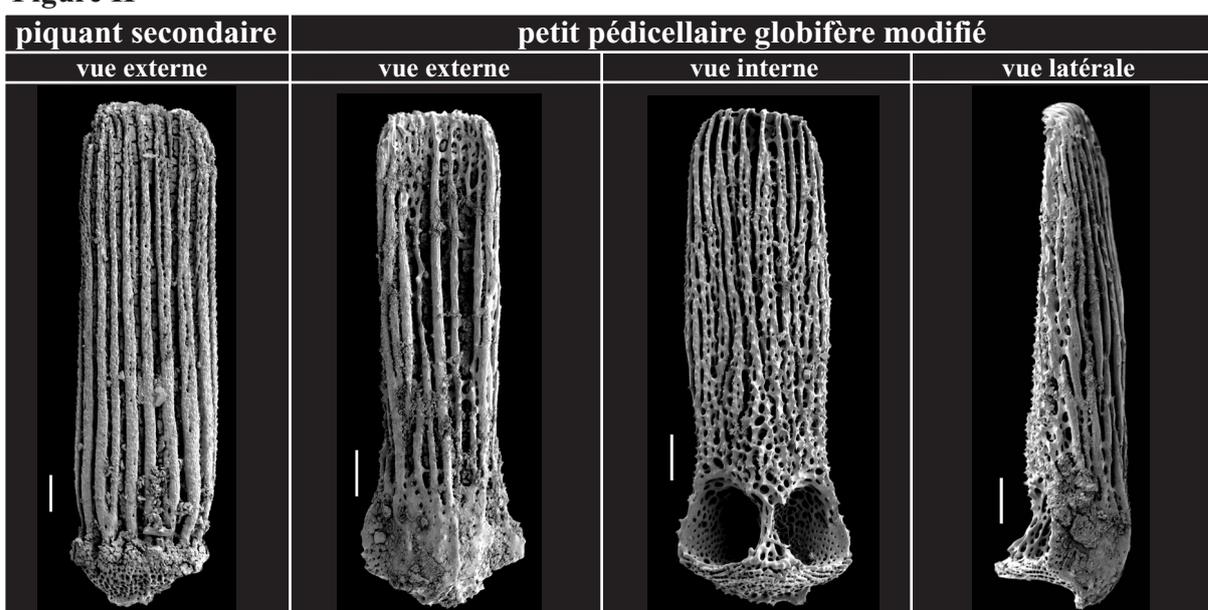


Planche 1.7 - Pédicellaires et piquants de *Goniocidaris indica*.

Fig. I - Pédicellaires entiers et valves prélevés sur un spécimen de *Goniocidaris indica*, MNHN EcEs10005, Madagascar, station 4.

Fig. II - Piquants et valves de pédicellaires prélevés sur un spécimen de *Goniocidaris indica*, MNHN EcEs9959, Madagascar, station 8.

Photographies au MEB. Echelle 100 µm.

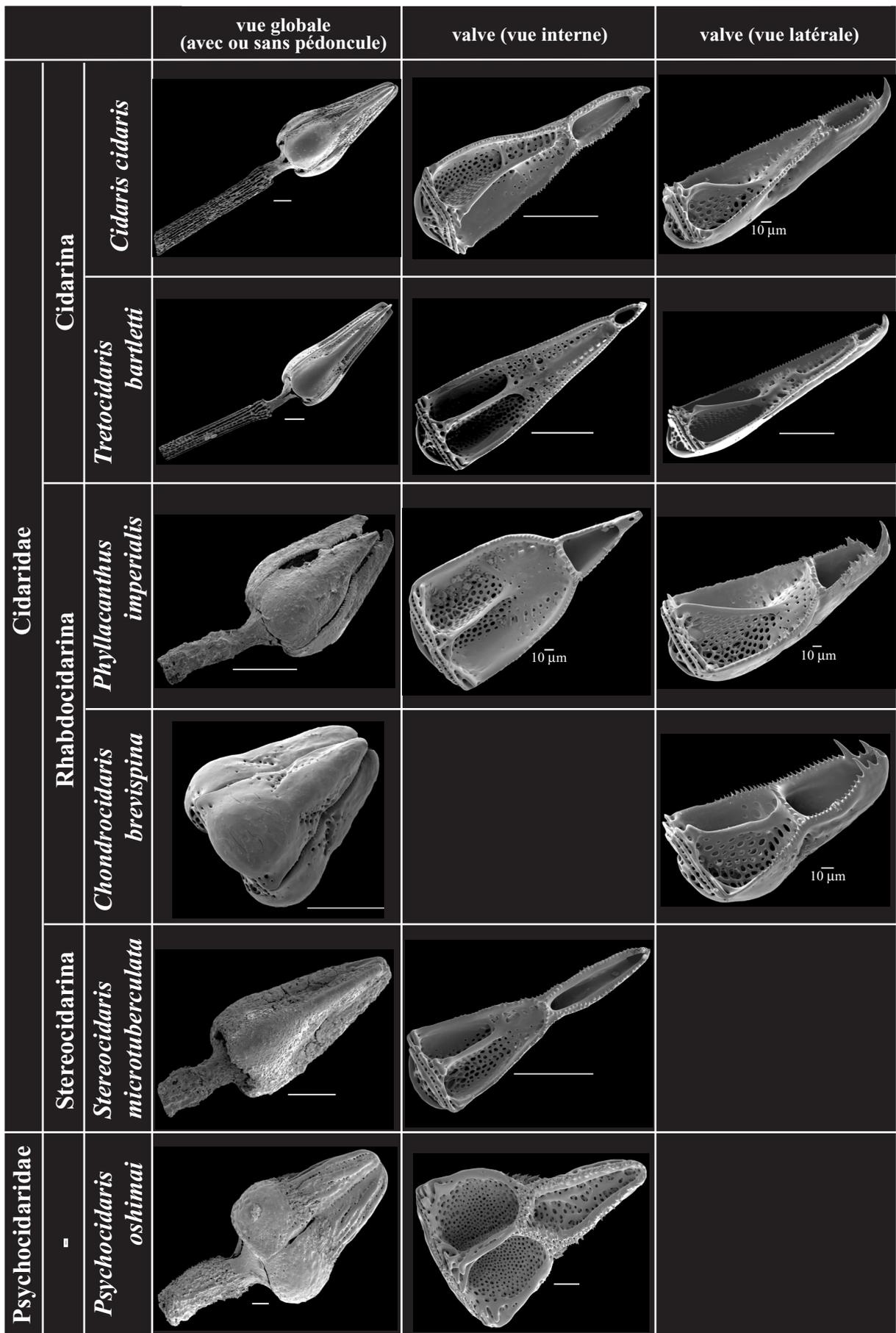


Planche 1.8 - Illustration de la diversité morphologique des petits pédicellaires globifères (PPG) chez les Cidaroida.

Photographies au MEB. Echelle 100 μm (sauf indication).

		Cidaridae			
			vue globale (avec ou sans pédoncule)	valve (vue interne)	valve (vue latérale)
Psychocidaridae	-				
	<i>Psychocidaris oshimai</i>	Idem petits pédicellaires globifères	Idem petits pédicellaires globifères	Idem petits pédicellaires globifères	
	Stereocidarina	<i>Stereocidaris microtuberculata</i>			
	Rhabdocidarina	<i>Chondrocidaris brevispina</i>			
		<i>Phyllacanthus imperialis</i>			
Cidarina	<i>Tretocidaris bartletti</i>				
	<i>Cidaris cidaris</i>				

Planche 1.9 - Illustration de la diversité morphologique des gros pédicellaires globifères (GPG) chez les Cidaroida.

Photographies au MEB. Echelle 100 µm (sauf indication).

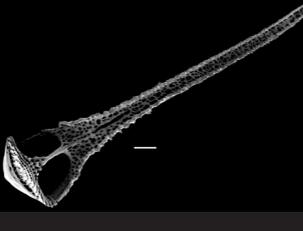
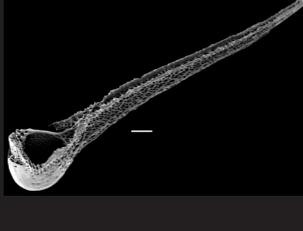
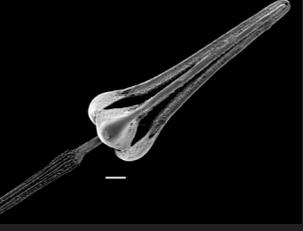
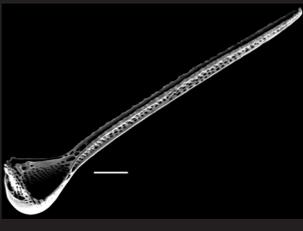
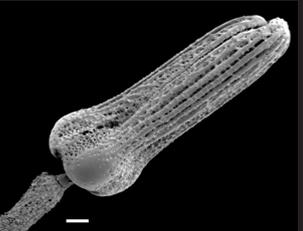
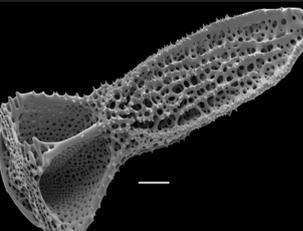
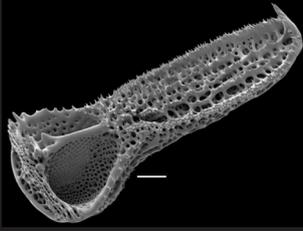
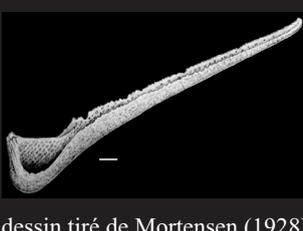
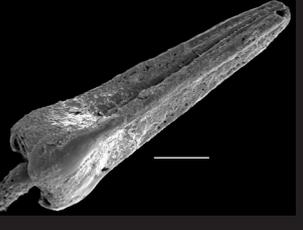
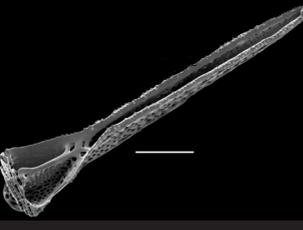
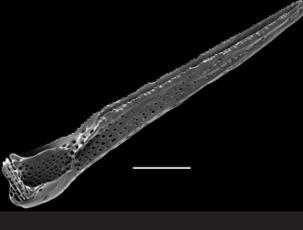
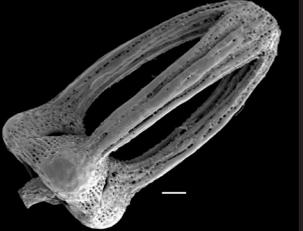
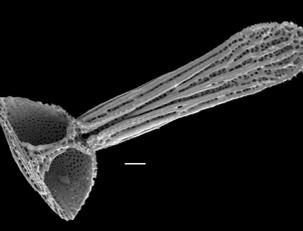
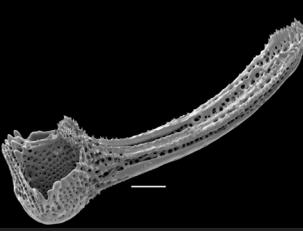
		Cidaridae		
		vue globale	valve (vue interne)	valve (vue latérale)
	Cidarina			
	<i>Cidaris cidaris</i>			
	<i>Tretocidaris bartletti</i>			
	<i>Phyllacanthus imperialis</i>			
	<i>Chondrocidaris brevispina</i>	 dessin tiré de Mortensen (1928)		 dessin tiré de Mortensen (1928)
	<i>Stereocidaris microtuberculata</i>			
Psychocidaridae	-			
	<i>Psychocidaris oshimai</i>			

Planche 1.10 - Illustration de la diversité morphologique des pédicellaires dentés (PD) chez les Cidaroida. Photographies au MEB. Echelle 100 µm (sauf indication).

Partie II :

Ontogenèse des plaques
et des piquants

Table des matières «Partie II»

A - INTRODUCTION.....	139
1 - Objectif.....	139
2 - Historique.....	139
3 - Quelques éléments sur la croissance des échinides.....	140
B - MATERIEL ET METHODE.....	141
1 - Matériel.....	141
1.1 - Spécimens.....	141
1.1.1 - Collections.....	141
1.1.2 - Littérature.....	141
1.2 - Logiciels de traitements statistiques.....	142
2 - Méthode.....	142
2.1 - Mesures et observations.....	142
2.1.1 - Description.....	142
2.1.2 - Prise de mesure.....	148
2.1.3 - Remarque.....	148
2.2 - Analyses.....	148
2.2.1 - Statistiques élémentaires.....	148
2.2.2 - Analyses.....	148
C - RESULTATS.....	151
1 - Statistiques élémentaires.....	151
1.1 - Pour les 88 spécimens.....	151
1.2 - Pour les 46 spécimens.....	151
2 - Analyses bivariées.....	151
2.1 - Test et piquants.....	151
2.1.1 - Forme générale.....	151
2.1.2 - Longueur relative des piquants.....	154
2.2 - Apex et Péristome.....	154
2.2.1 - Taille générale.....	154
2.2.2 - Nombre de plaques péristomiennes.....	155
2.2.3 - Plaque madréporique.....	155
2.3 - Couronne.....	155
2.3.1 - Ambulacres.....	155

A - INTRODUCTION

1 - Objectif

L'objectif de ce travail est d'apporter des informations sur l'ontogenèse post-larvaire des Cidaroida par une approche morphométrique sur les plaques constituant le test et sur les piquants. Dans l'incapacité d'élever un ou plusieurs spécimens afin d'en suivre la croissance, je vais tenter d'en reconstituer l'ontogenèse, de manière indirecte, par l'étude de spécimens de différentes tailles identifiés en collection. En effet, l'évolution morphologique d'une population permet d'appréhender l'ontogenèse d'un individu virtuel (David, 1985).

A priori, deux problèmes se posaient lors de la sélection du matériel à étudier : 1- choisir une espèce pour laquelle une ou plusieurs populations (avec des spécimens de tailles variables) sont disponibles en collection ; 2- avoir la certitude de l'appartenance des individus sélectionnés (en particulier ceux de petite taille) à une seule et même espèce. Ces contraintes ont largement contribué au choix de l'espèce *Stylocidaris affinis*. En effet : 1- je dispose en collection d'un abondant matériel ; 2- le nombre limité d'espèces de Cidaroida dans l'océan Atlantique facilite les déterminations jusqu'au niveau spécifique même pour des spécimens de très petite taille.

2 - Historique

Le développement précoce des échinides (de la fécondation à la métamorphose) a fait l'objet de très nombreux travaux (voir Pearse et Cameron, 1991). La croissance post-larvaire du squelette chez les échinides a fourni un certain nombre de publications depuis les travaux de Lovén (1874, 1894) (voir la révision de Melville et Durham, 1966). Concernant les Cidaroida, les travaux sur l'ontogenèse post-larvaire sont peu nombreux (voir Cutress, 1965), Prouho (1887) étant le premier auteur à s'y être intéressé (chez *Dorocidaris papillata* [= *Cidaris cidaris*]). Cutress (1965) a réalisé des observations sur la croissance de *Eucidaris tribuloides* à partir de spécimens vivants (élevés pendant un an) et d'individus conservés en collection. Une partie essentielle de ce travail porte sur les piquants primaires. Plus récemment, Märkel (1975, 1976, 1981) a étudié la croissance de la couronne de plusieurs échinides dont le Cidaroida *Eucidaris tribuloides*, à l'aide d'un marquage à la tétracycline qui met en évidence les lignes de croissance

des plaques. Vadet (1988, 1991) a publié deux révisions des *Cidaroida* du jurassique. Dans ces volumineux mémoires, l'auteur effectue de très nombreuses mesures sur les plaques et les piquants. Ces données sont ensuite utilisées pour réaliser des dizaines (voir des centaines...) de graphiques (à deux ou trois variables). Son objectif principal est la comparaison de populations bien qu'il essaie d'examiner les modifications de certaines variables au cours de la croissance. Dernièrement, Vollmar (2000) dans un mémoire de maîtrise (non publié) a effectué sur des *Cidaroida* fossiles des analyses univariées, bivariées et multivariées à partir de mesures du test. Son objectif est de tester la variabilité morphologique et ontogénique des caractères du test. Les approches morphométriques concernant l'ontogenèse des *Cidaroida* sont donc rares.

3 - Quelques éléments sur la croissance des Echinides

Selon le modèle EAT (*extraxial-axial theory*) qui propose une nouvelle lecture des homologies entre parties squelettiques chez les échinodermes (David et Mooi, 1999 ; Mooi et David, 1997, 1998), le squelette se divise en deux grandes composantes : axiale et extraxiale. Chez les échinides, l'extraxial est représenté par les écailles qui couvrent la membrane du périprocte et par les plaques génitales. Le squelette axial est organisé en cinq zones de croissance, chaque zone se composant d'un ambulacre entouré de chaque côté par deux demi-interambulacres. Pendant la croissance post-larvaire, les plaques ambulacraires et interambulacraires sont formées sur la bordure extérieure de l'apex, au contact des plaques oculaires (Jackson, 1912 ; règle de l'OPR [*Ocular Plate Rule*] de David *et al.*, 1995). Les nouvelles plaques changent progressivement de position (adapicale => ambitale => adorale) pendant que de nouvelles plaques sont ajoutées. Ainsi, les plaques les plus anciennes sont en bordure du péristome et les plaques les plus jeunes sont à l'extrémité adapicale de chaque colonne. Parallèlement à cette addition, les plaques existantes augmentent en taille. Ainsi, ce double mécanisme (fabrication de nouvelles plaques et croissance des plaques existantes) explique la croissance du test qui est théoriquement non finie (A. B. Smith, 1984). Lorsque l'échinide vieillit, la croissance ralentit fortement du fait, en particulier, de la diminution voire de l'arrêt de la fabrication de nouvelles plaques (David, 1985).

Chez les *Cidaroida*, les plaques ambulacraires se détachent de la couronne pour couvrir la

membrane buccale (Lovén, 1892). Les écailles qui s'intercalent entre ces plaques d'origine ambulacraire se forment sur la bordure péristomienne (Märkel, 1981). Les plaques interambulacraires sont partiellement résorbées au niveau de la bordure péristomienne, certaines participant à l'élaboration des apophyses (Märkel, 1981). Ainsi, les plus anciennes plaques interambulacraires disparaissent. Lors du déplacement relatif des plaques interambulacraires à proximité du péristome, les piquants ambitaux sont remplacés par des piquants oraux (Cutress, 1965). Il s'agit d'une spécificité de la croissance des *Cidaroida*.

B - MATÉRIEL ET MÉTHODE

1 - Matériel

1.1 - Spécimens

Au total, 94 spécimens ont été étudiés (Annexe 14), la majorité d'entre eux (79) provenant des collections du MNHN. Les 15 individus restants proviennent de la littérature (Mortensen, 1928).

1.1.1 - Collections

J'ai débuté cette étude sur la population de 30 spécimens de *Stylocidaris affinis* de l'océan Atlantique nord sur laquelle j'ai étudié les pédicellaires (Partie I). J'ai ajouté 49 spécimens de la même espèce appartenant à 11 prélèvements conservés en alcool ou à sec dans les collections. Parmi ces 49 individus, 45 ont été prélevés dans l'océan Atlantique nord près des Açores, un dans la Méditerranée, un dans la mer des Caraïbes et deux dans l'océan Atlantique sud-est au large du Brésil. Les localisations sont présentées sur la figure 2.1 et sont détaillées en annexe 14. Un spécimen est présenté sur la figure 2.2.

1.1.2 - Littérature

Dans sa description de *Stylocidaris affinis*, Mortensen (1928) décrit plusieurs paramètres (nombres de plaques et mesures) sur 15 spécimens (cinq d'entre eux proviennent de la mer des Caraïbes et les dix autres de la mer Méditerranée ; les localités ne sont pas précisées). Ces individus ont été ajoutés aux analyses.

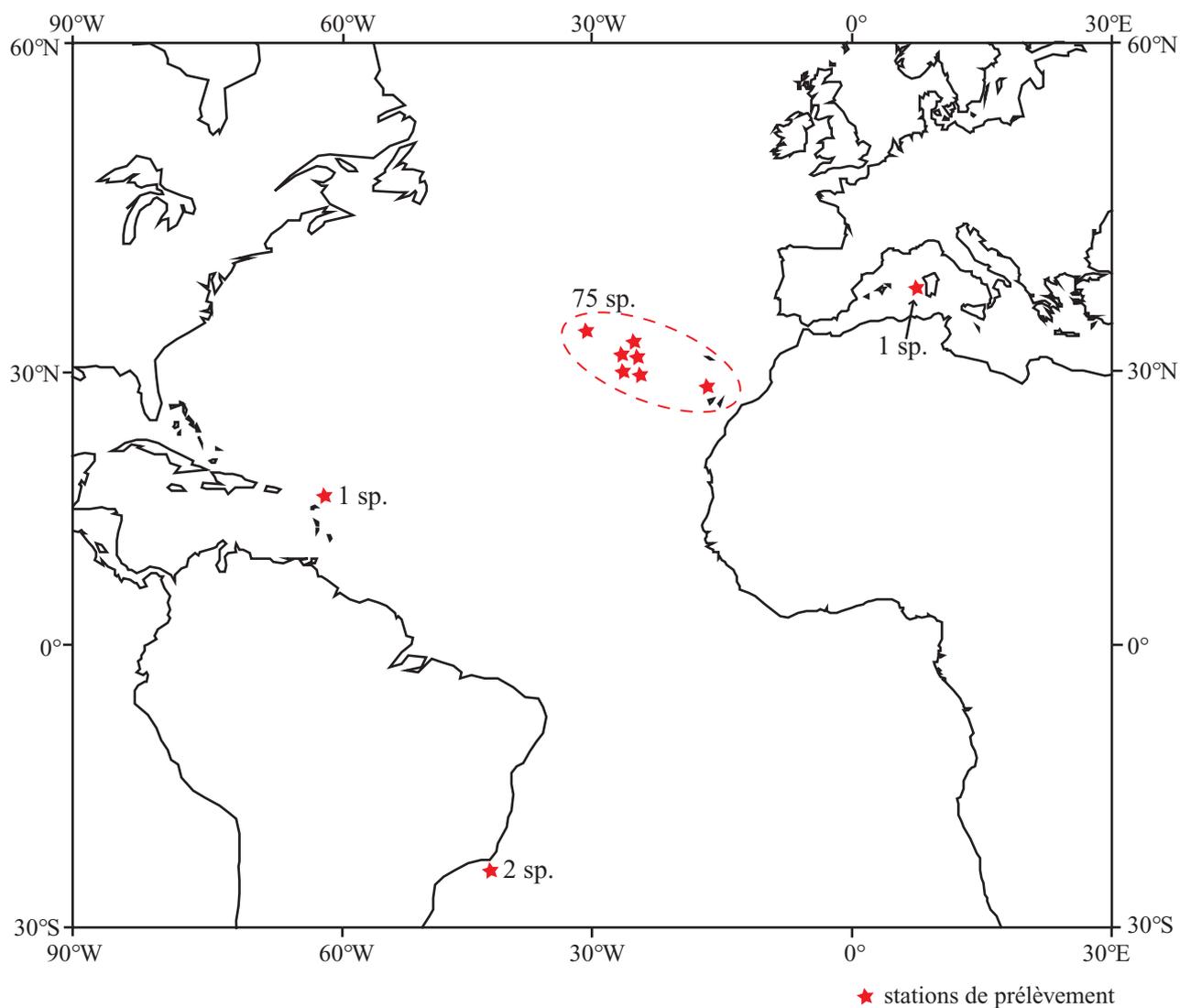


Figure 2.1 - Localisation des spécimens de *Stylocidaris affinis* étudiés.
sp. = spécimen.

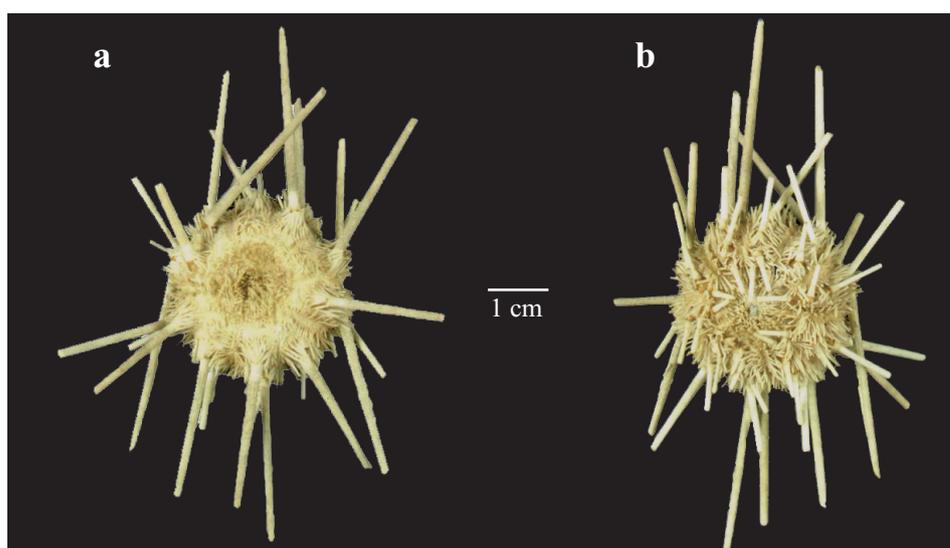


Figure 2.2 - Morphologie externe en vue apicale et orale d'un spécimen de *Stylocidaris affinis*.
a = vue apicale d'un spécimen du prélèvement EcEs10036, SEAMOUNT 2, DW259 ;
b = vue orale du même spécimen.

1.2 - Logiciels de traitements statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Statistica 6.1 (<http://www.statsoft.com/french/welcome.html>).

2 - Méthode

2.1 - Mesures et observations

2.1.1 - Description

Les plaques du test sont désignées selon la méthode de Lovén (1874). La presque totalité des caractères est observée dans l'interambulacre 2b (Fig. 2.3, IA2b) ou dans son prolongement, sur l'apex et le péristome ainsi que dans l'ambulacre adjacent III (Fig. 2.3, AIII) ou dans son prolongement afin de pouvoir revenir aisément sur les observations lors de la vérification des données recueillies.

Quatre caractères ont été observés sur l'apex, trois sur le péristome et douze sur la couronne et un sur les piquants (Tableau 2.1) pour un total de quinze mesures et cinq dénombrements. Tous ces caractères ont été observés sur deux prélèvements totalisant 49 spécimens (soit 245 dénombrements et 735 mesures). Le choix s'est porté sur la population de référence (pédicellaires étudiés) à laquelle j'ai ajouté une population comprenant des spécimens de très petite taille (jusqu'à 2,6 mm de diamètre). Pour les 30 autres individus, seuls les sept mesures et dénombrements principaux de Mortensen (auxquels j'ai ajouté Ngp) ont été réalisés (soit 90 dénombrements et 150 mesures). Les caractères observés pour chaque prélèvement sont détaillés dans le tableau 2.2. Les caractères de l'apex et du péristome sont illustrés sur la figure 2.3 tandis que ceux de la couronne sont illustrés sur la figure 2.4.

Le caractère «nombre de pores génitaux» (Ngp) n'a que trois valeurs possibles sur les spécimens que j'ai observés : 0 (aucun pore), 4/5 (quatre pores génitaux sur les cinq théoriques), 5/5 (la totalité des pores). Ce caractère est particulièrement intéressant car il permet de distinguer les oursins juvéniles des adultes. En effet, ces gonopores apparaissent lorsque les gonades deviennent matures (A. B. Smith, 1984). Ils sont formés par résorption squelettique (Gordon, 1926). Ce caractère n'est pas disponible pour les spécimens de Mortensen (1928).

position sur le test		caractères observés / mesures réalisées	
		désignation	description
apex		Dap	diamètre de l'apex
		Lm	longueur de la plaque madréporique
		Wm	largeur de la plaque madréporique
		Ngp	nombre de pores génitaux
		D	diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique
couronne		H	hauteur de la couronne
		Niap	nombre de plaques interambulacraires
		Liap	longueur de la plaque interambulacraire
		Wiap	largeur de la plaque interambulacraire
		Dpm	diamètre du mamelon primaire
		Ls	longueur du scrobicule
		Ws	largeur du scrobicule
		Lmmz	longueur de la zone miliaire médiane
		Nap-iap	nombre de plaques ambulacraires le long de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus
		Wa	largeur de l'ambulacre juste au niveau de l'ambitus
	Lipz	longueur de la zone interporifère au niveau de l'ambitus	
	Dper	diamètre du péristome dans le prolongement de IA2	
	Npap	nombre de plaques péristomiennes ambulacraires dans le prolongement de AIIIa	
	Npnap	nombre de plaques péristomiennes non ambulacraires (écailles) dans le prolongement de IA2	
	Lls	longueur du piquant primaire le plus long	

Tableau 2.1 - Désignation et description des caractères observés et mesures effectuées sur les spécimens. La numérotation des plaques est celle de Lovén (1874).

position sur le test	caractères	prélèvements MNHN											Mortensen (1928)		
		6759 (1 sp)	10021 (1 sp)	10022 (1 sp)	10030 (7 sp)	10031 (2 sp)	100321 (1 sp)	10033 (12 sp)	10036 (30 sp)	10037 (1 sp)	10038 (3 sp)	1198 (19 sp)	1199 (1 sp)	Méd. (10 sp)	Car. (5 sp)
apex	Dap	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Lm						+	+							
	Wm						+	+							
	Ngp	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
couronne	D	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Niap	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Liap														
	Wiap														
	Dpm														
	Ls														
	Ws														
	Lmmz														
	Nap-iap	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ambulacre III	Wa														
	Lipz														
péristome	Dper	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Npap														
	Npnap														
piquant	Lls	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Tableau 2.2 - Caractères observés sur chacun des prélèvements étudiés.

+ = caractères observés ; Méd. = Méditerranée ; Car. = mer des Caraïbes ; je n'ai étudié personnellement que les prélèvements MNHN ; sp = spécimens.

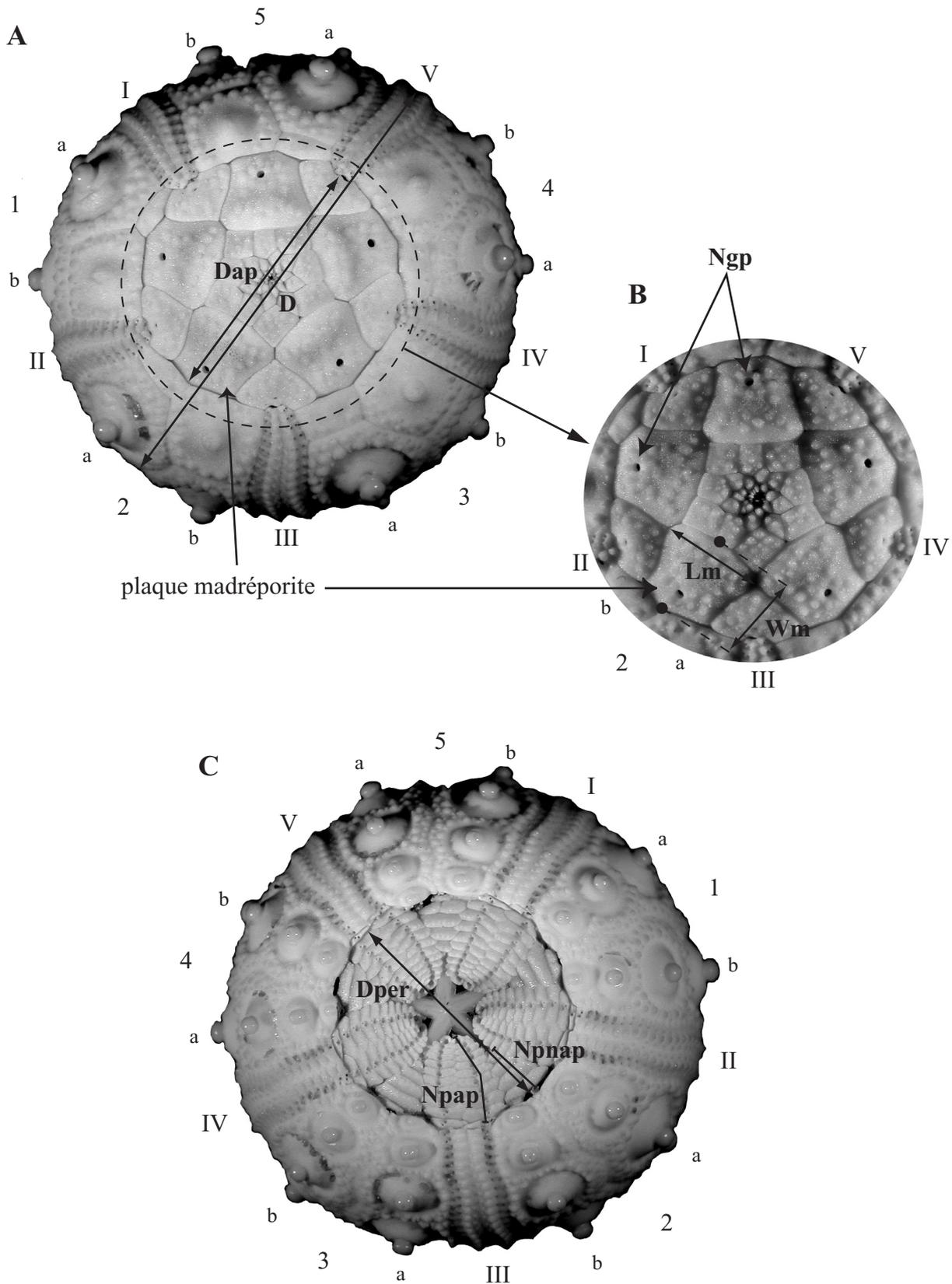


Figure 2.3 - Caractères observés sur l'apex et le péristome de *Stylocidaris affinis*.

A = vue apicale ; B = détail de l'apex ; C = vue orale.

D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; Dap = diamètre de l'apex ; Lm = longueur de la plaque madréporique ; Wm = largeur de la plaque madréporique ; Dper = diamètre du péristome dans le prolongement de IA2 ; Ngp = nombre de pores génitaux ; Npap = nombre de plaques péristomiennes ambulacraires dans le prolongement de AIIIa ; Npnap = nombre de plaques péristomiennes non ambulacraires dans le prolongement de IA2.

La numérotation des plaques est celle de Lovén (1874).

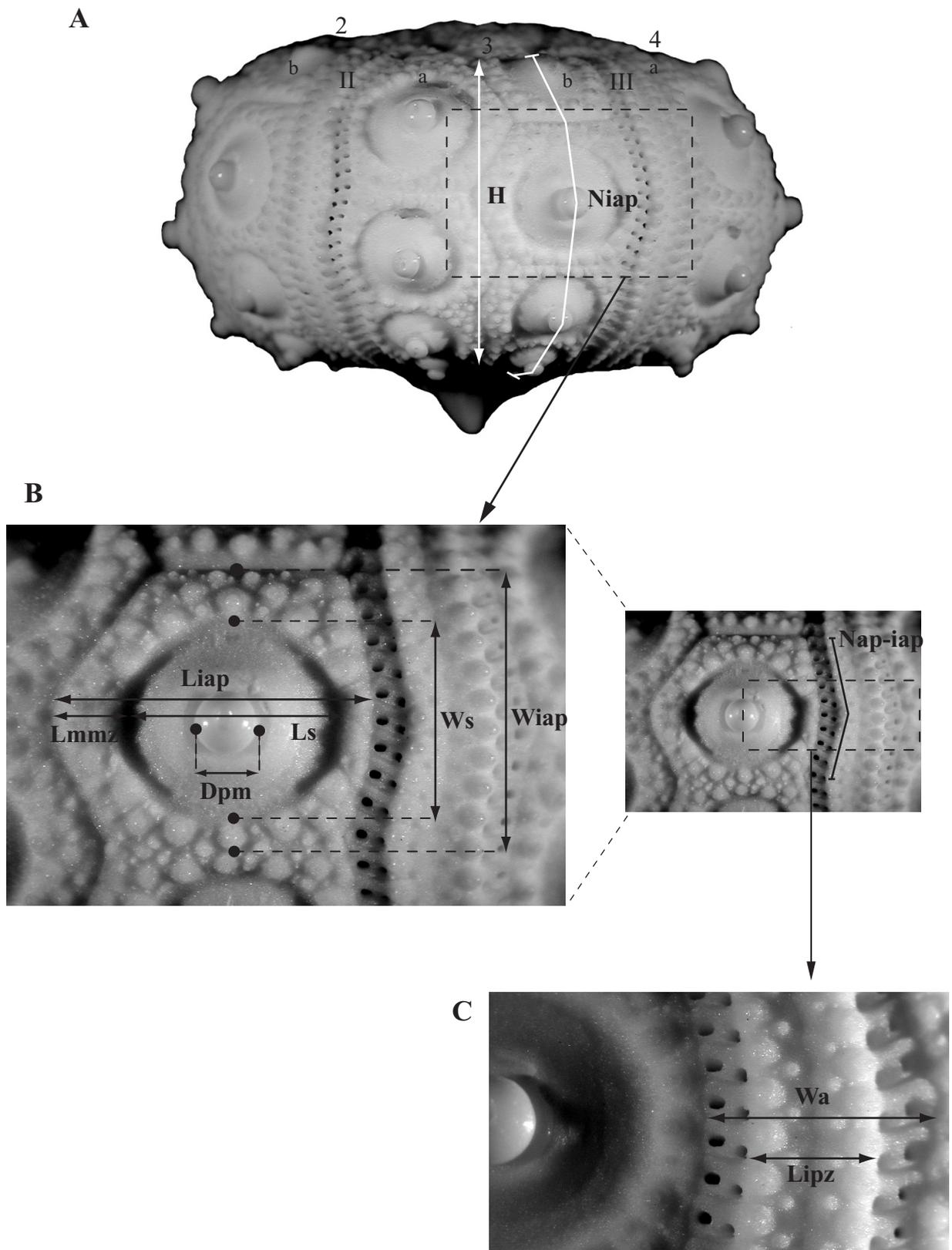


Figure 2.4 - Caractères observés sur la couronne de *Stylocidaris affinis*.

A = vue ambitale ; B = détail d'une plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus et de l'ambulacre adjacent ; C = détail d'un ambulacre.

H = hauteur de la couronne ; Niap = nombre de plaques interambulacraires dans l'interambulacre AIIIa ; Liap = longueur de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Wiap = largeur de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Dpm = diamètre du mamelon primaire ; Ls = longueur du scrobicule ; Ws = largeur du scrobicule ; Lmmz = longueur de la zone miliare médiane ; Nap-iap = nombre de plaques ambulacraires le long de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Wa = largeur de l'ambulacre au niveau de l'ambitus ; Lipz = longueur de la zone interporifère au niveau de l'ambitus.

La numérotation des plaques est celle de Lovén (1874).

2.1.2 - Prise de mesure

Pour les spécimens dont le diamètre (D) est supérieur à 15 mm, j'ai réalisé les mesures au pied à coulisse électronique (Electronique Digital Caliper). Pour les spécimens plus petits, j'ai mesuré le diamètre (D) et la hauteur (H) avec le pied à coulisse. Les autres mesurations ont été effectuées sous la loupe binoculaire (Leica MZ8, grossissement de 6.3 à 50 fois) munie d'un oculaire gradué.

2.1.3 - Remarque

Dans le cas des mesures et dénombrements effectués sur la plaque interambulacraire située au niveau de l'ambitus, je ne reconstitue pas l'ontogenèse d'une plaque. En effet, du fait du déplacement relatif des plaques vers le péristome, je ne mesure pas la même plaque sur tous les individus. Je compare donc des plaques situées à la même position sur le test. Enfin, il faut noter que les phénomènes de résorption et la participation à l'élaboration des apophyses des plaques interambulacraires les plus anciennes ne permettent pas de numéroter les plaques (de 1 à X en partant de l'ambitus) de façon à reconstruire l'ontogenèse d'une même plaque avec certitude. Les mêmes commentaires peuvent être faits sur les deux mesures de l'ambulacre bien que dans ce cas, je ne m'intéresse pas directement à une plaque mais à des zones (interporifère / porifère).

2.2 - Analyses

2.2.1 - Statistiques élémentaires

Tous les caractères sont quantitatifs : 15 sur 20 sont continus (mesures), les cinq autres étant méristiques (dénombrements).

J'ai réalisé un histogramme de fréquences et des graphiques bivariés pour chaque mesure afin de mettre en évidence d'éventuelles valeurs aberrantes. Sur les 79 spécimens mesurés, cinq ont été retirés des analyses après vérification des mesures problématiques. La suppression de ces spécimens est justifiée par de probables anomalies de croissance (Ex : plaques génitales excessivement développées ; doublement d'un ambulacre à partir de l'ambitus jusqu'à l'apex ; test déformé...). Un individu mesuré par Mortensen a été retiré (le plus petit) du fait de valeurs suprenantes et de l'impossibilité de revenir sur le spécimen. Ainsi, 88 individus sur les 94

mesurés ont été inclus dans les analyses (Tab. 2.3).

Le test de Shapiro-Wilk (Shapiro, Wilk et Chen, 1968) est utilisé pour tester la normalité des variables continues. Au seuil 0,001, les probabilités données par le test permettent de ne pas rejeter l'hypothèse selon laquelle les mesures sont issues d'une population ayant une distribution normale.

Suite à ces vérifications du jeu de données, les moyenne, écart-type, variance, minimum et maximum pour chaque paramètre sont calculés.

spécimens	Nb. sp. étudiés	Nb. sp. inclus dans les analyses	Nb. caractères
prélèvements MNHN	49	46	15 mes. + 5 dén.
	30	28	5 mes. + 3 dén.
Mortensen (1928)	15	14	5 mes. + 2 dén.
total	94	88	

Tableau 2.3 - Nombre de spécimens et de caractères étudiés.

Nb. caractères = nombre de caractères observés ; Nb. sp. étudiés = nombre de spécimens étudiés ; Nb. sp. inclus dans les analyses = nombre de spécimens inclus dans les analyses ; mes. = mesures ; dén. = dénombrements.

2.2.2 - Analyses

Des analyses bivariées ont été réalisées sur les spécimens. Elles ont portées sur les données brutes et sur des rapports.

Ainsi, chaque paramètre a été porté sur un graphique en fonction du diamètre du test (D). Je considère que D, paramètre de taille globale, est un indicateur de l'âge des spécimens : ceux qui ont le plus grand diamètre sont les plus âgés. Dans la majorité des cas, la distribution est bien expliquée par une régression linéaire. Dans certains cas, une régression de type logarithmique décrit mieux la distribution. Comme dans la partie concernant les pédicellaires, j'ai choisi le type de corrélation pour laquelle le coefficient de régression (r) est le plus élevé. Chacun des paramètres a été divisé par D afin de rendre compte de tailles relatives parfois interprétables en terme de conformation (bien que les rapports ne soient pas des descripteurs géométriques comme je l'ai déjà évoqué dans la partie I). Ces rapports ont été portés graphiquement en fonction de D afin de montrer les modifications en fonction de la taille des spécimens (et donc de l'âge). Dans certains cas, d'autres rapports ont été calculés pour rendre compte des modifications de certains paramètres. J'ai figuré, dans la plupart des cas, des droites de régression de type linéaire ou logarithmique, après avoir testé les deux options empiriquement. Dans quelques cas,

aucune régression ne permet de décrire la distribution de façon satisfaisante. Sur les figures, tous les nuages de points obtenus à partir de ces rapports sont catégorisés avec la variable Ngp (nombre de pores génitaux). Lors des analyses, les stations de prélèvements ou les régions biogéographiques ont également été testées comme catégories.

Pour faciliter la lecture des courbes, j'ai représenté, dès que les paramètres le permettaient, les changements de taille relative ou de conformation de façon schématique.

C - RÉSULTATS

Après description des statistiques élémentaires d'une part pour l'ensemble des spécimens (88), d'autre part pour les deux prélèvements totalisant 46 individus, je présente les résultats en trois parties selon la zone du test considérée : 1- le test dans son ensemble et les piquants ; 2- au niveau de l'apex et du péristome ; 3- au niveau de la couronne. Ceci implique que les résultats obtenus à partir des données récoltées sur l'ensemble des spécimens (88) et ceux obtenus à partir des caractères relevés sur les deux prélèvements (46 individus) soient mélangés.

1 - Statistiques élémentaires

1.1 - Pour les 88 spécimens

Les moyenne, variance, écart-type, minimum et maximum des paramètres mesurés sur les 88 spécimens (Annexe 14) sont présentés dans le tableau 2.4.

1.2 - Pour les 46 spécimens

Les moyenne, variance, écart-type, minimum et maximum des paramètres mesurés sur les 46 spécimens appartenant à deux prélèvements (Annexe 14) sont présentés dans le tableau 2.5.

2 - Analyses bivariées

2.1 - Test et piquants

2.1.1 - Forme générale

La représentation de la hauteur (H) en fonction du diamètre (D) (Annexe 15, A) montre une relation linéaire croissante entre ces deux variables avec une excellente corrélation ($r = 0,993$). Lorsque D augmente, H augmente aussi. Le calcul du rapport H/D permet de rendre compte de la forme plus ou moins aplatie du test. Ce rapport est présenté en fonction de D (Fig. 2.5, A). Le nuage de points présente une tendance croissante de type logarithmique. Ainsi plus D augmente, plus H/D augmente lentement. H croît donc plus vite que D, cette tendance s'atténuant avec l'âge. Le test a donc une forme plus aplatie sur les spécimens de petite taille.

Variable	Nb.	Moy.	Var.	σ	Min.	Max.
D (mm)	88	19,6	117,04	10,82	2,0	43,0
H (mm)	88	10,7	39,06	6,25	0,9	24,0
Dap (mm)	88	10,0	25,38	5,04	1,5	20,0
Dper (mm)	88	8,9	22,40	4,73	1,2	19,0
Niap	88	5,6	0,79	0,89	4,0	7,0
Nap-iap	88	9,0	8,02	2,83	2,0	15,0
Lls (mm)	79	31,6	260,13	16,13	2,1	62,8

Tableau 2.4 - Variabilité des paramètres mesurés sur 88 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

Nb. = nombre de valves mesurées ; Moy. = moyenne ; Var. = variance ; σ = écart-type ; Min. = minimum ; Max. = maximum ; D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; H = hauteur de la couronne ; Dap = diamètre de l'apex ; Dper = diamètre du péristome dans le prolongement de IA2 ; Niap = nombre de plaques interambulacraires dans l'interambulacre AIIIa ; Nap-iap = nombre de plaques ambulacraires le long de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Lls = longueur du piquant primaire le plus long.

Variable	Nb.	Moy.	Var.	σ	Min.	Max.
D (mm)	46	17,5	129,57	11,38	2,6	38,1
H (mm)	46	9,4	42,71	6,54	1,2	20,2
Dap (mm)	46	9,1	29,40	5,42	1,7	18,8
Dper (mm)	46	8,4	27,75	5,27	1,5	18,4
Niap	46	5,4	0,73	0,85	4,0	7,0
Nap-iap	46	8,6	9,00	3,00	3,0	13,0
Lls (mm)	36	23,8	209,90	14,49	3,2	51,8
Lm (mm)	42	3,6	3,96	1,99	0,8	6,7
Wm (mm)	42	2,9	2,31	1,52	0,6	5,1
Liap (mm)	42	4,9	9,08	3,01	0,6	10,3
Wiap (mm)	42	3,8	4,74	2,18	0,5	7,8
Ls (mm)	42	2,9	2,49	1,58	0,5	6,0
Ws (mm)	42	2,8	2,38	1,54	0,4	5,6
Dpm (mm)	42	0,9	0,14	0,37	0,2	1,5
Lmmz (mm)	42	1,2	0,67	0,82	0,2	2,7
Wa (mm)	42	2,6	2,08	1,44	0,5	4,8
Lipz (mm)	42	1,4	0,48	0,69	0,4	2,5
Npap	42	9,7	15,56	3,95	3,0	16,0
Npnap	42	3,9	3,82	1,96	0,0	8,0

Tableau 2.5 - Variabilité des paramètres mesurés sur 46 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

Nb. = nombre de valves mesurées ; Moy. = moyenne ; Var. = variance ; σ = écart-type ; Min. = minimum ; Max. = maximum ; D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; H = hauteur de la couronne ; Dap = diamètre de l'apex ; Dper = diamètre du péristome dans le prolongement de IA2 ; Niap = nombre de plaques interambulacraires dans l'interambulacre AIIIa ; Nap-iap = nombre de plaques ambulacraires le long de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Lls = longueur du piquant primaire le plus long ; Lm = longueur de la plaque madréporique ; Wm = largeur de la plaque madréporique ; Liap = longueur de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Wiap = largeur de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Ls = longueur du scrobicule ; Ws = largeur du scrobicule ; Dpm = diamètre du mamelon primaire ; Lmmz = longueur de la zone miliare médiane ; Wa = largeur de l'ambulacre au niveau de l'ambitus ; Lipz = longueur de la zone interporifère au niveau de l'ambitus ; Npap = nombre de plaques péristomiennes ambulacraires dans le prolongement de AIIIa ; Npnap = nombre de plaques péristomiennes non ambulacraires dans le prolongement de IA2.

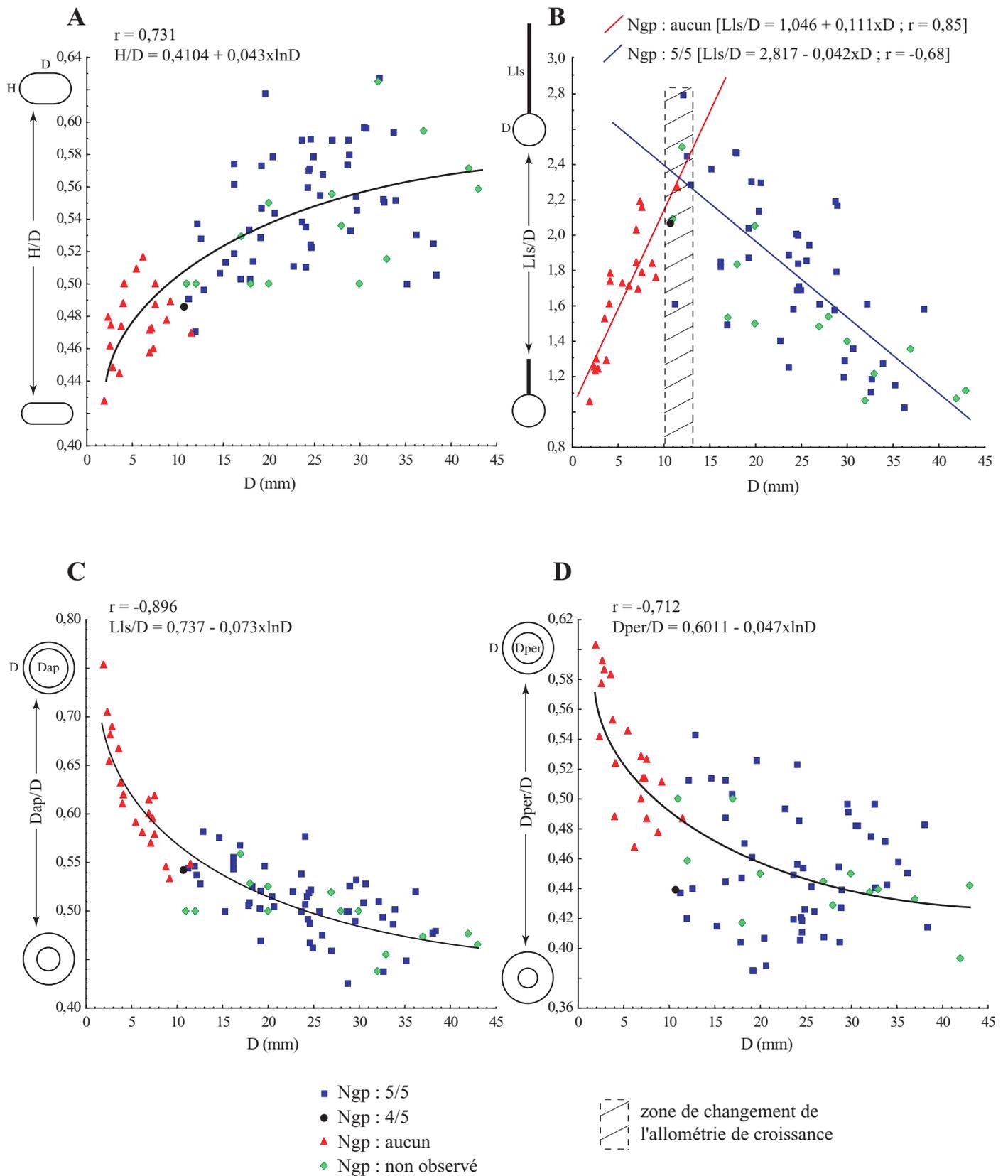


Figure 2.5 - Variation des tailles relatives (rapports) en fonction du diamètre (D) chez 88 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; H = hauteur de la couronne ; Dap = diamètre de l'apex ; Dper = diamètre du péristome dans le prolongement de IA2 ; Lls = longueur du piquant primaire le plus long ; Ngp = nombre de pores génitaux ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.

2.1.2 - Longueur relative des piquants

La représentation de la longueur du piquant primaire le plus long (Lls) en fonction de D est figurée en annexe 15 (B). Entre 2 et 10 mm de diamètre, le nuage de points présente une tendance linéaire. Au-dessus de 10 mm, le champ de variation de Lls s'étend et la distribution présente plus ou moins un plateau au-delà de 20 mm. Le rapport Lls/D en fonction de D (Fig. 2.5, B) montre deux phases : dans un premier temps Lls/D croît rapidement de 1 à 2,3 (allométrie positive), dans un second temps, le rapport décroît de 2,3 à 1 (allométrie négative) lorsque D augmente. La zone d'inversion de la pente se situe entre 10 et 13 mm. J'ai mis en relation ce changement avec l'apparition des pores génitaux. Les spécimens de moins de 10 mm de diamètre ne possèdent aucun pore tandis que les spécimens de plus de 13 mm les présentent tous. Dans la zone 10-13 mm, un spécimen observé montre quatre pores sur cinq. J'ai tracé les droites de régression à partir d'une part des spécimens sans pores, d'autre part de ceux avec pores (les spécimens de Mortensen n'interviennent donc pas dans le calcul des coefficients de corrélation). Le coefficient de régression est supérieur pour la droite de pente positive ($r = 0,85$ contre $r = -0,68$) ce qui s'explique par le champ de variation de taille important des spécimens de plus de 10 mm de diamètre (Annexe 15, B). Ainsi, avant l'apparition des gonopores, les piquants primaires s'allongent plus vite que le test n'augmente en diamètre. Dès la maturité sexuelle la tendance s'inverse.

2.2 - Apex et Péristome

2.2.1 - Taille générale

Les représentations du diamètre de l'apex (D_{ap} ; annexe 15, C) et du diamètre du péristome (D_{per} ; annexe 15, D) en fonction de D montrent des tendances linéaires croissantes avec des coefficients de corrélation supérieurs à 0,97. Ainsi, D_{ap} et D_{per} augmentent lorsque D croît. Les représentations des rapports D_{ap}/D (Fig. 2.5, C) et D_{per}/D (Fig. 2.5, D) en fonction de D montrent des nuages de points avec une tendance logarithmique décroissante. Ainsi, les deux rapports diminuent de moins en moins vite lorsque D augmente. Cela se traduit morphologiquement par une diminution de la taille relative de D_{ap} et D_{per} lorsque D augmente, cette tendance étant plus marquée pour D_{ap} . Il faut noter que le coefficient de régression de [$D_{per}/D=f(D)$] est plus faible ($r = -0,712$), le champ de variation de D_{per} étant plus large.

2.2.2 - Nombre de plaques péristomiennes

Les représentations du nombre de plaques péristomiennes ambulacraires (N_{pap} ; Fig. 2.6, A) et du nombre de plaques péristomiennes non ambulacraires (N_{pnap} ; Fig 2.6, B) en fonction de D présentent des tendances logarithmiques croissantes. Ainsi, plus la taille augmente, plus le nombre de plaques croît, la vitesse de formation de nouvelles plaques diminuant avec la taille. Il faut noter que N_{pap} est plus important que N_{pnap} (entre 3 et 16 pour N_{pap} ; entre 0 et 8 pour N_{pnap}).

2.2.3 - Plaque madréporique

La plaque madréporique croît en longueur (L_m) et en hauteur (W_m) selon une relation linéaire lorsque D augmente (Annexe 16, A et B). Le rapport L_m/W_m illustre la taille relative de la plaque (conformation plus ou moins rectangulaire). Ce rapport ne rend pas compte de la réalité complexe du contour. Il est représenté en fonction de D sur la figure 2.7 (A). Le nuage de points montre deux phases : dans un premier temps L_m/W_m décroît rapidement de 1,43 à 1,05 (allométrie négative), dans un second temps, le rapport croît de 1,05 à 1,4 (allométrie positive). La zone d'inversion de la pente se situe entre 11 et 13 mm de D . Comme pour L_l/D , cet intervalle de taille peut être mis en rapport à l'apparition des pores génitaux. Les droites de régression sont tracées à partir d'une part des spécimens sans pores et d'autre part des spécimens avec pores. Les coefficients de corrélation sont assez importants dans les deux cas ($r = -0,80$ et $r = 0,82$). Ainsi, avant l'apparition des gonopores, W_m croît plus vite que L_m . Dès la maturité sexuelle, la tendance s'inverse.

2.3 - Couronne

2.3.1 - Ambulacres

Lorsque D augmente, la longueur de la zone interporifère au niveau de l'ambitus (L_{ipz}) croît dans une relation linéaire (Annexe 16, C). La même tendance est observée pour la largeur de l'ambulacre (W_a ; Annexe 16, D). Le rapport L_{ipz}/W_a permet de rendre compte de la taille de la zone interporifère par rapport à l'ambulacre. La représentation de ce rapport en fonction de D montre deux phases (Fig. 2.7, B) : tout d'abord L_{ipz}/W_a décroît de 0,8 à 0,5 entre 2 et 10 mm de diamètre (coefficient de corrélation important de $-0,87$) puis le rapport semble se stabiliser

dans une fourchette comprise entre 0,45 et 0,60 (coefficient de corrélation presque nul de -0,153). La zone de transition, comprise entre 9 et 12 mm (D), correspond à l'intervalle de taille d'apparition des pores génitaux. Ainsi, avant l'apparition des pores, les zones porifères (de part et d'autre de la zone interporifère) contribuent le plus à l'élargissement de l'ambulacre. Avec la maturité sexuelle, la croissance des ambulacres au niveau de l'ambitus est plus homogène (autrement dit zone interporifère et zones porifères s'allongent dans les mêmes proportions).

Le nombre de plaques ambulacraires le long de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus (Nap-iap) en fonction de D (Fig. 2.8, A) montre une tendance logarithmique croissante (Nap-iap passant de 2 à 15 entre 2 et 43 mm de diamètre). Ainsi plus D augmente, plus le nombre de plaques ambulacraires augmentent, cette tendance s'atténuant avec l'âge. La même courbe portant sur une partie des spécimens est présentée sur la figure 2.9 (A). L'objectif est de comparer cette tendance avec la hauteur de la plaque interambulacraire adjacente mesurée sur ces mêmes spécimens. Lorsque D augmente, Wiap croît dans une relation linéaire (Fig. 2.9, B). La représentation du rapport Nap-iap/Wiap (nombre de plaques ambulacraires/millimètre) en fonction de D (Fig. 2.9, C) montre une tendance logarithmique décroissante (de 6 à 1,5 entre 2 et 38 mm de D) avec une forte corrélation ($r = 0,966$). Ceci implique que les plaques ambulacraires au niveau de l'ambitus sont de plus en plus larges et que cette croissance en largeur est proportionnellement plus importante que l'augmentation de la largeur de l'interambulacre. La tendance logarithmique peut s'expliquer d'une part par la baisse de l'ajout de nouvelles plaques au cours de la croissance (Fig. 2.8, A et Fig. 2.9, A) et d'autre part par une diminution du taux de croissance en largeur des plaques ambulacraires (non testé dans cette étude).

2.3.2 - Interambulacres

La représentation du nombre de plaques interambulacraires par interambulacre varie entre quatre pour les spécimens de petite taille et sept pour les plus grands (Fig. 2.8, B). Il est possible de définir des classes de taille correspondant au nombre de plaques observées. Par exemple, les spécimens entre 2 et 11,5 mm de diamètre peuvent présenter quatre ou cinq plaques tandis que ceux entre 11,5 et 15 mm en présentent systématiquement cinq.

Un certain nombre de paramètres a été mesuré sur l'une des plaques interambulacraire se situant à l'ambitus. Chacun de ces paramètres (Liap, Wiap, Ls, Ws, Lmmz, Dpm) est représenté en fonction de D en annexe 17. A chaque fois, le nuage de points présente une tendance linéaire avec une pente positive, chaque paramètre augmentant en même temps que D. Plusieurs rapports ont ensuite été calculés : Liap/Wiap qui rend compte d'une conformation théorique quadrangulaire de la plaque ; Lmmz/Liap qui rend compte de la longueur relative de la zone miliare médiane par rapport à la longueur de la plaque ; Ls/Ws qui rend compte de la forme circulaire générale du scrobicule ; Ls/Liap qui rend compte du diamètre relatif du scrobicule par rapport à la longueur de la plaque et Dpm/ Ls qui rend compte du diamètre relatif du mamelon primaire par rapport à la longueur de la plaque. Ces rapports sont portés sur un graphique en fonction de D (Fig. 2.10, A, B, C et D) :

-Liap/Wiap augmente lors de la croissance (tendance linéaire mais corrélation moyenne, $r = 0,734$) : la plaque s'allonge plus vite qu'elle ne s'élargit, la variation est importante ;

-Lmmz/Liap augmente lors de la croissance (tendance linéaire mais corrélation faible, $r = 0,673$) : la zone miliare médiane croît plus vite que la plaque, la variation est importante ;

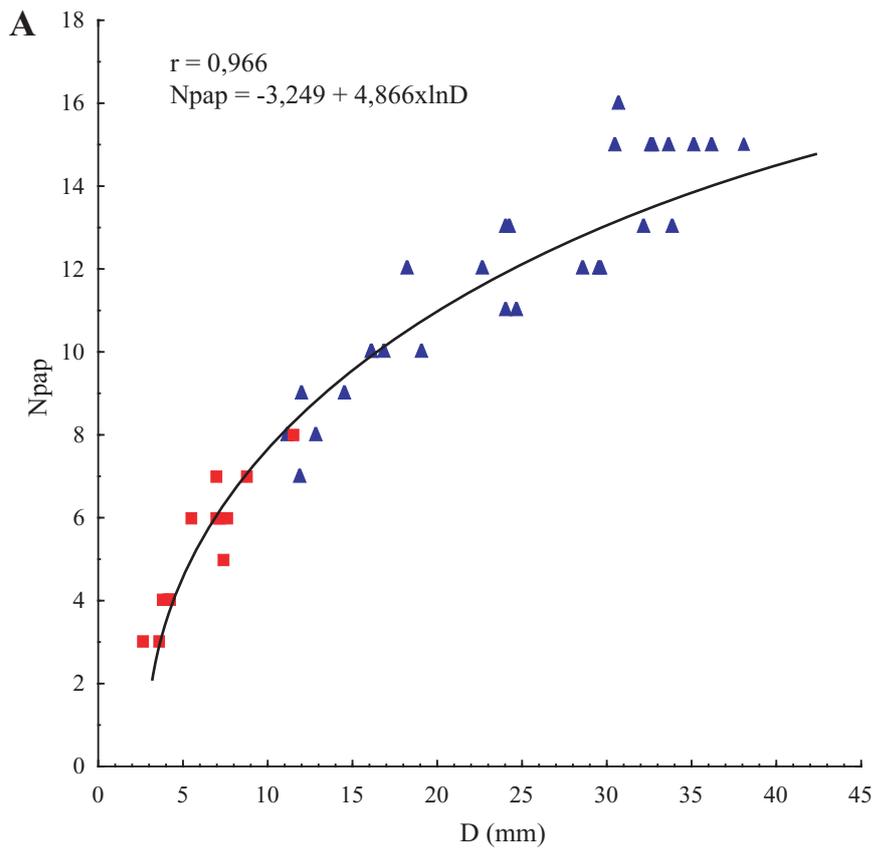
-Ls/Ws présente une distribution curieuse qui est probablement liée à des erreurs de mesures : comme une majorité de points présente un rapport de 1, je considère que le scrobicule garde globalement une conformation circulaire (bien que parfois il soit légèrement aplati horizontalement) ;

-Ls/Liap décroît lorsque D augmente (tendance logarithmique avec une bonne corrélation, $r = -0,888$) : la plaque s'allonge plus vite que le scrobicule, cette tendance s'atténuant avec l'âge ;

-Dpm/Ls décroît lorsque D augmente (tendance logarithmique avec une bonne corrélation, $r = -0,863$) : le scrobicule s'allonge plus vite que le diamètre du mamelon n'augmente, cette tendance s'atténuant avec l'âge.

L'intégration de l'ensemble de ces paramètres m'a permis de reconstruire schématiquement la morphologie générale d'une plaque interambulacraire pour un spécimen de 5 mm de diamètre et celle pour un spécimen de 35 mm (Fig. 2.10, E). Bien sûr, ces schémas sont très imparfaits puisque, par exemple, la conformation quadrangulaire ne correspond pas à la réalité complexe du contour de la plaque. Il est pourtant intéressant de visualiser l'apparence générale de la

plaque sur un petit ou un grand spécimen. Il ne faut pas oublier que certains rapports étudiés évoluent avec une relation logarithmique : les modifications entre 5 et 35 mm ne sont donc pas linéaires. Ainsi, lorsque le spécimen grandit, la plaque s'allonge, la zone miliaire médiane participant le plus à l'allongement. Le scrobicule tend à garder sa conformation circulaire mais grandit plus rapidement que le mamelon : sur un petit spécimen, le mamelon apparaît donc relativement gros.



- Ngp : 5/5
- ▲ Ngp : aucun

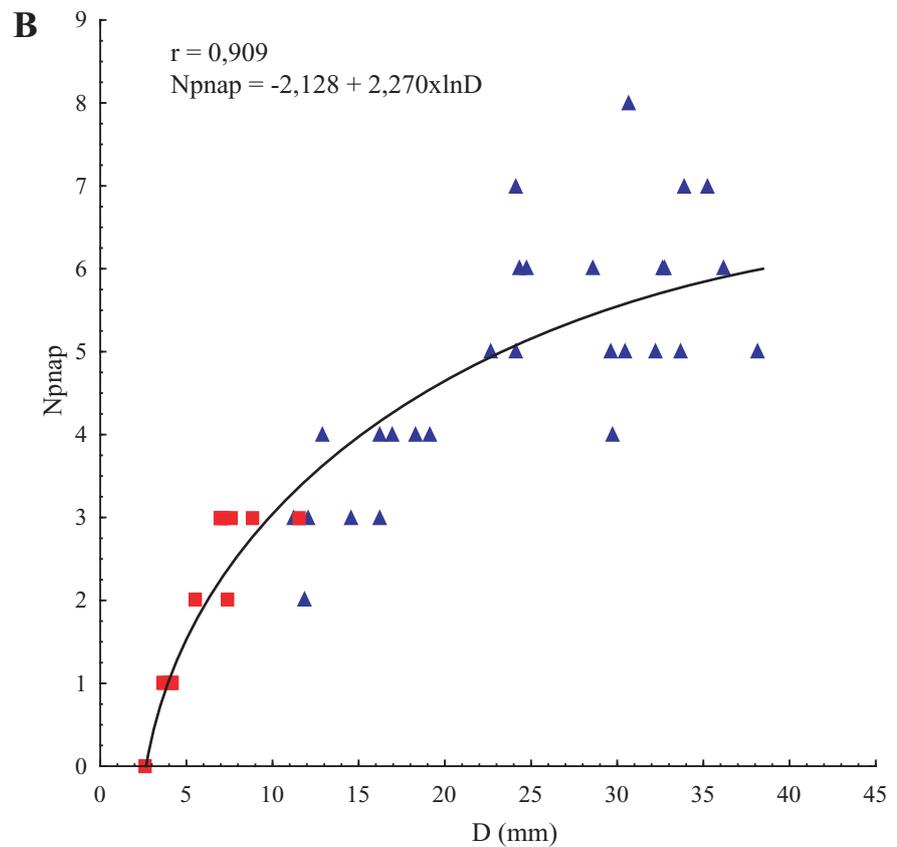


Figure 2.6 - Variation du nombre de plaques sur le péristome en fonction du diamètre de la couronne (D) chez 46 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; Npap = nombre de plaques péristomiennes ambulacraires dans le prolongement de AIIIa ; Npnap = nombre de plaques péristomiennes non ambulacraires dans le prolongement de IA2 ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.

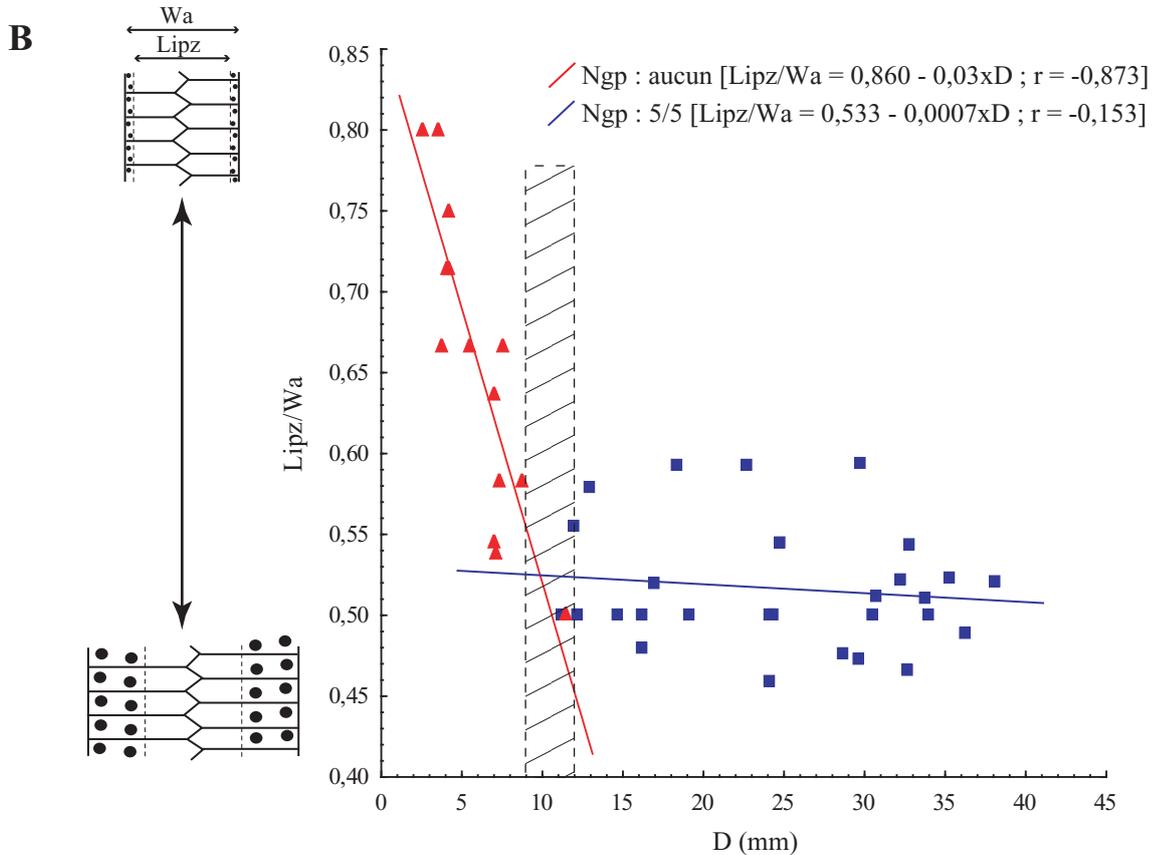
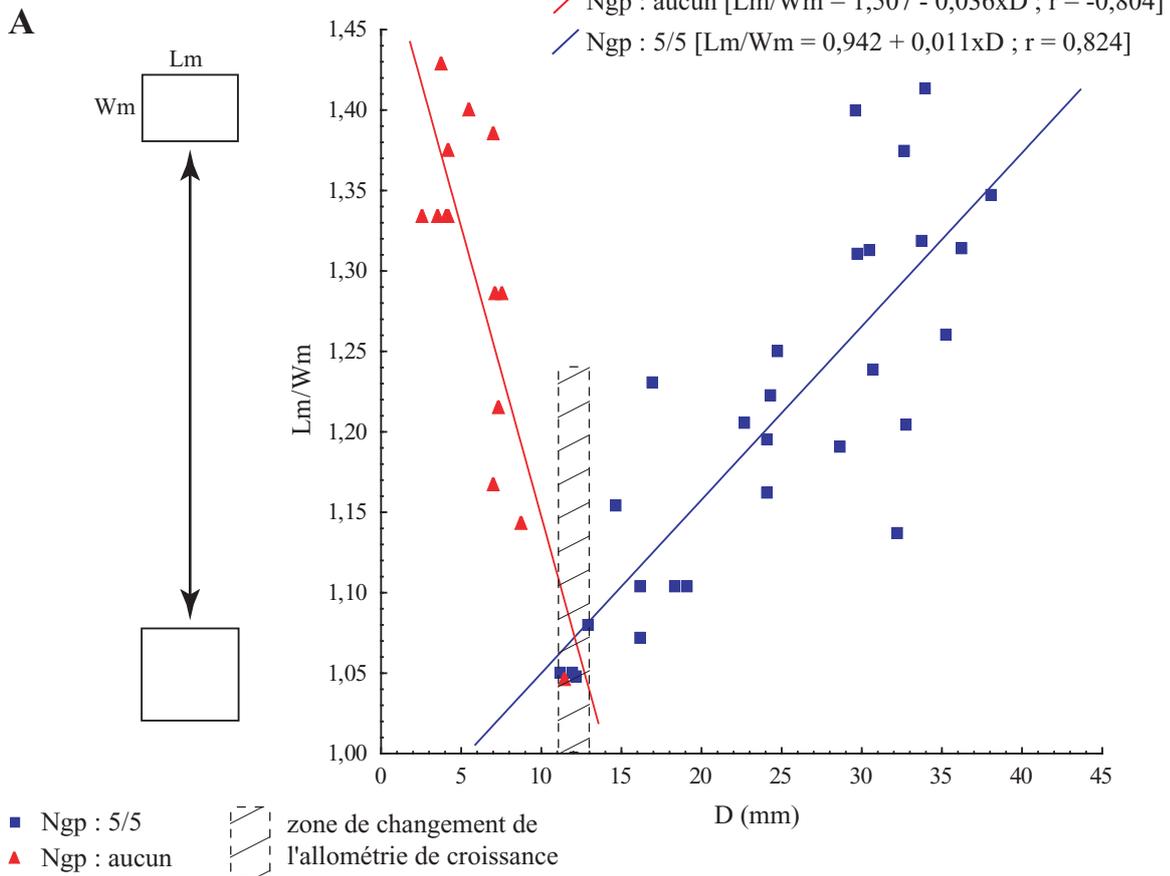
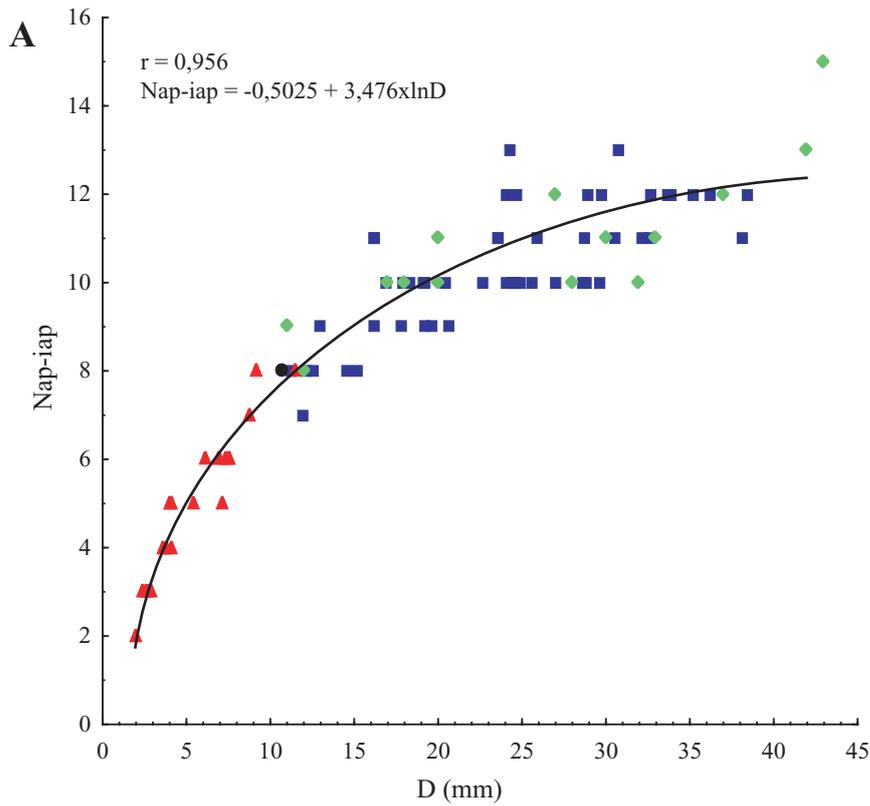


Figure 2.7 - Variation des tailles relatives (rapports) en fonction du diamètre de la couronne (D) chez 46 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; Lm = longueur de la plaque madréporique ; Wm = largeur de la plaque madréporique ; Wa = largeur de l'ambulacre juste au niveau de l'ambitus ; Lipz = longueur de la zone interporifère au niveau de l'ambitus ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.



- Ngp : 5/5
- Ngp : 4/5
- ▲ Ngp : aucun
- ◆ Ngp : non observé

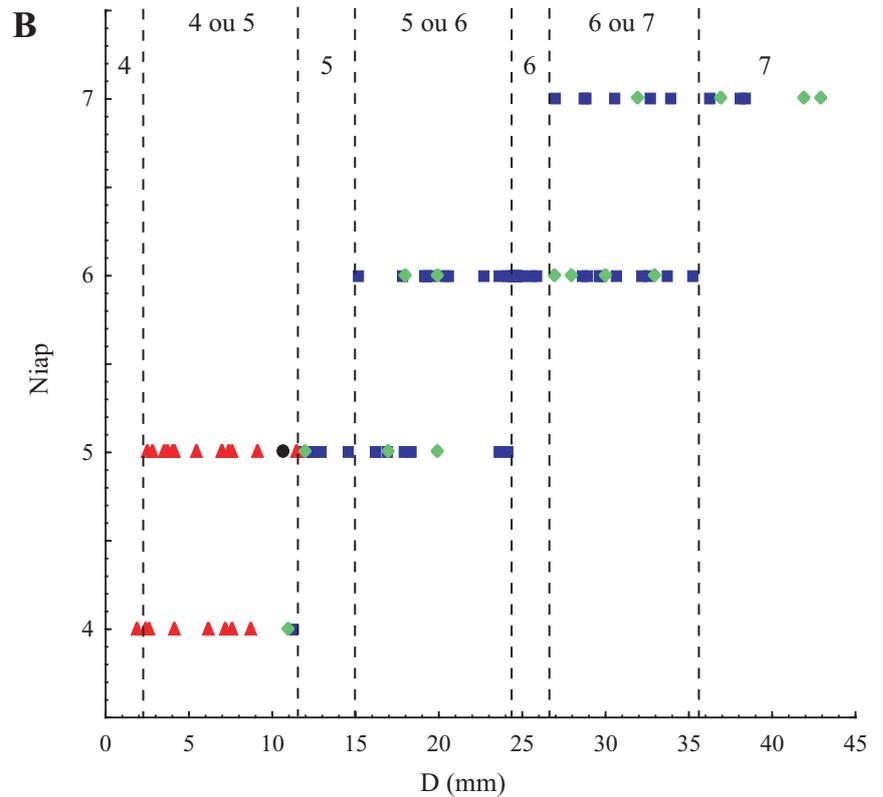


Figure 2.8 - Variation du nombre de plaques ambulacraires et interambulacraires en fonction du diamètre de la couronne (D) chez 88 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; Niap = nombre de plaques interambulacraires dans l'interambulacre AIIIa ; Nap-iap = nombre de plaques ambulacraires le long de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.

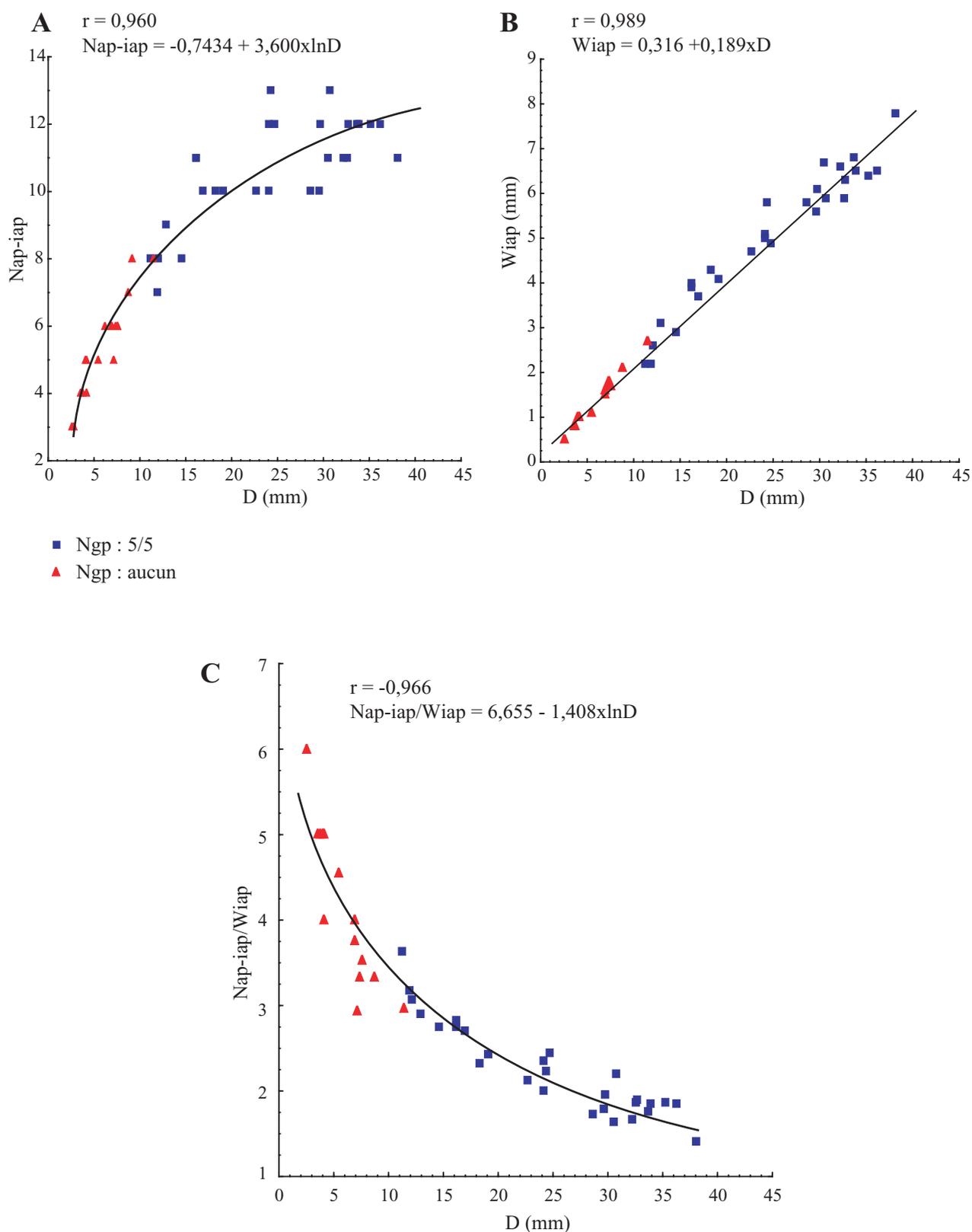


Figure 2.9 - Variation du nombre de plaques ambulacraires par interambulacre en fonction du diamètre de la couronne (D) chez 46 spécimens de *Stylocidaris affinis*.
 D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; Nap-iap = nombre de plaques ambulacraires le long de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Wiap = largeur de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.

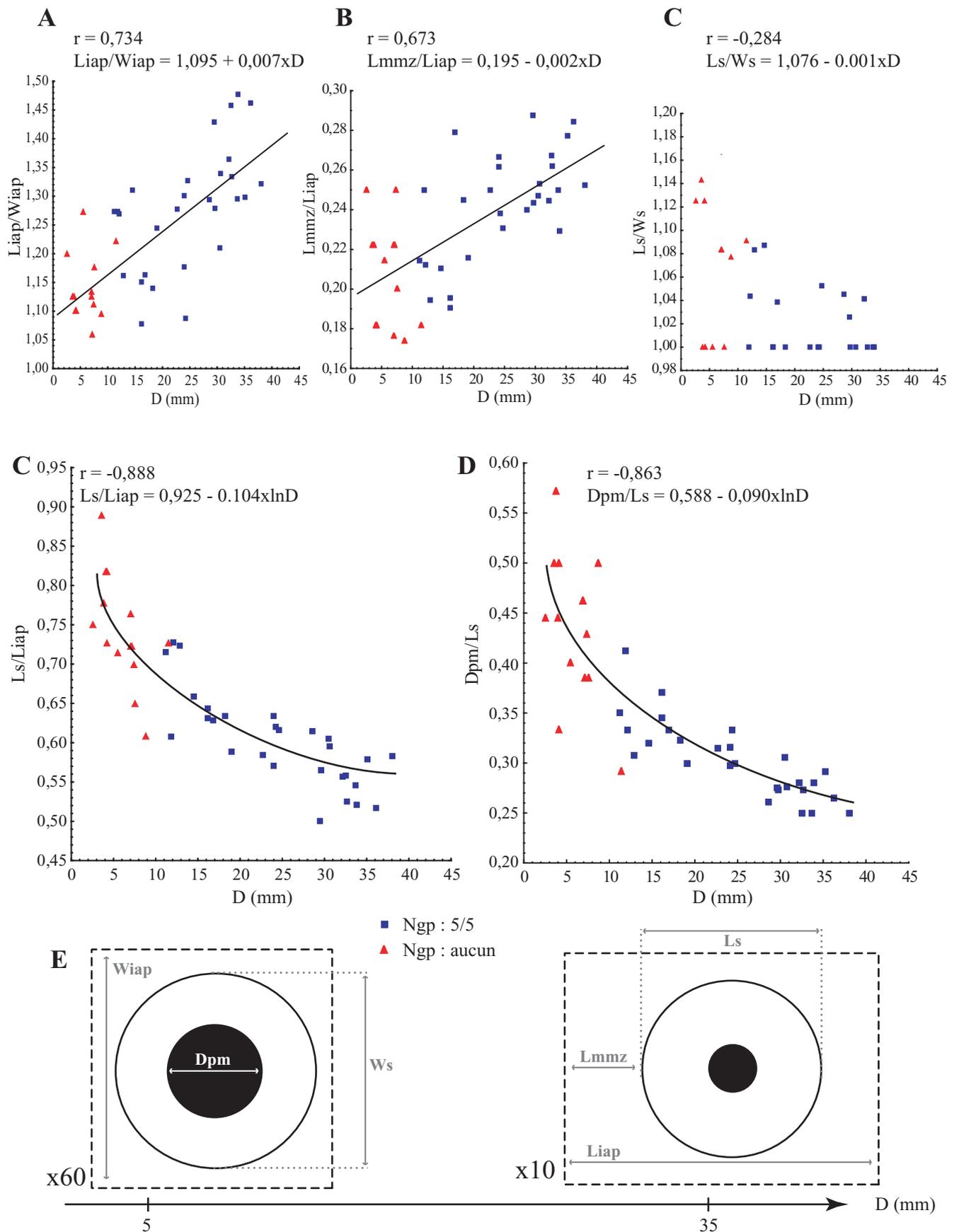


Figure 2.10 - Variation des tailles relatives (rapports) en fonction du diamètre (D) chez 88 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; Liap = longueur de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Wiap = largeur de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Ls = longueur du scrobiculus ; Ws = largeur du scrobiculus ; Dpm = diamètre du mamelon primaire ; Lmmz = longueur de la zone miliaria médiane ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.

E = Modification de la morphologie d'une plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus au cours de la croissance

D - DISCUSSION

1 - Ontogenèse chez *Stylocidaris affinis*

Selon Melville et Durham (1966), les Cidaroida présentent des changements de conformation mineurs lors de la croissance post-larvaire. Cette remarque peut se justifier en comparaison avec la croissance chez certains échinides irréguliers par exemple (David, 1985). Dans l'absolu, les résultats présentés ici montrent que l'ontogenèse de *Stylocidaris affinis* est caractérisée par une mosaïque d'allométries plus ou moins complexes. J'ai observé plusieurs cas de figures :

1- les tailles relatives des paramètres évoluent de manière continue et régulière au cours de la croissance ;

2- les modifications sont plus importantes chez des individus juvéniles et s'atténuent avec l'âge ;

3- la croissance peut être divisée en deux phases distinguées, pour l'une, par l'absence de pores génitaux, pour l'autre, par leur présence, l'apparition des pores génitaux étant associée à la maturité sexuelle. Chez *Stylocidaris affinis*, la formation des gonopores se produit entre 9 et 13 mm de diamètre.

Ce troisième cas de figure n'avait encore jamais été mis en évidence chez les Cidaroida.

Un modèle de croissance chez *Stylocidaris affinis* - synthétisé à partir des résultats obtenus - est présenté sur la figure 2.11.

Le test augmente plus rapidement en hauteur qu'en diamètre, cette tendance s'atténuant avec l'âge. Selon Märkel (1981), la croissance en hauteur est réalisée par l'addition de nouvelles plaques à l'apex de chaque colonne plutôt que par l'augmentation en taille des plaques existantes. Mes observations concernant la diminution du taux d'apparition de nouvelles plaques au cours de la croissance, aussi bien dans les ambulacres que dans les interambulacres, sont en accord avec cette hypothèse.

Le diamètre du test croît plus rapidement que le diamètre du péristome. Cela corrobore les résultats de Märkel (1981) chez *Eucidaris tribuloides*. J'ajoute que cette croissance plus rapide du test s'atténue avec l'âge. La même tendance s'observe de façon plus marquée morphologiquement

en ce qui concerne l'appareil apical.

Au niveau du péristome, le nombre de plaques ambulacraires augmente avec le diamètre. Cette tendance s'atténue avec l'âge ce qui est en accord avec le ralentissement de la formation de nouvelles plaques au contact des plaques oculaires. Le nombre de plaques non ambulacraires qui se forment en bordure du péristome augmente avec D : cet ajout de nouvelles plaques ralentit également avec l'âge.

A partir des paramètres mesurés sur la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus, j'ai mis en évidence des changements morphologiques importants lors de la croissance, en particulier la conformation générale de la plaque, la longueur relative des zones miliaires et le diamètre relatif du mamelon.

Au niveau des ambulacres, les zones porifères s'allongent beaucoup plus vite que la zone interporifère avant la maturité sexuelle. L'accroissement des zones est ensuite proportionnelle. Deux phases allométriques ont été mises en évidence concernant l'ontogenèse de la plaque madréporique. De la même façon, j'ai mis en relation le changement d'allométrie avec l'apparition des pores génitaux.

Enfin, l'évolution de la taille relative des piquants primaires montre deux tendances : une augmentation rapide de la taille des piquants par rapport au diamètre du test puis, avec l'apparition des pores génitaux, une inversion de l'allométrie. Cette deuxième phase où le test s'accroît plus vite que les piquants peut être associée d'une part à un ralentissement de la vitesse de croissance des piquants, d'autre part à l'absence de tégument sur les piquants primaires totalement formés des Cidaroida ce qui empêche la régénération progressive des piquants (Cutress, 1965). En effet, cette deuxième hypothèse implique une usure des piquants liée aux contraintes environnementales (frottements sur le substrat, prédateur...).

2 - Taxonomie

Dans le cas de *Stylocidaris*, deux espèces ont été décrites dans l'océan Atlantique : *Stylocidaris affinis* (distribution : Bermudes, mer des Caraïbes, Golfe de Mexico, océan Atlantique est et Méditerranée, profondeur de 30 à 1000 m) et *Stylocidaris lineata* (distribution : mer des Caraïbes, profondeur entre 100 et 500 m).

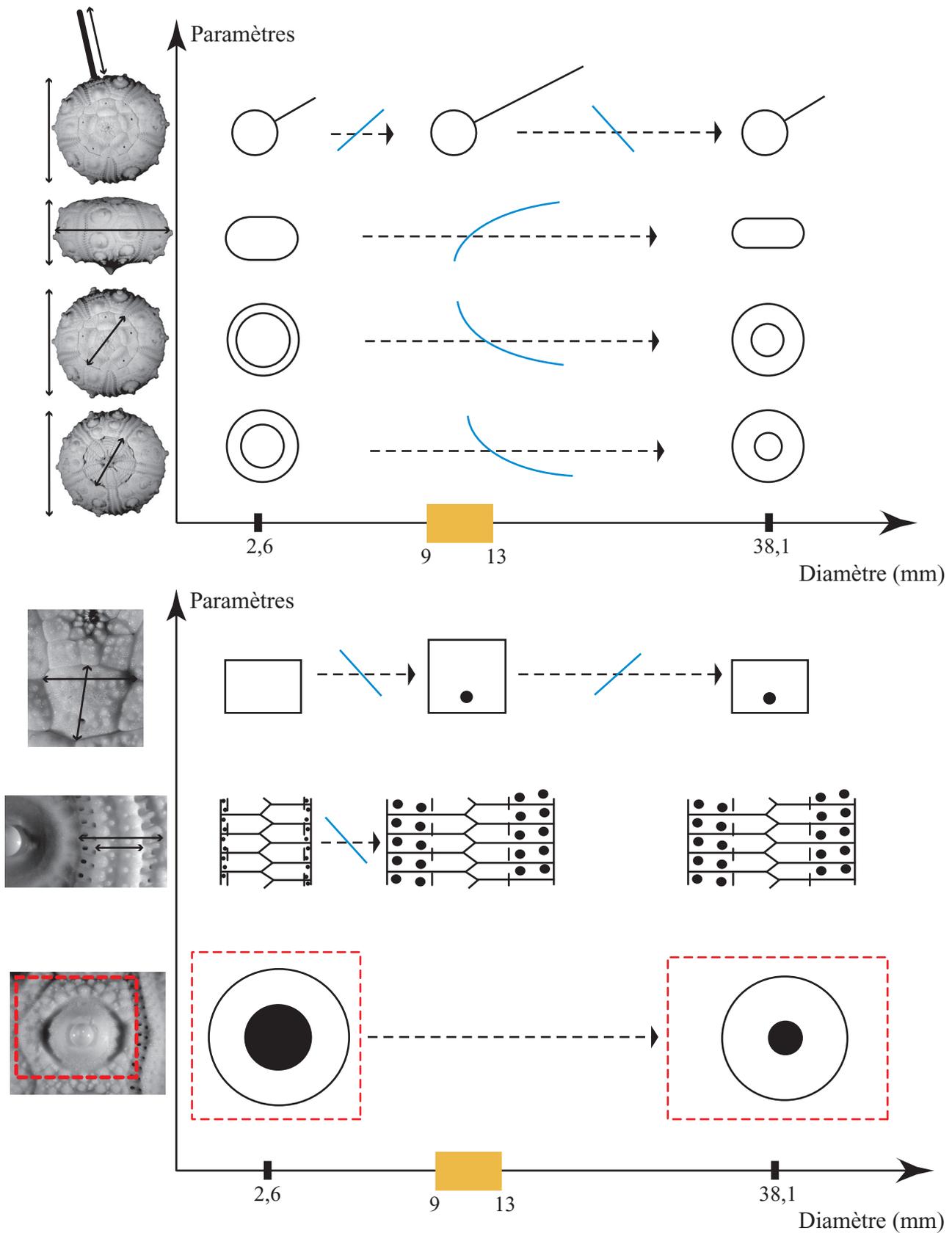


Figure 2.11 - Modèle de croissance chez *Stylocidaris affinis*.

trait bleu = tendance de croissance relative ; rectangle orange = diamètre d'apparition des gonopores ; pointillés rouges = contour simplifié de la plaque au niveau de l'ambitus de l'interambulacre 2b.

Les mesures figurées sur les photos (doubles flèches noires) correspondent à celles des figures 2.3 et 2.4.

Les différences relevées par Mortensen (1910b, 1928) sont rassemblées dans un tableau en annexe 18. *S. lineata* diffère, en particulier, de *S. affinis* par sa coloration, des zones interporifères ambulacraires plus nues (moins de tubercules) et des piquants primaires plus longs et plus gros qui présentent douze séries longitudinales de denticules (au lieu de 18 chez *S. affinis*). L'encolure au-dessus de la colerette est souvent lisse et brillante alors que chez *S. affinis*, elle est très étroite et non remarquable. Les pédicellaires tridentés sont différents (base plus large et espaces plus étroits entre les valves).

Phelan (1970) a réalisé un guide des Cidaroida de la mer des Caraïbes et de l'Atlantique nord-ouest. Il discute des différences entre les deux espèces après avoir étudié un grand nombre de spécimens. Il remet en cause certains caractères discriminants de Mortensen (tableau récapitulatif en Annexe 19) :

- la tuberculation de la zone porifère de l'ambulacre ;
- le nombre de crêtes longitudinales dentelées et l'encolure des piquants primaires ;
- l'espace entre les valves des pédicellaires dentés.

Il s'accorde avec Mortensen sur des différences de coloration et dans une certaine limite de longueur des piquants primaires. Il ajoute comme caractère discriminant la forme des tubercules de l'appareil apical bien qu'il admette avoir observé un spécimen de *S. affinis* avec une tuberculation identique à celle de *S. lineata*. Les gros pédicellaires globifères seraient également plus longs et effilés chez *S. lineata*.

J'ai donc étudié les caractères discriminants de Mortensen (1910b, 1928) et Phelan (1970) sur des morphotypes caractéristiques de chaque espèce avant d'ajouter à mes analyses tous les spécimens dont je disposais. Mes observations (Tableau 2.6) montrent que les différences mises en avant par mes prédécesseurs sont artificielles car de nombreux individus présentent des morphologies intermédiaires. Par exemple, la tuberculation de l'apex est très variable, certains spécimens présentant à la fois des tubercules arrondis et allongés radialement. De même, la coloration présente une grande variabilité. Concernant les pédicellaires, les résultats présentés dans la partie I et des observations non illustrées dans ce mémoire remettent en cause les différences considérées par Mortensen et Phelan. Cela m'a amené à considérer que les spécimens appartenaient à une seule et même espèce présentant un large champ de variations morphologiques. Ces conclusions s'accordent avec Clark (1918) qui considérait qu'il était

	caractère		<i>S. affinis</i>	<i>S. lineata</i>
appareil apical	couleur		blanc à marron avec ou sans anneau marron-rouge	blanc à marron avec anneau rouge
	tuberculation		plus ou moins uniforme	
	forme des tubercules		arrondis	arrondis à allongés radialement
ambulacres	tubercule marginal de la zone interporifère		présent	
	tubercule interne de la zone interporifère		présent ou absent	
	autre tubercule de la zone interporifère		présent ou absent	
	couleur sutures médianes		blanche à marron	marron-rouge
interambulacres	couleur sutures horizontales et verticales		blanche à marron	marron-rouge
	longueur		gradient de 1 à 2,8 fois D	
piquants primaires	nombre de crêtes longitudinales dentelées		variable	
	encolure			
	poils de l'écorce			
piquants scrobiculaires et marginaux	couleur		blanc à marron ou rouge avec ou sans une rayure médiane marron à rouge	
	forme		similaires	
gros pédicellaires globifères	espace entre les valves		-	
	partie basale des valves		-	
	forme générale des valves		similaires	

Tableau 2.6 - Différences et similitudes des caractères morphologiques entre *Stylocidaris affinis* et *Stylocidaris lineata*. Les caractères reportés dans le tableau sont ceux de Mortensen (1910b, 1928) repris par Phelan (1970).

impossible d'aller au-dessus du rang de variété compte tenu des spécimens présentant des morphologies intermédiaires qu'il avait lui-même observés. Les résultats associés à l'étude de l'ontogenèse vont dans le même sens. Ils montrent, par exemple, que les piquants primaires peuvent mesurer de 1 à 2,8 fois le diamètre de la couronne suivant le stade ontogénétique de l'individu observé. Les espèces *S. affinis* et *S. lineata* devraient donc être mises en synonymie après un réexamen des spécimens types.

E- CONCLUSION

Cette analyse de l'ontogenèse post-larvaire chez *Stylocidaris affinis* a permis, en particulier, de mettre en évidence des changements d'allométries qui correspondent à l'apparition des pores génitaux.

En perspective, il apparaît particulièrement intéressant de renouveler cette approche sur d'autres taxa au sein des Cidaroida afin d'envisager une comparaison des ontogenèses. Cette perspective est malheureusement fortement limitée par les difficultés d'obtention d'un grand nombre d'individus de différentes tailles appartenant à la même espèce. Je peux formuler deux explications :

1- La détermination jusqu'au niveau spécifique d'un individu juvénile est souvent très difficile voire impossible ;

2- Lors des missions de récoltes, les spécimens de très petites tailles sont souvent ignorés si un spécialiste intéressé n'est pas présent. En effet, la fréquence des dragages et chalutages est souvent incompatible avec un tri et une préparation attentive de l'ensemble des spécimens récoltés dans la perspective d'une conservation en collection. Cette remarque est plus particulièrement vraie pour l'océan Pacifique car la biodiversité y est généralement plus importante (Richer-de-Forges, 1997). Pourtant, mes analyses ont montré la nécessité d'individus dont le diamètre est inférieur à 10 mm pour la compréhension de la croissance post-larvaire.

Partie III :

Phylogénie moléculaire

Table des matières «Partie III»

A- MATERIEL ET METHODE.....	176
1 - Choix des taxa.....	176
1.1 - Le groupe interne.....	176
1.2 - Le groupe externe.....	178
2 - Gènes utilisés.....	179
2.1 - 28S-D1.....	179
2.2 - COI.....	179
3 - Obtention des séquences.....	179
3.1 - Extraction.....	179
3.2 - Amplification et purification.....	180
3.3 - Séquençage et lecture des séquences.....	181
4 - Alignement des séquences.....	181
4.1 - COI.....	182
4.2 - 28S-D1.....	183
4.2.1 - Alignements manuels.....	183
4.2.2 - Optimisation directe.....	183
5 - Description des séquences.....	184
5.1 - Description des matrices.....	184
5.2 - Composition en bases.....	184
5.3 - Saturation.....	186
6 - Analyses phylogénétiques.....	187
6.1 - Congruence des jeux de données.....	187
6.2 - Analyses phylogénétiques.....	187
6.2.1 - PAUP.....	188
6.2.2 - POY.....	189
6.3 - Homoplasie.....	191
6.3.1 - Indice de cohérence (IC).....	191
6.3.2 - Indice de rétention (IR).....	191
6.4 - Robustesse des noeuds.....	192
6.4.1 - Jackknife.....	192
6.4.2 - Indice de Bremer.....	192
B - RESULTATS.....	193
1 - Analyse du marqueur 28S-D1.....	194
1.1 - Analyse avec PAUP.....	194
1.2 - Analyse avec POY.....	194
2 - Analyse du marqueur COI.....	195
2.1 - Analyse avec PAUP.....	195
2.2 - Analyse avec POY.....	195
3 - Analyse combinée des deux marqueurs.....	196
3.1 - Analyse avec PAUP.....	196
3.2 - Analyse avec POY.....	196
C - DISCUSSION.....	204
D - CONCLUSION.....	208

Chez les Cidaroida, la définition des homologies primaires en morphologie pose de nombreux problèmes liés en particulier au mode de croissance de ces organismes (partie II). Les approches phylogénétiques sur ce groupe sont rares (A. B. Smith et Whright, 1989) et controversées (partie I, A, 2). Les résultats que j'ai obtenus lors de cette thèse ne m'ont pas permis d'envisager la définition d'homologies préalable à la réalisation d'une phylogénie. En revanche, les caractères moléculaires se prêtent particulièrement bien à une approche phylogénétique et ce quel que soit le groupe étudié. Ce dernier chapitre présente donc les résultats obtenus suite à l'analyse phylogénétique de deux marqueurs moléculaires (28S-D1 et COI).

A ce jour, aucun résultat de phylogénie moléculaire n'a été publié sur l'ordre des Cidaroida. Pourtant, plusieurs auteurs ont montré l'intérêt des données moléculaires pour élucider les relations de parenté au sein des échinides. Matsuoka (1993) a publié une révision des travaux de biochimie, d'immunologie et d'électrophorèse débutés dans les années 80 et réalisés sur plusieurs groupes d'échinides. Plus récemment, des phylogénies moléculaires ont été publiées à partir des analyses d'hybridations ADN/ADN (Marshall et Swift, 1992) ainsi que des comparaisons de séquences nucléaires non codantes constituant les sous-unités 28S et 18S de l'ARN ribosomal (Féral et Derelle, 1991 ; A. B. Smith *et al.*, 1992 ; Féral *et al.*, 1994 ; Littlewood et Smith, 1995). Par ailleurs, Suzuki et Yoshino (1992), Suzuki *et al.* (1988) et Zigler et Lessios (2003) ont montré les implications phylogéniques de l'étude des séquences protéiques et nucléiques de la protéine «bindin» (présente dans le sperme des échinides). Lessios *et al.* (1999, 2001) ont réalisé des études phylogéographiques sur certains genres d'échinides à partir de séquences de l'ADN mitochondrial codant pour la Cytochrome Oxydase I (COI). La première de ces études a d'ailleurs été réalisée sur le genre *Eucidaris* appartenant à la famille des Cidaridae. Dernièrement, Y.-H. Lee (2003) a exploité les séquences codant pour la COI et une sous-unité de la NADH déshydrogénase ainsi que la séquence de l'ADN mitochondrial 12S.

Les travaux présentés dans ce chapitre ont été initiés lors de l'encadrement d'un stage de DEA (Bonhomme, 2002). J'ai ajouté de nouvelles séquences à celles déjà obtenues à l'issue du stage (par M. G. Bonhomme) et j'ai réalisé de nouvelles analyses sur l'ensemble des données obtenues.

A - MATÉRIEL ET MÉTHODE

1 - Choix des taxa

Parmi les espèces incluses dans les analyses, il faut distinguer les taxa déterminés et séquencés pendant cette étude (31 taxa/Annexe 20) des taxa pour lesquels les séquences ont été récupérées sur la base de données Genbank (5 taxa/Annexe 21).

Le choix des spécimens a été guidé en particulier par la disponibilité des taxa en collection. Il a fallu, au préalable, effectuer les travaux taxonomiques nécessaires à la détermination du plus grand nombre d'espèces possibles, les spécimens récents d'échinides étant pour la plupart indéterminés dans les collections du Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN). J'ai fait appel à des spécialistes pour la détermination des échinides réguliers (non Cidaroida) et irréguliers et je me suis chargé de la détermination des Cidaroida (Annexe 20).

La majorité du matériel séquencé (23 taxa sur 31) a été récoltée entre 1985 et 2001 et est conservée dans les collections du MNHN en alcool titrant entre 70 et 80°. Le reste du matériel (8 taxa sur 31) est constitué de tissus prélevés sur des animaux fraîchement morts et fixés dans de l'alcool à 95°, lors de la mission SALOMON 1 (campagne du programme MUSORSTOM) qui s'est déroulée dans l'archipel des îles Salomon en octobre 2001. Les spécimens sur lesquels les prélèvements ont été faits sont conservés dans les collections du MNHN. Il faut noter que des extractions ont également été tentées sur du matériel sec non disponible en alcool mais que le séquençage a échoué.

1.1 - Le groupe interne

Le groupe interne est constitué uniquement par des échinides (Tableau 3.1). Vingt-six espèces de Cidaridae appartenant à 15 genres (sur les 33 reconnus par Mortensen, 1928) ont été séquencées. La seule espèce actuelle incluse dans la famille des Psychocidaridae a été ajoutée (*Psychocidaris oshimai*) ainsi que deux espèces d'échinides réguliers non Cidaridae (dont une récupérée sur Genbank) et quatre espèces d'échinides irréguliers (dont une récupérée sur Genbank). Dans la mesure du possible, l'espèce type de chaque sous-tribu selon Mortensen (Annexe 1) a été intégrée aux analyses.

Phylogénie	Matériel inclu dans les analyses				Séquences		
	Classe	Ordre	Famille	Espèces	28S-D1	COI	
groupe externe	Crinoidea	Comatulida	Antedonidae	<i>Florometra serratissima</i>	X	X	
	Astroidea	Velatida	Solasteridae	<i>Crossaster papposus</i>	X	X	
	Ophiuroidea	Ophiurida	Ophiactidae	<i>Ophiopholis aculeata</i>	X	X	
groupe interne	Echinoidea	Spatangoida	Asterostomatidae	<i>Heterobrissus niassicus</i>	X	X	
			Spatangidae	<i>Maretia</i> sp.	X	X	
			Schizasteridae	<i>Brisaster fragilis</i>	X	X	
		Clypeasteroida	Laganidae	<i>Peronella</i> sp.	X	X	
		Echinoidea	Echinidae	<i>Paracentrotus lividus</i>	X	X	
			?	juvéniles	X	X	
		Cidaroida	Cidaridae	Psychocidaridae	<i>Psychocidaris oshimai</i>	X	X
				<i>Acanthocidaris curvatispinis</i>	X	X	
				<i>Cidaris cidaris</i>	X	X	
				<i>Ctenocidaris</i> sp. (juvéniles)	X		
				<i>Eucidaris metularia</i>	X		
				<i>Goniocidaris</i> sp1.	X		
				<i>Goniocidaris</i> sp2.	X	X	
				<i>Goniocidaris</i> sp3.	X	X	
				<i>Goniocidaris</i> sp4.	X	X	
				<i>Goniocidaris</i> sp5.	X	X	
				<i>Goniocidaris</i> sp6.	X		
				<i>Goniocidaris</i> sp7.	X	X	
				<i>Histocidaris elegans</i>	X	X	
				<i>Histocidaris magnifica</i>	X		
				<i>Notocidaris mortenseni</i>	X		
				<i>Phyllacanthus imperialis</i>	X		
				<i>Plococidaris verticillata</i>	X	X	
				<i>Prionocidaris popeae</i>	X	X	
				<i>Rhopalocidaris</i> sp.		X	
				<i>Stereocidaris leucacantha</i>		X	
		<i>Stereocidaris microtuberculata</i>	X	X			
		<i>Stylocidaris affinis</i>	X	X			
<i>Stylocidaris lineata</i>	X	X					
<i>Stylocidaris bracteata ou albidens</i>	X						
<i>Stylocidaris brevicollis</i>	X						
<i>Stylocidaris calacantha</i>	X						
<i>Tretocidaris</i> sp.	X						

Tableau 3.1 - Liste des espèces incluses dans les analyses phylogéniques et gènes séquencés.

Les Cidaroida appartiennent à la sous-classe des Cidaroida (Smith, 1984) tandis que les Spatangoida, Clypeasteroida et Echinoidea appartiennent à la sous-classe des Euechinoidea (Smith, 1984). Les Spatangoida et les Clypeasteroida appartiennent à la cohorte des Irregularia.

En grisé : espèces pour lesquelles les séquences proviennent de Genbank. X = séquence disponible. ? = non déterminé.

1.2 - Le groupe externe

Le groupe externe permet d'enraciner l'arbre phylogénétique, c'est à dire de polariser les transformations des états de caractères. D'une manière générale, pour limiter les phénomènes d'attraction de longues branches et pour pouvoir tester la monophylie du groupe étudié, il convient d'utiliser plusieurs taxa extra-groupes. Des taxa non monophylétiques et relativement proche phylogénétiquement du groupe interne doivent être privilégiés (Barriel et Tassy, 1998). Les relations phylogénétiques entre les cinq classes d'échinodermes sont controversées. Les travaux réalisés depuis le début des années 80 soutiennent en particulier deux hypothèses phylogénétiques (Fig. 3.1). La position basale des crinoïdes semble être acquise ainsi que la proche parenté des échinides et des holothurides. Les discussions portent sur la position des astérides et des ophiurides. Au regard de ces hypothèses et des taxa disponibles, trois espèces appartenant à trois classes (crinoïde, ophiuride, astéride) ont donc été sélectionnées comme groupe externe (Annexe 21). Les séquences d'holothurides disponibles sur Genbank ont été écartées car j'ai constaté des absences d'homologie avec les autres séquences d'échinodermes en particulier sur les zones conservées des portions de gène. Il est possible que des erreurs dans les séquences soient responsables de ces problèmes d'homologie. Compte tenu de l'impossibilité de contrôler la qualité des séquences, j'ai donc préféré les supprimer.

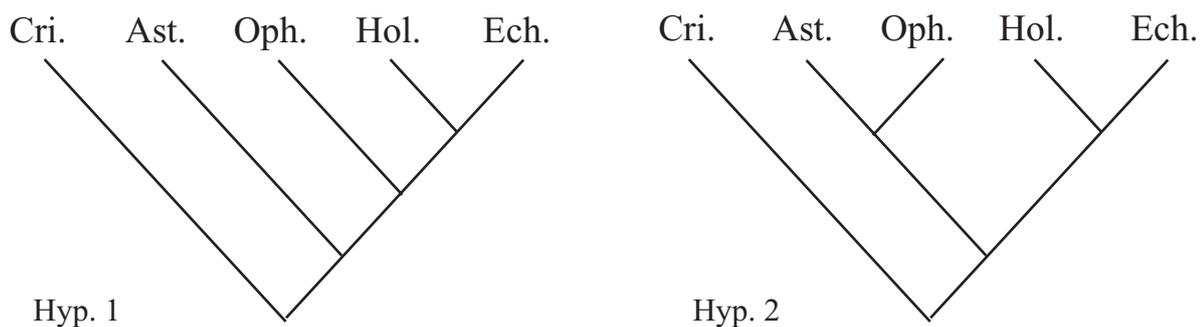


Figure 3.1 - Deux hypothèses principales de relation de parentés entre les cinq classes actuelles d'échinodermes. Hyp. 1 = hypothèse 1 soutenue par les données statigraphiques de A. B. Smith (1988) et par les données moléculaires (28S) de Ratto et Christen (1990). Hyp. 2 = hypothèse 2 soutenue par les données concernant l'arrangement des gènes mitochondriaux de M. J. Smith *et al.* (1993) et par les données morphologiques de Mooi et David (1997). Ces deux hypothèses sont soutenues par les analyses en «total evidence» (morphologie+moléculaire) synthétisées par Littlewood *et al.* (1997). Cri. = crinoïdes, Ast. = astérides, Oph. = ophiurides, Hol. = holothurides, Ech. = échinides.

2 - Gènes utilisés

J'ai recherché dans la littérature concernant la phylogénie des Echinodermes, le type de séquences utilisées. Deux marqueurs évoluant à des vitesses différentes supposées adaptées à la problématique, ont été sélectionnés (28S-D1 et COI).

2.1 - 28S-D1

Le premier marqueur a été utilisé par Ratto et Christen (1990) pour définir les relations phylogénétiques au sein des échinodermes ainsi que par A. B. Smith *et al.* (1992) et Littlewood et A. B. Smith (1995) dans des travaux portant sur les relations de parentés au sein des échinides. Il s'agit du domaine D1 de la séquence nucléaire non codante constituant la sous-unité 28S de l'ARN ribosomique. Ce gène représente 4700 paires de bases (pb) réparties en 12 domaines variables et 12 domaines conservés. Le domaine D1 séquencé est le premier domaine variable de 350 pb. Ce marqueur devrait être informatif pour les relations supra-génériques et inter-génériques.

2.2 - COI

Le second marqueur est utilisé par Lessios *et al.* (1999, 2001) pour définir des relations de parentés entre espèces au sein des genres *Eucidaris* et *Diadema*. Il s'agit du gène mitochondrial codant pour la première sous-unité de la Cytochrome Oxydase (COI). Ce gène d'environ 1500 pb devrait être informatif au niveau inter-générique et inter-spécifique. Un fragment d'environ 500 pb a été séquencé.

3 - Obtention des séquences

3.1 - Extraction

Les tissus sont prélevés dans les gonades et les intestins à l'intérieur du test. Le principe d'extraction consiste en une lyse enzymatique de substrat (CTAB), puis une purification de l'extrait génomique total par déprotéinisation (Chloroforme-Isoamyle). L'extrait d'ADN purifié est ensuite précipité (Isopropanol), nettoyé (Ethanol) et remis en suspension (H₂O) pour être

conservé à une température de -20°C. Le protocole est détaillé en annexe 22 (Phase 1).

La concentration d'ADN en solution est estimée par un dosage en spectrophotométrie qui mesure l'absorbance du soluté à 260 nm. Ainsi, suivant le matériel, entre 12 et 332 µg d'ADN ont été extraits.

3.2 - Amplification et purification

L'amplification permet à la fois de cibler exactement, grâce à des amorces, les portions de l'ADN qui vont être analysées, et d'obtenir une quantité suffisante de ces fragments en vue de leur séquençage. La technique d'amplification est la PCR (*Polymerase Chain Reaction* ; Mullis et Faloona, 1987) dont le principe consiste en la répétition de phases d'élongation à partir d'amorces et d'une ADN polymérase. Le protocole est présenté en annexe 22 (Phase 2).

Pour le marqueur 28S-D1, des amorces universelles ont été utilisées (Baroin *et al.*, 1988). Pour le marqueur COI, des amorces spécifiques ont été élaborés (Bonhomme, 2002), en raison de la grande variabilité de ce gène au sein des échinides. Pour les définir, les séquences d'oursins disponibles dans la base de données Genbank ont été alignées. Puis, des zones constantes d'une vingtaine de paires de bases ont été repérées, sélectionnées. La synthèse a été effectuée par un laboratoire privé. Les amorces sont présentées dans le tableau 3.2.

Amorce	Cible	Séquence
C'1 universelle	28S-D1	5' - ACC CGC TGA ATT TAA GCA T - 3'
C2 universelle	28S-D1	5' - TGA ACT CTC TCT TCA AAG TTC TTT TC - 3'
1L spécifique	COI	5' - AAC TAA GAC GAT GAY TAT TTT CTA C -3'
150L spécifique	COI	5' - AAG AYG ACC AAA THT AYA A -3'
190L spécifique	COI	5' - ATG ATH TTY TTY ATG GTW ATG CC - 3'
345L spécifique	COI	5' - GCH GGA GTA GAA AGA GGA GC - 3'
660H spécifique	COI	5' - TCT CCT CCT CCT GCW GGG TC - 3'
710H spécifique	COI	5' - ACY TCK GGG TGD CCA AAR AA - 3'
955H spécifique	COI	5' - TTG CCA TTC AKC TRA ATA CCT - 3'

Tableau 3.2 - Liste des amorces utilisées pour l'amplification par PCR des deux marqueurs 28S-D1 et COI. 28S-D1 = premier domaine variable de la sous-unité 28s de l'ARN ribosomique nucléaire ; COI = gène codant pour la première sous-unité de la cytochrome oxydase.

La qualité du produit des PCR est contrôlée par visualisation sous ultra-violets, après migration sur un gel d'agarose. La bande formée par les fragments amplifiés est comparée à un marqueur

témoin dont la taille, facteur limitant de la migration, est connue *a priori*. Ensuite, le fragment étudié est purifié à partir du gel à l'aide du kit «MinElute» (Quiagen S.A.). L'agarose est éliminé et l'ADN récupéré dans de l'eau avant dosage à l'aide d'un spectrophotomètre.

3.3 - Séquençage et lecture des séquences

Le principe du séquençage selon la méthode de Sanger *et al.* (1977) repose sur l'élongation d'un grand nombre de copies d'un brin matrice d'ADN par une polymérase à partir de l'extrémité 3'OH d'une amorce, avec arrêts aléatoires de la copie, provoqués par l'ajout de didésoxynucléotides (ddNTP). Comme les ddNTP sont marqués chacun d'un fluorochrome différent, il est possible d'identifier le dernier nucléotide de chaque brin synthétisé. La séquence du brin matrice utilisé lors des réactions de séquençage est donc obtenue en reliant la longueur relative du brin avec la nature de son nucléotide terminateur.

La totalité des séquences a été obtenue par séquençage direct sur un séquenceur automatique (séquenceur automatique *CEQ2000 Beckman à capillaires courts*, version 4.3.9, huit capillaires).

Les séquences sont obtenues après lecture automatique des pics de fluorescence des gels de séquençage. Elles sont éditées avec le logiciel BioEdit (Hall, 1999). Chacune des séquences a été vérifiée en plusieurs étapes. Dans un premier temps, celles-ci sont relues individuellement à l'aide des chromatogrammes. Puis, lorsque plusieurs séquences ont été obtenues à partir de différentes amorces sur les brins lourds et légers (deux amorces pour 28S-D1, de deux à six pour COI), les séquences sont alignées et un consensus est réalisé. Les zones ambiguës sont vérifiées par lecture en parallèle des pics de fluorescence et des séquences brutes. Enfin, l'identité des séquences obtenues avec d'autres séquences d'échinides a été recherchée à l'aide du programme Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>). Cette dernière étape permet d'éliminer la majorité des séquences contaminées.

4 - Alignement des séquences

L'alignement est une phase importante. En effet, lors de cette étape est réalisée l'hypothèse d'homologie primaire des caractères (ceux-ci étant les différents sites de la séquence d'ADN).

Trois grandes méthodes d'alignement peuvent être distinguées :

- l'alignement manuel («*by eye alignment*»);
- l'alignement multiple («*multiple sequence alignment*»);
- l'alignement par optimisation des cladogrammes.

De nombreux auteurs ont discuté de la méthode d'alignement et de ses conséquences sur la reconstruction phylogénétique. Ainsi, Morrison and Ellis (1997) ont montré que les variations dans les phylogénies obtenues pour un groupe dépendent plus du type d'alignement que de la méthode de reconstruction phylogénétique. Le type d'alignement, quant à lui, dépend entre autre du logiciel utilisé sauf dans le cas d'un alignement manuel. Plus récemment, Phillips *et al.* (1999) ont discuté de l'alignement multiple à la lumière des hypothèses d'homologie en reconstruction phylogénétique. Wheeler (2001) a comparé l'alignement multiple avec deux méthodes d'alignement procédant directement à l'optimisation des cladogrammes («*optimization alignment*» et «*fixed-state optimization*»).

Dans ces analyses, deux méthodes ont été utilisées :

- l'alignement manuel effectué par modification d'un préalignement CLUSTAL (alignement multiple);
- l'alignement par optimisation directe implémentée dans le logiciel POY.

4.1 - COI

Les séquences codantes ne possèdent pas d'insertion-délétion ponctuelles, seuls des *gaps* de codons entiers peuvent se présenter.

Les séquences du COI ne contiennent pas de *gap*. L'alignement manuel, réalisé sous le logiciel BioEdit, ne pose donc pas de problème. Afin de veiller au respect du cadre de lecture, un échinide pour lequel la séquence nucléotidique de la COI et la séquence protéique correspondante étaient disponibles (Landry *et al.*, 2003 ; GENBANK/AY262933), a été sélectionné. Cette séquence a servi de référence pour l'alignement des 25 séquences.

Les séquences ont été préalignées à l'aide de l'application «*ClustalW Multiple alignment*» disponible sous BioEdit. Ensuite, les alignements ont été vérifiés manuellement. Enfin, une fois l'alignement réalisé, compte tenu de l'hétérogénéité de longueur des gènes, les séquences ont été coupées aux extrémités 5' et 3' afin d'obtenir une matrice taxa/caractères homogène (25

taxa/447 pb). Les séquences de *Cidaris cidaris*, *Goniocidaris sp7* et *Prionocidaris popeae*, bien qu'incomplètes, ont été conservées dans la matrice. Les extrémités manquantes ont été complétées par des N (= données manquantes). Ceci peut avoir des conséquences sur les arbres obtenus (augmentation du nombre d'arbres équiparcimonieux ; diminution de la résolution... ; voir Kitching *et al.*, 1998).

4.2 - 28S-D1

4.2.1 - Alignements manuels

Les séquences sont alignées à la main sous BioEdit à partir d'un préalignement obtenu à l'aide de l'application «*ClustalW Multiple alignment*».

Le marqueur 28S-D1 est non codant ce qui implique que les séquences peuvent posséder des *gaps* décalant le cadre de lecture.

Les séquences comportent plusieurs zones très conservées ce qui a facilité l'alignement. Les *gaps* (ou indels) insérés sont courts (de une à trois bases). Pour cette raison, chaque base des indels est traité indépendamment.

Finalement, deux alignements ont été effectués : le premier sur les 34 séquences de 28S-D1 disponibles, le second sur les 23 séquences incluses dans l'analyse combinée (28S-D1/COI). Dans les deux cas, les séquences ont été coupées aux extrémités 5' et 3' afin d'obtenir deux matrices taxa/caractères homogènes de 239 et 234 bases.

4.2.2 - Optimisation directe

Une procédure d'optimisation directe (Wheeler, 1996) implémentée dans le logiciel POY, version 3.0.11 (Wheeler *et al.*, 2003) a été utilisée. L'optimisation directe est une recherche d'alignements couplée à la construction de l'arbre. Une analyse phylogénétique pourra donc produire plusieurs alignements puisque chaque alignement qui produira un arbre le plus parcimonieux sera conservé.

Afin de limiter les temps de calcul, les séquences fournies à POY ont été préparées. Ainsi, un préalignement des séquences a été effectué sous BioEdit. Puis, les séquences ont été coupées aux extrémités 5' et 3'. Enfin, les *gaps* ont été supprimés et les séquences de longueurs inégales ont été fournies au logiciel pour les analyses.

Je reviendrai dans la partie «Analyses phylogénétiques» sur l'utilisation détaillée de POY.

5 - Description des séquences

5.1 - Description des matrices

Les informations relatives au nombre de sites qui constituent les matrices obtenues par alignement manuel et par optimisation directe pour les différentes analyses sont présentées dans le tableau 3.3.

analyse	Nb. seq.	marqueur	alignement	Nb. de pb	Nb. sites informatifs
individuelle 28S-D1	34	28S-D1	manuel	239	91
			optimisation POY (+ de 200)	249	77
individuelle COI	25	COI	manuel	447	169
combinée 28S-D1 & COI	23	28S-D1	manuel	234	86
			optimisation POY	247	83
		COI	manuel	447	167

Tableau 3.3 - Description des matrices de données alignées.

Nb. seq. = nombre de séquences incluses dans l'analyse ; Nb. de pb = nombre de sites restants après préparation de la matrice ; Nb sites informatifs = nombre de sites informatifs.

(+ de 200) indique le nombre d'optimisations fournies par POY (le nombre de sites indiqué correspond donc à une optimisation prise au hasard). Dans le cas de l'analyse combinée une seule optimisation a été obtenue.

5.2 - Composition en bases

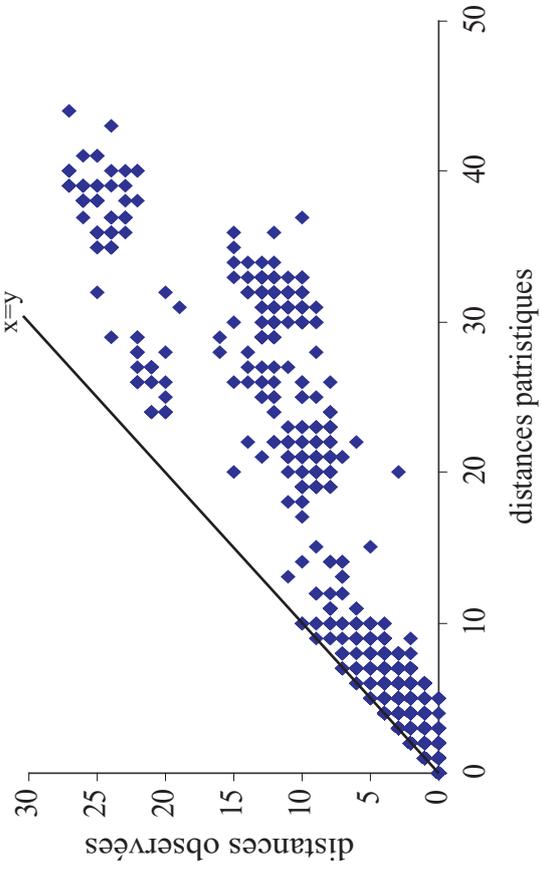
La composition en bases est indiquée dans le tableau 3.4 pour les matrices complètes 28S-D1 (34 séquences) et COI (25 séquences).

Marqueur	Nb. seq.	A	C	T	G	N
28S-D1	34	16,6	29,6	37,1	16,6	0,1
COI	25	27,3	23,4	17,4	29,7	2,2

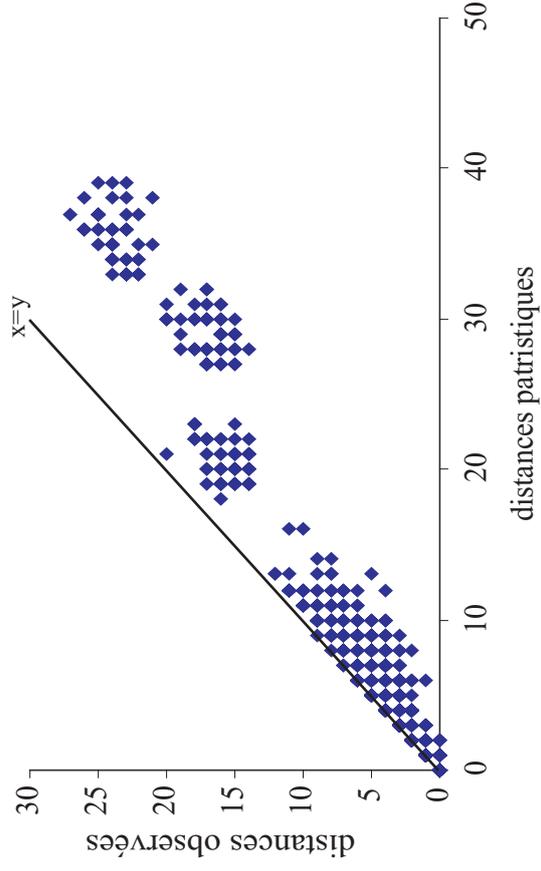
Tableau 3.4 - Fréquences relatives des bases azotées et des données manquantes (N) dans les deux gènes.

Nb. seq. = nombre de séquences incluses dans les analyses individuelles.

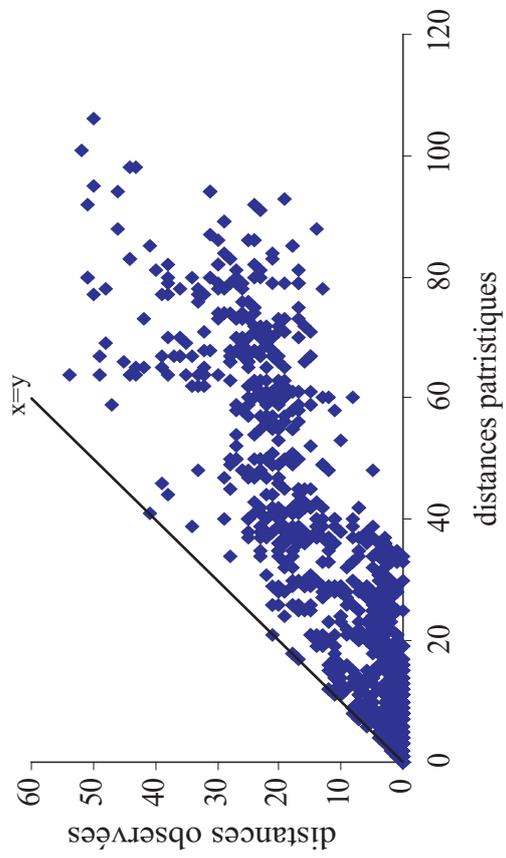
28S-D1 : transversions



28S-D1 : transitions



COI : transversions



COI : transitions

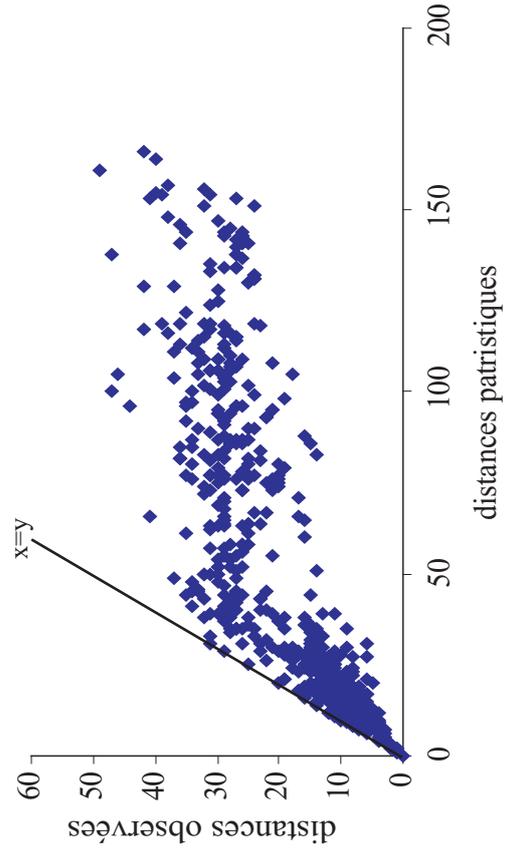


Figure 3.2 - Estimation de la saturation des marqueurs 28S-D1 et COI.

Chaque point correspond à un couple de séquences. Les droites $x=y$ correspondent aux valeurs théoriques pour lesquelles la distance observée est égale à la distance patristique (pas de saturation).

Les séquences codant le 28S-D1 contiennent en majorité des thymines et des cytosines tandis que les séquences codant le COI présentent un biais en adénines et guanines. Les données manquantes sont plus fréquentes pour la COI à cause des trois taxa évoqués précédemment pour lesquels les séquences sont incomplètes (*Cidaris cidaris*, *Goniocidaris sp7* et *Prionocidaris popeae*).

5.3 - Saturation

La saturation absolue (Hassassin *et al.*, 1998) a été estimée pour chaque marqueur. Cette approche a pour objectif la description des jeux de données disponibles. Il ne s'agit pas d'élaborer une stratégie de pondération comme certains auteurs l'ont proposé (Hassassin *et al.*, 1998). C'est pourquoi, la saturation a été mesurée en partitionnant les jeux de données en deux sous-matrices, d'une part les transversions et d'autre part les transitions. Autrement dit, la saturation n'a pas été considérée pour chaque type de substitution ou pour chaque position du codon pour le gène codant de la COI. Il faut souligner que certains travaux (Philippe *et al.*, 1996 ; Källersjö *et al.*, 1999) ont montré que les positions ou les substitutions saturées sont souvent porteuses d'autant d'information phylogénétique que les sites non saturés.

L'analyse de la saturation est graphique. Il s'agit de mettre en relation pour chaque paire de taxa de la matrice la distance observée entre ces deux taxa (c'est-à-dire le nombre de nucléotides différents d'une séquence à l'autre) et la distance patristique (c'est-à-dire le nombre de substitutions inférées sur les branches reliant deux taxa) calculée sur un des arbres les plus parcimonieux. Les distances ont été calculées avec PAUP 4.0b 10 (Swofford, 1998). La matrice rectangulaire fournie par PAUP a été modifiée et les courbes de saturation ont été réalisées à l'aide du programme TransPaupMatrix (Eléaume, 2004) fonctionnant sous Excel 2002. Chaque point des courbes correspond à une paire de taxa (Figure 3.2).

Si le jeu de données ne contient pas d'homoplasie, la distance observée correspond exactement à la distance patristique, tous les points se trouvent sur la droite $x=y$. Si le jeu de données a subi un nombre élevé de substitutions, le nuage de points quitte la droite de pente 1 pour former un plateau sous celle-ci. Ainsi, lorsque le jeu est peu saturé, cette pente est proche de 1 et décroît avec l'augmentation de la saturation (l'homoplasie augmente). La saturation est faible en ce qui concerne l'ensemble des sites (transversions et transitions) du marqueur 28S-D1. De la même

façon, les transversions du marqueur du COI sont peu homoplasiques. En revanche les transitions pour ce même gène sont saturées, le nuage de points présentant un plateau caractéristique.

6 - Analyses phylogénétiques

6.1 - Congruence des jeux de données

La congruence des caractères des deux jeux de données a été mesurée à l'aide du test ILD (*Incongruence Length Difference* / Farris *et al.*, 1995a, 1995b) selon le principe de l'analyse combinée conditionnelle (Huelsenbeck *et al.*, 1996).

Le principe du test ILD est de tester la non-congruence entre jeux de données, l'hypothèse nulle étant la congruence de leurs signaux phylogénétiques respectifs. Des analyses de parcimonie sont réalisées pour chacun des jeux de données x et y. La longueur des arbres obtenus, L_x et L_y , est additionnée (L_x+L_y). Cette longueur est comparée à la somme des longueurs des arbres obtenus à partir de deux jeux de données p et q (L_p+L_q), de même taille que x et y, mais obtenus par échantillonnage aléatoire des jeux de données originaux x et y. Cette procédure est répétée W fois (ici, $W=1000$), et on compte le nombre de fois S où $(L_x+L_y) < (L_p+L_q)$. L'hypothèse de congruence est rejetée au seuil de 5%, si S est supérieur à 950 pour 1000 échantillonnages. La non-congruence entre les jeux de données x et y est alors supérieure à celle attendue au hasard.

D'après Farris *et al.* (1995a), si la congruence est forte, c'est à dire statistiquement non significative, les jeux de données peuvent être combinés. En revanche si la congruence est faible, c'est à dire statistiquement significative, les jeux de données ne doivent pas être combinés et il faut déterminer l'origine du conflit afin de voir si les jeux de données ont des histoires évolutives différentes.

Le test a été effectué avec le logiciel PAUP (*partition homogeneity test*) (Swofford, 1998) après exclusion des caractères non informatifs (M. S. Y. Lee, 2001). J'ai testé la congruence des deux jeux de données dans le cas des analyses combinées menées avec PAUP et POY.

Ainsi, la congruence a été testée d'une part entre les deux jeux de données alignés à la main ($P=0.878$ soit $S=122/1000$ i. e. test non significatif) d'autre part entre l'alignement manuel de COI et l'optimisation de 28S fournie par POY ($P=0.775$ soit $S=225/1000$ i. e. test non

significatif).

Les matrices sont donc clairement congruentes. L'analyse combinée des deux jeux de données se justifie.

6.2 - Analyses phylogénétiques

Toutes les analyses ont été réalisées avec la méthode du maximum de parcimonie (Kluge et Farris, 1969) qui postule que l'évolution est un processus parcimonieux. Elle vise à minimiser le nombre de changements d'états permettant d'expliquer la phylogénie des taxa considérés. De plus, les relations phylétiques sont basées sur les événements évolutifs partagés (synapomorphies).

Deux logiciels ont été utilisés : PAUP et POY. Ces deux logiciels diffèrent par leur fonctionnement. En effet, PAUP réalise les analyses à partir d'alignements qui lui sont fournis tandis que POY réalise alignement et analyses en parallèle (optimisation directe).

Toutes les analyses ont été réalisées sans pondération *a priori* des caractères («equal weighting»). Autrement dit, le coût des *gaps*, des transitions et des transversions est de 1.

6.2.1 - PAUP

Les analyses ont été réalisées avec le logiciel PAUP 4.0b 10 (Swofford, 1998). Les *gaps* sont codés comme un nouvel état de caractère («*new state*»). Les trois taxa *Florometra serratissima*, *Crossaster papposus* et *Ophiopholis aculeata* ont été désignés comme groupe externe avec l'option «*root tree at internal node with basal polytomy*». L'option d'optimisation utilisée est celle par défaut, soit ACCTRAN (Accelerated Transformation), qui place les transformations le plus tôt possible dans l'arbre, c'est-à-dire qu'elle tend à favoriser les réversions.

Chaque analyse a été réalisée en permutant le premier taxon dans la matrice (parmi les trois taxa du groupe externe) comme proposé par Barriel et Tassy (1998) afin de tester la monophylie de l'ingroup.

Les arbres sont obtenus à la suite d'un Jackknife de 1000 analyses heuristiques, avec un arbre de départ obtenu par addition aléatoire des taxa («*stepwise random sequence addition*») et algorithme de réarrangement des branches de type «*Tree Bisection Reconnection (TBR)*». Le test de Jackknife (Lanyon, 1985) est une méthode de ré-échantillonnage qui a été appliquée aux données phylogénétiques par Mueller et Ayala (1982). Le consensus de Jackknife (Lanyon,

1985) est souvent proche de l'arbre optimal et présente l'avantage de donner une vision globale et statistique de l'information contenue dans la matrice. Les arbres obtenus ont été sauvegardés avec l'option «*brlens*» afin que les arbres incluent les longueurs des branches. Les longueurs sont proportionnelles au nombre de changements évolutifs.

La permutation des groupes externes dans la matrice n'a modifié ni la topologie du groupe interne, ni la robustesse des noeuds. Seuls les arbres obtenus avec *Florometra serratissima* en première position dans la matrice ont donc été conservés. Ainsi, trois arbres sont présentés dans les résultats : un pour le marqueur 28S-D1 (33 taxa), un pour le marqueur du COI (25 taxa) et un pour l'analyse combinée incluant 28S-D1 et COI (25 taxa).

6.2.2 - POY

POY (Gladstein et Wheeler, 1997 ; Wheeler et Gladstein, 2000) est un programme récent pour l'analyse phylogénétique. Ce programme est basé sur le principe de parcimonie et sur l'optimisation directe des séquences. Cela implique qu'aucun alignement *a priori* n'est nécessaire pour réaliser les analyses. En effet, avec l'optimisation directe, alignements et analyses phylogénétiques sont réalisés simultanément. Toutes les hypothèses d'homologie des positions nucléotidiques qui permettent d'obtenir les arbres les plus parcimonieux sont acceptées comme l'explication la plus parcimonieuse des relations de parentés et de l'homologie des caractères (Wheeler, 1996). Ainsi, l'ensemble des arbres les plus parcimonieux résultant d'une analyse reposent sur plusieurs optimisations (\Leftrightarrow alignements) des caractères. Hormis le principe d'optimisation directe, les analyses réalisées sous POY diffèrent de celles effectuées sous PAUP sur deux points. D'une part, POY ne permet de sélectionner qu'un seul taxon en groupe externe. *Florometra serratissima* a donc été choisi, compte tenu des relations phylogénétiques évoquées précédemment entre les classes d'échinodermes. Ceci peut avoir des conséquences sur l'optimisation des caractères sur les arbres et donc sur la longueur des branches. D'autre part, POY utilise le «*Parsimony Ratchet*». Cette méthode récemment proposée (Nixon, 1999) est une méthode itérative qui vise à trouver plus rapidement les arbres les plus courts en supprimant le temps nécessaire à la recherche de nouveaux arbres de départ qui sont beaucoup moins optimaux que le dernier arbre obtenu après réarrangement des branches («*branch-swapping*»). Les temps de calcul de POY qui peuvent être extrêmement longs du fait de l'optimisation directe, sont

donc considérablement réduits. Sans cette méthode, les analyses réalisées avec un PC (Pentium 4 à 1.8Ghz, 1Go de mémoire vive) auraient été impossibles. A noter qu'un logiciel existe depuis peu (PAUPRat / Sikes et Lewis, 2001) pour implémenter sous PAUP le «*Parsimony Ratchet*». Ainsi, les deux arguments principaux qui ont conduit à l'utilisation de ce programme sont :

- les alignements obtenus ne dépendent pas d'une personne (autrement dit la «subjectivité» est uniquement dépendante du logiciel) ;
- l'optimisation du critère de parcimonie ce qui devrait donner des arbres plus courts.

POY traite les *gaps* comme de nouveaux états de caractères («*newstate*»). Les analyses ont été réalisées avec la version 3.0.11 (Wheeler *et al.*, 2003). Trois analyses séparées ont été réalisées (28S-D1, COI et combinée).

L'alignement du COI réalisé au préalable a été imposé avec la commande «*prealigned*». 50 répliquats et 20 sous-répliquats (-*replicates* 50 -*buildperreplicate* 20) avec l'algorithme de réarrangement des branches de type «*Tree Bisection Reconnection (TBR)*» (-*buildtbr*) ont été réalisés. Compte tenu du nombre de taxa qui augmentent considérablement les temps de calcul, seuls 15 répliquats et deux sous-répliquats ont été réalisés lors de l'analyse du marqueur 28S-D1. L'arbre le plus court obtenu à chaque cycle est soumis à dix cycles de «*Parsimony Ratchet*» avec sauvegarde de deux arbres par cycles, avec ré-échantillonnage de 10% des caractères dont le facteur de pondération est fixé à trois (-*ratchettbr* 10 -*ratchettrees* 2 -*ratchetpercent* 10 -*ratchetseverity* 3).

Ainsi, la ligne de commande pour l'analyse combinée (28S-D1+COI) se présente ainsi :

```
molecularmatrix 111.txt 28S.fas -prealigned COI.fas -replicates 50 -buildsperreplicate 20 -buildtbr  
-ratchettbr 10 -ratchetpercent 10 -ratchetseverity 3 -ratchettrees 2 -fitchtrees -diagnose -indices -  
impliedalignment -terminalfile taxa.txt -minterminals 50 -phastwincladfile A01.ss > A01.out 2> A01.  
log
```

Les lignes de commandes pour les deux analyses individuelles sont similaires.

Lorsqu'une analyse donne plusieurs arbres équiparcimonieux, un arbre de consensus strict (Nelson, 1979) est réalisé.

Trois arbres sont présentés dans les résultats de façon similaire aux analyses sous PAUP.

6.3 - Homoplasie

Les indices ont été calculés avec PAUP 4.0b 10 pour les analyses réalisées sous PAUP et sous POY.

6.3.1 - Indice de cohérence (IC)

L'indice de cohérence IC (Kluge et Farris, 1969) correspond au rapport du nombre minimum de transformations nécessaires à l'explication de tous les états de caractères sur le nombre effectif de transformations :

$IC = R/L$ avec R = nombre minimum de transformations et L = nombre effectif de transformations.

Lorsque le rapport tend vers 0, le jeu de données est riche en homoplasie et, par conséquent, pauvre en informations. Lorsqu'il tend vers 1, le jeu de données est peu homoplasique. Certains auteurs ont montré que l'IC est corrélé négativement avec le nombre de taxa inclus dans le jeu de données (Archie, 1989 ; Sanderson et Donoghue, 1989) et avec le nombre de caractères utilisés (Archie, 1989). En conséquence, l'IC ne devrait pas être utilisé pour comparer différents jeux de données. Cet indice reste utilisé comme indicateur du taux d'homoplasie. L'IC calculé après suppression des caractères non informatifs («*CI excluding uninformative characters*» sous PAUP) sera indiqué car il a été montré que l'inclusion des caractères non informatifs augmente artificiellement sa valeur.

6.3.2 - Indice de rétention (IR)

L'indice de rétention IR a été proposé par Farris (1989). Il est en général indiqué en complément de l'IC car n'est pas dépendant du nombre de taxa et du nombre de caractères comme l'IC. Cela permet de comparer des arbres issus de jeux de données différents (voir Kitching *et al.*, 1998). Il s'agit du rapport du nombre d'homoplasies observées sur le nombre d'homoplasies observables :

$IR = (G-L)/(G-R)$ avec G = nombre maximal de transformations pour le caractère considéré, R = nombre minimum de transformations et L = nombre effectif de transformations

Lorsque ce rapport tend vers 0, le jeu de données est pauvre en information.

6.4 - Robustesse des noeuds

6.4.1 - Jackknife

Ce test conseillé par Farris *et al.* (1996) consiste en un tirage aléatoire sans remise de k caractères parmi l'ensemble de l caractères du jeu de données avec $k = 67 \% l$, valeur conseillée par Farris *et al.* (1996). Le logiciel construit une matrice avec ces caractères et réalise une analyse phylogénique (options «*TBR swapping*» et «*stepwise random sequence addition*»). Le test est effectué n fois (ici, $n=1000$) et propose un arbre dont chaque noeud est accompagné d'une valeur de Jackknife laquelle correspond à un pourcentage d'apparition de ce noeud.

Les valeurs de Jackknife ont été calculées avec PAUP 4.0b 10 pour les analyses réalisées sous PAUP et sous POY. Dans les arbres retenus suite aux analyses, seuls les noeuds soutenus par une valeur de Jackknife supérieure à 50% sont conservés.

6.4.2 - Indice de Bremer

L'indice de Bremer (Bremer, 1994) correspond au nombre de pas supplémentaires que nécessite la disparition d'un noeud de l'arbre le plus parcimonieux.

Cet indice a été obtenu de deux façons suivant les analyses. Avec PAUP, il a été calculé à l'aide du logiciel (Sorensen, 1999) utilisé avec PAUP 4.0b 10. Avec POY, les valeurs sont obtenues en utilisant une approche heuristique implémentée dans POY à partir d'un fichier de contraintes généré par le programme JACK2HEN (sous Dos).

B - RÉSULTATS

Le nombre d'arbres équiparcimonieux obtenus suite à chacune des analyses ainsi que leurs caractéristiques sont résumés dans le tableau 3.5.

matrice	nb. Taxa	analyse	nb. arbres	nb. pas	IC	IC sans carac. non info.	IR
28S-D1	33	PAUP	52	284	0,78	0,73	0,79
		POY	493	240	0,84	0,76	0,86
COI	25	PAUP	2	984	0,39	0,35	0,44
		POY	10	984	0,39	0,35	0,44
28S-D1 + COI	23	PAUP	1	1194	0,48	0,44	0,50
		POY	1	1155	0,49	<0,44	0,52

Tableau 3.5 - Résultats des analyses des marqueurs 28S-D1 et de la COI.

nb. taxa = nombre de taxa ; nb. arbres = nombre d'arbres équiparcimonieux ; nb. pas = nombre de pas ; IC = indice de cohérence ; IC sans carac. non info. = indice de cohérence après suppression des caractères non informatifs ; IR = indice de rétention.

Dans le cas de l'analyse du marqueur 28S-D1 ainsi que pour l'analyse combinée, POY donne des arbres plus parcimonieux.

Les arbres obtenus avec PAUP et POY lors de l'analyse du marqueur de la COI sont équiparcimonieux. En effet, les deux logiciels ont réalisé leurs analyses sur le même alignement que j'ai imposé du fait de la contrainte liée à l'absence de *gaps* dans une séquence codante. Par contre, POY trouve dix arbres équiparcimonieux contre deux pour PAUP.

Je vais présenter en détail les topologies obtenues pour chacune des analyses. Les relations entre les trois taxa inclus dans le groupe externe ne seront pas discutées. Je m'intéresserai donc aux relations au sein des Euechinoidea en général et des Cidaroida en particulier. Pour faciliter la lecture des arbres, les clades principaux sont définis sur les figures par des barres verticales. Un code de couleur (noir pour les noeuds soutenus par une valeur de Jackknife supérieure à 70% et gris lorsque les noeud sont faiblement soutenus avec une valeur comprise entre 50 et 70%) permet de mettre en évidence la robustesse des noeuds. Lorsque l'un des clades observé correspond à un groupe déjà désigné dans le tableau 3.1, le nom sera reporté quelque soit le rang taxonomique (Ex : Cidaroida, *Goniocidaris*...). Le signe «+» pourra être associé au nom si le nombre de taxa inclu dans le clade est plus important. Cette présentation a été utilisée en raison

du nombre de taxa qui diffèrent selon les analyses. Les clade qui n'ont pas de correspondance dans la classification seront désignés par une lettre (Ex : A, B...).

Lors de la description des arbres, un noeud «faiblement soutenu» définit un noeud soutenu par une valeur de Jackknife comprise entre 50 et 70%, un noeud «bien soutenu» pour une valeur entre 70 et 90% et un noeud «fortement soutenu» pour une valeur supérieure à 90%.

1 - Analyse du marqueur 28S-D1

1.1 - Analyse avec PAUP (Fig. 3.3)

La matrice est peu homoplasique (IC = 0.78 ; IR = 0.79).

La monophylie des Echinoidea est fortement soutenue. Ce groupe se divise en deux clades : les Euechinoidea d'une part (fortement soutenu) et les Cidaroida d'autre part (faiblement soutenu). Au sein des Euechinoidea, les Irregularia (faiblement soutenu) sont groupe-frère des Echinoida (bien soutenu). Au sein des Irregularia, *Peronella sp.* apparaît comme groupe-frère des Spatangoida (bien soutenu). Les Cidaroida se divisent en deux clades : «B» (bien soutenu) et «E» (faiblement soutenu). Le clade «B» présente en position basale la seule espèce actuelle de la sous-famille des Psychocidaridae : *Psychocidaris oshimai*. Ce taxon est le groupe-frère du clade (fortement soutenu) (*Eucidaris metularia* (*Histocidaris magnifica*, *Histocidaris elegans*), le genre *Histocidaris* apparaissant monophylétique (bien soutenu). Le clade «E» présente une importante polytomie basale. Hormis deux clades mineurs et faiblement soutenus ((*Plococidaris verticillata*, *Tretocidaris sp.*) et (*Notocidaris mortenseni*, *Prionocidaris sp.*)), un clade «I» s'individualise bien que le noeud soit faiblement soutenu. Au sein de ce groupe, les *Goniocidaris* (avec sept taxa) apparaissent monophylétiques, le noeud étant fortement soutenu.

1.2 - Analyse avec POY (Fig. 3.4)

La matrice est peu homoplasique (IC = 0,84 ; IR = 0,86).

La monophylie des Echinoidea est fortement soutenue. Ce groupe présente une polytomie basale avec trois clades : Les Spatangoida (fortement soutenu), les Echinoida (bien soutenu) et les Cidaroida (fortement soutenu). La position de *Peronella sp.* n'est pas définie au sein

de la polytomie. Les Cidaroida se divisent en deux clades comme dans l'arbre précédent : le clade «B» (fortement soutenu) et le clade «E» (bien soutenu). Le clade «B» présente la même topologie que pour l'analyse sous PAUP : *Psychocidaris oshimai* groupe-frère du groupe (*Eucidaris metularia* (*Histocidaris elegans*, *Histocidaris magnifica*)), fortement soutenu. Le genre *Histocidaris* apparaît donc monophylétique mais le nœud est faiblement soutenu. Le clade «E» présente une polytomie basale. Seul le clade «I» (faiblement soutenu) s'individualise. Ce groupe contient le genre *Goniocidaris* (avec sept taxa) qui est fortement soutenu. Ainsi, l'analyse réalisée avec POY donne un arbre moins bien résolu. En revanche, les nœuds présents sont mieux soutenus (hormis le genre *Histocidaris*).

2 Analyse du marqueur COI

2.1 - Analyse avec PAUP (Fig. 3.5)

L'homoplasie contenue dans la matrice est importante (IC = 0,39 ; IR = 0,44).

La monophylie des Echinoidea est fortement soutenue. Le groupe interne présente une polytomie basale. Quatre clades s'individualisent :

- les Spatangoida (bien soutenu), les relations entre les trois taxa étant non résolues.
- les Echinoida (fortement soutenu)
- les Stylocidarina (faiblement soutenu)
- le clade «J» (fortement soutenu)

Au sein des Stylocidarina, *Stylocidaris* (fortement soutenu) est groupe-frère du clade «F» (faiblement soutenu) dont la topologie (faiblement soutenue) est (*Acanthocidaris curvatispinis* (*Plococidaris verticillata*, *Prionocidaris popeae*)). *Plococidaris verticillata* et *Prionocidaris popeae* constituent le clade «G», faiblement soutenu. Le clade «I» présente une polytomie basale. Seul le groupe *Goniocidaris* (cinq taxa, faiblement soutenu) est identifié.

2.2 - Analyse avec POY (Fig. 3.6)

La monophylie des Echinoidea est fortement soutenue. La topologie du groupe interne est semblable à celle obtenue avec PAUP. Trois nœuds faiblement soutenus sur l'arbre précédent disparaissent : le clade «F» (*Acanthocidaris curvatispinis* (*Plococidaris verticillata*,

Prionocidaris popeae)), le clade «G» (*Prionocidaris verticillata* et *Prionocidaris popeae*) ainsi que le genre *Goniocidaris*.

L'analyse du marqueur du COI fournit des arbres pour lesquels la résolution est globalement faible.

3 - Analyse combinée des deux marqueurs

3.1 - Analyse avec PAUP (Fig. 3.7)

L'homoplasie contenue dans la matrice est importante (IC = 0,48 ; IR = 0,50).

La monophylie des Echinoidea est fortement soutenue. Au sein du groupe interne, les positions de *Peronella* sp., *Psychocidaris oshimai* et *Histocidaris elegans* ne sont pas définies (irrésolution basale). Trois clades s'individualisent :

- les Spatangoida (fortement soutenu)
- les Echinoida (fortement soutenu)
- le clade «D» (bien soutenu) qui se divise en deux clades : les Stylocidarina (faiblement soutenu) et le clade «H» (fortement soutenu). Au sein du clade Stylocidarina, la topologie obtenue avec l'analyse du marqueur COI sous PAUP est retrouvée : *Stylocidaris* (fortement soutenu) groupe-frère du clade «F» (bien soutenu). Au sein de ce clade «F», *Acanthocidaris curvatispinis* est groupe-frère du clade «G» (*Plococidaris verticillata*, *Prionocidaris popeae*) (bien soutenu). Le clade «H» présente *Stereocidaris microtuberculata* groupe-frère du clade «K» (faiblement soutenu) constitué de *Cidaris cidaris* groupe-frère du genre *Goniocidaris* (5 taxa, fortement soutenu).

3.2 - Analyse avec POY (Fig. 3.8)

L'homoplasie contenue dans la matrice combinée est importante (IC = 0,49 ; IR = 0,52).

La monophylie des Echinoidea est fortement soutenue. Les clades présents dans l'analyse précédente (avec PAUP) sont conservés avec des noeuds aussi robustes. En revanche, la polytomie basale observée disparaît. Ainsi, *Peronella* sp. est groupe-frère d'un clade (bien soutenu) constitué de l'ensemble des autres échinides inclus dans l'analyse. Ce groupe présente

les Spatangoida (bien soutenu) en position basale et groupe-frère des échinides réguliers (Echinoida + Cidaroida, faiblement soutenu). Les Echinoida sont groupe-frère des Cidaroida (bien soutenu). Les Irregularia (*Peronella sp.* + *Brisaster fragilis* + *Maretia sp.* + *Heterobrissus niassicus*) ainsi que les Euechinoidea (Irregularia + Echinoida) sont donc paraphylétiques. Au sein des Cidaroida apparaissent deux clades :

-le clade «A» (faiblement soutenu) constitué de *Psychocidaris oshimai* et *Histocidaris elegans*.

-le clade «D» (bien soutenu) qui présente la même topologie qu'avec l'analyse sous PAUP.

Ainsi, l'analyse avec POY donne un arbre totalement résolu soutenant la monophylie des Cidaroida.

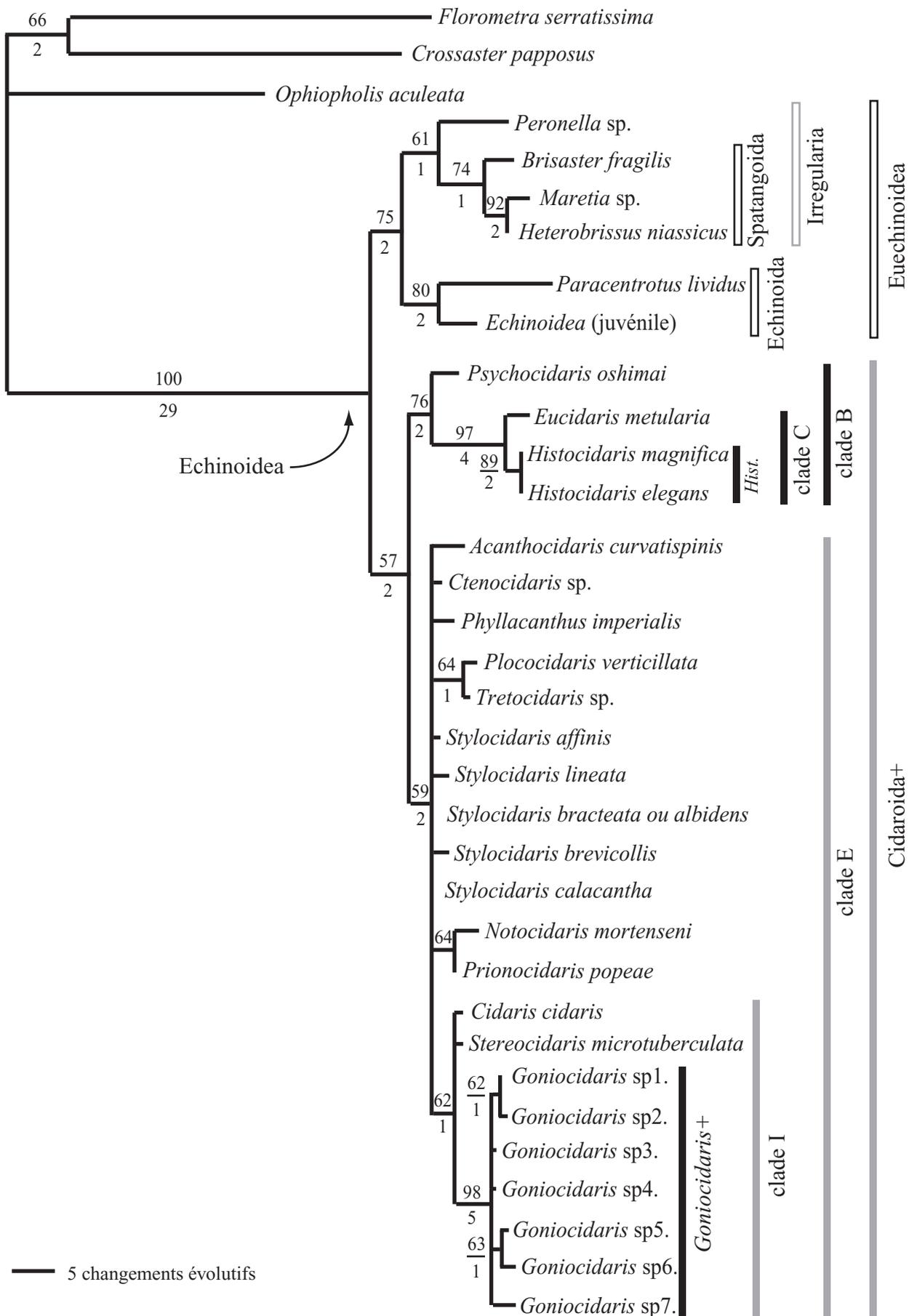


Figure 3.3 - Arbre de consensus de Jackknife de 52 arbres équiparcimonieux (L = 284 pas ; IC = 0,78 ; IR = 0,79) obtenus après une analyse du marqueur 28S-D1, en maximum de parcimonie, sous PAUP, chez les échinides. Valeurs au-dessus des noeuds = valeurs de Jackknife (seuls les noeuds avec une valeur >50% ont été retenus). Valeurs en-dessous des noeuds = indices de Bremer. Hist. = *Histocidaris*. Barres verticales creuses = clades appartenant aux Euechinoidea (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%). Barres verticales pleines = clades appartenant aux Cidaroida (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%).

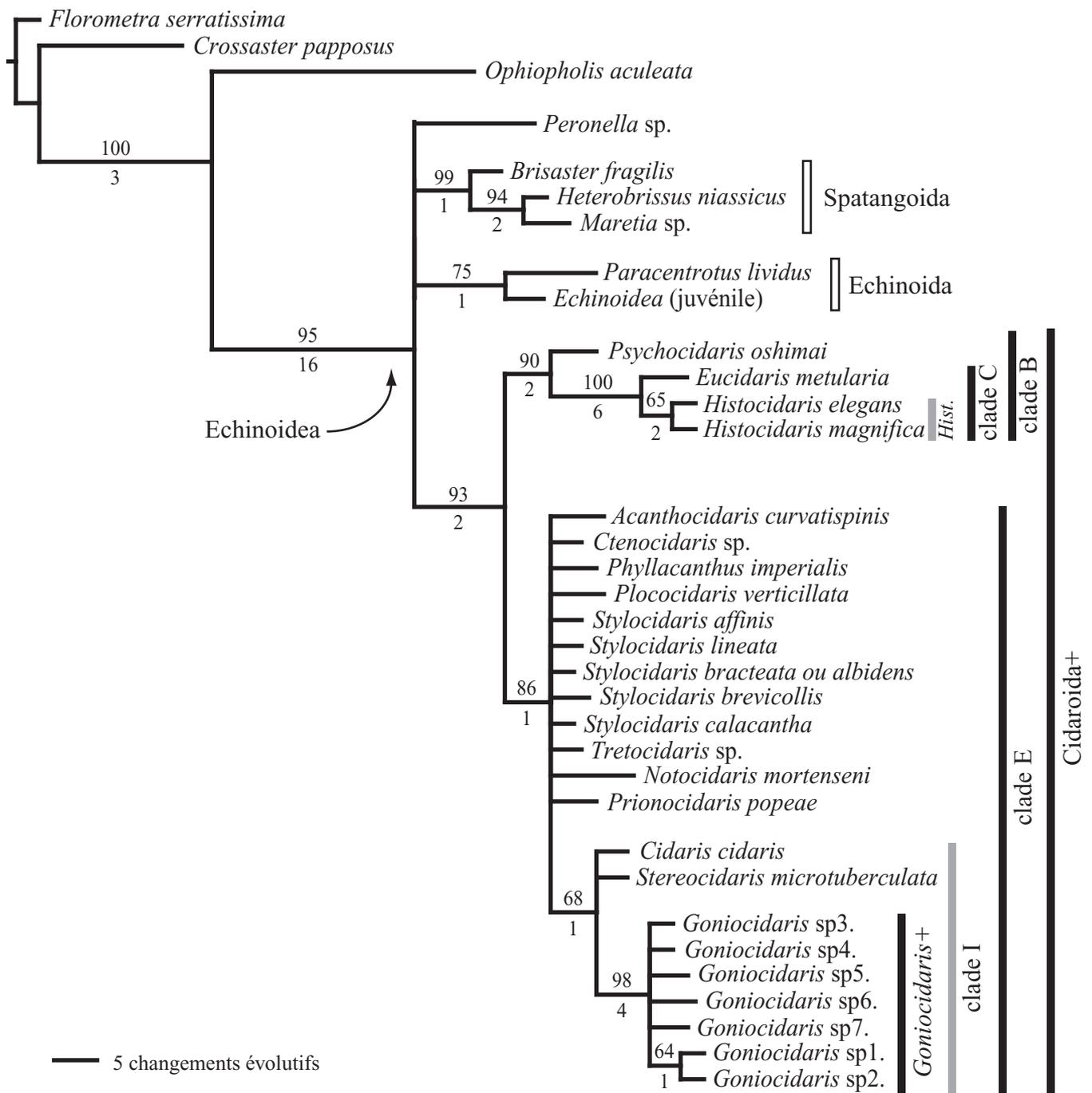


Figure 3.4 - Arbre de consensus strict de 493 arbres équiparcimonieux (L = 240 pas ; IC = 0,84 ; IR = 0,86) obtenus après une analyse du marqueur 28S-D1, en maximum de parcimonie, sous POY, chez les échinides. Valeurs au-dessus des noeuds = valeurs de Jackknife (seuls les noeuds avec une valeur >50% ont été retenus). Valeurs en-dessous des noeuds = indices de Bremer. *Hist.* = *Histocidaris*. Barres verticales creuses = clades appartenant aux Euechinoidea (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%). Barres verticales pleines = clades appartenant aux Cidaroida (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%).

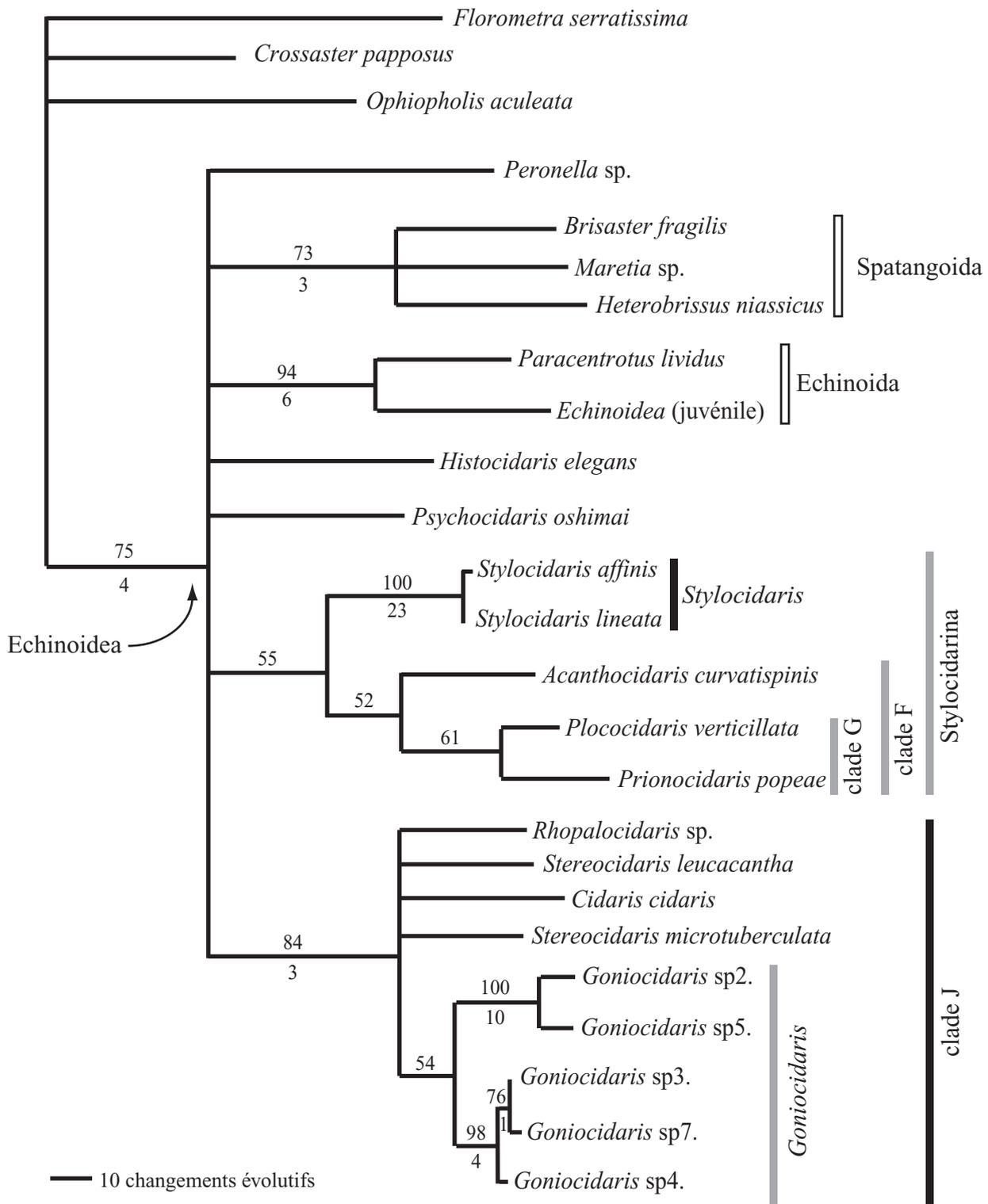


Figure 3.5 - Arbre de consensus de Jackknife de 2 arbres équiparcimonieux (L = 984 pas ; IC = 0,39 ; IR = 0,44) obtenus après une analyse du marqueur de la COI, en maximum de parcimonie, sous PAUP, chez les échinides. Valeurs au-dessus des noeuds = valeurs de Jackknife (seuls les noeuds avec une valeur >50% ont été retenus). Valeurs en-dessous des noeuds = indices de Bremer. Barres verticales creuses = clades appartenant aux Euechinoidea (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%). Barres verticales pleines = clades appartenant aux Cidaroida (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%).

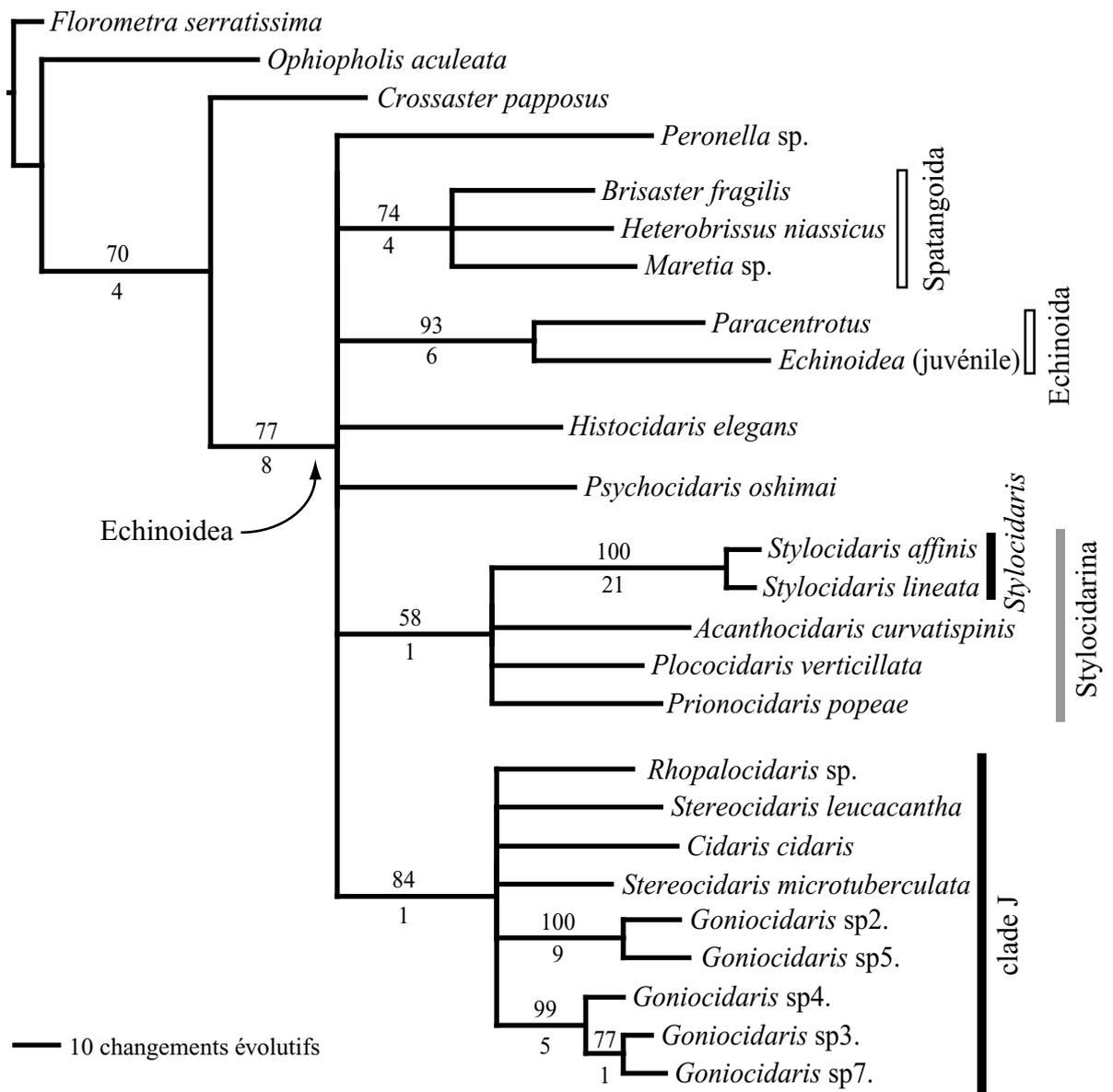


Figure 3.6 - Arbre de consensus strict de 10 arbres équiparcimonieux (L = 984 pas ; IC = 0,39 ; IR = 0,44) obtenus après une analyse du marqueur de la COI, en maximum de parcimonie, sous POY, chez les échinides. Valeurs au-dessus des noeuds = valeurs de Jackknife (seuls les noeuds avec une valeur >50% ont été retenus). Valeurs en-dessous des noeuds = indices de Bremer. *Hist.* = *Histocidaris*. Barres verticales creuses = clades appartenant aux Euechinoidea (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%). Barres verticales pleines = clades appartenant aux Cidaroida (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%).

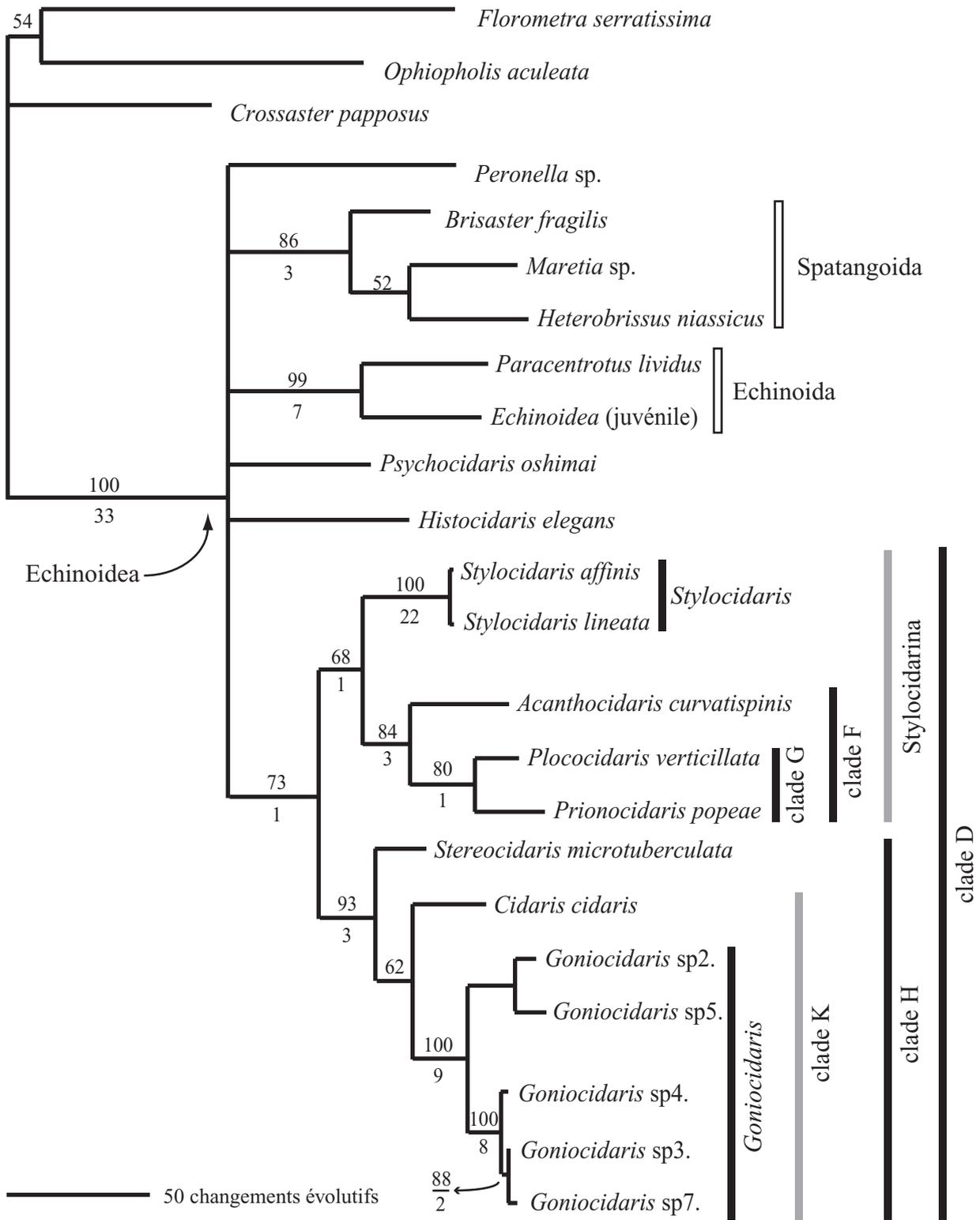


Figure 3.7 - Arbre de consensus de Jackknife d'1 arbre parcimonieux (L = 1194 pas ; IC = 0,48 ; IR = 0,50) obtenu après une analyse combinée des marqueurs 28S-D1 et COI, en maximum de parcimonie, sous PAUP, chez les échinides.

Valeurs au-dessus des noeuds = valeurs de Jackknife (seuls les noeuds avec une valeur >50% ont été retenus). Valeurs en-dessous des noeuds = indices de Bremer.

Barres verticales creuses = clades appartenant aux Euechinoidea (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%).

Barres verticales pleines = clades appartenant aux Cidaroida (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%).

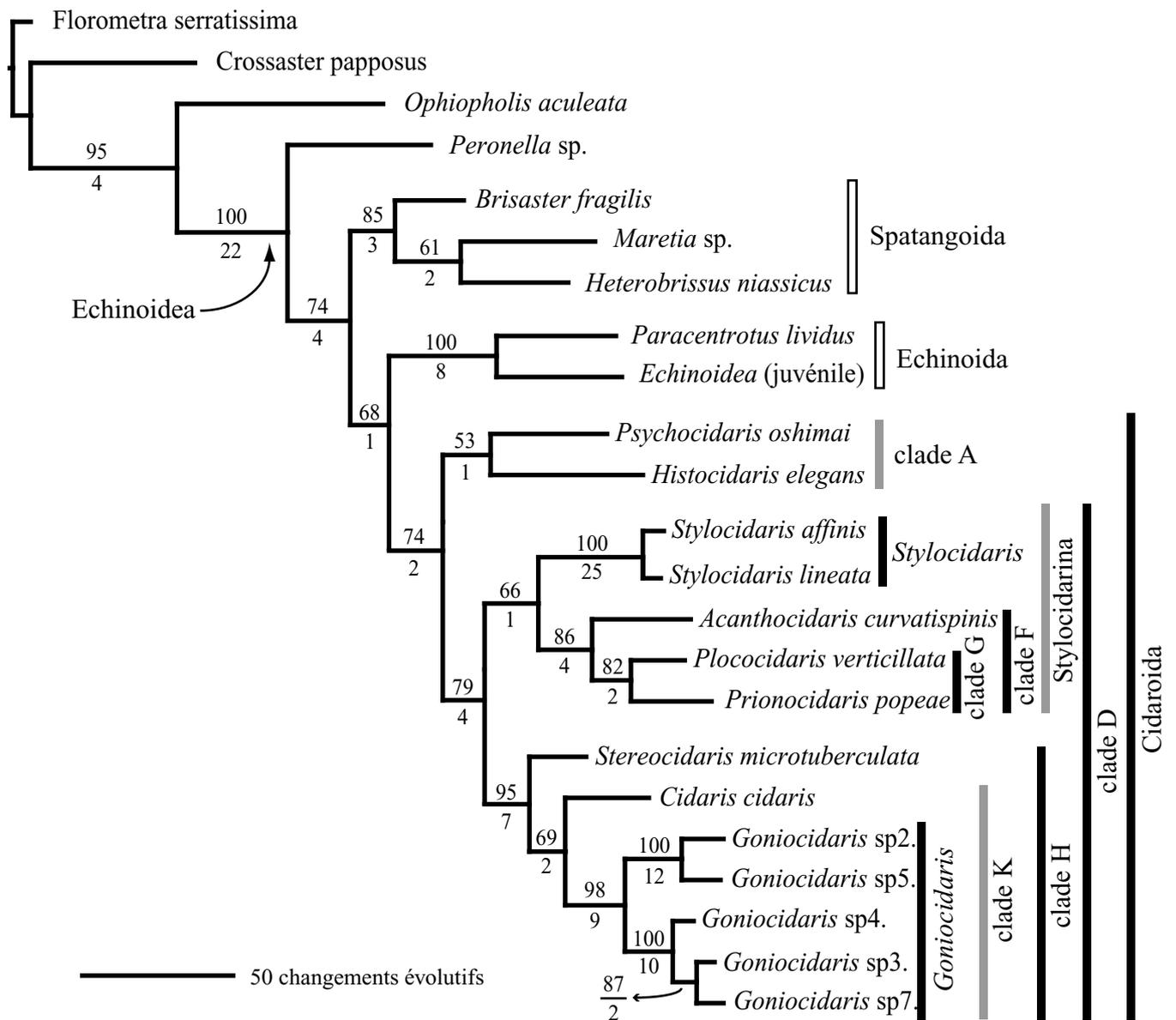


Figure 3.8 - Arbre le plus parcimonieux (L = 1155 pas ; IC = 0,49 ; IR = 0,52) obtenu après une analyse combinée des marqueurs 28S-D1 et COI, en maximum de parcimonie, sous POY, chez les échinides.

Valeurs au-dessus des noeuds = valeurs de Jackknife (seuls les noeuds avec une valeur >50% ont été retenus). Valeurs en-dessous des noeuds = indices de Bremer.

Barres verticales creuses = clades appartenant aux Euechinoidea (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%).

Barres verticales pleines = clades appartenant aux Cidaroida (En noir = clades soutenus par une valeur de Jackknife > 70%. En gris = clades faiblement soutenus par un Jackknife entre 50 et 70%).

C - DISCUSSION

Le marqueur 28S-D1 apparaît informatif pour les relations basales entre les ordres d'échinides. En revanche, ce gène apporte peu d'informations pour les relations de parenté au sein des Cidaroida. Le marqueur du COI est plutôt informatif dans les relations inter-génériques et inter-spécifiques mais la matrice est riche en homoplasie ce qui peut entraîner une faible robustesse des noeuds.

Les taxa terminaux de chacune des analyses sont de natures différentes ce qui rend la comparaison des clades obtenus difficile. C'est pourquoi, j'ai réalisé deux tableaux de synthèse qui récapitulent les clades obtenus au sein des Cidaroida (Tab. 3.6 et 3.7). Je ne discuterai pas des relations de parentés au sein des Euechinoidea (échinides non Cidaroida). Je ferai tout de même un commentaire sur la position de *Peronella* sp. dans l'arbre combinée obtenue avec POY : la position de cette espèce à la base des Echinoidea est en contradiction avec les archives paléontologiques ainsi qu'avec l'hypothèse admise de monophylie des Irregularia. Il est donc nécessaire de revoir la position de ce taxon dans l'analyse (Problème de séquences ? Erreur de détermination ?).

Les Cidaroida apparaissent monophylétiques mais ce clade est globalement faiblement soutenu. La monophylie est apparue dans l'analyse du marqueur 28S-D1 avec PAUP (26 taxa, faiblement soutenu) et avec POY (26 taxa, bien soutenu) ainsi que dans l'analyse combinée avec POY (14 taxa, bien soutenu) (Tab. 3.6 et 3.7). En revanche, la famille des Cidaridae est paraphylétique dans ces analyses du fait de la présence de *Psychocidaris oshimai*, seul représentant actuel de la famille des Psychocidaridae. Dans les analyses du marqueur 28S-D1, cette espèce est groupe-frère du clade «C» constitué de *Eucidaris metularia* et des deux espèces du genre *Histocidaris*, ce clade «C» et la topologie entre les taxa étant bien soutenus. Les analyses du marqueur 28S-D1 avec PAUP et avec POY soutiennent (faiblement) le regroupement de *Psychocidaris oshimai* et *Histocidaris elegans* (clade «A»), *Eucidaris metularia* et *Histocidaris magnifica* n'étant pas présents dans les matrices combinées. La position de *Psychocidaris oshimai* au milieu des Cidaridae pose donc la question de la pertinence de la famille des Psychocidaridae.

Pour les taxa restants, je m'intéresserai plus particulièrement aux analyses combinées qui

clades	Taxa
«Cidaroida»	14 espèces de Cidaroida incluses dans l'analyse combinée
«Cidaroida+»	26 espèces de Cidaroida incluses dans l'analyse du marqueur 28S-D1
A	<i>Psychocidaris oshimai</i> + <i>Histocidaris elegans</i>
B	«clade C» + <i>Psychocidaris oshimai</i>
C	«Histocidaris» + <i>Eucidaris metularia</i>
«Histocidaris»	<i>Histocidaris magnifica</i> + <i>Histocidaris elegans</i>
D	«clade H» + «Stylocidarina»
E	«clade F+» + <i>Acanthocidaris curvatispinis</i> + <i>Ctenocidaris sp</i> + <i>Phyllacanthus imperialis</i> + <i>Plococidaris verticillata</i> + <i>Tretocidaris sp</i> + <i>Stylocidaris affinis</i> + <i>Stylocidaris lineata</i> + <i>Stylocidaris bracteata</i> ou <i>albidens</i> + <i>Stylocidaris brevicollis</i> + <i>Stylocidaris calacantha</i> + <i>Notocidaris mortenseni</i> + <i>Prionocidaris popeae</i>
«Stylocidarina»	<i>Stylocidaris affinis</i> + <i>Stylocidaris lineata</i> + <i>Acanthocidaris curvatispinis</i> + <i>Plococidaris verticillata</i> + <i>Prionocidaris popeae</i>
«Stylocidaris»	<i>Stylocidaris affinis</i> + <i>Stylocidaris lineata</i>
F	<i>Acanthocidaris curvatispinis</i> + <i>Plococidaris verticillata</i> + <i>Prionocidaris popeae</i>
G	<i>Plococidaris verticillata</i> + <i>Prionocidaris popeae</i>
H	«Goniocidaris» + <i>Stereocidaris microtuberculata</i> + <i>Cidaris cidaris</i>
I	«Goniocidaris+» + <i>Cidaris cidaris</i> + <i>Stereocidaris microtuberculata</i>
J	«Goniocidaris» + <i>Cidaris cidaris</i> + <i>Stereocidaris microtuberculata</i> + <i>Stereocidaris leucacantha</i> + <i>Rhopalocidaris sp</i>
K	«Goniocidaris» + <i>Cidaris cidaris</i>
«Goniocidaris»	<i>Goniocidaris sp2, sp3, sp4, sp5 et sp7</i>
«Goniocidaris+»	<i>Goniocidaris sp1, sp2, sp3, sp4, sp5, sp6 et sp7</i>

Tableau 3.6 - Clades obtenus lors des analyses au sein des Cidaroida.

clades	28S-D1		COI		combinée 28S-D1 + COI	
	PAUP	POY	PAUP	POY	PAUP	POY
«Cidaroida»	X	X	X	X	X	74/2
«Cidaroida+»	57/2	93/2	-	-	-	-
A	X	X	X	X	X	53/1
B	76/2	90/2	-	-	-	-
C	97/4	100/6	-	-	-	-
«Histocidaris»	89/2	65/2	-	-	-	-
D	X	X	X	X	73/1	79/4
E	59/2	86/1	-	-	-	-
«Stylocidarina»	X	X	55/0	58/1	68/1	66/1
«Stylocidaris»	X	X	100/23	100/21	100/22	100/25
F	X	X	61/0	X	84/3	86/4
G	X	X	52/0	X	80/1	82/2
H	X	X	X	X	93/3	95/7
I	62/1	68/1	-	-	-	-
J	-	-	84/3	84/1	-	-
K	X	X	X	X	62/0	69/2
«Goniocidaris»	X	X	54/0	X	100/9	98/9
«Goniocidaris+»	98/5	98/4	-	-	-	-

Tableau 3.7 - Soutien des clades présentés dans le tableau 3.6 au sein des Cidaroida.

57/2 = % de Jackknife/indice de Bremer ; X = clade non résolu ; - = clades non observables à cause de taxa manquants ou surnuméraires ; en gris = clade soutenu par une valeur de Jackknife supérieure à 70%.

proposent la même topologie et des noeuds souvent robustes. Ainsi, les analyses ont mis en évidence un clade bien soutenu («D») qui se divise en deux groupes :

- le clade Stylocidarina (faiblement soutenu) qui comporte quatre des neuf genres composant la sous-tribu des Stylocidarina selon Mortensen (1928). A noter que l'espèce-type du genre-type est incluse (*Stylocidaris affinis*).

- le clade «H» (bien soutenu) qui réunit les genres-types de trois des sept sous-tribus de Mortensen (1928) : Stereocidarina (*Stereocidaris*), Cidarina (*Cidaris* avec l'espèce-type du genre *Cidaris cidaris*) et Goniocidarina (*Goniocidaris*). Malgré tout, l'échantillonnage ne permet pas de conclure quant à la monophylie de chacune de ces sous-tribus. Il faut noter que l'analyse du marqueur du COI place le genre *Stereocidaris* (avec deux espèces), genre type de la sous-tribu des Stereocidarina, dans ce clade (bien soutenu).

Les Stylocidarina selon Mortensen (Annexe 1) incluent le genre *Eucidaris* qui est absent de l'analyse combinée. Or, comme je l'ai évoqué précédemment, ce genre appartient au clade «B» dans l'analyse du marqueur 28S-D1. Cet exemple témoigne du fait que je discute toujours de conséquences taxonomiques à la lumière d'un arbre qui est construit à partir d'un échantillonnage de taxa et de caractères. L'inclusion ou l'exclusion de certains taxa peut modifier les conclusions quant aux relations de parentés. Au sein des Stylocidarina, les espèces *Stylocidaris affinis* et *Stylocidaris lineata* forment un clade fortement soutenu. Comme je l'ai montré dans le chapitre précédent, ces deux taxa considérés tantôt comme des sous-espèces, tantôt comme des espèces devraient être mis en synonymie (au niveau espèce). Les trois autres espèces incluses sont étroitement apparentées selon Mortensen (1928). En effet, celui-ci évoque la forte ressemblance entre les espèces des genres *Acanthocidaris* et *Prionocidaris*. De plus, Mortensen propose de placer le genre *Plococidaris* (deux espèces) au sein du genre *Prionocidaris*. L'inclusion d'un plus grand nombre d'espèces est nécessaire pour vérifier la pertinence de ces trois genres et clarifier leurs relations de parenté.

Au sein du clade «H» qui comporte trois genres appartenant à trois sous-tribus, la monophylie du genre *Goniocidaris* (cinq espèces) est fortement soutenue. Ce genre est d'ailleurs retrouvé dans cinq analyses quel que soit le nombre de taxa inclus (sept avec 28S-D1). Je ne discuterai pas des relations entre ces taxa car ceux-ci n'ont volontairement pas été nommés. En effet, je suis actuellement en cours d'étude de la sous-tribu des Goniocidarina et le matériel abondant

présent dans les collections du MNHN pose beaucoup de problèmes d'identification compte tenu de la variabilité morphologique observée. Il est donc nécessaire de préciser le champ de variation des espèces tout en se référant aux types avant de nommer les taxa inclus dans les analyses. D'autre part, la sous-tribu Goniocidarina (*sensu* Mortensen, 1928) est considérée étroitement apparentée à la sous-tribu Ctenocidarina dont les représentants sont localisés dans l'Antarctique (Mortensen, 1928 ; H. B. Fell, 1954 ; Phillip, 1964 ; F. J. Fell, 1976 ; Pearse and Lockhart, 2004). Les espèces de l'Antarctique incluses dans l'analyse du marqueur 28S-D1 (*Notocidaris mortenseni*, *Ctenocidaris* sp.) n'ont donné aucun résultat avec le COI ce qui ne m'a pas permis de clarifier les relations de parentés avec le genre *Goniocidaris*.

D - CONCLUSION

L'utilisation de l'outil moléculaire se révèle intéressante pour élucider les relations de parenté au sein des Echinoidea en général et des Cidaroida en particulier. Cette étude a montré que le séquençage du marqueur 28S-D1 à partir de matériel plus ou moins récent (conservé en alcool) donne de bons rendements. En revanche, le séquençage du marqueur du COI est apparu plus problématique. L'obtention de matériel fraîchement récolté et fixé dans l'optique d'analyses moléculaires devrait permettre d'améliorer les rendements. En effet, les taxa obtenus lors de la mission SALOMON 1 (spécimens fraîchement morts, fixés en alcool 95°) ont donné d'excellents résultats.

Les difficultés de séquençage du marqueur de la COI ont limité le nombre de taxa inclus dans l'analyse combinée. Il est donc nécessaire d'élargir l'échantillonnage de l'analyse combinée afin de confirmer la monophylie des Cidaroida actuels et de préciser les relations au sein des Cidaroida. Pour cela, l'obtention des séquences manquantes pour le COI et le séquençage de nouveaux taxa doivent être réalisés.

Les marqueurs utilisés lors de cette étude s'avèrent pertinents mais les séquences utilisées sont courtes ce qui limite le nombre de caractères informatifs. D'autre part, le marqueur du COI a donné une matrice riche en homoplasie. De nouveaux marqueurs doivent donc être sélectionnés en particulier pour vérifier les relations inter-génériques et inter-spécifiques. Ainsi, le deuxième domaine du marqueur 28S (D2), conseillé pour établir les relations intra-génériques par Féral et Derelle (1991), pourrait être séquencé de sorte que les résultats obtenus avec le 28S-D1 et le COI puissent y être confrontés.

Dans cette étude, toutes les analyses ont été réalisées avec la méthode du maximum de parcimonie. Il serait intéressant de traiter les données avec des méthodes probabilistes (maximum de vraisemblance, Bayésien...) afin de comparer les résultats obtenus.

La réalisation d'une phylogénie à partir de caractères morphologiques doit également être entreprise. Dans un premier temps, il convient de déterminer des homologies primaires chez ces organismes. L'ajout de nouvelles plaques tout au long de la vie des Cidaroida rend la définition des homologies difficile. De plus, les processus de résorption de pièces calcitiques et de régénération peuvent entraîner des changements morphologiques importants.

Dans cette étude, un soin particulier a été apporté à la détermination des taxa inclus dans les analyses. Il est nécessaire de s'assurer de la conservation du spécimen (lorsqu'il n'est pas détruit) ou de spécimens du même prélèvement (et appartenant au même taxon) en collection afin qu'il soit possible de revenir sur les identifications. Cette remarque est valable pour toute analyse moléculaire quel que soit le groupe étudié mais elle prend toute sa mesure lorsque les travaux sont réalisés sur un groupe qui pose depuis plusieurs décennies de grosses difficultés aux systématiciens qui s'y sont confrontés.

Conclusion générale

L'approche exploratoire de cette thèse a donné des résultats qui permettent de dégager des méthodes et des axes d'études des Cidaroida.

Ainsi, l'analyse de l'ontogenèse des pédicellaires a permis de recueillir des informations sur les processus de croissance et de distinguer deux groupes de pédicellaires en fonction du processus considéré. Le premier groupe est constitué par les PPG de *Prionocidaris* sp, les GPG de *Goniocidaris tubaria* et les PD de *Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp. Le second est constitué par les PD d'*Histocidaris* sp. En ce qui concerne la morphologie des valves «adultes», j'ai montré que, sur un même spécimen, les PPG peuvent présenter une importante variabilité morphologique liée à des trajectoires ontogénétiques différentes. A ces variations morphologiques se superposent des variations quantitatives sur un même individu ce qui peut conduire à de mauvaises interprétations des catégories de pédicellaires présentes chez une espèce. Les analyses morphométriques réalisées sur les valves de PPG et GPG de *Stylocidaris affinis* ont permis de discriminer les deux catégories de pédicellaires et de mettre en évidence un gradient morphologique concernant les PPG. L'analyse de ce gradient chez *S. affinis* puis chez *Prionocidaris* sp. a fait ressortir un champ de variation morphologique important qui est expliquée par des allométries statiques. De plus, la distinction de trois parties (apex, couronne, péristome) a montré que les valves du péristome sont significativement plus petites que celles de la couronne et de l'apex : compte tenu des allométries observées, cela implique des différences de forme. Enfin, les observations faites sur l'ontogenèse des pédicellaires et celles sur la variabilité des valves «adultes» ont permis d'interpréter la morphogenèse des pédicellaires chez *Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp. par des hétérochronies de développement. L'ensemble de ces résultats ne remet pas en question l'utilisation des pédicellaires dans la taxonomie des Cidaroida tel que Mortensen (1928) a proposé. Pourtant, ces résultats montrent qu'il est nécessaire de prendre des précautions lors de l'observation des pédicellaires que ce soit pour une détermination ou une description d'espèce. Il apparaît indispensable de tester la variabilité des pédicellaires lors de toute étude morphologique sur les Cidaroida quel que soit le rang taxonomique considéré.

L'analyse de l'ontogenèse des plaques et des piquants chez *Stylocidaris affinis* a montré que leur croissance est caractérisée par une mosaïque d'allométries plus ou moins complexes.

En particulier, ces résultats ont mis en évidence des changements brusques des processus allométriques, changements qui sont à mettre en relation avec l'apparition des pores génitaux.

Les analyses phylogénétiques ont montré que le marqueur 28S-D1 est informatif pour les relations basales entre les ordres d'échinides. Le marqueur du COI est plutôt informatif dans les relations inter-génériques et inter-spécifiques mais la matrice est riche en homoplasie. La monophylie des Cidaroida est soutenue dans deux analyses. En revanche, la famille des Cidaridae n'apparaît jamais monophylétique puisque le seul représentant actuel de la famille des Psychocidaridae (*Psychocidaris oshimai*) est présent dans le clade. Le genre *Goniocidaris* est fortement soutenu et apparaît étroitement apparenté à *Cidaris cidaris* et *Stereocidaris microtuberculata*.

Lors de mes travaux, je me suis davantage intéressé à un groupe au sein des Cidaroida. J'ai entrepris une révision de la sous-tribu des Goniocidarina (*sensu* Mortensen, 1928) qui me semble particulièrement pertinente pour appliquer les axes de recherche qui ont été développés dans cette thèse. Ce groupe comprend les genres *Goniocidaris* (15 espèces), *Rhopalocidaris* (cinq espèces), *Psilocidaris* (une espèce) et *Schizocidaris* (trois espèces). F. J. Fell (1976) a proposé d'y inclure le genre *Ogmocidaris* (une espèce). Les Goniocidarina sont répartis dans l'indo-ouest Pacifique, de la Nouvelle-Zélande au Japon ainsi que dans l'océan Indien (avec une espèce, *Goniocidaris indica*) (H. B. Fell, 1954). D'un point de vue phylogénétique, leur proche parenté avec les Cidaroida de l'Antarctique (Ctenocidarina *sensu* Mortensen, 1928) est supposée (Mortensen, 1928 ; H. B. Fell, 1954 ; Phillip, 1964 ; F. J. Fell, 1976 ; Pearse and Lockhart, 2004). Si cette hypothèse devait être validée, ce groupe pourrait permettre de comprendre l'origine des échinides de l'Antartique. A noter qu'une révision complète des Ctenocidarina est actuellement effectués aux Etats-Unis incluant la réalisation d'une phylogénie à partir de données morphologiques et moléculaires (voir Pearse and Lockhart, 2004 ; Mooi, communication personnelle). Les collections du Muséum national d'Histoire naturelle présentent un abondant matériel (plus de 250 prélèvements identifiés) au sein duquel j'ai distingué une trentaine de morphotypes. Ceux-ci présentent des champs de variations morphologiques qui sont plus ou moins importants et qui sont à mettre en relation avec les aires de répartition géographique. La

difficulté est de déterminer les disjonctions entre gradients morphologiques afin de définir les espèces. J'ai identifié des populations contenant des spécimens de tailles variables ce qui permet d'envisager une analyse de l'ontogenèse. Il conviendrait d'ajouter des caractères associés aux piquants car ceux-ci présentent une importante variabilité morphologique qu'il est nécessaire de cerner. Une telle analyse de l'ontogenèse permettrait de mieux appréhender la variation liée à la croissance. D'autre part, une approche de type phylogéographique telle que Lessios *et al.* (1999) l'ont réalisée sur le genre *Eucidaris*, permettrait de connaître les éventuelles discontinuités génétiques entre morphotypes. Enfin, j'ai débuté une étude des pédicellaires qui mérite d'être prolongée afin de mieux cerner le pouvoir discriminant des caractères qu'ils portent, et, plus précisément, le ou les niveau(x) taxonomique(s) qu'ils peuvent aider à définir. Afin de préciser les relations phylétiques au sein des Goniocidarina, les différents taxa doivent impérativement être correctement définis. L'approche moléculaire présentée dans cette thèse doit être continuée. L'échantillonnage pourra être amélioré, notamment par l'ajout d'un plus grand nombre de taxa, en particulier des représentants des genres *Psylocidaris*, *Rhopalocidaris*, *Schizocidaris* et *Ogmocidaris* dans le but de confirmer la monophylie du genre *Goniocidaris* et de s'assurer de la monophylie des Goniocidarina. Par ailleurs, un ou plusieurs marqueurs supplémentaires adaptés à la résolution des relations de parentés au sein des Goniocidarina ainsi qu'entre les Goniocidarina et les genres de l'Antarctique devront être séquencés. La clarification de la systématique et de l'histoire évolutive des Goniocidarina permettrait de mieux cerner la variabilité morphologique chez les Cidaroida et son origine (bathymétrique, géographique, ontogénétique, génétique...).

Bibliographie

- ADAMS, D. C., ROHLF, F. J., SLICE, D. E. (2004). - Geometric morphometrics : ten years of progress following the "Revolution". - *Italian Journal of Zoology*, 71, pp. 5-16.
- AGASSIZ, A. (1872-1874). - Revision of the Echini. - Cambridge (Mass.) : University Press. - 762 p. - (Illustrated catalogue of the Museum of comparative zoology ; 7).
- AGASSIZ, A. (1904). - The Panamic Deep Sea Echini. - *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology at Harvard college*, 31, pp.1-243.
- AGASSIZ, A., CLARK, H. L. (1907). - Hawaiian and other pacific echini : the Cidaridae. - *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology at Harvard college*, 34, pp. 1-42.
- AMEZIANE, N., ROUX, M. (sous presse). - Environmental control versus phylogenetic fingerprint in ontogeny : the example of the development of the stalk in the genus *Guillecrinus* (stalked crinoids, Echinodermata). - *Journal of Natural History*.
- ARCHIE, J. W. (1989). - Homoplasy excess ratios : new indices for measuring levels of homoplasy in phylogenetics and a critique of the consistency index. - *Systematic Zoology*, 38, pp. 253-269.
- BAROIN, A., PERASSO, R., QU, L. H., BRUGEROLLE, G., BACHELLERIE, J.-P., ADOUTTE, A. (1988). - Partial phylogeny of the unicellular eukaryotes based on rapid sequencing of a portion of 28S ribosomal RNA. - *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 85, pp. 3474-3478.
- BARRIEL, V., TASSY, P. (1998). - Rooting with multiple outgroups : consensus versus parsimony. - *Cladistics*, 14, pp. 193-200.
- BAYLAC, M. (1996). - Morphométrie géométrique et systématique. - *Biosystema*, 14, pp. 73-89.
- BAYLAC, M., FRIESS, M. (2005). - Fourier descriptors, Procrustes Superimposition, and data dimensionality : an example of cranial shape analysis in modern human populations. - In : SLICE, D. E. (ed.). - *Modern Morphometrics in Physical Anthropology*. - Kluwer Academic, Plenum Publishers. - Pp. 145-166.
- BAYLAC, M., VILLEMANT, C., SIMBOLOTTI, G. (2003). - Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes. - *Biological Journal of the Linnean Society*, 80, pp. 89-98.
- BONHOMME M. G. (2002). - Apport des données moléculaires dans la phylogénie des Cidaridae (Echinodermata, Echinoidea, Cidaroida). - 36 p. - Mémoire de DEA : Systématique animale et végétale : Muséum national d'Histoire naturelle.
- BREMER, K. (1994). - Branch support and tree stability. - *Cladistics*, 10, pp. 295-304.
- BROSSEAU, O. (2000). - Analyse comparée des genres *Democrinus* et *Rhizocrinus* (Crinoïdes pédonculés, Bourgueticrinida) : conséquences taxonomiques. - 39 p. - Mémoire de DEA : Systématique animale et végétale : Muséum national d'Histoire naturelle.
- BROSSEAU, O., ELEAUME, M. (2003). - Morphometric analysis of pedicellariae in *Stylocidaris affinis* (Philippi, 1845) (Echinodermata, Echinoidea, Cidaridae) using Scanning Electron

- Microscopy (SEM). - *In* : FERAL, J. P., DAVID, B. (ed.) ; EUROPEAN CONFERENCE ON ECHINODERM RESEARCH (6th ; Banyuls-sur-Mer ; 2001). - Echinoderm Research 2001 : Proceedings of the sixth European conference on echinoderm research (Banyuls, France, 3-7 September 2001). - Lisse : A. A. Balkema Publishers. - Pp. 137-142.
- CAMPBELL, A. C. (1972). - The Form and function of the skeleton in pedicellariae from *Echinus esculentus* L. - *Tissue & Cell*, 4, pp. 647-661.
- CAMPBELL, A. C. (1983). - Form and function of pedicellariae. - *In* : JANGOUX, M., LAWRENCE, J. M. - Echinoderm Studies. - Rotterdam : Balkema. - Pp. 139-167.
- CAMPBELL, A. C., JENSEN, M. (1993). - Rostrate pedicellariae : a morphologically distinct form of echinoid test appendage. - *Journal of Morphology*, 218, pp. 237-247.
- CAMPBELL, A. C., SAVILL, B. L. (1998). - Regeneration of pedicellariae in *Psammechinus miliaris* (Gmelin). - *In* : MOOI, R., TELFORD, M. ; INTERNATIONAL ECHINODERM CONFERENCE (9th ; San Francisco, Ca ; 1996). - Echinoderms : proceedings of the ninth international echinoderm conference (San Francisco, USA, 5-9 august 1996). - Rotterdam : A. A. Balkema. - Pp. 601-606.
- CANTATORE, P., ROBERTI, M., RAINALDI, G., GABALETA, M. N., SACCONI, C. (1989). - The Complete nucleotide sequence, gene organization, and genetic code of the mitochondrial genome of *Paracentrotus lividus*. - *Journal of Biological Chemistry*, 264, pp. 10965-10975.
- CHERBONNIER, G. (1967). - Les Pédicellaires globifères de l'oursin régulier *Paracentrotus lividus* (Lamarck). - *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, 2e série, 39, pp. 1211-1213.
- CHIA, F. S. (1970). - Histology of the globiferous pedicellariae of *Psammechinus miliaris* (Echinodermata : Echinoidea). - *Journal of Zoology*, 160, pp. 9-16.
- CLARK, H. L. (1907). - The Cidaridae. - *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 51, pp. 1-230.
- CLARK, H. L. (1918). - Report on the Crinoidea and Echinoidea collected by the Bahama Expedition from University of Iowa in 1893. - *University of Iowa Monographs. Bulletins from the Laboratories of Natural History*, 7 (5), 37 p.
- CLARK, H. L. (1925). - A Catalogue of the recent sea-urchins (Echinoidea) in the collection of the British Museum (Natural History). London : printed by the order of the trustees of the Museum. - 250 p.
- CLAUS, C. F. W. (1880). - Grundzüge der Zoologie : zum Wissenschaftlichen Gebrauche. - 4 durchaus umgearb. und verb. Aufl. - Marburg : N. G. Elvert. - 2 vol.
- COOKE, C. W. (1946). - Comanche echinoids. - *Journal of Paleontology*, 20, pp. 193-237.
- COURVILLE, P., CRÔNIER, C. (2003). - Les Hétérochronies du développement : un outil pour l'étude de la variabilité et des relations phylétiques ? Exemple de *Nigericeras*, Ammonitina du Crétacé supérieur africain. - *Comptes rendus de l'Académie des sciences, série Palevol*, 2, pp. 535-546.

- CUTRESS, B. M. (1965). - Observations on growth in *Eucidaris tribuloides* (Lamarck), with special reference to the origin of the oral primary spines. - *Bulletin of Marine Science*, 15, pp. 797-834.
- DAVID, B. (1985). - La Variation chez les échinides irréguliers : dimensions ontogénétiques, écologiques, évolutives. - 300 p. - Th. doct. : Dijon : 1985.
- DAVID, B. (1990). - Mosaics of pattern heterochronies : variation and diversity in Pourtalesiidae (deep-sea echinoids). - *Evolutionary Biology*, 24 (8), pp. 297-327.
- DAVID, B., LAURIN, B. (1991). - Modèles morphométriques en paléontologie évolutive. - *Geobios*, 13, pp. 91-96.
- DAVID, B., MOOI, R. (1999). - Comprendre les échinodermes : la contribution du modèle extraxial-axial. - *Bulletin de la Société Géologique de France*, 170, pp. 91-101.
- DAVID, B., MOOI, R., TELFORD, M. (1995). - The Ontogenetic basis of Lovén's rule clarifies homologies of the echinoid peristome. - *In*: EMSON, R., SMITH, A., CAMPBELL, A. ; EUROPEAN CONFERENCE ON ECHINODERMS (4th ; London ; 1995). - Echinoderm Research 1995 : proceedings of the fourth European Echinoderms colloquium, London, 10-13 April 1995. - Rotterdam : A. A. Balkema. - Pp. 155-164.
- DAVID, B., CHONE, T., FESTEAU, A., DE RIDDER, C. (2000). - Antarctic echinoids : an interactive database. - CD-ROM Version 1.0. - BIOGEOSCIENCES (UMR CNRS 5561).
- DÖDERLEIN, L. (1887). - Die japanischen Seeigel. Teil 1. Familie Cidaridae und Saleniidae. - Stuttgart : E. Schweizerbart.
- DÖDERLEIN, L. (1906). - Die Echinoiden der deutschen Tiefsee-Expedition. - Jena : G. Fischer. - 236 p. - (Wissenschaftliche Ergebnisse der deutschen Tiefsee-Expedition ; 5 ; 2).
- DOMMERGUES, J.-L., DAVID, B., MARCHAND, D. (1986). - Les Relations ontogénèse-phylogénèse : applications paléontologiques. - *Geobios*, 19, pp. 335-356.
- DURHAM, J. W., MELVILLE, R. V. (1957). - A Classification of echinoids. - *Journal of Paleontology*, 31, pp. 242-272.
- ELEAUME, M. (2004). - Utilitaire d'analyse de saturation : TransPaupMatrix. - Consultable en ligne : <http://lis.snv.fr/apps/contrib/TMP/TransPaupMatrix.htm> (dernière consultation 25/02/2005)
- FARRIS, J. S. (1989). - The Retention index and the rescaled consistency index. - *Cladistics*, 5, pp. 417-419.
- FARRIS, J. S., ALBERT, V. A., KÄLLERSJÖ, M., LIPSCOMB, D., KLUGE, A. G. (1996). - Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. - *Cladistics*, 12, pp. 99-124.
- FARRIS, J. S., KÄLLERSJÖ, M., KLUGE, A. G., BULT, C. (1995a). - Constructing a significance test for incongruence. - *Systematic Biology*, 44, pp. 570-572.
- FARRIS, J. S., KÄLLERSJÖ, M., KLUGE, A. G., BULT, C. (1995b). - Testing significance of incongruence. - *Cladistics*, 10, pp. 315-319.

- FELL, F. J. (1976). - The Cidaroida (Echinodermata: Echinoidea) of Antarctica and Southern Oceans. - 294 p. - PhD : Orono : University of Maine.
- FELL, H. B. (1954). - Tertiary and recent echinoidea of New Zealand Cidaridae. - *Paleontological Bulletin*, 23, pp. 1-62.
- FELL, H. B. (1966). - Cidaroids. - In: MOORE, R. C. (ed.). - Treatise on invertebrate paleontology. Part U. Echinodermata 3. - Lawrence : University of Kansas. - Pp. U312-U339.
- FERAL, J. P., DERELLE, E. (1991). - Partial sequence of the 28S ribosomal RNA and the echinid taxonomy and phylogeny - Application to the Antarctic brooding schizasterids. - In: YANAGISAWA, T. (ed.) ; INTERNATIONAL ECHINODERM CONFERENCE (7th ; Atami, Japan ; 1990). - Biology of Echinodermata : proceedings of the seventh international echinoderm conference, Atami, 9-14 September 1990. - Rotterdam : A. A. Balkema. - Pp. 331-337.
- FERAL, J. P., DERELLE, E., PHILIPPE, H. (1994). - Inferred phylogenetic trees of antarctic brood-protecting schizasterid echinoids from partial 28S ribosomal RNA sequences. - In: BEAUMONT, A. R. (ed.). - *Genetics and evolution of aquatic organisms*. - London : Chapman and Hall. - Pp. 199-206.
- GEIS, H. L. (1936). - Recent and fossil pedicellariae. - *Journal of Paleontology*, 10, pp. 427-448.
- GLADSTEIN, D., WHEELER, W. (1997). - POY : the optimization of alignment characters : program and documentation. - New York : American Museum of Natural History. - Consultable en ligne : <ftp.amnh.org/pub/molecular/poy>
- GORDON, I. (1926). - The Development of the calcareous test of of *Echinus miliaris*. - *Philosophical Transaction of the Royal Society London (B)*, 214, pp. 259-312.
- GOSSE, P. H. (1856). - Tenby, a sea-side holiday. - London : van Voorst. - 400 p.
- GOULD, S. J. (1977). - Ontogeny and phylogeny. - Cambridge (Mass.) : Harvard University Press. - 501 p.
- GRAY, J. E. (1825). - An Attempt to divide the Echinida, or sea eggs, into natural families. - *Annals of Philosophy*, 10, pp. 423-431.
- HALL, B. K. (1992). - Evolutionary developmental biology. - London : Chapman and Hall. - 275 p.
- HALL, T. A. (1999). - Bio-Edit : a user friendly biological alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. - *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, pp. 95-98.
- HASSANIN, A., LECOINTRE, G., TILLIER, S. (1998). - The "Evolutionary signal" of homoplasy in protein-coding gene sequences and its consequences for *a priori* weighting in phylogeny. - *Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Série 3*, 321, pp. 611-620.
- HILGERS, H., SPLECHTNA, H. (1976). - Struktur- und Funktionsanalyse ophiocephaler Pedizellarien von *Sphaerechinus granularis* Lam., *Echinus acutus* Lam. und *Paracentrotus lividus* Lam. (Echinodermata, Echinoidea). - *Zoomorphologie*, 86, pp. 61-80.

- HILGERS, H., SPLECHTNA, H. (1979). - Die Entwicklung ophiocephaler Pedzellarien von *Arbacia lixula* (Linne) (Echinodermatan Echinoidea) : Strukturelle and funktionelle Analyse. - *Zoomorphologie*, 93, pp. 287.
- HILGERS, H., SPLECHTNA, H. (1981). - Zur Feinstruktur ophiocephaler Pedzellarien von *Arbacia lixulata* (Linne) (Echinodermata, Echinoidea). - *Zoomorphologie*, 97, pp. 89-100.
- HOGGETT, A. K., ROWE, F. W. E. (1986). - South-West Pacific cidarid echinoids (Echinodermata) including two new species. - *Indo-Malayan Zoology*, 3, pp. 1-13.
- HOLLAND, L. Z., HOLLAND, N. D. (1975). - The Fine structure of epidermal glands of regenerating and mature globiferous pedicellariae of a sea urchin (*Lytechinus variegatus*). - *Tissue & Cell*, 7, pp. 723-737.
- HUELSENBECK, J. P., BULL, J. J., CUNNINGHAM, C. W. (1996). - Combining data in phylogenetic analysis. - *Trends in Ecology and Evolution*, 11, pp. 86-93.
- IHAKA, R., GENTLEMAN, R. (1996). - "R" : a language for data analysis and graphics. - *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 5, pp. 299-314.
- IKEDA, H. (1935). - Preliminary report on a new cidarid sea-urchin from the Western Pacific. - *Proceedings of the Imperial Academy of Japan*, 11, pp. 386-388.
- IKEDA, H. (1936). - Preliminary note on the new family of the Cidaroida. - *Annotationes zoologicae japonenses*, 15, pp. 486-493.
- IKEDA, H. (1939a). - A New genus and a new species of the Cidaridae from the Bonin Islands (Cidaroida). - *Records of oceanographic works in Japan*, 10, pp. 160-164.
- IKEDA, H. (1939b). - Peculiarities of the pedicellariae in *Psychocidaris*. - *Records of oceanographic works in Japan*, 10, pp. 151-159.
- JACKSON, R. T. (1912). - Phylogeny of the Echini, with a revision of the Paleozoic species. - *Memoirs of the Boston Society of Natural History*, 7, pp. 1-491.
- JENSEN, M. (1974). - The Strongylocentrotidae (Echinoidea) : a morphologic and systematic study. - *Sarsia*, 57, pp. 148.
- JENSEN, M. (1982). - Pedicellariae in classification of echinoids. - In : LAWRENCE, J. M. ; INTERNATIONAL ECHINODERMS CONFERENCE (Tampa Bay, Fla; 1981). - Echinoderms : proceedings of the international conference, Tampa Bay, 14-17 September 1981. - Rotterdam : A. A. Balkema. - Pp.111-115.
- KÄLLERSJÖ, M., ALBERT, V. A., FARRIS, J. S. (1999). - Homoplasy increases phylogenetic structure. - *Cladistics*, 15, pp. 93.
- KITCHING, I. J., FOREY, P. L., HUMPHRIES, C. J., WILLIAMS, D. M. (1998). - Cladistics : the theory and practice of parsimony analysis. - 2nd ed. - Oxford, New York : Oxford University Press. - 228 p. - (Systematics association publication ; 11).
- KLEIN, J. T. (1734). - Naturalis dispositio Echinodermatum [...]. - Gedani : typis T. J. Schreiberi. - 78 p.

- KLINBERGERG, C. P. (1998). - Heterochrony and allometry : the analysis of evolutionary change in ontogeny. - *Biological Reviews*, 73, pp. 79-123.
- KLUGE, A. G., FARRIS, J. S. (1969). - Quantitative phyletics and the evolution of anurans. - *Systematic Zoology*, 30, pp. 1-32.
- KNOTT, K. E., WRAY, G. A. (2000). - Controversy and consensus in asteroid systematics : new insights to ordinal and familial relationships. - *American Zoologist*, 40, pp. 382-392.
- LAMBERT, J. (1900). - Etude sur quelques Echinides d'Infra-Lias et du Lias. - *Bulletin de la Société des Sciences historiques et naturelles de l'Yonne*, LIII, pp. 1-57.
- LAMBERT, J., THIÉRY, P. (1910). - Essai de nomenclature raisonnée des Echinides. Partie II. - Chaumont : L. Ferrière. - Pp. 81-160.
- LAMBERT, J., THIÉRY, P. (1925). - Essai de nomenclature raisonnée des Echinides. Parties VIII-IX. - Chaumont : L. Ferrière. - Pp. 513-607.
- LANDRY, C., GEYER, L. B., ARAKAKI, Y., UEHARA, T., PALUMBI, S. R. (2003). - Recent speciation in the Indo-West Pacific : rapid evolution of gamete recognition and sperm morphology in cryptic species of sea urchin. - *Proceedings of The Royal Society : Biological Sciences*, 270, pp. 1839-1847.
- LEE, M. S. Y. (2001). - Uninformative characters and apparent conflict between molecules and morphology. - *Molecular Biology and Evolution*, 18, pp. 676-680.
- LEE, Y.-H. (2003). - Molecular phylogenies and divergence times of sea urchin species of Strongylocentrotidae, Echinoida. - *Molecular Biology and Evolution*, 20, pp. 1211-1221.
- LESKE, N. G. (1778). - Jacobi Theodori Klein naturalis dispositio echinodermatum [...]. - Edita et descriptionibus novisque inventis et synonymis auctorum aucta. - Leipzig : Ex officina Gleditschiana. - 278 p.
- LESSIOS, H. A., KESSING, B. D., PEARSE, J. S. (2001). - Population structure and speciation in tropical seas : global phylogeography of the sea urchin *Diadema*. - *Evolution*, 55, pp. 955-975.
- LESSIOS, H. A., KESSING, B. D., ROBERTSON, D. R., PAULAY, G. (1999). - Phylogeography of the pantropical sea urchin *Eucidaris* in relation to land barriers and ocean currents. - *Evolution*, 53, pp. 806-817.
- LINNÉ, C. von (1758). - *Systema naturae* [...]. - Ed. 10. - Holmiae : L. Salvii. - 824 p.
- LITTLEWOOD, D. T., SMITH, A. B. (1995). - A Combined morphological and molecular phylogeny for sea urchins (Echinoidea : Echinodermata). - *Philosophical Transaction of the Royal Society London (B)*, 347, pp. 213-234.
- LITTLEWOOD, D. T., SMITH, A. B., CLOUGH, K. A., EMSON, R. H. (1997). - The Interrelationships of the echinoderms classes : morphological et molecular evidence. - *Biological Journal of the Linnean Society*, 61, pp. 409-438.
- LOVEN, S. (1874). - Etudes sur les Echinoïdées. - *Kongl. Svenska Vetenskaps-akademiens*

handlingar, 11(7), pp. 1-91.

LOVEN, S. (1892). - Echinologica. - *Kongl. Svenska Vetenskaps-akademiens handlingar*, 18, pp. 1-73.

MADON-SENEZ, C. (1998). - Disparité morphologique et architecturale des Schizasteridae incubants (Echinoidea, Spatangoida) des régions australes. - 261 p. - Th. Doct. : Sciences de la Terre : Dijon : Université de Bourgogne.

MÄRKEL, K. (1975). - Wachstum des Coronarskeletes von *Paracentrotus lividus* Lmk. - *Zoomorphologie*, 82, pp. 259-299.

MÄRKEL, K. (1976). - Struktur und Wachstum des Coronarskeletes von *Arbacia lixula* Linné. - *Zoomorphologie*, 84, pp. 279-299.

MÄRKEL, K. (1981). - Experimental morphology of coronar growth in regular echinoids. - *Zoomorphologie*, 97, pp. 31-52.

MARSHALL, C. R., SWIFT, H. (1992). - DNA-DNA hybridization phylogeny of sand dollars and highly reproducible extent of hybridation values. - *Journal of molecular Evolution*, 34, pp. 31-44.

MATSUOKA, N. (1993). - Review molecular approaches to the systematics of echinoderms. - *Report of the Fukaura Marine Biological Laboratory*, 14, pp. 5-16.

MAYR, E. (1954). - Geographical speciation in tropical echinoids. - *Evolution*, 8, pp. 1-18.

McKINNEY, M. L., McNAMARA, K. J. (1991). - Heterochrony : the evolution of ontogeny. - New York : Plenum Press. - 437 p.

MEIJERE, J. C. H. de (1904). - Die Echinoidea des Siboga-Expedition. - Leiden : E. J. Brill. - 251 p. - (Siboga-Expeditie ; XLIII).

MELVILLE, R. V., DURHAM, J. W. (1966). - Skeletal morphology. - In: MOORE, R. C. (ed.). - Treatise on invertebrate paleontology. Part U. Echinodermata 3. - Lawrence : University of Kansas. - Pp. U312-U339.

MERCIER, J. (1932). - Contribution à l'étude de la faune jurassique de Normandie. - *Mémoires de la Société Linnéenne de Normandie, nov. sér. (Géol.)*, 2, pp. 1-273.

MOOI, R., DAVID, B. (1997). - Skeletal homologies of echinoderms. - *The Paleontological Society Papers*, 3, pp. 305-335.

MOOI, R., DAVID, B. (1998). - Evolution within a bizarre phylum : homologies of the first echinoderms. - *American Zoologist*, 38, pp. 965-974.

MOOI, R., DAVID, B., FELL, F. J., CHONE, T. (2000). - Three new species of bathyal cidaroids (Echinodermata : Echinoidea) from the Antarctic region. - *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 113, pp. 224-237.

MORRISON, D. A., ELLIS, J. T. (1997). - Effects of nucleotide sequence alignment on phylogeny estimation : a case study of 18S rDNAs of Apicomplexa. - *Molecular Biology and*

Evolution, 14, pp. 428-441.

MORTENSEN, T. (1903). - Echinoidea. 1. - In: WANDEL, C. F. - The Danish Ingolf-Expedition. - Copenhagen : H. Hagerup. - 193 p.

MORTENSEN, T. (1910a). - On some West indian echinoids. - *Bulletin of the Smithsonian Institution*, 74, pp. 1-29.

MORTENSEN, T. (1910b). - Die Echinoiden der deutsche Südpolar-Expedition 1901-1903. - In: DRYGALSKI, E. von (ed.). - Deutsche Südpolar-Expedition 1901-1903. XI Band. Zoologie. III Band. - Berlin : G. Reimer. - 113 p.

MORTENSEN, T. (1911). - Echinological notes. - *Videnskabelige Meddelelser fra den naturhistoriske Forening i Kjobenhavn for Aaret 1910*, pp. 19-34.

MORTENSEN, T. (1927). - On the post-larval development of some cidarids. - *D. Kgl. Danske Vidensk. Selsk. Skrifter, Naturvidensk. Og Mathem. Afd.*, 8, Raekke XI.5, pp. 367-387

MORTENSEN, T. (1928). - A Monograph of the Echinoidea. I-Cidaroida. - Copenhagen : C. A. Reitzel. - 2 vol.

MORTENSEN, T. (1928-1952). - A Monograph of the Echinoidea. - Copenhagen : C. A. Reitzel. - V vol.

MORTENSEN, T. (1930). - The Geographical distribution of cidarids. - *Archivio zoologico italiano*, 15, pp. 305-312.

MORTENSEN, T. (1939). - Report on the Echinoidea of the Murray expedition. Part I. - London : British Museum. - 28 p. - (Scientific Report John Murray Expedition ; 6 ;1).

MORTENSEN, T. (1951). - A Monograph of the Echinoidea. V(2). Spatangoida II. - Copenhagen : C. A. Reitzel. - 2 vol.

MOSIMANN, J. E. (1970). - Size allometry : size and shape variables with characterizations of the lognormal and generalized gamma distributions. - *Journal of the American Statistical Association*, 65, pp. 930-945.

MUELLER, L. D., AYALA, F. J. (1982). - Estimation and interpretation of genetic distance in empirical studies. - *Genetic Research*, 40, pp. 127-137.

MÜLLER, O. F. (1788). - *Zoologia Danica* [...]. Vol. 1. - Havniae : typis N. Mölleriaulae regiae typografi et filii. - Pp. 1-152.

MULLIS, K. B., FALOONA, F. A. (1987). - Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. - *Methods in Enzymology*, 155, pp. 335-350.

NELSON, G. (1979). - Cladistics analysis and synthesis : principles and definitions with a historical note on Adanson's "Famille des Plantes" (1763-1764). - *Systematic Zoology*, 28, pp. 1-21.

NIXON, K. C. (1999). - The Parsimony Ratchet : a new method for rapid parsimony analysis. - *Cladistics*, 15, pp. 407-414.

- OLFIELD, S. C. (1976). - The Form of the globiferous pedicellarial ossicles of the regular echinoid, *Psammechinus miliaris* Gmelin. - *Tissue & Cell*, 8 (1), pp. 93-99.
- PEARSE, J. S., PEARSE, V. B. (1975). - Growth zones in the echinoid skeleton. - *American Zoologist*, 15, pp. 731-753.
- PEARSE, J. S., CAMERON, R. A. (1991). - Echinodermata : Echinoidea. - In : GIESE, A. C., PEARSE, J. S., PEARSE, V. B. (ed.). -Reproduction of marine invertebrates. Vol. VI. Echinoderms and Lophophorates. - Pacific Grove, Ca : The Boxwood Press. - Pp. 513-662.
- PEARSE, J. S., LOCKHART, S. J. (2004). - Reproduction in cold water : paradigm changes in the 20th century and a role for cidaroid sea urchins. - *Deep-Sea Research II*, 51, pp. 1533-1549.
- PENIN, X., BERGE, C. (2001). - Etude des hétérochronies par superposition procruste : application aux crânes de primates Hominoidea. - *Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Sciences de la Vie*, 324, pp. 87-93.
- PERES, J. M. (1950). - Sur les pédicellaires glandulaires de *Sphaerechinus granularis* (Lamarck). - *Archives de Zoologie expérimentale et générale, Notes et Revues*, 86, pp. 118-136.
- PERRIER, E. (1869). - Recherches sur les pédicellaires et les ambulacres des astéries et des oursins. - Pp. 110-132. - Th. : Sciences Naturelles : Paris ; 314.
- PHELAN, T. (1970). - A Field guide to the cidaroid echinoids of the Northwestern Atlantic Ocean, Gulf of Mexico, and the Caribbean Sea. - *Smithsonian Contributions to Zoology*, 40, pp. 1-67.
- PHILIP, G. M. (1963). - The Tertiary echinoids of South-Eastern Australia. I. Introduction and Cidaridae (1). - *Proceedings of the Royal Society of Victoria*, 76, pp. 181-226.
- PHILIP, G. M. (1964). - The Tertiary echinoids of South-Eastern Australia. II. Cidaridae (2). - *Proceedings of the Royal Society of Victoria*, 77, pp. 433-477.
- PHILIPPE, H., LECOINTRE, G., LEE, H. L. V., LE GUYADER, H. (1996). - A Critical study of homoplasy in molecular data with the use of a morphologically based on cladogram, and its consequences for character weighting. - *Molecular Biology and Evolution*, 13, p. 1186.
- PHILLIPS, A., JANIES, D., WHEELER, W. (1999). - Multiple sequence alignment in phylogenetic analysis. - *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 16, pp. 317-330.
- POMEL, N. (1883). - Classification méthodique et généra des échinides vivants et fossiles. - 131 p. - Th. : Sciences Naturelles : Paris.
- PROUHO, H. (1888). - Recherche sur le Dorocidarid papillata et quelques autres échinides de la Méditerranée. - Th. : Sciences Naturelles : Paris.
- RATTO, A., CHRISTEN, R. (1990). - Phylogénie moléculaire des échinodermes déduite de séquences partielles des ARN ribosomiques. - *Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Série 3*, 310, pp. 169-174.
- REILLY, S. M., WILEY, E. O., MEINHARDT, D. J. (1997). - An Integrative approach to

- heterochrony : the distinction between interspecific and intra specific phenomena. - *Biological Journal of the Linnean Society*, 60, pp. 119-143.
- RICHER de FORGES, B. (1997). - La Diversité du benthos marin de Nouvelle-Calédonie : de l'espèce à la notion de patrimoine. - 321 p. - Th. Doct. : Sciences biologiques fondamentales et appliquées : Muséum national d'Histoire naturelle.
- ROHLF, F. J., MARCUS, L. F. (1993). - A Revolution in morphometrics. - *Trends in Ecology and Evolution*, 8, pp. 129-132.
- ROUX, M., AMEZIANE, N., DAVID, J. (1997). - Compromis adaptatif et ontogenèse chez les crinoïdes pédonculés. - *Geobios*, 21, pp. 319-327.
- ROWE, F. W. E., HOGGETT, A. K. (1986). - The Cidarid Echinoids (Echinodermata) of New South Wales. - *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, 108, pp. 225-261.
- SANDERSON, M. J., DONOGHUE, M. J. (1989). - Patterns of variation in levels of homoplasy. - *Evolution*, 43, pp. 1781-1795.
- SANGER, F., NICKLEN, S., COULSON, A. R. (1977). - DNA sequencing with chain-terminating terminators. - *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 74, pp. 5463-5467.
- SCOURAS, A., SMITH, M. J. (2001). - A Novel mitochondrial gene order in the crinoid echinoderm *Florometra serratissima*. - *Molecular Biology and Evolution*, 18, pp. 61-73.
- SHAPIRO, S. S., WILD, M. B., CHEN, H. J. (1968). - A Comparative study of various tests of normality. - *Journal of the American Statistical Association*, 63, pp. 1343-1372.
- SIKES, D. S., LEWIS, P. O. (2001). - Beta software, version 1. PAUPRat : PAUP implementation of the parsimony ratchet. - Storrs : University of Connecticut.
- SMITH, A. B. (1980). - Stereom microstructure of the echinoid test. - *Special Paper in Paleontology*, 25, pp. 1-81.
- SMITH, A. B. (1984). - Echinoid palaeobiology. - London : G. Allen and Unwin. - 190 p.
- SMITH, A. B. (1988). - Fossil evidence for the relationship of extant echinoderm classes and their times of divergence. - In : PAUL, C. R. C., SMITH, A. B. (ed.). - Echinoderm phylogeny and evolutionary biology. - Oxford : Clarendon Press. - Pp. 85-97.
- SMITH, A. B., LAFAY, B., CHRISTEN, R. (1992). - Comparative variation of morphological and molecular evolution through geologic time : 28S ribosomal RNA versus morphology in echinoids. - *Philosophical Transaction of the Royal Society London (B)*, 338, pp. 365-382.
- SMITH, A. B., WRIGHT, C. W. (1989). - British cretaceous echinoids. Part 1. General introduction and Cidaroida. - *Monograph of the Paleontographical Society*, 578, pp. 1-101.
- SMITH, M. J., ARNDT, A., GORSKI, S., FAJBER, E. (1993). - The Phylogeny of echinoderm classes based on mitochondrial gene arrangements. - *Journal of molecular Evolution*, 36, pp. 545-554.

SORENSEN (1999). - TreeRot, version 2. - Boston : Boston University.

SPLECHTNA, H., HILGERS, H. (1980). - Rasterelektronen - und lichtoptisch Untersuchungen an den Pedizellarien von *Arbacia lixula* L. - In: JANGOUX, M. ; EUROPEAN COLLOQUIUM ON ECHINODERMS (Brussels ; 1979). - Echinoderms : Present and Past : proceedings of the European Colloquium on Echinoderms, Brussels, 3-8 September 1979. - Rotterdam : A. A. Balkema. - Pp. 79-84.

SPLECHTNA, H., HILGERS, H. (1985). - Pedicellariae as a specific character in sea urchin species. - In: KEEGAN, B. F., O'CONNOR, B. D. S. (ed.) ; INTERNATIONAL ECHINODERM CONFERENCE (5th ; Galway ; 1984). - Echinodermata : proceedings of the fifth international echinoderm conference, Galway, 24-29 September 1984. - Rotterdam : A. A. Balkema. -Pp. 347-352.

STOCKLEY, B. M., SMITH, A. B., LITTLEWOOD, D. T. J., LESSIOS, H. A. (soumis en 2004). - Phylogenetic relationship of Spatangoid sea urchins using morphological and DNA sequencing analysis : a case for dense taxon sampling. - *Palaeontology*.

SUZUKI, N., YOSHINO, K. (1992). - The Relationship between amino acid sequences of sperm activating peptides and the taxonomy of echinoids. - *Comparative Biochemistry and Physiology*, 102B, p. 690.

SUZUKI, N., YOSHINO, K., KURITA, M., YAMAGUCHI, M., AMEMIYA, S. (1988). - Taxonomical significance of respiratory stimulation of sea urchin spermatozoa by egg associated substances. - In: BURK, R. D., MLADENOV, P. V., LAMBERT, P., PARSLEY, R. L. (ed.). - Echinoderm biology. - Rotterdam : A. A. Balkema. - Pp. 213-218.

SWOFFORD, D. L. (1998). - PAUP* : Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4.0b10. - Sunderland : Sinauer Associates.

VADET, A. (1988). - Révision des «*Cidaris*» de l'Oxfordien et du Kimmeridgien européens. - *Mémoires de la Société Académique du Boulonnais*, 4, pp. 1-148.

VADET, A. (1991). - Révision des «*Cidaris*» du Lias et du Dogger européens. - *Mémoires de la Société Académique du Boulonnais*, 10, pp. 1-177.

VALENTIN, G. G. (1841). - Anatomie des échinodermes. 1. Monographie : anatomie du genre Echinus. - In: AGASSIZ, L., DESOR, E., VALENTIN, G. G. - Monographies d'échinodermes vivans et fossiles. - Neuchâtel : chez l'auteur.

VOLLMAR, A. (2000). - Variabilité, ontogenèse et intérêt taxinomique des caractères du test des Cidaridae (Echinodermata, Echinoidea). - [n. p.]. - Mémoire de Maîtrise : Sciences de la Terre : Dijon : Université de Bourgogne.

WHEELER, W. (1996). - Optimization alignment : the end of multiple sequence alignment in phylogenetics ?. - *Cladistics*, 12, pp. 1-9.

WHEELER, W. (2001). - Homology and the optimization of DNA sequence data. - *Cladistics*, 17, pp. S3-S11.

WHEELER, W., GLADSTEIN, D. (2000). - POY : the optimization of DNA sequence data. - New York : American Museum of Natural History. - 80 p.

WHEELER, W., GLADSTEIN, D., DE LAET, J. (2003). - POY, phylogeny reconstruction via optimization of DNA and other data, version 3.0.11 (May 6th, 2003). - 67 p.

WINCHELL, C. J., SULLIVAN, J., CAMERON, C. B., SWALLA, B. J., MALLAT, J. (2002). - Evaluating hypotheses of Deuterostome phylogeny and Chordate evolution with new LSU and SSU ribosomal DNA data. - *Molecular Biology and Evolution*, 19, pp. 762-776.

WINSOR, M. P. (1991). - Reading the Shape of Nature. - Chicago : The University of Chicago Press. - 324 p.

YOCCOZ, N. G. (1993). - Morphométrie et analyses multidimensionnelles : une revue des méthodes séparant taille et forme. - In : LEBRETON, J. D., ASSELAIN, B. (ed.). - Biométrie et environnement. -Paris : Masson. - Pp. 73-99.

ZIGLER, K. S., LESSIOS, H. A. (2003). - Evolution of bindin in the pantropical sea urchin *Tripneustes* : comparisons to bindin of other genera. - *Molecular Biology and Evolution*, 20, pp. 220-231.

Annexes

Table des matières «Annexes»

ANNEXE 1	
Classification des Cidaroida selon Mortensen (1928, 1932, 1939 et 1951).....	235
ANNEXE 2	
Classification des Cidaroida selon H. B. Fell (1966) dans Moore et al (1966).....	237
ANNEXE 3	
Classification modifiée des Cidaroida selon A. B. Smith et Whright (1989).....	239
ANNEXE 4	
Article de Brosseau et Eléaume (2003).....	241-246
ANNEXE 5	
Localisation du prélèvement et caractéristiques des spécimens de <i>Prionocidarid</i> sp.....	247
ANNEXE 6	
Distinction des PPG et des GPG par des analyses bivariées chez <i>Stylocidarid</i> <i>affinis</i>	249
ANNEXE 7	
Champ de variation morphométrique des PPG chez <i>Stylocidarid</i> <i>affinis</i>	251
ANNEXE 8	
Représentations bivariées des paramètres mesurés sur les valves de PPG chez <i>Prionocidarid</i> sp.....	253
ANNEXE 9	
Corrélations entre les variables suite à une Analyse en Composantes Principales à partir des données transformées par le LogShapeRatio.....	255
ANNEXE 10	
Diagnose, espèce type et liste des espèces du genre <i>Prionocidarid</i>	257
ANNEXE 11	
Diagnoses de trois espèces de <i>Prionocidarid</i>	259
ANNEXE 12	
Caractéristiques des spécimens étudiés par Rowe et Hogget (1986) et Hogget et Rowe (1986) ; caractéristiques des spécimens utilisés pour l'analyse biométrique des pédicellaires.....	261
ANNEXE 13	
Localisation des spécimens sur lesquels des pédicellaires ont été prélevés.....	263
ANNEXE 14	
Localisation des spécimens étudiés dans la partie «Ontogenèse des plaques et des piquants».....	265
ANNEXE 15	
Représentations bivariées des paramètres mesurés sur 88 spécimens de <i>Stylocidarid</i> <i>affinis</i>	267
ANNEXE 16	
Représentations bivariées des paramètres mesurés sur 46 spécimens de <i>Stylocidarid</i> <i>affinis</i>	269
ANNEXE 17	
Représentations bivariées des paramètres mesurés sur 46 spécimens de <i>Stylocidarid</i> <i>affinis</i>	271
ANNEXE 18	
Différences entre <i>Stylocidarid</i> <i>affinis</i> et <i>Stylocidarid</i> <i>lineata</i> selon Mortensen (1910, 1928).....	273
ANNEXE 19	
Différences entre <i>Stylocidarid</i> <i>affinis</i> et <i>Stylocidarid</i> <i>lineata</i> selon Phelan (1970).....	275
ANNEXE 20	
Liste des taxa séquencés.....	277
ANNEXE 21	
Liste des espèces dont les séquences proviennent de Genbank.....	279
ANNEXE 22	
De l'extraction à l'amplification de l'ADN : protocoles expérimentaux.....	281

Annexe 1. Classification des Cidaroida selon Mortensen (1928, 1932, 1939 et 1951).

Tous les genres uniquement fossiles ont été supprimés. Par rapport à sa classification initiale de 1928, Mortensen a décrit deux genres et a accepté l'existence d'une famille et deux genres décrits par Ikeda. Ces ajouts sont en grisé. Mortensen a fait une erreur nomenclaturale : la modification que j'ai apportée est soulignée ; * = selon les règles de nomenclature, cette sous-famille devrait s'appeler «Cidarinae Gray, 1825» mais, pour tenir compte de l'usage, j'ai conservé «Stereocidarinae».

Ordre : Cidaroida

Famille : Cidaridae Gray, 1825

Sous-Famille : Stereocidarinae Lambert, 1900 *

Sous-tribu : Histocidarina Mortensen, 1928

Histocidaris Mortensen, 1903

Poriocidaris Mortensen, 1909

Sous-tribu : Cidarina Gray, 1825

Calocidaris H. L. Clark, 1907

Cidaris Leske, 1778

Tretocidaris Mortensen, 1903

Lissocidaris Mortensen, 1939

Sous-tribu : Stylocidarina Mortensen, 1903

Acanthocidaris Mortensen, 1903

Plococidaris Mortensen, 1909

Prionocidaris A. Agassiz, 1863

Centrocidaris A. Agassiz, 1904

Actinocidaris Mortensen, 1928

Stylocidaris Mortensen, 1909

Eucidaris Pomel, 1883

Hesperocidaris Mortensen, 1928

Kionocidaris Mortensen, 1932

Sous-tribu : Rhabdocidarina Lambert, 1900

Chondrocidaris A. Agassiz, 1863

Phyllacanthus Brandt, 1835

Sous-tribu : Goniocidarina Mortensen, 1928

Goniocidaris Desor dans Agassiz et Desor, 1846

G. (Discocidaris)

G. (Petalocidaris)

G. (Aspidocidaris)

G. (Cyrtocidaris)

Schizocidaris Mortensen, 1903

Rhopalocidaris Mortensen, 1927

Psilocidaris Mortensen, 1927

Sous-tribu : Ctenocidarina Mortensen, 1928

Ogmocidaris Mortensen, 1921

Austrocidaris H. L. Clark, 1907

Rhynchocidaris Mortensen, 1909

Ctenocidaris Mortensen, 1910

C. (Eurocidaris)

Notocidaris Mortensen, 1909

Aporocidaris A. Agassiz et H. L. Clark, 1907

Homalocidaris Mortensen, 1928

Sous-tribu : Stereocidarina Lambert, 1900

Stereocidaris Pomel, 1883

Compsocidaris Ikeda, 1939

Chorocidaris Ikeda, 1939

Famille : Psychocidaridae Ikeda, 1936

Psychocidaris Ikeda, 1935

Annexe 2. Classification des Cidaroida selon H. B. Fell (1966).

Tous les genres uniquement fossiles ont été supprimés.

Ordre : Cidaroida

Famille : Cidaridae Gray, 1825

Sous-Famille : Histocidarinae Mortensen, 1928

Histocidaris Mortensen, 1903

Poriocidaris Mortensen, 1909

Sous-Famille : Cidarinae Gray, 1825

Cidaris Leske, 1778

Calocidaris H. L. Clark, 1907

Centrocidaris A. Agassiz, 1904

Eucidaris Pomel, 1883

Hesperocidaris Mortensen, 1928

Kionocidaris Mortensen, 1932

Lissocidaris Mortensen, 1939

Stylocidaris Mortensen, 1909

Tretocidaris Mortensen, 1903

Sous-Famille : Rhabdocidarinae Lambert, 1900

Actinocidaris Mortensen, 1928

Chondrocidaris A. Agassiz, 1863

Phyllacanthus Brandt, 1835

Plococidaris Mortensen, 1909

Prionocidaris A. Agassiz, 1863

Sous-Famille : Goniocidarinae Mortensen, 1928

Goniocidaris Desor dans Agassiz et Desor, 1846

G. (Goniocidaris)

G. (Aspirocidaris)

G. (Cyrtocidaris)

G. (Discocidaris)

G. (Petalocidaris)

Psilocidaris Mortensen, 1927

Rhopalocidaris Mortensen, 1927

Schizocidaris Mortensen, 1903

Sous-Famille : Ctenocidarinae Mortensen, 1928

Ctenocidaris Mortensen, 1910

Aporocidaris A. Agassiz et H. L. Clark, 1907

Austrocidaris H. L. Clark, 1907

Eurocidaris Mortensen, 1909

Homalocidaris Mortensen, 1928

Notocidaris Mortensen, 1909

Ogmocidaris Mortensen, 1921

Rhynchocidaris Mortensen, 1909

Sous-Famille : Stereocidarinae Lambert, 1900

Stereocidaris Pomel, 1883

Compsocidaris Ikeda, 1939

Famille : Psychocidaridae Ikeda, 1936

Psychocidaris Ikeda, 1935

Annexe 3. Classification modifiée des Cidaroida selon A. B. Smith et Whright (1989).

Tous les genres uniquement fossiles ont été supprimés. Les auteurs ont fait quelques erreurs nomenclaturales : les modifications que j'ai apportées sont soulignées.

Ordre : Cidaroida

Famille : Rhabdocidaridae Lambert, 1900

Sous-Famille : Histocidarinae Mortensen, 1928

Tribu : Histocidarini Mortensen, 1928

Histocidaris Mortensen, 1903

Tribu : Poriocidarini A. B. Smith et Whright, 1989

Poriocidaris Mortensen, 1909

Famille : Cidaridae Gray, 1825

Sous-Famille : Psychocidarinae Ikeda, 1936

Tylocidaris Pomel, 1883 (contient les *Psychocidaris* Ikeda, 1935)

T. (Tylocidaris)

Sous-Famille : Cidarinae Gray, 1825

Tribu : Stereocidarini Lambert, 1900

Sous-Tribu : Stereocidarina Lambert, 1900

Temnocidaris Cotteau, 1863

T. (Stereocidaris)

Sous-Tribu : Goniocidarina Mortensen, 1928

Goniocidaris Desor in Agassiz et Desor, 1846

G. (Goniocidaris)

G. (Schizocidaris)

G. (Ogmocidaris)

G. (Austrocidaris)

Ctenocidaris Mortensen, 1910

C. (Ctenocidaris)

C. (Notocidaris)

C. (Homalocidaris)

C. (Rhynchocidaris)

C. (Eurocidaris)

Aporocidaris Agassiz et Clark, 1907

Tribu : Cidarini Gray, 1825

Stylocidaris Mortensen, 1928 (probablement paraphylétique)

Sous-Tribu : Cidarina Gray, 1825

Cidaris Leske, 1778

C. (Cidaris)

C. (Tretocidaris)

C. (Calocidaris)

C. (Lissocidaris)

C. (Centrocidaris)

Sous-Tribu : Phyllacanthina A. B. Smith et Whright, 1989

gr1 *Prionocidaris* A. Agassiz, 1863

P. (Prionocidaris)

P. (Plococidaris)

gr2 *Phyllacanthus* Brandt, 1835

Eucidaris Dödrelein, 1883

Chondrocidaris A. Agassiz, 1863

Acanthocidaris Mortensen, 1903

Annexe 4 (1/6). Article de Brosseau et Eléaume (2003) paru dans Echinoderm Research 2001.

Echinoderm Research 2001, Féral & David (eds.)
©2003 Swets & Zeitlinger, Lisse, ISBN 90 5809 528 2

Morphometric analysis of pedicellariae in *Stylocidaris affinis* (Philippi, 1845) (Echinodermata, Echinoidea, Cidaridae) using Scanning Electron Microscopy (SEM).

O. Brosseau, M. Eléaume.

Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie, CNRS ESA 8044, 55 rue Buffon F-75005 Paris.

ABSTRACT: Preliminary morphometric analysis of pedicellariae in 30 specimens of *Stylocidaris affinis* from the North Atlantic permit recognition of pedicellariae distribution patterns. The large globiferous pedicellariae (LG), which characterize *S. affinis*, were found on a reduced sample (six) out of 30 specimens examined and are poorly distributed (coronal plates only). In contrast, small globiferous pedicellariae (SG) are very abundant, evenly distributed, and display a large range of morphological variation. Morphometric analysis suggests that the various small pedicellariae form a morphological gradient. SEM observations of supposed regenerating stages of tridentate pedicellariae (T) permit inference about their growth.

Keywords: sea urchins, pedicellariae, microscopy, morphometry, taxonomy

1 INTRODUCTION

Mortensen (1903) introduced the structure of pedicellariae as an important taxonomic character to discriminate groups between groups at different levels of classification of Cidaridae. He differentiated three classes of pedicellariae, viz. two types of globiferous pedicellariae (Fig. 1e, f) and one type of tridentate pedicellariae (Fig. 1g). However, A. Agassiz (1872) had stressed, thirty years back, upon the important intraspecific and interspecific variability of pedicellariae. Subsequently, many authors questioned their taxonomic value (e.g., Philip 1963). Jensen (1982) provided a discussion of the uses of pedicellariae. Her study was an attempt to evaluate the systematic usefulness of the skeleton of the echinoids pedicellariae for taxonomic and phylogenetic purpose.

This paper is a preliminary approach to the study of the pedicellariae of Cidaridae. Various morphological types of pedicellariae are observed using SEM and are compared to Mortensen's categories of pedicellariae. For the first time, SEM and quantitative morphometric analyses are used to 1) estimate the morphological variability of pedicellariae in *Stylocidaris affinis* and 2) question the reliability of pedicellariae as discriminating characters for the taxonomy of Cidaridae.

2 MATERIAL AND METHODS

Thirty specimens of *Stylocidaris affinis* (Philippi, 1845) preserved in the dry collections of the MNHP were examined in this study. This species is distributed in Western Atlantic, Gulf of Mexico, Eastern Atlantic and the Mediterranean Sea, at depths ranging from 30 to 1000 meters (Phelan 1970). The specimens examined were dredged at station DW259 (33° 59' 10" N, 30° 11' 40" W) from 665 meters deep during Seamount 2 cruise to the North Atlantic, near the Azores archipelago. Terminology of pedicellariae morphological features follows Mortensen (1903) and Madon-Senez (1998).

200 pedicellariae were collected from seven specimens of different sizes providing enough material to be separated in two samples. Treatment of the first sample with 10% sodium hypochlorite for 5 minutes, followed by three successive baths in 85% ethanol, permitted dissociation of about 450 valves of all types of pedicellariae. About 350 valves resisted bleach treatment and further manipulation, and furnished material for SEM observations. 103 photographs of different valves were taken, among which only 52 appeared to be useful for homogeneous measurements. Each photograph was given a reference number (e.g. N°6-F10-P20).

Annexe 4 (suite - 2/6). Article de Brosseau et Eléaume (2003) paru dans Echinoderm Research 2001.

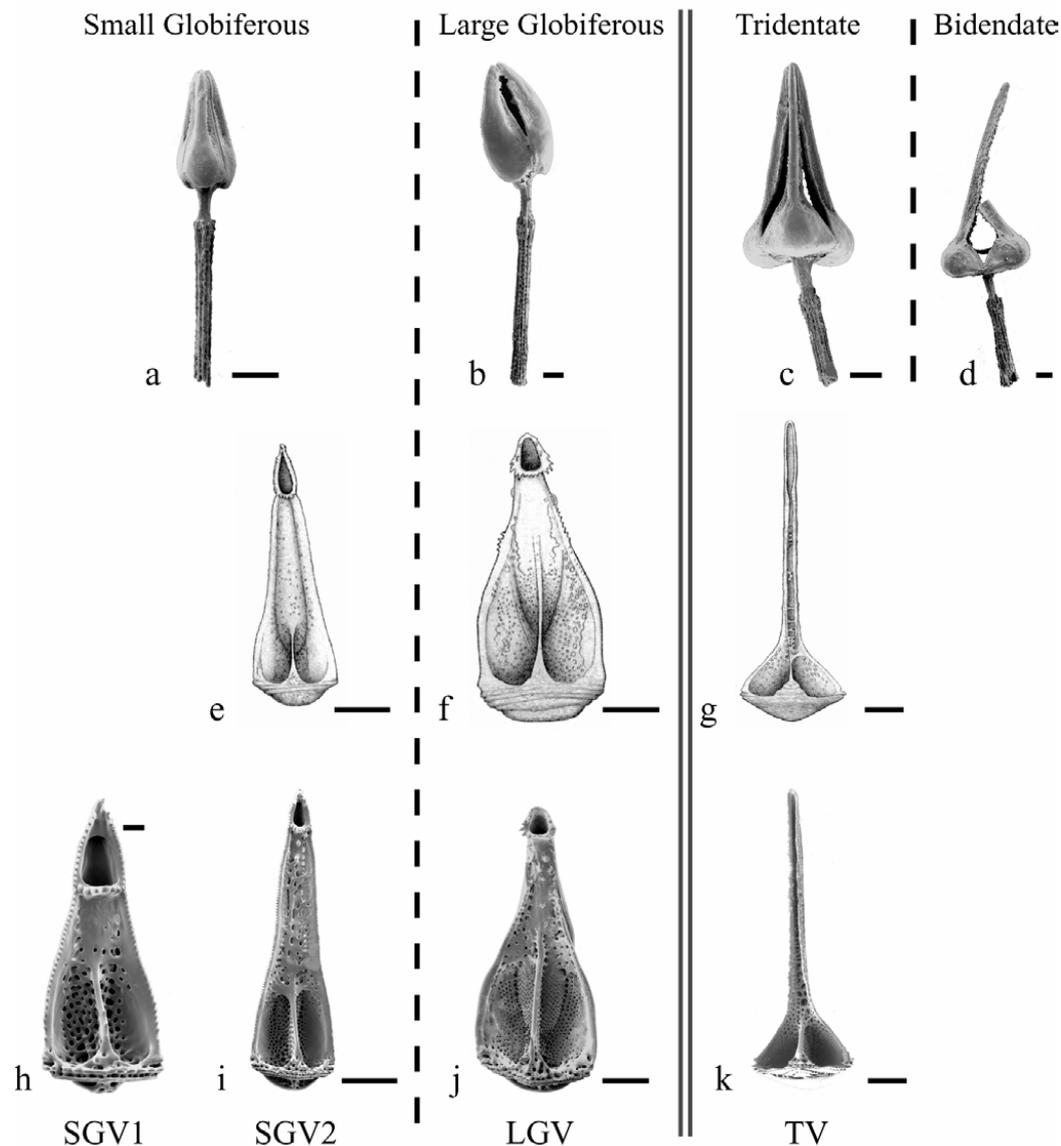


Figure 1. SEM photographs of pedicellariae and valves of pedicellariae is compared to Mortensen's (1903) observations. a = small globiferous pedicellaria (SG); b = large globiferous pedicellaria (LG); c = tridentate pedicellaria (T); d = bidentate pedicellaria; e = valve of small globiferous pedicellariae according to Mortensen; f = valve of large globiferous pedicellariae according to Mortensen; g = valve of tridentate pedicellariae according to Mortensen; h = valve of small globiferous pedicellariae (SGV1); i = valve of small globiferous pedicellariae (SGV2); j = valve of large globiferous pedicellariae (LGV); k = valve of tridentate pedicellariae (TV); scale for a-g and i-k = 100 μ m; scale for h = 10 μ m.

Treatment with an 85% ethanol-10% sodium hypochlorite mix for less than one minute, permitted removal of organic matter from the surface of 50 complete pedicellariae, which were prepared for SEM observations. This second sample provided 29 SEM photographs.

For biometric analysis, only 52 SEM photographs fitted measurement requirements, i.e. good

exposition of all morphological parts of interior face. Five parameters were measured (Fig. 2) including: length of valve opening (Lter = longer interior diameter of valve opening, measured along principal axis of the valve); length of intermediary part (Lint = distance between proximal face of transverse ridge and summit of angle formed by the apophyse, measured along principal axis of

Annexe 4 (suite - 3/6). Article de Brosseau et Eléaume (2003) paru dans Echinoderm Research 2001.

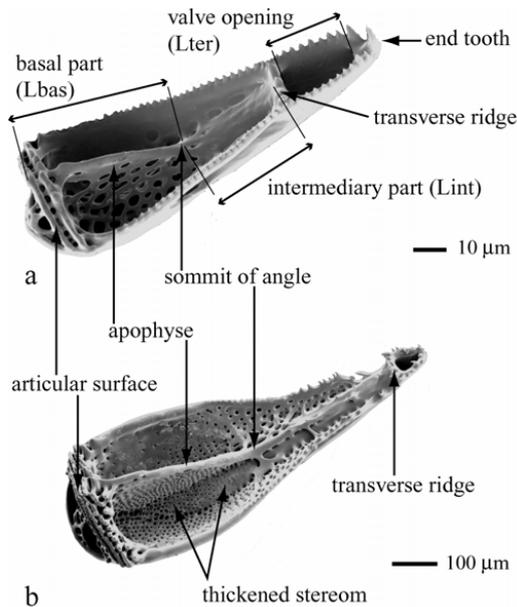


Figure 2. SEM photographs of two valves of pedicellariae showing morphological features and measurements used in morphometric analysis. a = valve of small globiferous pedicellaria; b = valve of large globiferous pedicellaria.

valve); length of the basal part (Lbas = distance between proximal face of articular surface and sommit of angle formed by the apophyse, measured along principal axis of valve); total length (L = distance between proximal face of articular surface and tip of end tooth, measured along principal axis of valve) and width at articular surface (W).

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Preliminary observations

Observation and comparison of 200 pedicellariae using Mortensen's (1903) morphological characters revealed three different classes: bidentate, tridentate and globiferous pedicellariae. Furthermore, various non-globiferous pedicellariae (Fig. 3) could not be unambiguously identified with Mortensen's tridentate type.

Observation of dissociated valves of tridentate and globiferous pedicellariae (Figs 1h-k) permit distinction between three types of valves: one tridentate type (TV) and two globiferous types, i.e. large globiferous (LGV) and small globiferous (SGV).

Bidentate resembles tridentate pedicellariae in structure, except that it displays two valves instead of three. It is the first documented occurrence of

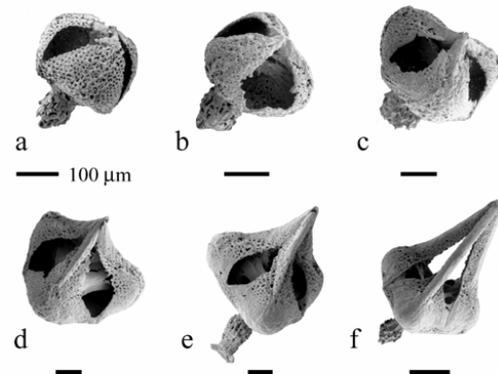


Figure 3. SEM photographs of four unidentified non-globiferous and two tridentate pedicellariae showing hypothetical growth or regenerating stages of tridentate pedicellariae. a, b, c, d = unidentified non-globiferous pedicellariae; e, f = tridentate pedicellariae.

such a pedicellaria in *S. affinis*, probably because of extreme scarcity. Only one representative of that type was observed on the 30 specimens of *S. affinis* examined. Structure and rarity suggest that bidentate type results from abnormal growth or abnormal regeneration of a tridentate pedicellaria.

TV is very large with no terminal opening. It is easily identifiable with Mortensen's tridentate valve (Fig. 1g, k).

LGV are 0.5 to 5.0 times as big as SGV. They were found in very small number on six out of the 30 specimens examined. This type of valve displays proportionately small intermediary part, no end tooth and thickened stereom on both sides of the apophyse in the basal part (Figs 1j, 2b). LGV are easily distinguished from SGV on morphological grounds. They correspond to Mortensen's large globiferous valves (Fig. 1f).

SGV display various morphologies. Two extremes (SGV1 and SGV2) are described hereafter. SGV1 is relatively small with large terminal opening and a prominent end tooth. SGV1 seems to have no correspondence with any of Mortensen's classes of globiferous valves (Fig. 1h). SGV2 is larger with proportionately greater intermediary part and small end tooth. It is similar to Mortensen's small globiferous valves (Fig. 1e, i).

Unidentified non-globiferous pedicellariae (Fig. 3a-d) may represent different stages of regeneration of tridentate pedicellariae (T). This assumption permitted reconstruction of a growth series of tridentate pedicellariae (Fig. 3). Because such pedicellariae may be misinterpreted as new types of pedicellariae, they may lead to an overestimate of variability.

Annexe 4 (suite - 4/6). Article de Brosseau et Eléaume (2003) paru dans Echinoderm Research 2001.

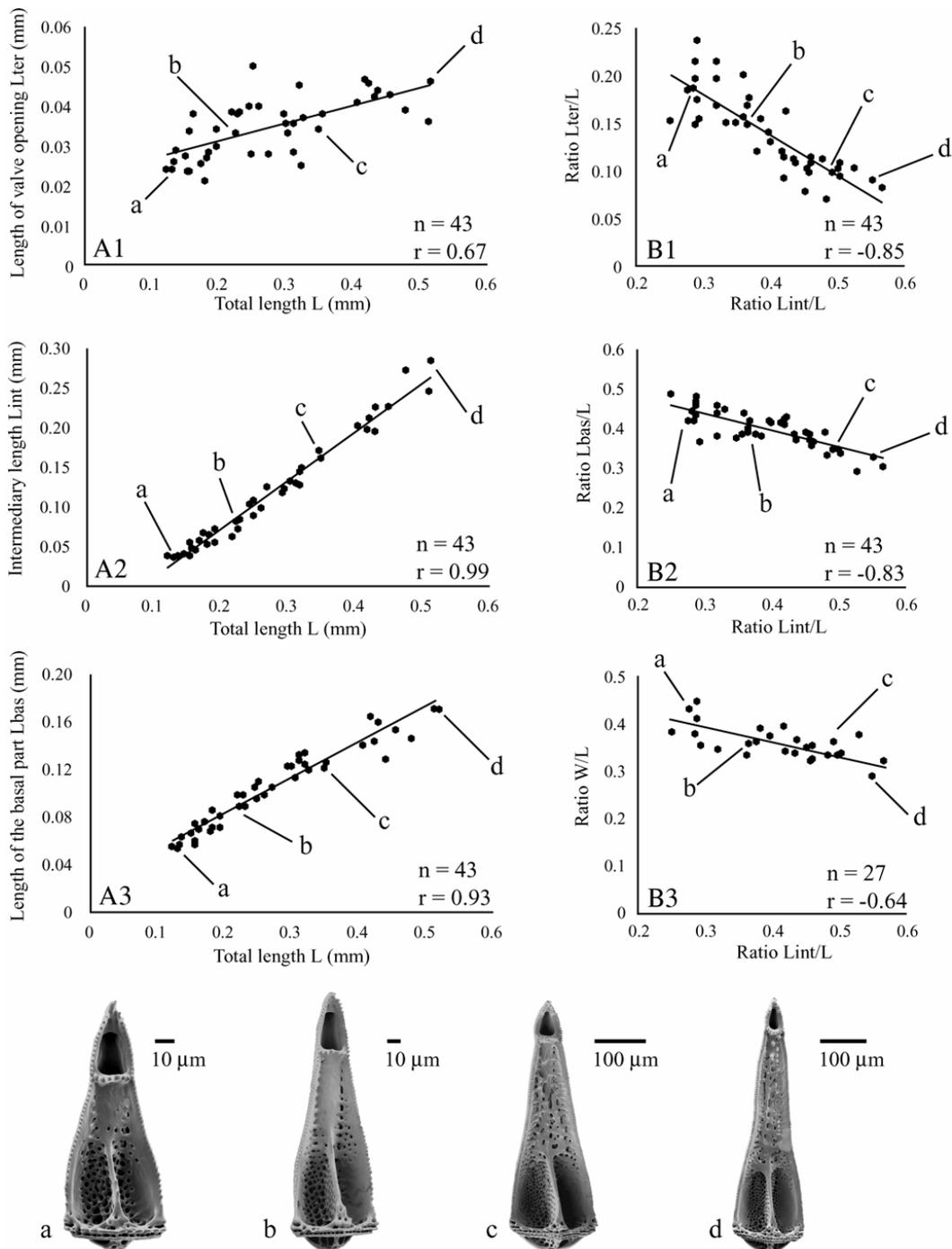


Figure 4. Bivariate analyses of 46 valves of small globiferous pedicellariae (SGV). A1, A2, A3 = bivariate analysis of untransformed variables. B1, B2, B3 = bivariate analysis of transformed variables; a, b, c, d = valves of small globiferous pedicellariae; n = sample size; r = coefficient of correlation; Lbas = basal length; Lint = intermediary length; Lter = length of valve opening; L = total length; W = Width; for W, only 27 SEM photographs fitted measurements requirements (n = 27).

Annexe 4 (suite - 5/6). Article de Brosseau et Eléaume (2003) paru dans Echinoderm Research 2001.

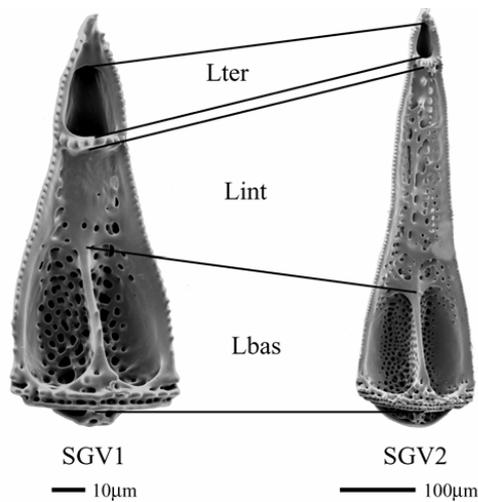


Figure 5. SEM photographs of two small globiferous valves (SGV1 and SGV2) showing relative dimensions of three morphological part. SGV1 shows proportionality short intermediary parts, large terminal opening and large base. SGV2 shows proportionality long intermediary part, small terminal opening and thin/short base. Lter = terminal length; Lint = intermediary length; Lbas = basal length.

3.2 Biometric analysis

A preliminary biometric analysis was conducted on 46 valves of small globiferous pedicellariae (SGV) to test whether they form discrete morphological entities or simply represent part of a morphological continuum.

Data exploration was performed using descriptive statistics. Simple statistics were calculated on the whole data set. Standard deviates were computed (Sokal & Rohlf 1998) to identify measurement errors. Seven measures representing three different valves displayed deviation from the mean superior to two standard deviation units. The valve N°2F6P6 showed abnormal values for L and Lint. N°6F25P18 displayed abnormal L and Lter. N°6F25P20 had abnormal L, Lbas and Lter. Abnormal measures were independently checked by the authors. Measurements revealed to be very difficult to take owing to position of valves. Consequently, inaccurate measures were removed from further analysis.

Bivariate analyses were performed. Untransformed variables were analyzed. Furthermore, each variable was transformed into a ratio, i.e. divided by total length of valve (L) in order to minimize size effects on distributions.

Bivariate analysis of untransformed variables (Fig. 4A1-A3) revealed structured distributions of SGV types. Given that the largest SGV is 4.0 times as big as smallest SGV (Fig. 1h, i) the observed gradient may account for differences in size. To test this possibility, we performed bivariate analy-

sis of transformed variables (Fig. 4B1-B3). They revealed good correlation of each variable with the other, suggesting existence of a gradient independent of size, i.e. a morphological gradient. All intermediary morphs are represented, from valves with proportionately short intermediary part, large terminal opening and large base (Figs 4a, b, 5SGV1), to valves with proportionately long intermediary part, small terminal opening and thin/short base (Figs 4c, d; 5SGV2).

In terms of spatial position on the echinoid test, large globiferous pedicellariae are found only on the coronal plates close to the apical system and are absent elsewhere. Mortensen (1928) established presence/absence of an end tooth in LG as discriminating character for *Cidarina* and *Stylocidarina*, two closely related groups of *Cidaridae*. However, only six out of 30 specimens examined in this study possessed LG pedicellariae. Large globiferous pedicellariae might prove to bear necessary discriminating characters, but might prove as well to be far from sufficient. Small globiferous pedicellariae are very abundant on all the specimens of *S. affinis*, and display a large range of morphological variation. Their taxonomic usefulness might be limited if they intergrade morphologically.

4 CONCLUSION

This preliminary study shows that *S. affinis* displays three easily distinguishable types of pedicellariae: small globiferous (SGV, i.e. morphs in a gradient of which SGV1 and SGV2 represent two extremes), large globiferous (LGV) and tridentate (TV). The large globiferous pedicellariae are rarely found whereas the small globiferous pedicellariae show a large degree of morphological variability. Additional morphologies are associated with growth and regeneration. These observations confirm that the use of morphological features of pedicellariae in taxonomical studies may be problematic.

According to Mortensen (1910), tridentate pedicellariae provide morphological evidence in distinguishing *S. affinis* from *S. lineata*: "The space between the valves is distinctly narrower in *lineata* than in *affinis*; and the basal part of the valves is also different in outline." The present study shows that such differences may account for intraspecific variability.

More material with different modes of conservation, i.e. dry and wet, should be examined to ascertain the assumption of the paucity of the large globiferous pedicellariae. More species need to be studied in order to compare interspecific morphological gradients. Additional features shall be included in further studies. Moreover, to supplement

Annexe 4 (suite - 6/6). Article de Brosseau et Eléaume (2003) paru dans *Echinoderm Research* 2001.

simple and bivariate statistical approach, multivariate analyses ought to be performed because in multivariate space, there may be discernible discontinuities in the distribution.

ACKNOWLEDGEMENTS

We want to thank Nadia Améziane for helpful comments and for support during this study. Thanks are also due to Charles Messing and Christopher Mah for revising the English language. Thanks to referees for helpful criticism of a previous version of the manuscript. Thanks to French Research for financial support. SEM photographs have been made at the laboratory of entomology of the MNHN.

REFERENCES

- Agassiz, A. 1872. Revision of the Echini. Part I. *Illustrated Catalogue of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College* 7(1): 1-242.
- Jensen, M. 1982. Pedicellariae in classification of echinoids. In J. M. Lawrence (ed.), *International Echinoderms Conference, Tampa Bay*: 111-115. Rotterdam: Balkema.
- Madon-Senez, C. 1998. *Disparité morphologique et architecturale des Schizasteridae incubants (Echinoidea, Spatangoida) des régions Australes*: 1-261. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne-Centre des Sciences de la Terre, Dijon, France.
- Mortensen, T. 1903. *Den Danske Ingolf Expedition. I- Echinoidea*: 1-183. Copenhagen: H. Hagerup.
- Mortensen, T. 1910. *On some west indian echinoids*. Washington government printing office.
- Mortensen, T. 1928. *A Monograph of the Echinoidea, I- Cidaroida*. Copenhagen: Reitzel, C.A.
- Phelan, T. 1970. A field guide to the cidaroid echinoids of the Northwestern Atlantic Ocean, Gulf of Mexico, and the Caribbean Sea. *Smithsonian Contributions to Zoology* 40.
- Philip, G.M. 1963. The tertiary echinoids of South-Eastern Australia, I-Introduction and Cidaridae (1). *Proceedings of the Royal Society of Victoria* 76 : 181-226.
- Sokal, R.R. & Rohlf F.J. 1998. *Biometry (the principles and practice of statistics in biological research), third edition*. New-York: W. H. Freeman and Company.

Annexe 5. Localisation du prélèvement et caractéristiques des spécimens de *Prionocidaris* sp.

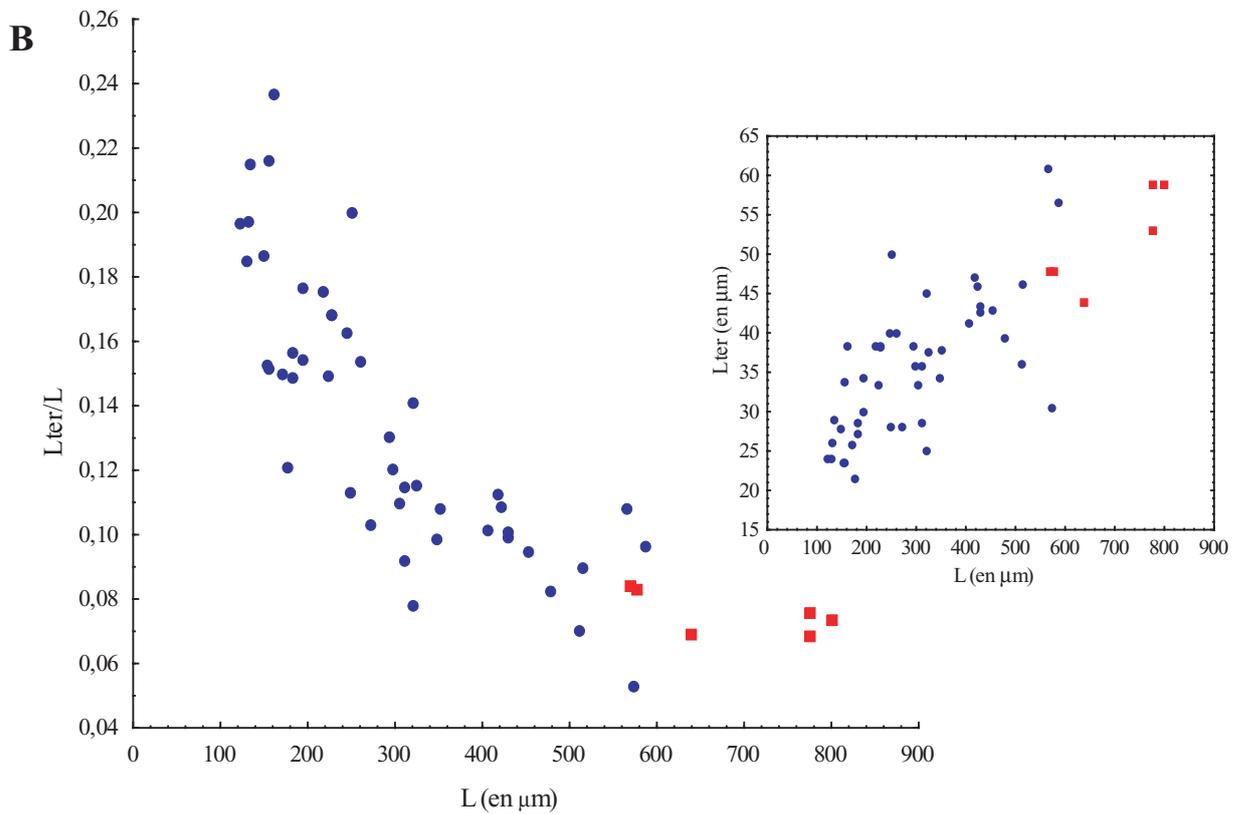
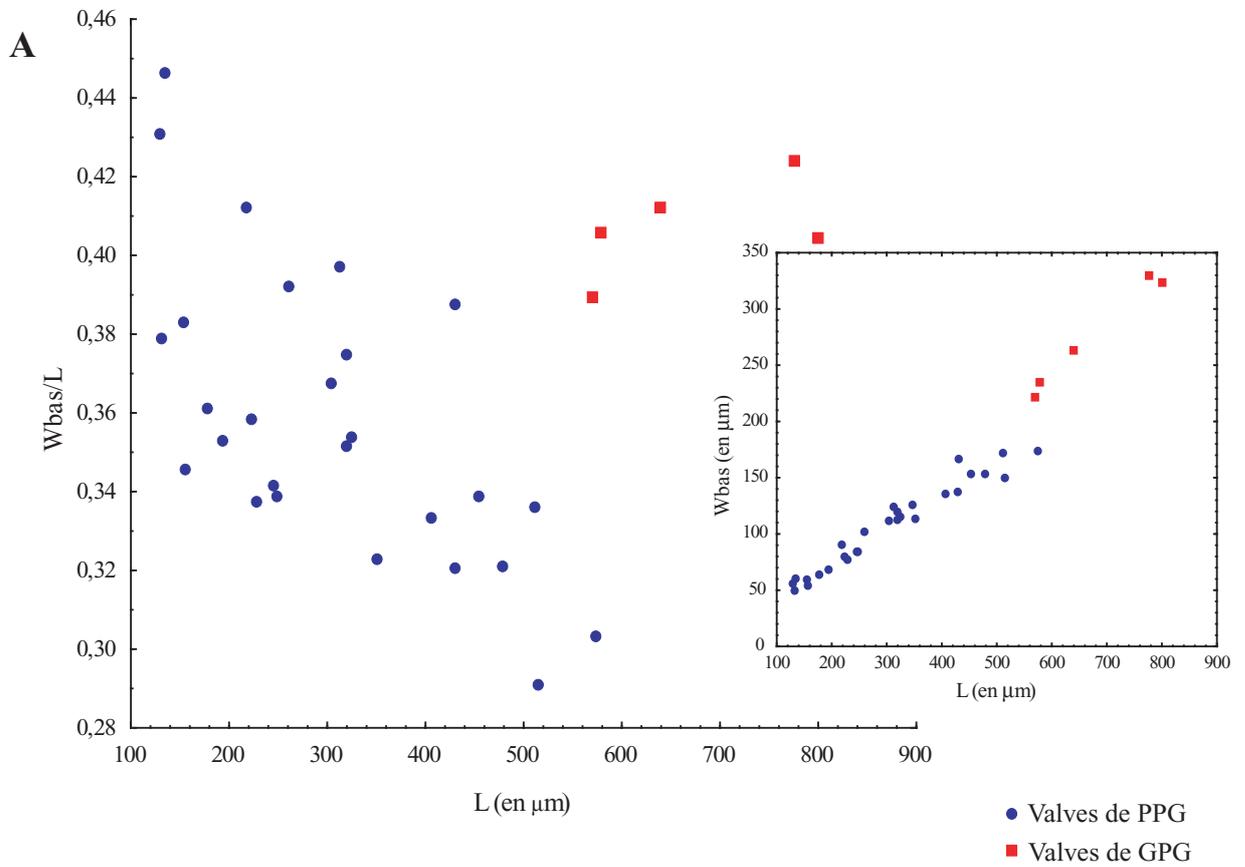
n° invent. = numéro d'inventaire MNHN ; nb sp. = nombre de spécimens ; D = diamètre du test ; H = hauteur du test ; Dap = diamètre de l'apex ; Dper = diamètre du péristome ; Niap = nombre de plaques interambulacraires ; Nap-iap = nombre de plaques ambulacraires le long d'un interambulacre ambital ; Lls = longueur du piquant le plus long ; en gras = spécimens étudiés.

n° invent.	nb sp	mission	station	prof. (m)	latitude	longitude	date
EcEs9643	16	Chalcal	CP2	88	20°31'50"S	161°06'45"E	7/15/84

spécimen	D(mm)	H(mm)	Dap(mm)	Dper(mm)	Niap	Nap-iap	Lls(mm)
spécimen 1	45,5	28,8	19,2	19,3	7	14	101,8
spécimen 2	29,6	18,1	12,7	12,7	7	12	79,5
spécimen 3	13,8	7	6,4	5,8	5	8	37
spécimen 4	25,2	13,9	12,2	11	6	13	58
spécimen 5	33,4	23	14,7	13,9	7	13	99,6
spécimen 6	25,7	15,1	11,9	10,6	6	14	55,7
spécimen 7	23,6	12,3	11,4	10,2	5	12	58,2
spécimen 8	25,8	13,6	12,8	11,8	6	13	65,6
spécimen 9	23,6	13,3	10,9	10,6	6	12	64,7
spécimen 10	28,9	15,9	14,6	11,6	6	14	45,9
spécimen 11	29	16,1	13,9	12,2	6	14	56,7
spécimen 12	23,1	12,4	12,2	11,3	5	13	57,3
spécimen 13	22,2	11,2	10,8	10,3	5	11	55
spécimen 14	14,7	7,5	6,5	5,8	5	9	46,2
spécimen 15	20,2	10,6	10,2	9,3	6	10	51
spécimen 16	33,4	22,8	14,9	12,8	7	13	99,3

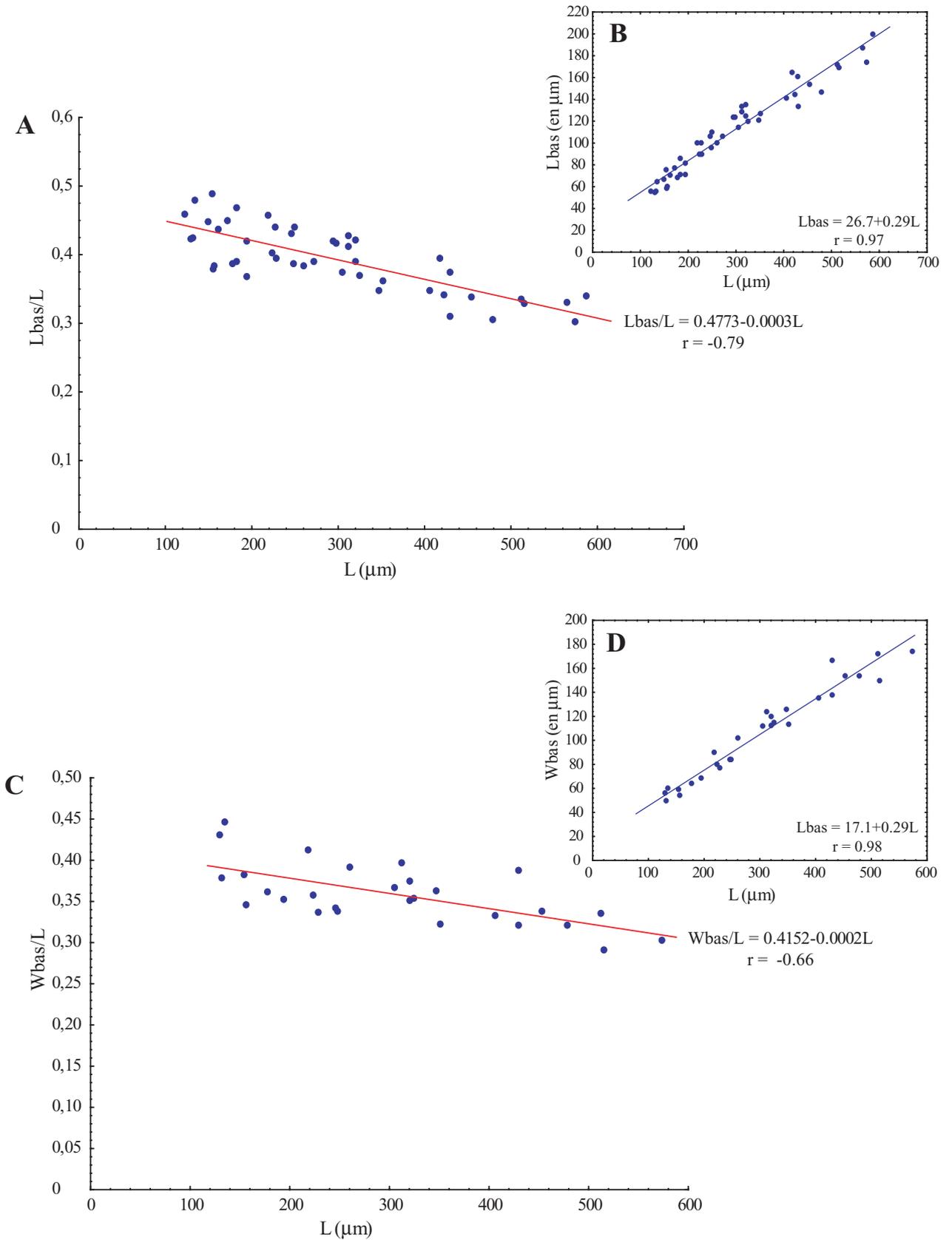
Annexe 6. Distinction des PPG et des GPG par des analyses bivariées chez *Stylocidaris affinis*.

L = longueur totale ; Wbas = largeur maximale de la surface articulaire ; Lter = longueur de l'ouverture.



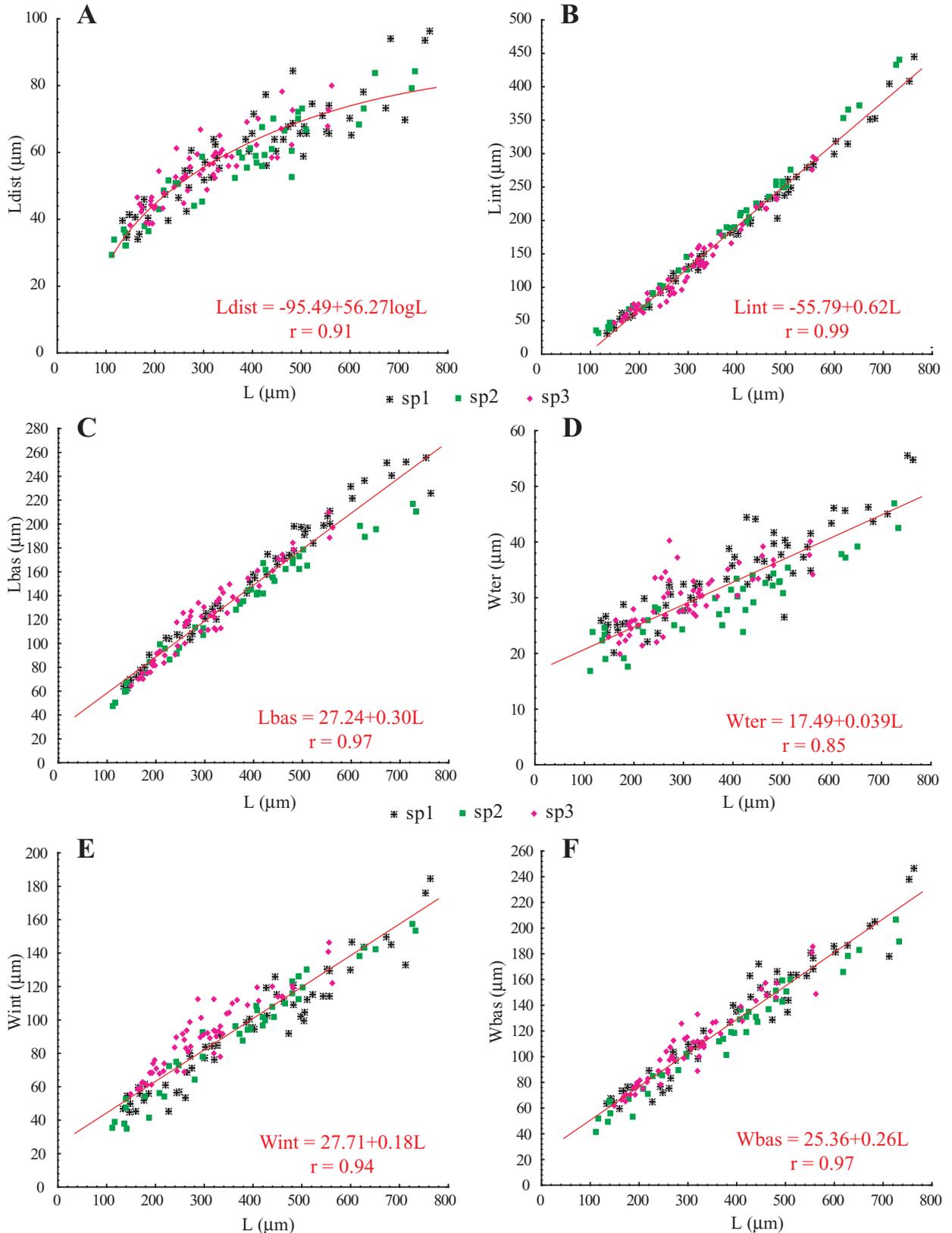
Annexe 7. Champ de variation morphométrique des PPG chez *Stylocidaris affinis*.

L = longueur totale ; Lbas = longueur de partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire ; Wbas = largeur maximale de l'articulation ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.



Annexe 8. Représentations bivariées des paramètres mesurés sur les valves de PPG chez *Prionocidaris* sp.

L = longueur totale ; Ldist = longueur de l'extrémité distale entre la base de la cloison distale et la dent terminale ; Lint = longueur de la partie intermédiaire entre la base de la cloison distale et l'extrémité de l'apophyse basale ; Lbas = longueur de partie basale correspondant à la zone d'insertion musculaire ; Wter = largeur de la cloison distale ; Wint = largeur de la partie intermédiaire au niveau de l'extrémité de l'apophyse basale ; Wbas = largeur maximal de la surface articulaire ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.



Annexe 9. Corrélations entre les variables suite à une Analyse en Composantes Principales à partir des données transformées par le LogShapeRatio.

	L	Ldist	Lter	Lint	Lbas	Wter	Wint	Wbas
L	1,000	-0,828	-0,813	0,965	0,501	-0,847	-0,323	0,057
Ldist	-0,828	1,000	0,780	-0,859	-0,373	0,687	-0,051	-0,369
Lter	-0,813	0,780	1,000	-0,784	-0,473	0,492	-0,006	-0,446
Lint	0,965	-0,859	-0,784	1,000	0,307	-0,877	-0,187	0,067
Lbas	0,501	-0,373	-0,473	0,307	1,000	-0,268	-0,464	0,058
Wter	-0,847	0,687	0,492	-0,877	-0,268	1,000	0,175	0,101
Wint	-0,323	-0,051	-0,006	-0,187	-0,464	0,175	1,000	0,394
Wbas	0,057	-0,369	-0,446	0,067	0,058	0,101	0,394	1,000

Annexe 10. Diagnose, espèce type et liste des espèces du genre *Prionocidaris*.

Genre :

Prionocidaris A. Agassiz, 1863

Diagnose du genre :

Le test est arqué ou bas, plus ou moins aplati au niveau de l'apex, fin et souvent fragile. Les tubercules primaires ne sont pas crénelés du côté de la bouche. Les aréoles sont profondes, bien séparées excepté pour les deux ou trois plaques du côté de la bouche qui peuvent être confluentes. Les pores sont distinctement conjugués ou subconjugués. Les piquants primaires sont souvent longs, effilés avec de grosses épines en séries longitudinales. Ils sont, plus rarement, cylindriques, lisses ou élargis du côté distal, ou avec des épines arrangées en spirales; le cortex est fin; les piquants oraux ont une collerette relativement longue, terminés par une hampe rudimentaire. Les piquants secondaires ne sont pas apprimés, les plus grands sont aplatis et les plus petits sont spiniformes. Les pédicellaires tridentés sont minces, les gros pédicellaires globifères n'ont pas de dent terminale, souvent rares voire même absents et les petits pédicellaires globifères ont une dent terminale.

Espèce type du genre :

Cidarites pistillaris Lamarck, 1816

Espèces du genre :

- P. baculosa* (Lamarck, 1816)
- P. pistillaris* (Lamarck, 1816)
- P. bispinosa* (Lamarck, 1816)
- P. australis* (Ramsay, 1885)
- P. hawaiiensis* (Agassiz et Clark, 1907)
- P. callista* Rowe et Hoggett, 1986
- P. popeae* Hoggett et Rowe, 1986

Annexe 11. Diagnoses de trois espèces de *Prionocidaris*.

P. popeae Hogget et Rowe, 1986

Diagnose : La collerette des piquants primaires présente des pois blancs ou gris pâle sur un fond rouge marron ; les piquants scrobiculaires sont violet foncé à la base avec une transition abrupte vers une partie distale vert clair ; les pores sont distinctement conjugués ; les piquants primaires mesurent, au moins 2,5 fois le diamètre du test pour les spécimens de moins de 30 mm de diamètre et les piquants des spécimens plus grands mesurent rarement moins de deux fois le diamètre ; les piquants primaires sont grossièrement épineux dans la partie proximale et ces épines ne sont pas arrangées en spirales ; les aréoles des plaques coronales au-dessus de l'ambitus sont légèrement aplaties (hauteur = 80-88% de la largeur) ; le système apical apparaît plutôt dénudé, à cause de la petite taille des piquants au centre des plaques génitales et des plaques oculaires.

Distribution : Nouvelle-Calédonie ; Vanuatu.

Bathymétrie : 55-275m.

P. callista Rowe et Hogget, 1986

Diagnose : La collerette des piquants primaires présente des pois blancs sur un fond rouge foncé-marron ; les piquants scrobiculaires sont rouge à rouge foncé ; les ambulacres et le système apical sont légèrement plus foncés que le reste du test dénudé de couleur crème et les interambulacres ne sont pas pigmentés ; les aréoles des plaques coronales au-dessus de l'ambitus sont plus larges que hautes (la hauteur représente 71 à 79% de la largeur chez des spécimens avec un diamètre horizontal supérieur à 16mm), les tubercules scrobiculaires des plaques coronales au-dessus de l'ambitus sont réduits en taille dans les parties inférieures et supérieures de l'aréole.

Distribution : Iles Bushy ; Queensland (20°57'S 150°05'E) jusqu'aux îles Montague ; New South Wales ; Iles Lord Howe ; Iles Norfolk ; Iles Kermadec ; Nouvelle-Calédonie.

Bathymétrie : 2-275m

P. australis Ramsay, 1885

Diagnose : La collerette des piquants primaires présente des pois blancs sur un fond vert à violet ; les piquants scrobiculaires présentent une large ligne médiane verte, devenant souvent brun-violet vers l'extrémité ; sur le test dénudé, les ambulacres (en particulier la zone interporifère) et les sutures médianes interambulacraires sont brun-violet et le système apical est brun-violet avec un peu de vert ; les aréoles des plaques coronales au-dessus de l'ambitus sont plus ou moins circulaires (hauteur représente 84-96% de la largeur) ; les plaques coronales au-dessus de l'ambitus présentent un anneau complet de tubercules scrobiculaires.

Distribution : Philippines ; Indonésie ; côte Macclesfield ; côte est australienne (Iles Fraser, de Queensland à Sydney, New South Wales).

Bathymétrie : 10-145m

Annexe 12. Caractéristiques des spécimens étudiés par Rowe et Hogget (1986) et Hogget et Rowe (1986) ; caractéristiques des spécimens utilisés pour l'analyse biométrique des pédicellaires.

n° invent. = numéro d'inventaire; nb spécimen = nombre de spécimens ; D = diamètre du test ; H = hauteur du test ; Dap = diamètre de l'apex ; Dper = diamètre du péristome ; Niap = nombre de plaques interambulacraires ; Nap-iap = nombre de plaques ambulacraires le long d'un interambulacre ambital ; Lls = longueur du piquant le plus long ; AM = Australian Museum; MNHN = Muséum national d'Histoire naturelle ; en gras = spécimens étudiés

Prionocidaris popeae Hogget et Rowe, 1986

n° invent.	D (mm)	H (mm)	Dap (mm)	Dper (mm)	Niap	Nap-iap	Lls (mm)
AM J19206 (holotype)	46	28	21	22	7-8	-	85
MNHN sp1	45,5	28,8	19,2	19,3	7	14	101,8
AM J19206 (paratype)	42	26	18	20	7	-	80
AM J8192 (paratype)	38	25	17	18	7	-	84
AM J13887 (paratype)	36	21	17	15	6-7	-	77
AM J19208 (paratype)	34	21	16	15	6-7	-	81
AM J19209 (paratype)	22	13	10	11	6	-	68
AM J19210 (paratype)	17	10	8	8	5	-	50

Prionocidaris callista Rowe et Hogget, 1986

n° invent.	D (mm)	H (mm)	Dap (mm)	Dper (mm)	Niap	Nap-iap	Lls (mm)
AM J15715 (holotype)	60	38	26	21	10	-	74
AM J18919 (paratype)	43	24	18	17	7-8	-	72
AM J18920 (paratype)	39	23	16	17	7-8	-	63
AM J18921 (paratype)	31	16	14	12	7	-	61
MNHN sp2	29,6	18,1	12,7	12,7	7	12	79,5
AM J18922 (paratype)	28	15	13	12	6-7	-	55
AM J18923 (paratype)	17	8	8	8	6	-	29

Prionocidaris australis Ramsay, 1885

n° invent.	D (mm)	H (mm)	Dap (mm)	Dper (mm)	Niap	Nap-iap	Lls (mm)
AM J193 (holotype)	63	41	27	22	8-9	-	81
AM J16171-1	45	28	19	18	7	-	68
AM J16171-2	43	25	20	18	7	-	65
AM J15846-1	36	20	17	16	6-7	-	>51
AM J16171-3	28	16	13	13	6	-	60
AM J18968	14	6	7	6	5-6	-	31
MNHN sp3	13,8	7	6,4	5,8	5	8	37

Annexe 13. Localisation des spécimens sur lesquels des pédicellaires ont été prélevés.

n° invent. MNHN = numéro d'inventaire du Muséum national d'Histoire naturelle ; prof. = profondeur ; m = mètre ; nb. sp. = nombre de spécimens.

n° invent. MNHN	mission	station	prof. (m)	latitude	longitude	date	nb. sp.
non défini	CHALCAL	CP2	88	20°31'50S	161°06'40S	7/15/84	12
non défini	SEAMOUNT 2	DW259	665	33°29'10"N	30°11'40"W	2/2/93	30
EcEs5070	-	-	?	Port Philippe du Musée de Sydney			1
EcEs9627	BIOCAL	CP52	540-600	23°06'S	167°47'E	8/31/85	2
EcEs9682	BATHUS 2	DW735	530-570	23°01'08"S	166°56'01"E	5/13/93	4
EcEs9959	-	8	370	12°43'5"S	48°14'3"E	4/14/71	7
EcEs9974	MUSORSTOM 2	DR33	130-137	13°32'N	121°07'E	11/2/80	2
EcEs10005	-	4	400-410	22°19'2"S	43°06'08"E	12/20/85	5
EcEh1234	MUSORSTOM 5	DW339	380-395	19°53'S	158°37'E	10/16/86	1

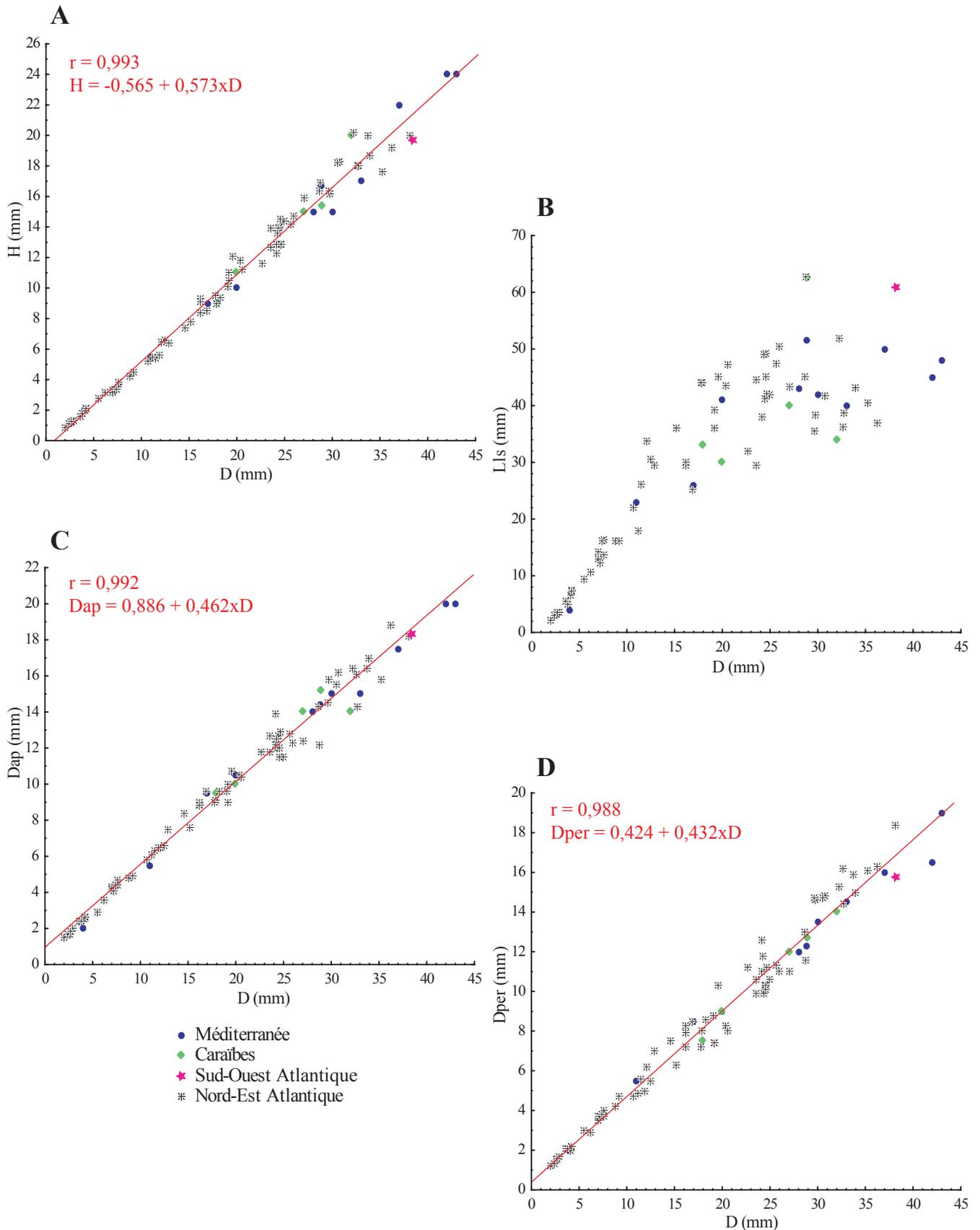
Annexe 14. Localisation des spécimens étudiés dans la partie «Ontogénèse des plaques et des piquants».

n° invent. MNHN = numéro d'inventaire du Muséum national d'Histoire naturelle ; prof. = profondeur ; m = mètre ; nb. sp. = nombre de spécimens ; **en jaune** = prélèvements sur lesquels a été effectuée la totalité des mesures et dénombrements.

n° invent. MNHN	mission	station	prof. (m)	latitude	longitude	date	nb. sp.
EcEs 6759	E. Dupont récolteur	?	?	Côtes de Sardaigne		?	1
EcEs 10021	ORSTOM-IRPM-SMCB	C34	405	16°22'49"N	61°48'9"W	01/04/93	1
EcEs 10022	CALYPSO 1961-62	CC104	102	23°12'S	42°31'W	02/09/61	1
EcEs 10030	SEAMOUNT 2	CP124	220	28°05'1"N	15°52'40"W	05/01/93	7
EcEs 10031	SEAMOUNT 2	DW210	320	32°02'60"N	27°56'70"W	26/01/93	2
EcEs 10032	CALYPSO 1961-62	CC104	102	23°12'S	42°31'W	02/12/61	1
EcEs 10033	SEAMOUNT 2	CP121	200	28°06'30"N	15°51'80"W	05/01/93	12
EcEs 10036	SEAMOUNT 2	DW259	665	33°29'10"N	30°11'40"W	2/2/93	30
EcEs 10037	SEAMOUNT 2	DW188	310	31°30'00"N	28°59'50"W	1/17/93	1
EcEs 10038	SEAMOUNT 2	DW215	275	31°53'60"N	28°02'90"W	1/27/93	3
EcEh 1198	SEAMOUNT 2	DW159	330	29°44'26"N	28°20'39"W	12/01/93	19
EcEh 1199	SEAMOUNT 2	DW147	340	30°11'20"N	28°27'10"W	10/01/93	1

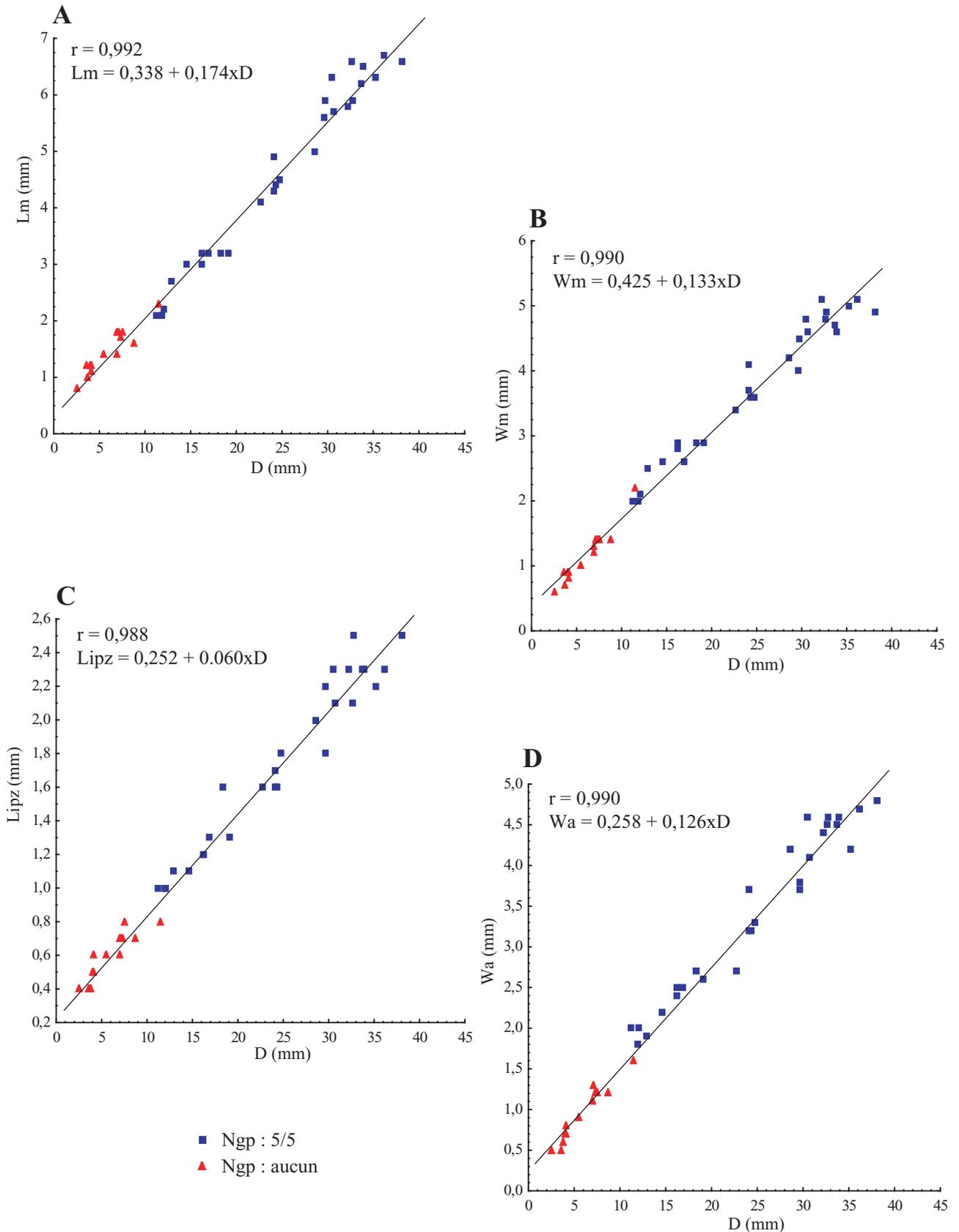
Annexe 15. Représentations bivariées des paramètres mesurés sur 88 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; H = hauteur de la couronne ; Lls = longueur du piquant primaire le plus long ; Dap = diamètre du système apical ; Dper = diamètre du péristome dans le prolongement de IA2 ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.



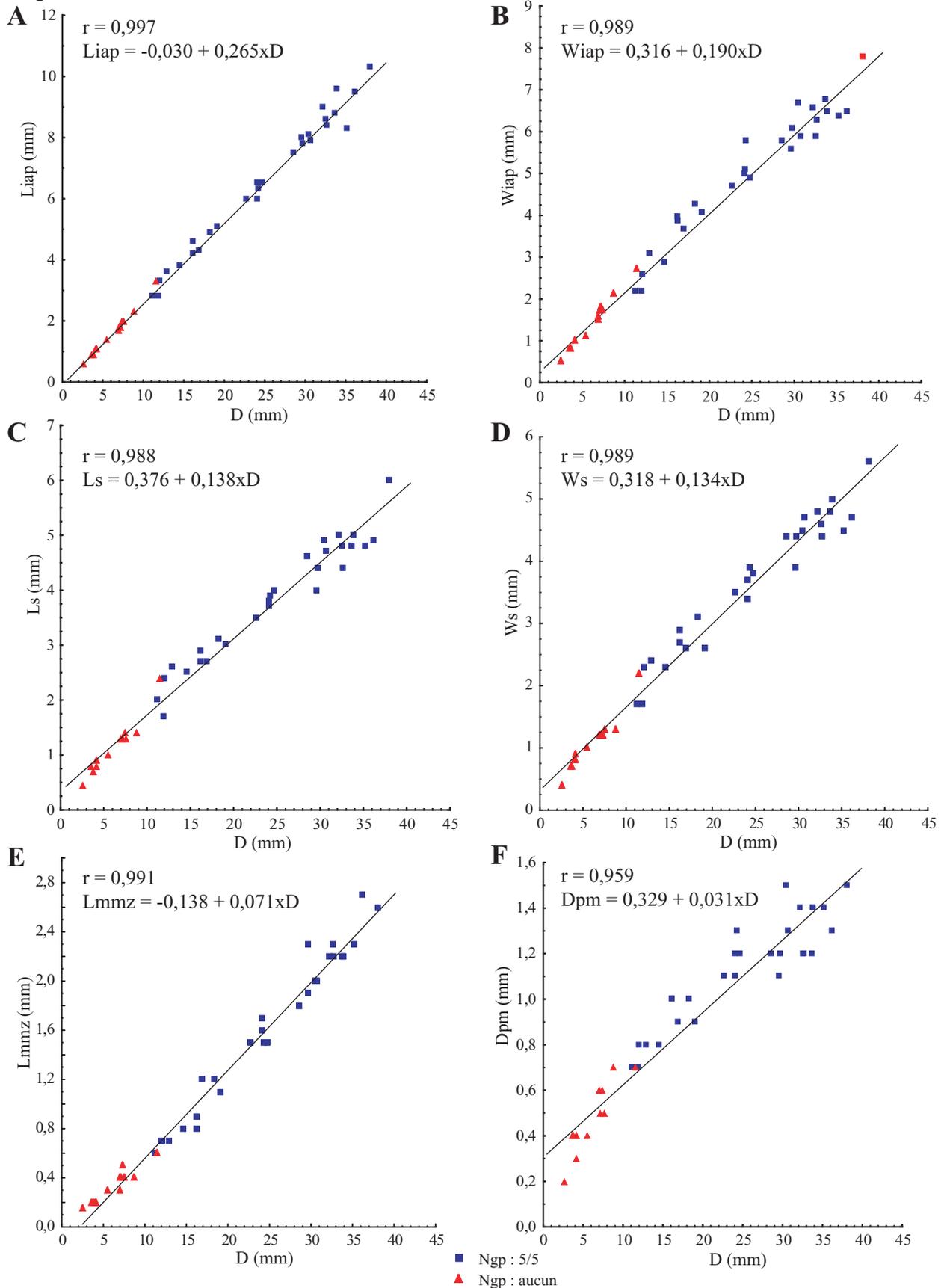
Annexe 16. Représentations bivariées des paramètres mesurés sur 46 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; Lm = longueur de la plaque madréporique ; Wm = largeur de la plaque madréporique ; Wa = largeur de l'ambulacre juste au niveau de l'ambitus ; Lipz = longueur de la zone interporifère au niveau de l'ambitus ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.



Annexe 17. Représentations bivariées des paramètres mesurés sur 46 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

D = diamètre horizontal mesuré dans l'axe de la plaque madréporique ; Liap = longueur de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Wiap = largeur de la plaque interambulacraire au niveau de l'ambitus ; Ls = longueur du scrobicule ; Ws = largeur du scrobicule ; Lmmz = longueur de la zone miliare médiane ; Dpm = diamètre du mamelon primaire ; r = coefficient de corrélation de la droite de régression.



Annexe 18. Différences entre *Stylocidaris affinis* et *Stylocidaris lineata* selon Mortensen (1910, 1928)

	caractère	Selon Mortensen (1910, 1928)	
		<i>S. affinis</i>	<i>S. lineata</i>
appareil apical	couleur	foncé avec parfois un anneau sombre	blanc avec un anneau rouge
	tuberculation		similaire
	forme des tubercules		similaire
ambulacres	tubercule marginal de la zone interporifère	présent	présent
	tubercule interne de la zone interporifère	présent (chez adultes)	présent (chez adultes)
	autre tubercule de la zone interporifère	parfois présent (chez adultes)	absent
	couleur des sutures médianes	marron à violet	marron-rouge
interambulacres	couleur sutures horizontales et verticales	marron à violet	marron-rouge
	longueur	1 à 1,5 fois D	2 fois D
piquants primaires	nombre de crêtes longitudinales dentelés	18	12
	encolure	étroite	plus large, lisse et brillante
	poils de l'écorce	branchus et anastomosés	fins et non anastomosés
piquants scrobiculaires et marginaux	couleur	blanc à rouge avec ou sans une rayure médiane plus foncée	blancs
gros pédicellaires globifères	forme		similaire
	espace entre les valves	-	plus étroit
pédicellaires dentés	partie basale des valves	-	plus large
	forme générale des valves	-	-

Annexe 19. Différences entre *Stylocidaris affinis* et *Stylocidaris lineata* selon Phelan (1970)

caractère	Selon Phelan (1970)		
	<i>S. affinis</i>	<i>S. lineata</i>	
appareil apical	couleur	uniformément rougeâtre à marron-rouge	blanc avec un anneau rouge traversant les plaques génitales
	tuberculation	uniforme	non uniforme (tubercules absents au niveau de l'anneau rouge)
	forme des tubercules	arrondis	allongés radialement de part et d'autre de l'anneau rouge nu
ambulacres	tubercule marginal de la zone interporifère	-	-
	tubercule interne de la zone interporifère	-	-
	autre tubercule de la zone interporifère	-	-
	couleur des sutures médianes	blanche	marron-rouge
interambulacres	couleur sutures horizontales et verticales	blanche	marron-rouge
	longueur	-	parfois plus longs
piquants primaires	nombre de crêtes longitudinales dentelées	variable	variable
	encolure	variable	variable
	poils de l'écorce	-	-
piquants scrobiculaires et marginaux	couleur	rayure médiane rougeâtre avec bordure blanche à verdâtre	blancs
	forme	-	plus longs et effilés
gros pédicellaires globifères	espace entre les valves	-	-
	partie basale des valves	-	-
	forme générale des valves	-	plus longues et fines

Annexe 20. Liste des taxa séquencés.

n° d'inv. = numéro d'inventaire Muséum national d'Histoire naturelle ; prof. = profondeur ; en grisé = Echinides non Cidaroida.

n° d'inv.	mission	station	prof. (m)	latitude	longitude	date	espèce	détermination
EcEh 1271	CHALCAL 2	CH5	233	24°44'00"S	168°08'50"E	10/27/86	<i>Acanthocidaritis curvatipinis</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1194	SEAMOUNT 2	DW248	735	33°13'60"N	29°32'50"W	2/1/93	<i>Cidaritis cidaris</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1170	EPOS 3	GSN10	602	74°39'S	29°34'W	2/3/89	<i>Ctenocidaritis</i> sp. (juvéniles)	David et De Ridder, 1989
EcEh 1195	LIFOU 2000	28	?	?	?	11/11/00	<i>Euclidaris metularia</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1191	MUSORSTOM 5	DW300	450	22°48'S	159°23'E	10/11/86	<i>Goniocidaritis</i> sp1	Brosseau, 2002
EcEh 1207	NORFOLK 1	DW1733	427-433	22°56'S	167°15'E	6/28/01	<i>Goniocidaritis</i> sp2	Brosseau, 2002
EcEh 1267	BORDAU 2	CP1558	580-593	20°10'S	174°43'E	6/7/00	<i>Goniocidaritis</i> sp3	Brosseau, 2002
EcEh 1268	SALOMON 1	DW1786	387	9°21'S	160°24'E	9/30/01	<i>Goniocidaritis</i> sp4	Brosseau, 2002
EcEh 1266	NORFOLK 1	DW1666	769-860	23°42'S	167°44'E	6/20/01	<i>Goniocidaritis</i> sp5	Brosseau, 2002
EcEh 1192	MUSORSTOM 4	CP216	490-515	22°59'S	167°22'E	9/29/85	<i>Goniocidaritis</i> sp6	Brosseau, 2002
EcEh 1275	MUSORSTOM 10	CP1316	480-500	17°14'8S	178°22'0E	10/6/98	<i>Goniocidaritis</i> sp7	Brosseau, 2002
EcEh 1269	MUSORSTOM 9	CP1251	550-570	9°47'S	139°38'W	9/2/97	<i>Histocidaritis elegans</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1197	NORFOLK 1	DW1701	584-586	24°40'S	168°39'E	6/24/01	<i>Histocidaritis magnifica</i>	Brosseau, 2003
EcEh 1185	EPOS 4	GSN5	574	75°16'S	25°54'W	1/28/89	<i>Notocidaritis mortenseni</i>	David et De Ridder, 1989
EcEh 1293	Coll. Peyrot-Clausade		15	Madagascar / récif de Tuléar		?	<i>Phyllacanthus imperialis</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1211	Coll. Richer-de-Forges	662	50	21°44'S	166°32'E	8/8/86	<i>Plococidaritis verticillata</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1281	MUSORSTOM 8	CP1133	174-210	15°39'S	167°03'E	10/11/94	<i>Prionocidaritis popeae</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1272	BORDAU 2	DW1512	183-184	21°19'S	175°01'W	6/1/00	<i>Psychocidaritis oshimai</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1274	MUSORSTOM 4	DW210	340-345	22°43'7S	167°09'3E	9/28/85	<i>Rhopalocidaritis</i> sp.	Brosseau, 2002
EcEh 1273	SALOMON 1	CP1806	621-708	9°37'S	160°49'E	10/2/01	<i>Stereocidaritis leucacantha</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1196	SALOMON 1	CP1793	505-510	9°13'S	160°07'E	9/30/01	<i>Stereocidaritis microtuberculata</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1199	SEAMOUNT 2	DW147	340	30°11'20"N	28°27'10"W	1/10/93	<i>Stylocidaritis affinis</i>	Brosseau, 2003
EcEh 1198	SEAMOUNT 2	DW159	330	29°44'26"N	28°20'39"W	1/12/93	<i>Stylocidaritis lineata</i>	Brosseau, 2003
EcEh 1265	BORDAU 2	CP1515	149-157	21°18'S	175°03'W	6/1/00	<i>Stylocidaritis bracteata</i> ou <i>albidens</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1204	CHALCAL 2	CP20	230-300	24°44'60" S	168°08'30" E	10/27/86	<i>Stylocidaritis brevicollis</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1270	NORFOLK 1	CP1669	302-328	23°39'S	168°01'E	6/21/01	<i>Stylocidaritis calacantha</i>	Brosseau, 2002
EcEh 1278	SALOMON 1	DW1847	148	10°25'S	161°50'E	10/6/01	<i>Tretocidaritis</i> sp.	Brosseau, 2002
-	SALOMON 1	CP1831	135-325	10°12'S	161°19'E	10/5/01	<i>Peronella</i> sp.	De Ridder, 2003
-	SALOMON 1	CP1858	435-461	9°37'S	160°41'E	10/7/01	Echinoidea juvéniles	De Ridder, 2003
-	SALOMON 1	CP1810	53	9°47'S	160°50'E	10/3/01	<i>Maretia</i> sp.	Mironov, 2002
-	SALOMON 1	DW1812	222-246	9°46'S	160°51'E	10/3/01	<i>Heterobrissus niassicus</i>	Brosseau et Mironov, 2002

Annexe 21. Liste des espèces dont les séquences proviennent de Genbank.

Séquences 28S-D1

Espèces	n° d'accèsion	Référence
<i>Paracentrotus lividus</i> (Lamarck, 1816)	AJ225815	A. B. Smith <i>et al.</i> , 1992
<i>Brisaster fragilis</i> (Doren et Koren, 1844)	AJ639781	Stockley <i>et al.</i> (soumis en 2004)
<i>Crossaster papposus</i> (Linneaus,1768)	AJ225842	A. B. Smith <i>et al.</i> , 1992
<i>Ophiopholis aculeata</i> (Linneaus,1767)	AJ225836	A. B. Smith <i>et al.</i> , 1992
<i>Florometra serratissima</i> (A.H. Clark, 1907)	AF212168	Winchell <i>et al.</i> (2002)

Séquences COI

Espèces	n° d'accèsion	Référence
<i>Paracentrotus lividus</i> (Lamarck, 1816)	NC001572	Cantatore <i>et al.</i> (1989)
<i>Brisaster fragilis</i> (Doren et Koren, 1844)	AJ639906	Stockley <i>et al.</i> (soumis en 2004)
<i>Crossaster papposus</i> (Linneaus,1768)	AF217383	Knott and Wray, 2000
<i>Ophiopholis aculeata</i> (Linneaus,1767)	NC005334	M. J. Smith <i>et al.</i> (1993)
<i>Florometra serratissima</i> (A.H. Clark, 1907)	NC001878	Scouras et Smith (2001)

Annexe 22. De l'extraction à l'amplification de l'ADN : protocoles expérimentaux.

Phase 1 : extraction de l'ADN au CTAB*.

Broyage et lyse

Préchauffer le CTAB dans un bain-marie à 55°C. Mettre à digérer les tissus prélevés dans 1 ml de CTAB. Incuber au bain-marie à 55°C pendant environ 12h.

Déprotéinisation

Ajouter 1 ml de Chloroforme-Isoamyle Alcool (CIA) 96:4. Centrifuger 10 min à 14000g, à une température de 4°C. Récupérer la phase aqueuse.

Précipitation

Ajouter 0,7 ml d'isopropanol puis laisser environ une nuit à 4°C.

Rinçage et resuspension

Centrifuger 10 min à 15000g à 4°C. Vider le surnageant. Rincer le culot dans 500 µl d'éthanol 70%. Centrifuger 10 min à 15000g à 4°C. Vider le surnageant, sécher le culot à l'air 3h. Reprendre l'ADN dans 70 µl d'H₂O.

*Composition du tampon CTAB

-CTAB 2%.....	2g
- NaCl 1.4M.....	46 ml de NaCl 3 M
- β-mercaptoéthanol 0.2%	200 µl
- EDTA 20 mM.....	4 ml de EDTA à 0.5 mM
- Tris HCl PH8 100 mM.....	20 ml de HCl à 0.5 M
- Protéinase K 0.1 mg/ml.....	10 mg
- H ₂ O	ajusté à 100 ml

Phase 2 : amplification de l'ADN par PCR

Solution pour une réaction

H ₂ O.....	30.2 µl
DMSO.....	2.5 µl
Mix dNTP.....	5 µl à 6.6 mM
Amorces.....	1 µl de chaque à 50 pm /µl
Taq Polymérase	0.3 µl à 5U / µl
ADN.....	10 µl à 0.3 µg / µl

#Cycles de la PCR dans un thermocycleur *Biometra TRIO-Thermoblock*

Etape 1 : 4 minutes à 94°C
Etape 2 : 40 secondes à 94°C
Etape 3 : 40 secondes à 50°C
Etape 4 : 40 secondes à 72°C
Etape 5 : retourner à l'étape 2, faire 30 fois ce cycle
Etape 6 : 7 minutes à 72°C

Liste des
figures,
tableaux
et planches

Figures

Figure 0.1 - Vue générale d'un spécimen de *Stylocidaris affinis*.

Figure 0.2 - Principales caractéristiques morphologiques du test de *Stylocidaris affinis*.

Figure 1.1 - Outil et porte-objet utilisés lors de la préparation des pédicellaires pour le MEB.

Figure 1.2 - Description des catégories de pédicellaires chez *Stylocidaris affinis*.

Figure 1.3 - Spicules calcitiques sur une valve de pédicellaire en croissance chez les Cidaroida.

Figure 1.4 - Ontogenèse possible d'une valve de pédicellaire chez *Stylocidaris affinis*.

Figure 1.5 - Paramètres mesurés sur les valves de pédicellaires.

Figure 1.6 - Paramètre Llimbe mesuré sur les valves de pédicellaires dentés (PD).

Figure 1.7 - Estimation de l'inclinaison des valves prélevées sur les spécimens de *Prionocidaris* sp.

Figure 1.8 - Schéma récapitulatif des analyses réalisées sur les deux jeux de données (*Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp.).

Figure 1.9 - Distinction des PPG et des GPG par des analyses bivariées chez *Stylocidaris affinis*.

Figure 1.10 - Champs de variation morphométrique des valves de PPG chez *Stylocidaris affinis*.

Figure 1.11 - Contribution de Lter, Lint, Lbas et Wbas à la forme générale de deux valves de PPG de taille extrême chez *Stylocidaris affinis*.

Figure 1.12 - Champs de variation morphométrique de Ldist des valves de PPG de *Prionocidaris* sp.

Figure 1.13 - Champs de variation morphométrique de Lint des valves de PPG chez *Prionocidaris* sp.

Figure 1.14 - Champs de variation morphométrique de Lbas et W sur les valves de *Prionocidaris* sp.

Figure 1.15 - Contribution des paramètres mesurés à la forme générale de deux valves de PPG de taille extrême chez *Prionocidaris* sp.

Figure 1.16 - Synthèse des résultats de la MANOVA.

Figure 1.17 - Analyse en Composantes Principales sur données transformées par le LSR chez *Prionocidaris* sp.

Figure 1.18 - Analyse en Composantes Principales sur données transformées par le LSR chez *Prionocidaris* sp.

Figure 1.19 - Analyse en Composantes Principales sur données transformées par le LSR chez *Prionocidaris* sp.

Figure 1.20 - Analyse en Composantes Principales sur données transformées par le LSR chez *Prionocidaris* sp.

Figure 1.21 - Analyse factorielle discriminante, projection des valves sur les axes 1 et 2.

Figure 1.22 - Schéma de synthèse récapitulant l'ontogenèse et les champs de variation morphologique des valves de PPG chez *Prionocidaris* sp.

Figure 1.23 - Allométrie et croissance des pédicellaires de *Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp.

Figure 1.24 - Ontogenèse et variation des pédicellaires de *Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp.

Figure 2.1 - Localisation des spécimens de *Stylocidaris affinis* étudiés.

Figure 2.2 - Morphologie externe en vue apicale et orale d'un spécimen de *Stylocidaris affinis*.

Figure 2.3 - Caractères observés sur l'apex et le péristome de *Stylocidaris affinis*.

Figure 2.4 - Caractères observés sur la couronne de *Stylocidaris affinis*.

Figure 2.5 - Variation des tailles relatives (rapports) en fonction du diamètre (D) chez 88 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

Figure 2.6 - Variation du nombre de plaques sur le péristome en fonction du diamètre de la couronne (D) chez 46 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

Figure 2.7 - Variation des tailles relatives (rapports) en fonction du diamètre de la couronne (D) chez 46 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

Figure 2.8 - Variation du nombre de plaques ambulacraires et interambulacraires en fonction du diamètre de la couronne (D) chez 88 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

Figure 2.9 - Variation du nombre de plaques ambulacraires par interambulacre en fonction du diamètre de la couronne (D) chez 46 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

Figure 2.10 - Variation des tailles relatives (rapports) en fonction du diamètre (D) chez 88 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

Figure 2.11 - Modèle de croissance chez *Stylocidaris affinis*.

Figure 3.1 - Deux hypothèses principales de relation de parentés entre les cinq classes actuelles d'échinodermes.

Figure 3.2 - Estimation de la saturation des marqueurs 28S-D1 et COI.

Figure 3.3 - Arbre de consensus de Jackknife de 52 arbres équiparcimonieux (L = 284 pas ; IC = 0,78 ; IR = 0,79) obtenus après une analyse du marqueur 28S-D1, en maximum de parcimonie, sous PAUP, chez les échinides.

Figure 3.4 - Arbre de consensus strict de 493 arbres équiparcimonieux (L = 240 pas ; IC = 0,84 ; IR = 0,86) obtenus après une analyse du marqueur 28S-D1, en maximum de parcimonie, sous POY, chez les échinides.

Figure 3.5 - Arbre de consensus de Jackknife de 2 arbres équiparcimonieux (L = 984 pas ; IC = 0,39 ; IR = 0,44) obtenus après une analyse du marqueur de la COI, en maximum de parcimonie, sous PAUP, chez les échinides.

Figure 3.6 - Arbre de consensus strict de 10 arbres équiparcimonieux (L = 984 pas ; IC = 0,39 ; IR = 0,44) obtenus après une analyse du marqueur de la COI, en maximum de parcimonie, sous POY, chez les échinides.

Figure 3.7 - Arbre de consensus de Jackknife d'1 arbre parcimonieux (L = 1194 pas ; IC = 0,48 ; IR = 0,50) obtenu après une analyse combinée des marqueurs 28S-D1 et COI, en maximum de parcimonie, sous PAUP, chez les échinides.

Figure 3.8 - Arbre le plus parcimonieux (L = 1155 pas ; IC = 0,49 ; IR = 0,52) obtenu après une analyse combinée des marqueurs 28S-D1 et COI, en maximum de parcimonie, sous POY, chez les échinides.

Tableaux

Tableau 0.1 - Synthèse de la contribution de Mortensen aux descriptions de sous-tribus, genres, espèces, variétés de Cidaroida dans son ouvrage de 1928

Tableau 1.1 - Dénomination des différentes catégories de pédicellaires suivant les auteurs.

Tableau 1.2 - Observation réalisées et espèces étudiées aux trois paliers d'études de la variation des pédicellaires.

Tableau 1.3 - Dénombrement des pédicellaires sur des spécimens de *Goniocidaris indica*.

Tableau 1.4 - Approches morphométriques réalisées sur les pédicellaires de deux espèces.

Tableau 1.5 - Caractéristiques des spécimens de *Stylocidaris affinis* étudiés.

Tableau 1.6 - Caractéristiques des spécimens de *Prionocidaris* sp. étudiés.

Tableau 1.7 - Nombre de pédicellaires prélevés sur les trois spécimens de *Prionocidaris* sp.

Tableau 1.8 - Nombre de valves de petits pédicellaires globifères mesurées, par partie et par spécimen.

Tableau 1.9 - Résultats du test de Shapiro-Wilk pour les PPG de *S. affinis*.

Tableau 1.10 - Résultats du test de Shapiro-Wilk pour chaque paramètre, par partie et par spécimen.

Tableau 1.11 - Résultats du test de Shapiro-Wilk sur les données transformées par le logarithme décimal.

Tableau 1.12 - Résultats du test de Lévène d'homogénéité de variance par partie.

Tableau 1.13 - Résultats du test de Lévène d'homogénéité de variance par spécimen.

Tableau 1.14 - Répartition et quantité de PPD et PD selon le spécimen et la localisation sur le test.

Tableau 1.15 - Variabilité des paramètres mesurés sur les PPG et les GPG de *S. affinis*.

Tableau 1.16 - Variabilité des paramètres mesurés sur les PPG de *Prionocidaris* sp., par partie et par spécimen.

Tableau 1.17 - Variabilité des paramètres mesurés transformés par le logarithme décimal, par partie ou par spécimen.

Tableau 1.18 - Résultats des tests multivariés de significativité de la MANOVA.

Tableau 1.19 - Corrélations entre les variables et les facteurs, suite à une ACP.

Tableau 1.20 - Synthèse de l'AFD sur les parties, réalisée à partir de sept variables transformées par le LogShapeRatio.

Tableau 1.21 - Test du Chi² avec suppression des racines successives suite à l'AFD sur les parties.

Tableau 1.22 - Moyennes des variables canoniques suite à l'AFD sur les parties.

Tableau 1.23 - Synthèse de l'AFD sur les spécimens, réalisée à partir de sept variables transformées par le LogShapeRatio.

Tableau 2.1 - Désignation et description des caractères observés et mesures effectuées sur les spécimens.

Tableau 2.2 - Caractères observés sur chacun des prélèvements étudiés.

Tableau 2.3 - Nombre de spécimens et de caractères étudiés.

Tableau 2.4 - Variabilité des paramètres mesurés sur 88 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

Tableau 2.5 - Variabilité des paramètres mesurés sur 46 spécimens de *Stylocidaris affinis*.

Tableau 2.6 - Différences et similitudes des caractères morphologiques entre *Stylocidaris affinis* et *Stylocidaris lineata*.

Tableau 3.1 - Liste des espèces incluses dans les analyses phylogéniques et gènes séquencés.

Tableau 3.2 - Liste des amorces utilisées pour l'amplification par PCR des deux marqueurs 28S-D1 et COI.

Tableau 3.3 - Description des matrices de données alignées.

Tableau 3.4 - Fréquences relatives des bases azotées et des données manquantes (N) dans les deux gènes.

Tableau 3.5 - Résultats des analyses des marqueurs 28S-D1 et de la COI.

Tableau 3.6 - Clades obtenus lors des analyses au sein des Cidaroida.

Tableau 3.7 - Soutien des clades présentés dans le tableau 3.6 au sein des Cidaroida.

Planches

Planche 1.1 - Valves de petits pédicellaires globifères (PPG) à différents stades de croissance de plusieurs spécimens de *Prionocidaris* sp.

Planche 1.2 - Valves de gros pédicellaires globifères (GPG) à différents stades de croissance chez *Goniocidaris tubaria*.

Planche 1.3 - Ontogenèse des pédicellaires dentés (PD).

Planche 1.4 - Pédicellaires dentés (PD) à différents stades de croissance chez *Histocidaris* sp.

Planche 1.5 - Valves de petits pédicellaires globifères (PPG) illustrant la forme de l'ouverture terminale.

Planche 1.6 - Diversité morphologique des petits pédicellaires globifères (PPG) chez *Goniocidaris* sp.

Planche 1.7 - Pédicellaires et piquants de *Goniocidaris indica*.

Planche 1.8 - Illustration de la diversité morphologique des petits pédicellaires globifères (PPG) chez les Cidaroida.

Planche 1.9 - Illustration de la diversité morphologique des gros pédicellaires globifères (GPG) chez les Cidaroida.

Planche 1.10 - Illustration de la diversité morphologique des pédicellaires dentés (PD) chez les Cidaroida.

Résumé

La dernière révision des Cidaroida (Echinodermata, Echinoidea) date du début du 20^e siècle (Mortensen, 1928). Mortensen y développe l'utilisation des pédicellaires à tous les niveaux de classification. Mais ce groupe reste peu étudié et est reconnu pour les difficultés de classification qu'il présente (Smith et Whright, 1989). L'objectif de cette thèse est donc de dégager des méthodes et des axes d'exploration pour une meilleure compréhension de la systématique et de l'histoire évolutive des Cidaroida. Les travaux se divisent en trois parties : 1- une analyse de la variabilité et de l'ontogenèse des pédicellaires ; 2- une étude de la croissance post-larvaire sur des populations de *Stylocidaris affinis* ; 3- la première phylogénie moléculaire de l'ensemble de groupe (27 taxa de Cidaroida), basée sur l'analyse, en maximum de parcimonie, de deux marqueurs moléculaires (28S-D1 et COI).

L'analyse morphométrique des petits pédicellaires globifères permet d'expliquer l'importante variabilité de forme par des allométries statiques. Les différentes catégories de pédicellaires chez *Stylocidaris affinis* et *Prionocidaris* sp. sont interprétées par des processus hétérochroniques. Les conséquences taxonomiques de la variabilité sont discutées. La croissance du test est expliquée par des allométries de croissance qui peuvent conduire à des différences morphologiques importantes en fonction de l'âge du spécimen observé. De plus, les analyses mettent en évidence des changements d'allométries qui correspondent à l'apparition des pores génitaux (maturité sexuelle). L'approche de phylogénie moléculaire apparaît prometteuse pour clarifier les relations de parenté au sein du groupe. La monophylie des Cidaroida est soutenue dans deux analyses. En revanche, les Cidaridae ne sont pas monophylétiques du fait de la présence de *Psychocidaris oshimai* (Psychocidaridae) dans le clade. La monophylie du genre *Goniocidaris* est quant à elle fortement soutenue.

Mots-clefs : allométries, Cidaroida, échinide, hétérochronies de développement, MEB, moléculaire, morphologie, morphométrie, ontogenèse, pédicellaires, phylogénie, variabilité.

Abstract

The last revision of the Cidaroida (Echinodermata, Echinoidea) dates back to the beginning of the 20th century (Mortensen, 1928). In this work, Mortensen stresses on the use of traits taken on the pedicellariae for classificatory purpose at every level of the taxonomy. However and in spite of Mortensen efforts to clarify the taxonomy of the Cidaroida, this group remains seldom studied (Smith et Whright, 1989). It seems therefore a necessary task to reevaluate the relevance of the morphological characters classically used in the classification of the Cidaroida. In the present study, I explore three main research axis using different exploratory methods in order to come to a better understanding of the systematics and evolutionary history of the Cidaroida. In the first part, I investigate the variation and ontogenesis of a number of morphological traits taken on the pedicellariae. In the second part, I examine the post larval growth in different population of *Stylocidaris affinis*. In the third part, I present the first phylogenetic reconstruction of a large sample (27 taxa) representative of the whole group, based on molecular sequences (28S-D1 and COI), using the parsimony criterion.

Using a morphometric approach, I show that the observed variability in shape of the globiferous pedicellariae is explained by static allometries. I also show that the different types of pedicellariae observed on *Stylocidaris affinis* and *Prionocidaris* sp. can be interpreted in term of heterochronic processes. As a consequence I discuss the taxonomic implication of these results. The test growth is explained by growth allometry that may lead to significant morphological differences. Moreover, drastic changes in allometric patterns are shown to be related to the development of the genital pores at sexual maturity. The phylogenetic reconstruction shows the monophyly of the Cidaroida. However, the family Cidaridae is not retrieved whereas the genus *Goniocidaris* is well supported by both jackknife and Bremer indices.

Key words : allometry, Cidaroida, echinid, heterochrony, SEM, molecular analysis, morphology, morphometry, ontogeny, pedicellariae, phylogeny, variability.