

## FORMATION, MATURATION ET MIGRATION DES NÉMATOBLASTES ET DES NÉMATOCYSTES CHEZ LES SIPHONOPHORES.

### III. - Maturation des nématoblastes et des nématocystes.

par Danièle CARRÉ

Station Zoologique, C.N.R.S., Université de Paris-VI, 06230 Villefranche-sur-Mer, France.

RÉSUMÉ - L'étude ultrastructurale des cellules urticantes des Siphonophores, depuis leur départ des massifs cnidogènes, jusqu'au terme de leur différenciation dans les tentilles, montre que la notion de maturité nématocystique ne peut pas être définie seulement par rapport au nématocyste, comme c'était le cas jusqu'à présent, mais par rapport à l'unité fonctionnelle nématocyste-nématoblaste.

L'auteur qualifie de mature une cellule urticante ayant acquis ses caractères ultrastructuraux et chimiques définitifs et, par conséquent, capable d'une dévagination contrôlée.

Cet article, qui est la troisième et dernière partie d'un travail sur les nématocystes, est suivi de conclusions générales concernant la formation, la migration et la maturation des cellules urticantes.

SUMMARY - The ultrastructural study of stinging cells of Siphonophora, from the time of their departure from the endogenous clumps until the end of their differentiation in the tentilla, shows that the notion of nematocytic maturity cannot be defined only with reference to the nematocyst (as has been believed until now) but also must take into account the functional unity of the nematocyst-nematoblast relationship.

The author defines as mature a stinging cell which has acquired its definitive ultrastructural and chemical characteristics and is therefore capable of a controlled evagination.

That paper, which is the third and last part of a work on nematocysts, ends with general conclusions concerning the formation, the migration and the maturation of stinging cells.

### INTRODUCTION

Les cellules urticantes se différencient dans des massifs cnidogènes, où elles ne sont jamais fonctionnelles, puis émigrent jusqu'à leurs sites d'utilisation. Les stades trouvés dans les foyers cnidogènes sont qualifiés d'immatures par opposition à ceux des tentacules ou des boutons urticants, qui sont qualifiés de matures. La notion de maturité peut donc être définie par la localisation des nématocystes et par leur aptitude à se dévaginer. Toutefois, certains auteurs, en particulier Weill (1934) et Chapman et Tilney (1959) ont objecté que des nématocystes immatures pouvaient être dévaginés. Nous avons vérifié, chez les Siphonophores, qu'il

était en effet possible d'obtenir la dévagation de certains nématocystes pendant leur migration. Mais, dans ce cas, la décharge est une réponse directe du nématocyste à des contraintes physiques extérieures à l'animal et non pas une réponse de l'unité fonctionnelle nématocyste-nématoblaste, comme dans le cas de la dévagation normale d'une cellule urticante achevée.

Burnett (1960) a tenté de préciser, chez l'*Hydre*, la nature de la maturation nématocystique. Selon cet auteur la maturation se produit pendant le transfert des nématocystes de la colonne gastrique vers les extrémités des tentacules ; il pense que, durant cette phase, les transformations morphologiques sont négligeables et que les phéno-

mènes importants concernent la nature chimique du contenu capsulaire qui devient de plus en plus acide.

Dans tous ces travaux et considérations sur la notion de maturité les auteurs se sont toujours préoccupés des nématocystes et ont totalement ignoré les nématoblastes. Nous pensons, au contraire, que le nématocyste forme avec le nématoblaste qui l'a sécrété, une unité fonctionnelle et qu'il est impossible de définir la maturité d'un nématocyste indépendamment du reste de la cellule urticante. Ceci nous a amené à suivre les transformations ultrastructurales des nématocystes et nématoblastes depuis leur départ du bourrelet urticant jusqu'à leur intégration dans une tentille achevée.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les Siphonophores ont été récoltés dans la rade de Villefranche-sur-Mer. Les filaments pêcheurs étant fréquemment endommagés lors de la récolte des animaux, nous avons surtout travaillé sur des larves obtenues par élevage à partir de fécondations artificielles.

L'étude en microscopie électronique a été faite sur des spécimens fixés à la glutaraldéhyde et au tétr oxyde d'osmium tamponnés, et inclus suivant la méthode de Spurr. Les sections ultrafines, contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb, ont été observées sur un microscope électronique Hitachi HU 11C.

#### ULTRASTRUCTURE DES CELLULES URTICANTES PENDANT LA MIGRATION

Avant de quitter le bourrelet urticant les nématoblastes se dédifférencient (Carré D, 1974). Les infrastructures sécrétrices (ergastoplasmme, appareil de Golgi), qui avaient envahi tout le cytoplasme au stade précédent, disparaissent. Si on fait abstraction de la

capsule nématocystique, on peut comparer les cellules urticantes migrantes à des cellules interstitielles. A ce stade, la capsule présente une zone externe claire amorphe et une zone interne sombre. Après une coloration vitale au rouge neutre elle est teintée en rouge orangé ce qui indique une légère basicité du contenu capsulaire. Le tube nématocystique dépourvu d'armature est, soit en fin d'invagination, soit totalement invaginé. Dès le début de sa pénétration vers la capsule, il se plisse sur lui-même suivant trois génératrices et se spiralise. La spiralisisation résulte du fait que l'extrémité ne s'invagine pas de façon rectiligne mais en décrivant des circonvolutions (Carré D, 1972).

Pendant la migration les transformations des nématocystes et des nématoblastes sont peu sensibles. Ceci n'est pas dû au fait que migration et différenciation ne peuvent pas se produire simultanément. Nous avons montré le contraire (Carré D, 1974b), mais que la différenciation est un phénomène lent, durant plusieurs jours, donc peu perceptible pendant les quelques heures que dure la migration. Toutefois, pour les plus grands nématocystes, surtout les mastigophores et les sténotèles, dont l'invagination est terminée avant le début de la migration, on observe, pendant leur trajet dans le filament pêcheur, la formation de l'armature du tube.

#### MATURATION DANS LA TENTILLE

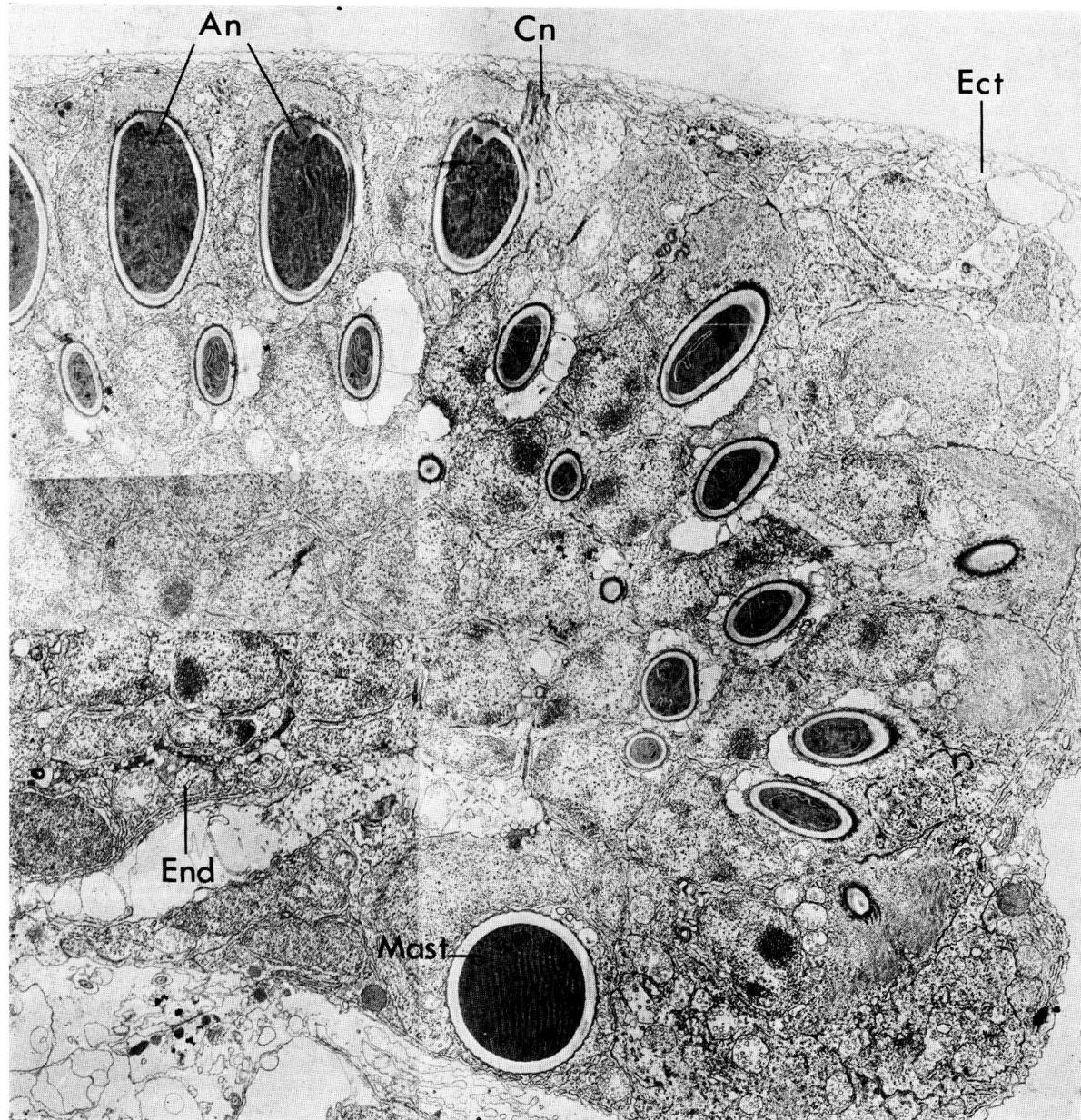
Dans la tentille la capsule et le tube nématocystique acquièrent leurs caractères définitifs, tandis que le nématoblaste se redifférencie pour un nouveau rôle physiologique. Cette phase terminale dure environ une journée.

#### LE NÉMATOCYSTE. (Pl. I, II, III).

Une coloration au rouge neutre teinte les nématocystes des tentilles fonctionnelles en rouge ce qui traduit le caractère devenu

#### PLANCHE I

Coupe oblique dans une jeune tentille de *Muggiaeae kochi* (Siphonophore calycophore) après la mise en place de toutes les cellules urticantes. La coupe passe par un mastigophore et par plusieurs rangées d'anisorhizes sectionnées à différents niveaux.  $\times 8\,000$ .



acide du contenu capsulaire. Cette transformation chimique est également observable en microscopie électronique. Toute la région interne de la capsule qui, dans le bourrelet urticant et les jeunes tentilles était très dense aux électrons (Pl. I et Pl. III, fig. 1), est devenue très claire (Pl. II et Pl. III, fig. 2) ; elle est limitée, vers l'extérieur, par une fine assise sombre et granuleuse au-delà de laquelle on retrouve la zone externe claire déjà décrite dans les premiers stades.

Le tube nématocystique est le seul élément figuré des capsules. Son armature se différencie, ou achève de se différencier dans la tentille (Pl. I à III).

#### LE NÉMATOBLASTE (Pl. IV).

Dans une tentille, les nématoblastes sont contigus entre eux ; leur pôle interne s'appuie contre la mésoglée, tandis que leur pôle externe est recouvert d'un épithélium très fin formé par l'ectoderme du bourgeon de la tentille (Pl. I). Lorsque tous les nématoblastes d'une tentille ont émigré, on observe la formation de zones de contact spécialisées entre leurs parois latérales. Ce sont d'abord de simples ondulations des membranes qui, par endroit, peuvent devenir très profondes et former un véritable engrenage (Pl. IV, fig. 1 et 2). Au niveau de ces digitations l'espace intercellulaire s'élargit et se remplit d'une substance dense de structure fibreuse et orientée perpendiculairement aux membranes (Pl. IV, fig. 3). Du côté hyaloplasmique, ces digitations sont doublées par des desmosomes ; ce sont des plages denses aux électrons, plaquées contre les membranes, et sur lesquelles convergent de larges faisceaux de tonofilaments. Ces tonofilaments, qui naissent contre la capsule sont un des éléments de l'appareil périnématocystique (dont l'ultrastructure détaillée est étudiée dans une autre publication (Carré D., sous presse).

Chaque nématoblaste différencie vers l'extérieur, un pôle récepteur : l'appareil cnidociliaire. Cet appareil est formé par un flagelle, dont la structure est plus ou moins modifiée

suivant les types de nématocystes, et par une collerette de petites digitations parcourues par des faisceaux de fibrilles périnématocystiques. Au cours de son développement, le cnidocil perfore l'ectoderme recouvrant la tentille et fait saillie à l'extérieur. Des desmosomes septés se différencient entre le cnidocil et l'ectoderme (Pl. IV, fig. 4).

#### DISCUSSION ET CONCLUSION

On peut définir la différenciation des nématocystes par la formation de la capsule, du tube nématocystique, et par l'invagination de ce tube, et la maturation, par les transformations ultérieures de la cellule urticante. Ceci entraîne que, pour certains nématocystes, la maturation débute dans le bourrelet urticant et que, pour d'autres, qui émigrent avant la fin de l'invagination, la maturation se produit seulement dans le filament pêcheur et la tentille.

Au cours de ce processus, on observe une transformation du contenu nématocystique, qui devient plus acide, et la formation de l'armature du tube.

Simultanément à la maturation des nématocystes, on suit des transformations profondes dans les nématoblastes qui après s'être dédifférenciés morphologiquement avant la migration subissent une nouvelle différenciation les transformant en cellules adaptées à la dévagination contrôlée et coordonnée des nématocystes.

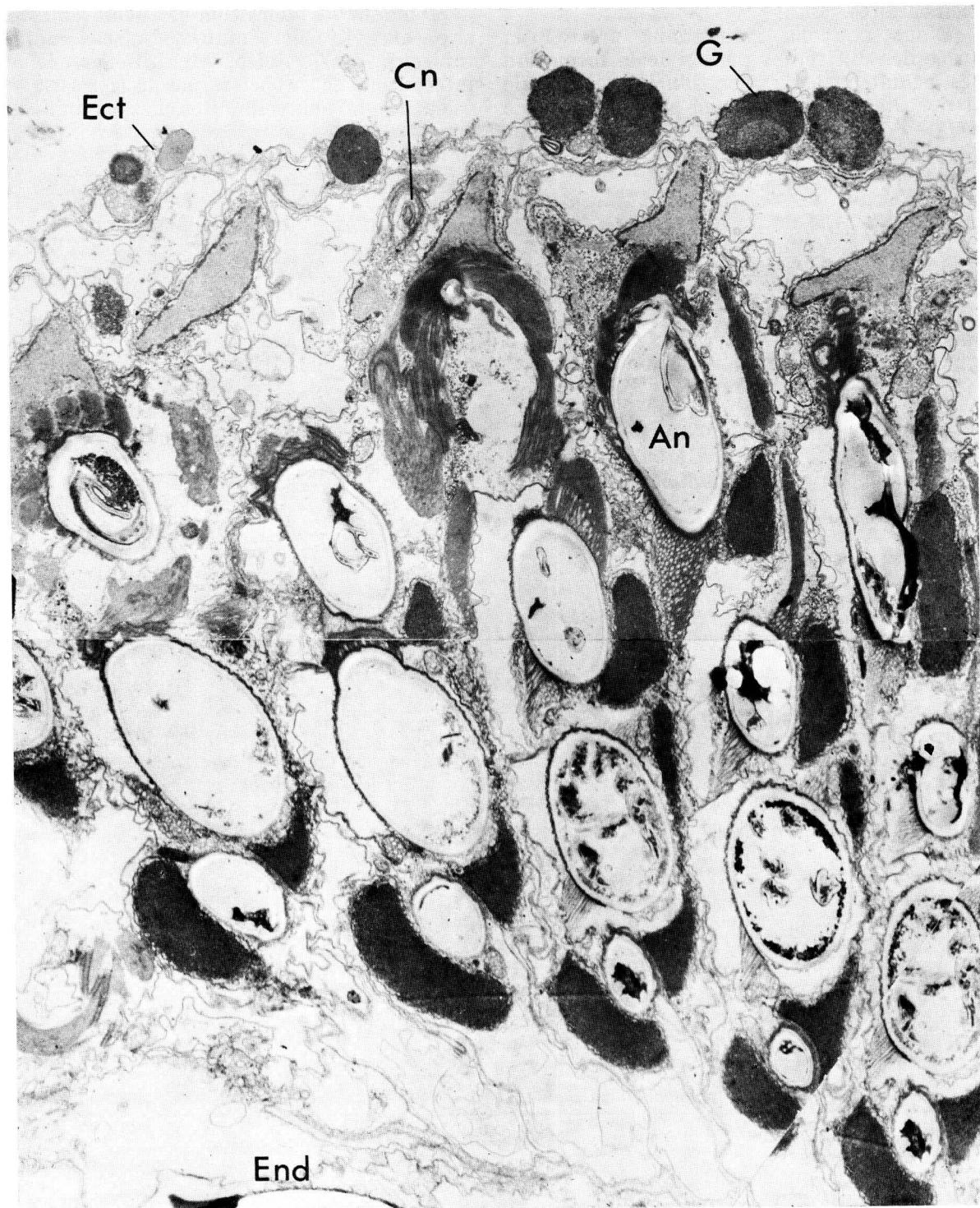
Il semble donc confirmé que la notion de maturité ne peut pas être définie seulement pour le nématocyste, mais pour l'unité fonctionnelle nématocyste-nématoblaste et nous qualifierons de mature une cellule urticante ayant acquis ses caractères ultrastructuraux et chimiques définitifs et donc capable d'une dévagation contrôlée.

#### CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Outre les discussions et conclusions qui ont suivi chacun des articles de cette étude

#### PLANCHE II

Coupe oblique d'une tentille mature de *Muggiaeae kochi*. La coupe sectionne à différents niveaux plusieurs rangées d'anisorhizes.  $\times 12\,000$ .



(Carré, D., 1974a, b), l'ensemble des résultats permet quelques considérations supplémentaires.

Nous pouvons maintenant préciser la durée des différentes phases de la formation des nématocystes : sécrétion de la capsule et du tube nématocystique par l'appareil de Golgi : 2 à 3 jours ; invagination du tube dans la capsule : 1 à 2 heures ; migration des nématoblastes et de leurs nématocystes du bourrelet urticant vers leur site d'utilisation : quelques heures au maximum ; maturation du nématocyste mis en place : 1 journée. Ceci donne pour l'ensemble du processus une durée de 4 à 5 jours, résultat en accord avec les conclusions de Burnett (1960) et de Zumstein et Tardent (1971).

Une autre remarque concerne la division en trois phases de la cnidogenèse. En fait, il apparaît que la phase dite de « différenciation » et celle de « maturation » font partie d'un même processus qui se déroule de façon continue et qui, à un moment variable et pendant un temps assez court, est doublé par un second phénomène : celui de la migration. Il est clair que la migration peut se produire pendant la différenciation contrairement à ce qui était admis. La confusion vient probablement du fait que la migration est un phénomène rapide pendant lequel la différenciation, processus lent, étalé sur plusieurs jours, progresse peu.

En même temps que la formation des nématocystes nous avons suivi les transformations des nématoblastes. Elles reflètent les trois fonctions différentes et successives de ces cellules. Dans un premier temps les nématoblastes ont essentiellement un rôle sécréteur : sécrétion de la capsule du tube nématocystique. Ceci se traduit, au point de vue ultrastructural par un développement considérable de l'ergastoplasmme et de l'appareil de Golgi (Carré, D., 1972). Au cours de l'invagination du tube nématocystique, ces structures régressent avec la libération de nombreux polysomes qui constituent les

seuls éléments remarquables des nématoblastes migrants.

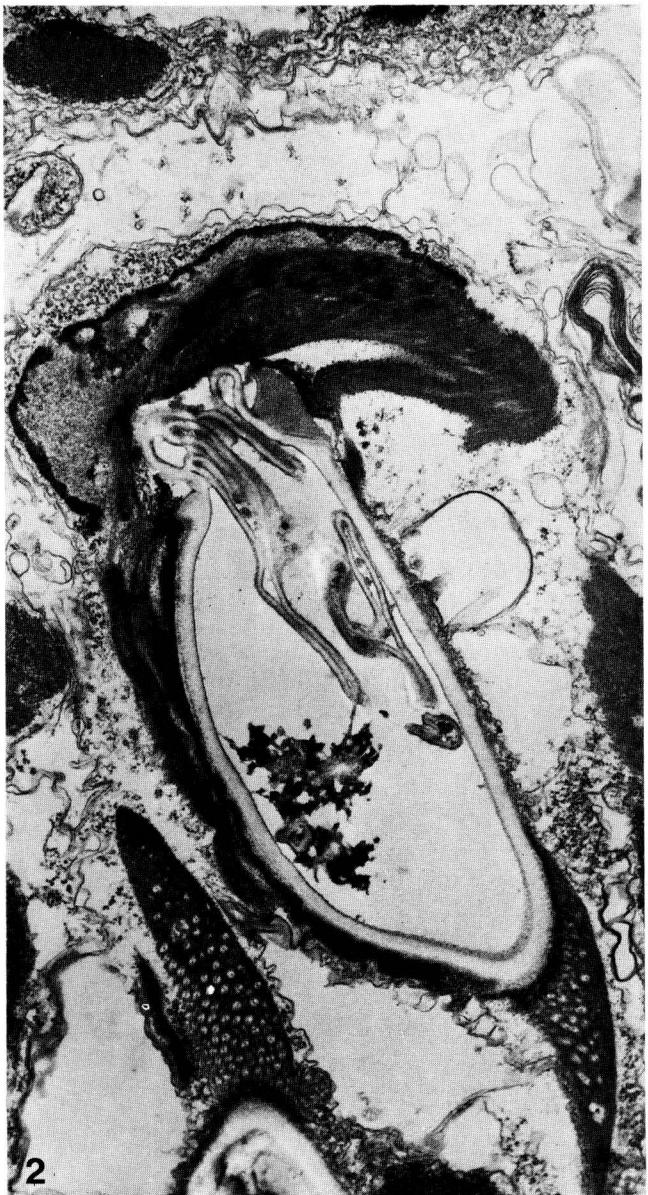
Pendant la migration, les nématoblastes, si on excepte leur nématocyste, sont comparables à des cellules interstitielles. Il est intéressant de rappeler que tous les autres cas de migrations cellulaires chez les Cnidaires concernent justement des cellules interstitielles ou des éléments blastogénétiques dédifférenciés. Une fois la migration terminée les nématoblastes subissent une nouvelle différenciation qui les transforme en cellules adaptées à la dévagination contrôlée et coordonnée des capsules nématocystiques.

L'étude de la cnidogenèse dans son ensemble, depuis la mise en place des clones de nématoblastes, permet de constater qu'il n'existe aucun stade d'attente au cours de la formation d'un nématocyste. A partir du moment où une cellule primordiale du bourrelet urticant se divise, elle forme un clone et l'ensemble des autres phases de la cnidogenèse suivent nécessairement. Nous pensons que dans des conditions normales, la destinée des nématocystes est déjà fixée au moment de leur initiation et que la régulation de la production nématocystique dans le bourrelet urticant des Siphonophores s'effectue très vraisemblablement par la stimulation d'un nombre plus ou moins grand de cellules interstitielles.

Zumstein et Tardent (1971) dans un travail sur la régulation de la cnidogenèse chez l'*Hydre* ont montré que la destruction sélective d'une catégorie de nématocystes (les sténotèles en l'occurrence) entraînait une stimulation de la production des sténotèles mais également un flux augmenté d'isorhizes et de desmonèmes vers les tentacules. Les auteurs pensent que les nouveaux sténotèles sont destinés à remplacer ceux détruits expérimentalement dans les boutons urticants. Ils n'expliquent pas l'augmentation du flux d'isorhizes et de desmonèmes. Nos observations sur les Siphonophores ont montré que, lorsqu'un nématocyste émigre dans une

### PLANCHE III

1. Coupe longitudinale d'un anisorhize dans une jeune tentille de *Muggiae kochi*.  $\times 12\,000$ .
2. Coupe semi-longitudinale d'un anisorhize dans une tentille mature de *Muggiae kochi*.  $\times 30\,000$ .



tentille, il s'installe dans une ébauche formée par des cellules à caractère embryonnaire, n'adhérant entre elles par aucune zone de contact spécialisée sauf à leur pôle externe, et entre lesquelles le nématocyste peut s'insinuer. Après la mise en place de tous les nématocystes d'une tentille, de véritables engrenages se forment entre les nématoblastes. Si dans une tentille achevée on détruit sélectivement, par un choc électrique par exemple, les sténotèles, on n'obtient jamais la migration de nouveaux sténotèles pour compenser la perte. En effet, une tentille mature n'est plus un organe embryonnaire facilement pénétrable par les nématoblastes ; c'est un organe très architecturé et très différencié dans lequel il est impossible de concevoir, et dans lequel nous n'avons jamais observé, une migration de nouveaux nématocystes. Nous pensons que la destruction sélective d'une catégorie de nématocystes — dans une ou plusieurs tentilles — peut créer deux situations. Ou bien les tentilles sont peu lésées, elles continuent à être fonctionnelles et l'expérience n'a aucun effet sensible sur la production nématocystique. Ou bien elles sont profondément détériorées et, dans ce cas, elles ne sont pas réparées mais remplacées par des tentilles de néoformation à la base du filament pêcheur. Cette deuxième éventualité implique une stimulation de la production de toutes les catégories de nématocystes présentes dans les tentilles et non pas seulement de la catégorie détruite.

La même explication semble pouvoir être proposée chez l'*Hydre* pour interpréter les résultats de Zumstein et Tardent (1971). En effet, les nématocystes des boutons urticants de l'*Hydre* forment avec les cellules environnantes un complexe cnido-musculo-épithélial (Slatterback, 1967) au sein duquel il paraît difficile d'envisager la migration de nouveaux nématocystes.

Il convient de remarquer que les expériences faites chez *Physophora hydrostatica* (Carré, D., 1974b) et consistant à détruire les sténotèles des dactylozoïdes et à suivre l'arrivée de nouveaux sténotèles de remplacement, ne sont pas en contradictions avec les conclusions qui viennent d'être faites. En effet, à l'extrémité de ces dactylozoïdes il n'existe pas de site d'accueil privilégié pour les nématocystes. Lorsque de nouveaux sténotèles arrivent, ils s'insinuent entre les cellules ectodermiques à des emplacements différents des sténotèles précédents. Nous avons du reste vérifié que lorsqu'il existe dans un organe, autre qu'une tentille, des sites particuliers dans lesquels se logent les cellules urticantes, on n'observe jamais le remplacement de ces cellules après leur destruction. C'est le cas, par exemple, des eurytèles microbasiques de l'extrémité des bractées larvaires d'*Agalma elegans* qui sont insérés dans des logettes et ne sont jamais renouvelés.

N.B. — Les observations en microscopie électronique ont été effectuées dans le laboratoire de M. le Professeur Cachon, Faculté des Sciences de Nice.

#### ABRÉVIATIONS

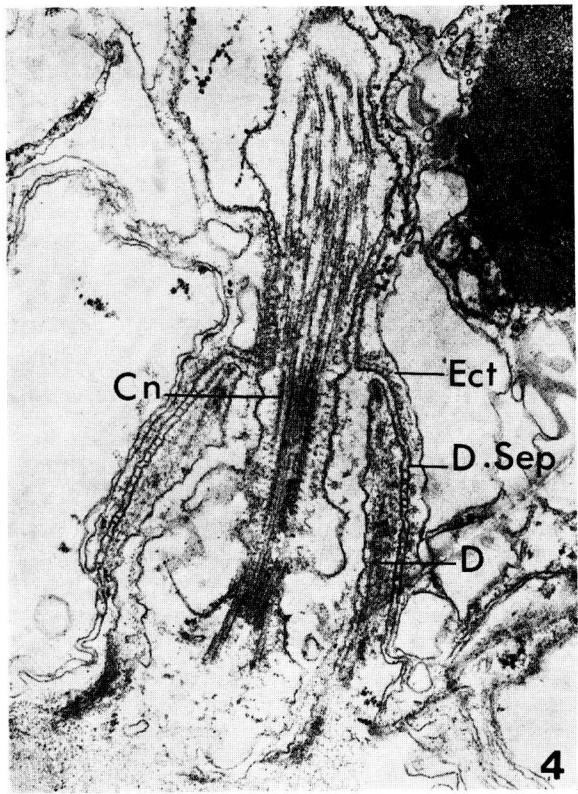
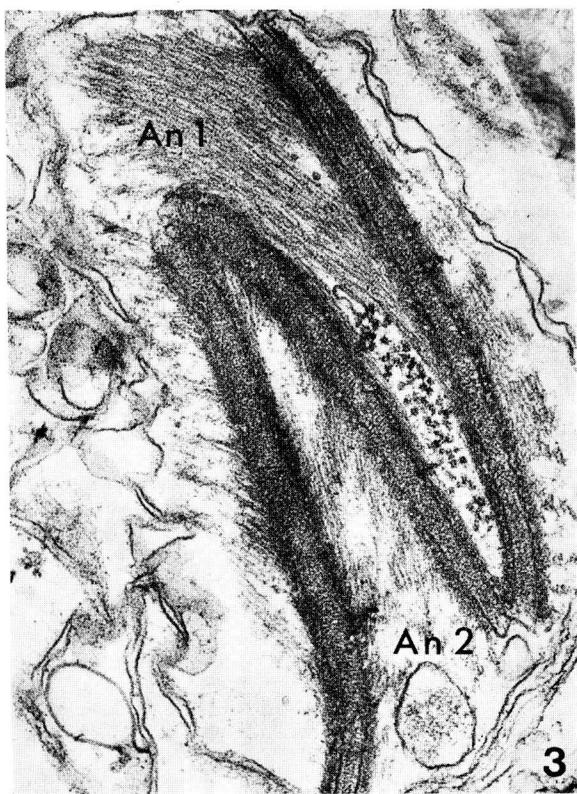
An. : anisorhize ; Cn. : cnidocil ; D. : digitations ; D. Sep. : desmosomes septés ; Ect. : ectoderme ; End. : endoderme ; G. : granules corticaux de la tentille ; Mast. : mastigophore.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BURNETT, A. (1960). — The maturation of nematocysts in *Hydra*. *Ann. Soc. R. Belgique*, **90**, 269-280.  
 CARRÉ, D. (1972). — Étude du développement des cnidocystes dans le gastrozoïde de *Muggiaeae kochi* (*Siphonophore calyco-phore*). *C.R. Acad. Sc.*, **275**, 1263-1266.

#### PLANCHE IV

1. Coupe transversale d'un nématoblaste (anisorhize) dans une jeune tentille de *Muggiaeae kochi* ; les desmosomes internématoblastiques sont en cours de différenciation.  $\times 22\,000$ .
2. Coupe transversale d'un anisorhize mature, dans une tentille de *Muggiaeae kochi* montrant les engrenages unissant les nématoblastes les uns aux autres.  $\times 30\,000$ .
3. Détail d'une zone de contact entre deux nématoblastes.  $\times 52\,000$ .
4. Cnidocil d'un anisorhize de *Muggiaeae kochi* perçant l'ectoderme de la tentille.  $\times 30\,000$ .



- (1974a). — Formation, migration et maturation des nématoblastes et des nématocystes chez les Siphonophores. I. Mise en évidence et formation des clones de nématocystes. *Ann. Embr. Morph.*, **7**, 205-218.
- (1974b). — Formation, migration et maturation des nématoblastes et des nématocystes chez les Siphonophores. II. Migration. *Ann. Embr. Morph.*, **7**, 221-232.
- CHAPMAN, G. et TILNEY, L. (1959). — Cytological studies of Nematocysts of Hydra. *J. biophys. biochem. cytol.*, **5**, 69-84.
- SLAUTTERBACK, D. (1967). — The cnidoblast Musculoepithelial cell complex in the Tentacles of Hydra. *Z. Zellforsch.*, **79**, 296-318.
- WEILL, R. (1934). — Contribution à l'étude des Cnidaires et de leurs nématocystes. *Trav. statn. zool. Wimereux*, **10-11**, 1-700.
- ZUMSTEIN, A. et TARDENT, P. (1971). — Beitrag zum problem der regulation der nematoctytenproduktion bei *Hydra attenuata*. *Rev. Suisse Zool.*, **78**, 705-714.

*Manuscrit reçu le 18 février 1974.*

## **FORMATION, MATURATION AND MIGRATION OF NEMATOBLASTS AND OF NEMATOCYSTS IN THE SIPHONOPHORES.**

### **III. - Maturation of the nematoblasts and of nematocysts.**

by Danièle CARRÉ

*Station Zoologique, C.N.R.S., Université de Paris-VI, 06230 Villefranche-sur-Mer, France.*

**SUMMARY** - The ultrastructural study of stinging cells of Siphonophora, from the time of their departure from the endogenous clumps until the end of their differentiation in the tentilla, shows that the notion of nematocytic maturity cannot be defined only with reference to the nematocyst (as has been believed until now) but also must take into account the functional unity of the nematocyst-nematoblast relationship.

The author defines as mature a stinging cell which has acquired its definitive ultrastructural and chemical characteristics and is therefore capable of a controlled evagination.

That paper, which is the third and last part of a work on nematocysts, ends with general conclusions concerning the formation, the migration and the maturation of stinging cells.

### **INTRODUCTION**

The stinging cells differentiate into cnidogenic clumps, where they are never functional, then migrate to their sites of use. The stages found in cnidogenic foci are referred to as immature as opposed to tentacles or basigaster, which are referred to as mature. The notion of maturity can therefore be defined by the location of the nematocysts and their ability to devaginate. However, some authors, in particular Weill (1934) and Chapman and Tilney (1959) have objected to the possibility that immature nematocysts can be devaginated. We have verified, in siphonophores, that it was indeed possible to obtain the devagination of certain nematocysts during their migration. But, in this case, the discharge is a direct response of the nematocyst to physical constraints external to the animal and not a response of the nematocyst-nematoblast functional unit, as in the case of the normal devagination of a fully developed stinging cell.

Burnett (1960) attempted to clarify, in *Hydra*, the nature of nematocytic maturation. According to this author, maturation occurs during the transfer of nematocysts from the gastric column to the ends of the tentacles; he thinks that, during this phase, the morphological transformations are negligible and that the important phenomena concern the chemical nature of the capsular content which becomes more and more acidic.

In all these works and considerations on the notion of maturity, the authors have always been concerned with nematocysts and have totally ignored nematoblasts. We believe, on the contrary, that the nematocyst forms within the nematoblast which secreted it, a functional unit and that it is impossible to define the maturity of a nematocyst independently of the rest of the stinging cell. This has led us to follow the ultrastructural transformations of nematocysts and nematoblasts from their departure from the basigaster to their integration into a fully developed tentillum.

### **MATERIAL AND METHODS**

The siphonophores were collected in the bay of Villefranche-sur-Mer. The tentacles being frequently damaged during the harvesting of the animals, we mainly worked on larvae obtained by breeding from artificial fertilization. The electron microscopic study was carried out on specimens fixed with buffered glutaraldehyde and osmium tetroxide, and included according to the Spurr method. The ultrafine sections, contrasted by uranyl acetate and lead citrate, were observed on a Hitachi HU 11C electron microscope.

## ULTRASTRUCTURE OF URTICANT CELLS DURING MIGRATION

Before leaving the basigaster, the nematoblasts de-differentiate (Carré D, 1974). The secretory infrastructures (ergastoplasm, Golgi apparatus), which had invaded the entire cytoplasm at the previous stage, disappear. Leaving aside the nematocystic capsule, we can compare migrating stinging cells to interstitial cells. At this stage, the capsule shows a clear amorphous outer area and a dark inner area. After a vital neutral red colouration, it is tinted orange red, indicating a slight basicity of the capsular content. The nematocystic tube devoid of framework is either at the end of invagination or totally invaginated. From the start of its penetration towards the capsule, it folds in on itself following three generators [?] and spirals. Spiralling results from the fact that the extremity does not invaginate in a rectilinear fashion but by describing convolutions (Carré D, 1972).

During migration, the transformations of nematocysts and nematoblasts are not very sensitive. This is not because migration and differentiation cannot occur simultaneously. We have shown the opposite (Carré D, 1974b), but that the differentiation is a slow phenomenon, lasting several days, and, therefore, hardly perceptible during the few hours that the migration lasts. However, for the largest nematocysts, especially mastigophores and stenoteles, whose invagination is completed before the start of migration, we observe, during their journey in the tentacle, the formation of the frame of the tube.

## MATURATION IN THE TENTILLUM

In the tentilla, the capsule and the nematocystic tube acquire their final characters, while the nematoblast re-differentiates itself for a new physiological role. This terminal phase lasts about a day.

### THE NEMATOCYST. (Pl. I, II, III).

Staining in neutral red tints the nematocysts of functional tentilla red, which reflects the acidic character of the capsular content. This chemical transformation can also be observed under electron microscopy. The entire internal region of the capsule, which in the basigaster and young tentilla was very electron dense (Pl. I and Pl. III, fig. 1), became very clear (Pl. II and Pl. III, fig. . 2); it is limited, towards the outside, by a fine dark and grainy layer beyond which we find the clear external zone already described in the first stages.

The nematocystic tube is the only figurative element of the capsules. Its armature is differentiated, or completes its differentiation in the tentillum (Pl. I to III).

### THE NEMATOBLAST (Pl. IV).

In a tentilla, the nematoblasts are contiguous with each other; their internal pole rests against the mesogloea, while their external pole is covered with a very fine epithelium formed by the ectoderm of the bud of the tentilla (Pl. 1). When all the nematoblasts of a tentillum have migrated, the formation of specialized contact areas between their side walls is observed. They are first of all simple undulations of the membranes which, in places, can become very deep and form a veritable gear (Pl. IV, fig. 1 and 2). At the level of these digitations the intercellular space widens and is filled with a dense substance of fibrous structure and orientated perpendicular to the membranes (Pl. IV, fig. 3). On the hyaloplasmic side, these digitations are doubled by desmosomes; these are electron-dense areas, pressed against the membranes, and on which large bundles of tonofilaments [?] converge. These tonofilaments, which originate against the capsule are one of the elements of

the perinematocystic system (the detailed ultrastructure of which is studied in another publication (Carré D., in press).

Each nematoblast differentiates outwardly a receptor pole: the cnidociliary apparatus. This apparatus is formed by a flagellum, the structure of which is more or less modified according to the types of nematocysts, and by a collar of small digitations traversed by bundles of perinematocystic fibrils. During its development, cnidocil perforates the ectoderm covering the tentilla and protrudes outside. Septate desmosomes are differentiated between cnidocil and ectoderm (Pl. IV, fig. 4).

## DISCUSSION AND CONCLUSION

We can define the differentiation of nematocysts by the formation of the capsule, the nematocystic tube, and by the invagination of this tube, and the maturation, by the subsequent transformations of the stinging cell. This means that, for some nematocysts, maturation begins in the basigaster and that, for others, which migrate before the end of invagination, maturation occurs only in the tentacle and tentilla.

During this process, there is a transformation of the nematocystic contents, which becomes more acidic, and the formation of the tube armature.

Simultaneously with the maturation of the nematocysts, deep transformations are followed in the nematocysts which, after being morphologically de-differentiated before migration, undergo a new differentiation transforming them into cells adapted to the controlled and co-ordinated devagination of the nematocysts.

It therefore seems confirmed that the notion of maturity cannot be defined only for the nematocyst, but for the nematocyst-nematoblast functional unit and we will qualify as mature a stinging cell having acquired its final ultrastructural and chemical characteristics and therefore capable of controlled devagination.

## GENERAL CONCLUSIONS

In addition to the discussions and conclusions which followed each of the articles in this study (Carré, D., 1974a, b), all the results allow some additional considerations.

We can now specify the duration of the different phases of the formation of nematocysts: secretion of the capsule and of the nematocystic tube by the Golgi apparatus: 2 to 3 days; invagination of the tube in the capsule: 1 to 2 hours; migration of nematoblasts and their nematocysts from the basigaster to their site of use: a few hours at most; maturation of the nematocyst in place: 1 day. This gives the whole process a duration of 4 to 5 days, a result in agreement with the conclusions of Burnett (1960) and Zumstein and Tardent (1971).

Another remark concerns the division into three phases of cnidogenesis. In fact, it appears that the so-called "differentiation" phase and that of "maturation" are part of the same process which takes place continuously and which, at a variable time and for a relatively short time, is doubled by a second phenomenon: that of migration. It is clear that migration can occur during differentiation contrary to what was previously accepted. The confusion probably stems from the fact that migration is a rapid phenomenon during which differentiation, a slow process spread over several days, progresses little.

At the same time as the formation of nematocysts we followed the transformations of nematoblasts. They reflect the three different and successive functions of these cells. Initially, the nematoblasts essentially have a secretory role: secretion from the capsule of the nematocystic tube. From an ultrastructural point of view, this results in a considerable development of the ergastoplasm and the Golgi apparatus (Carré, D., 1972). During invagination of the nematocystic tube, these structures regress with the release of numerous polysomes which constitute the only remarkable elements of the migrating nematoblasts.

During migration, nematoblasts, apart from their nematocyst, are comparable to interstitial cells. It is interesting to recall that all the other cases of cell migrations in cnidarians concern precisely interstitial cells or de-differentiated blastogenetic elements. Once the migration is complete, the nematocysts undergo a new differentiation which transforms them into cells adapted to the controlled and coordinated devagination of the nematocystic capsules.

The study of cnidogenesis as a whole, since the establishment of the nematoblast clones, shows that there is no waiting stage during the formation of a nematocyst. From the moment when a primordial cell of the stinging rim divides, it forms a clone and all the other phases of cnidogenesis necessarily follow. We believe that under normal conditions, the fate of nematocysts is already fixed at the time of their initiation and that the regulation of nematocystic production in the stinging rim of the siphonophores is most likely effected by the stimulation of a greater or lesser number of interstitial cells.

Zumstein and Tardent (1971) in a work on the regulation of cnidogenesis in *Hydra* showed that the selective destruction of a category of nematocysts (stenoteles in this case) led to a stimulation of the production of stenoteles but also an increased flow of isorhizas and desmonemes to tentacles. The authors believe that the new stenoteles are intended to replace those destroyed experimentally in basigasters. They do not explain the increased flow of isorhizas and desmonemes. Our observations on siphonophores have shown that, when a nematocyst migrates into a tentillum, it settles in a space formed by cells of an embryonic nature, not adhering between them by any specialized contact zone except at their external pole, and between which the nematocyst can creep. After the placement of all the nematocysts of a tentillum, real gears [? engrenages] are formed between the nematoblasts. If in a completed tentillum one selectively destroys, by an electric shock for example, the stenoteles, one never obtains the migration of new stenoteles to compensate for the loss. In fact, a mature tentilla is no longer an embryonic organ easily penetrated by nematoblasts; it is a very structured and very differentiated organ in which it is impossible to conceive, and in which we have never observed, a migration of new nematocysts. We believe that the selective destruction of a category of nematocyst - in one or more tentilla - can create two situations. Either the tentilla are little damaged, they continue to be functional and the experiment has no noticeable effect on nematocystic production, or they are deeply deteriorated and, in this case, they are not repaired but replaced by neoformation tentilla at the base of the tentacle. This second possibility implies a stimulation of the production of all the categories of nematocysts present in the tentilla and not only of the destroyed category.

The same explanation seems to be able to be proposed in *Hydra* to interpret the results of Zumstein and Tardent (1971). In fact, the nematocysts of the cnidobands of *Hydra* form with the surrounding cells a cnido-musculoepithelial complex (Slatterback, 1967) within which it seems difficult to envisage the migration of new nematocysts.

It should be noted that the experiments carried out in *Physophora hydrostatica* (Carré, D., 1974b) and consisting in destroying the stenoteles of the dactylozooids and in following the arrival of new replacement stenoteles, are not in contradiction with the conclusions which we have come to make. Indeed, at the end of these dactylozooids there is no preferred host site for the nematocysts. When new stenoteles arrive, they creep between the ectodermal cells at different locations from the previous stenoteles. We have moreover verified that when there are in an organ, other than a tentillum, particular sites in which the stinging cells are lodged, the replacement of these cells after their destruction is never observed. This is the case, for example, with the microbasic euryteles from the ends of the larval bracts of *Agalma elegans* which are inserted into spaces and are never renewed.

#### ABBREVIATIONS

An.: anisorhiza; Cn.: cnidocil; D.: digitations; D. Sep.: septate desmosomes; Ect.: ectoderm; End.: endoderm; G.: cortical granules of the tentilla; Mast.: mastigophore.