

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

### II. - Migration.

par Danièle CARRÉ

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

RÉSUMÉ - La migration des nématocystes, et des nématoblastes qui les ont sécrétés, est établie et étudiée chez les Siphonophores. La vitesse de ce processus qui a pu être calculée, exclut de l'assimiler à un simple phénomène de croissance au cours duquel les cellules les plus anciennes seraient peu à peu repoussées.

Il est établi que les cellules urticantes émigrent dans l'ectoderme et, plus précisément, à la base du feuillett ectodermique. Elles n'empruntent jamais ni l'endoderme, ni la cavité gastrique. L'étude ultrastructurale des nématoblastes migrants et celle des cellules entre lesquelles ils émigrent, permettent de conclure que la migration s'effectue vraisemblablement par des mouvements amoeboides.

Quelques expériences montrent que la migration d'un nématocyste, une fois amorcée, n'est entravée ni par l'ablation de son lieu de départ, ni par celle de son site d'utilisation.

SUMMARY - The migration of the nematoblasts and of their nematocysts is described and studied in Siphonophora. The speed of the migration, which could be calculated, shows that this process is not attributable to a simple growth phenomenon during which the oldest cells are gradually pushed away.

It is proved that the stinging cells migrate inside the ectoderm and, more precisely, at the base of the ectodermal layer. They never migrate inside the endodermal layer or the gastrical cavity. The ultrastructural study of migrating nematoblasts and of the cells between which they migrate allows the conclusion that the migration probably takes place because of amoeboid movements.

Experiments show that once the migration of a nematoblast has begun, it is not stopped either by the removal of the original site, or by the removal of the final site.

### INTRODUCTION

Les migrations cellulaires chez les Cnidaires ont été remarquablement bien étudiées, représentées et interprétées par Brien dans ses travaux sur la croissance, la blastogénèse et l'ovogenèse chez *Hydra fusca* (1949) et chez *Clava squamata* (1942). Il s'agit de processus accompagnant la croissance normale et assurant la maintenance des tissus et la mise en place de nouvelles lignées à partir de cellules interstitielles ou d'éléments blastogénétiques dédifférenciés.

Lorsqu'une cellule de Cnidaire émigre, elle présente tous les caractères morphologiques d'un élément embryonnaire excepté dans le cas des nématoblastes qui, pendant la

phase de migration, contiennent déjà une vésicule nématocystique parfaitement bien différenciée. Cette particularité a suscité de nombreux travaux sur les déplacements des cellules urticantes, travaux facilités par la présence même de la vésicule qui réalise un marquage naturel des cellules permettant, dans certains cas, de les repérer et de suivre leur cheminement dans les tissus. Il est inutile de reprendre dans le détail les résultats des différents auteurs et nous nous bornerons à rappeler les principales hypothèses et interprétations que ces recherches ont suscitées.

Selon Hadzi (1907) qui a expérimenté sur *Tubularia* et *Campanularia* les nématocystes se différencient dans des zones particulières puis émigrent, de façon active, vers

les tentacules, en traversant la mésoglée, l'endoderme, et en transitant par la cavité gastrovasculaire. Kepner *et al.* (1937), à partir d'une étude histologique chez *l'Hydre*, puis Jones (1941), ont retenu ce schéma. Plus récemment, Znidaric et Lui (1969), toujours chez *l'Hydre*, ont abouti aux mêmes conclusions.

Brien et Reniers-Decoen (1950) rejettent les premiers l'hypothèse chez *l'Hydre*, dans les conditions normales, d'un transit par la cavité gastrique. Ils considèrent que les nématocystes se forment de façon continue dans la zone de croissance de l'animal et que leurs déplacements vers les tentacules peuvent s'expliquer par un simple processus de multiplication cellulaire qui repousse peu à peu les cellules les plus anciennes vers les extrémités. Semal-Van Gansen (1951), puis Burnett et Lentz (1960) confirment cette opinion et concluent que l'« hypothèse de migration nématocystaire, avec les complications qu'elle entraîne, est inutile ». Toutefois, il convient de signaler que dans un travail plus ancien sur deux Hydroïdes gymnoblastiques, Brien (1942) attribue aux nématoblastes le caractère d'éléments ectodermiques migrateurs ; il décrit leur trajet depuis l'ectoderme du manubrium médusaire, jusqu'à l'ectoderme des terminaisons capitées des tentacules, à travers la mésoglée et l'endoderme, grâce à des mouvements amiboides. Cette troisième éventualité de migration effective, sans phase libre dans la cavité gastrique, a été reprise, depuis, par plusieurs auteurs, en particulier Tardent et Morgenthaler (1966) et Campbell (1967).

Telles sont les conclusions, souvent contradictoires, qui nous ont conduits à reprendre l'étude des voies et des mécanismes de la migration des nématoblastes. Toutes nos observations ont été faites sur des Siphonophores.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les Siphonophores ont été récoltés dans la rade de Villefranche-sur-Mer, soit par des pêches au filet, soit en surface à l'aide de sacs en plastique. Les filaments pêcheurs étant souvent endommagés lors de la récolte, nous avons également travaillé sur des larves calyconula et siphonula obtenues par élevage.

Pour les observations sur le vivant, des larves ou des fragments de colonie, ont été placés dans de petites chambres de culture

à circulation d'eau. Ces montages, observés au microscope à contraste de phase interférentiel, ont permis de suivre un même phénomène de façon prolongée.

L'étude en microscopie électronique a été faite sur des spécimens fixés à la glutaraldéhyde et au tetroxyde 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.

## OBSERVATIONS SUR LE VIVANT

### Migration dans le bourrelet urticant (Fig. 1 et 2).

Chez les Siphonophores, les nématocystes se différencient dans des massifs cnidogènes particuliers, situés à la base des gastrozoïdes, et appelés bourrelets urticants (Fig. 1). A l'état mature on les retrouve, en quasi totalité, dans les filaments pêcheurs ; toutefois quelques-uns vont à l'apex des gastrozoïdes, des dactylozoïdes ou dans les ébauches des bractées, des cloches natatoires et, parfois, des pneumatophores.

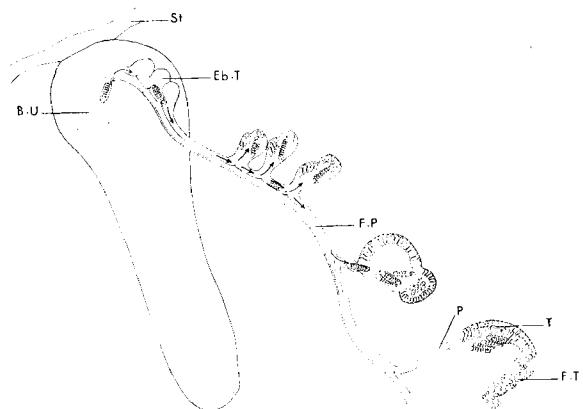


Fig. 1. — Schéma d'un gastrozoïde de Siphonophore et de son filament pêcheur.

Dans le bourrelet urticant, les clones de nématoblastes (Carré, D., 1974), sont le plus souvent dissociés avant la fin de l'invagination du tube nématocystique. Cette dislocation est liée à la multiplication des cellules

interstitielles voisines formant de nouveaux clones, et également au début de la migration des nématoblastes. Chaque nématoblaste se déplace indépendamment des autres cellules du clone, mais tous les trajets convergent vers la zone d'insertion du filament pêcheur sur le gastrozoïde. Les cellules urticantes forment à cet endroit un massif qui se distingue nettement du reste du bourrelet utricant par l'absence de jeunes capsules : il comporte seulement des nématocystes en fin d'invagination ou complètement invaginés (Fig. 2).

(Pl. I, fig. 1). Le bourgeonnement des jeunes tentilles est continu tandis qu'à l'extrémité du filament, les tentilles qui ont déchargé leurs nématocystes dégénèrent.

Les nématocystes s'engagent dans le filament pêcheur après un trajet plus ou moins long dans le bourrelet urticant et progressent entre les cellules de l'ectoderme en suivant le plus court chemin le long d'une génératrice. Ils dépassent les ébauches proximales des tentilles et c'est seulement à partir du quartier ou cinquième bourgeon, et au delà, que des cellules urticantes quittent la file

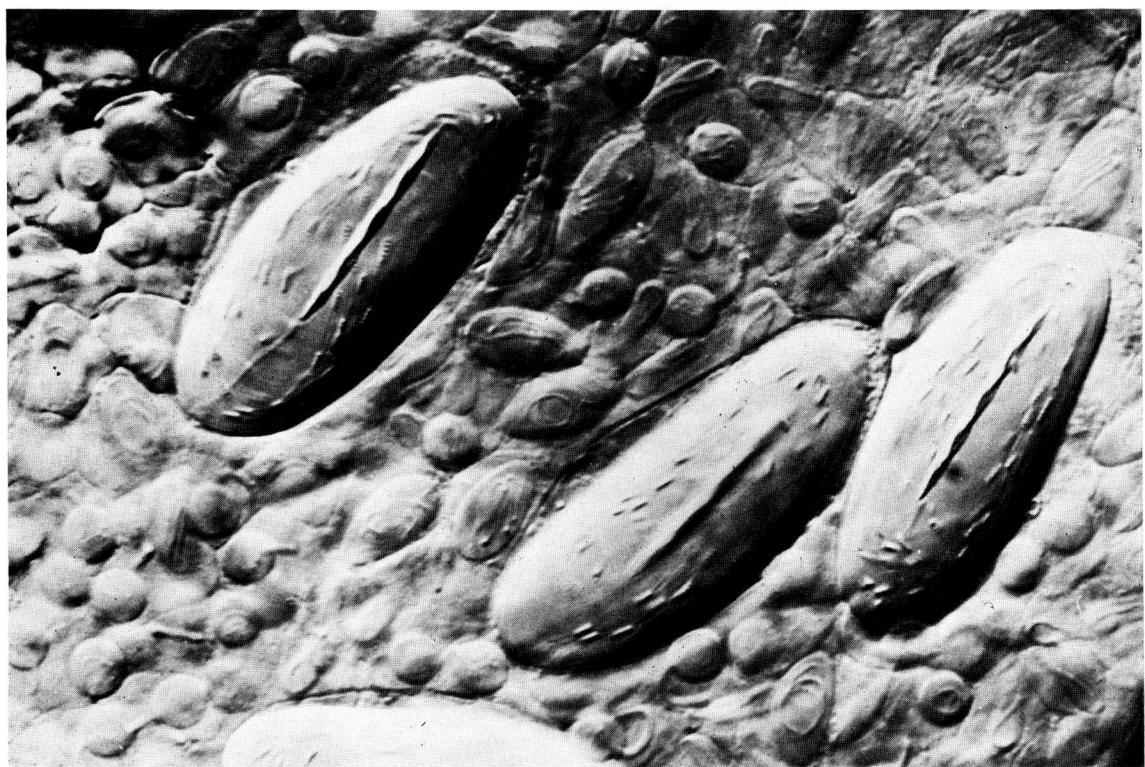
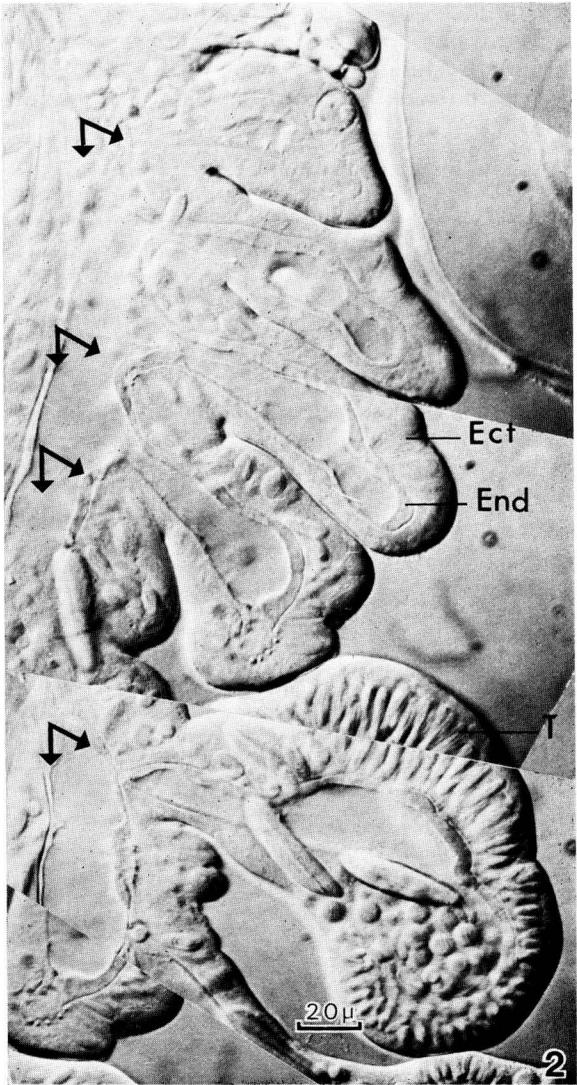
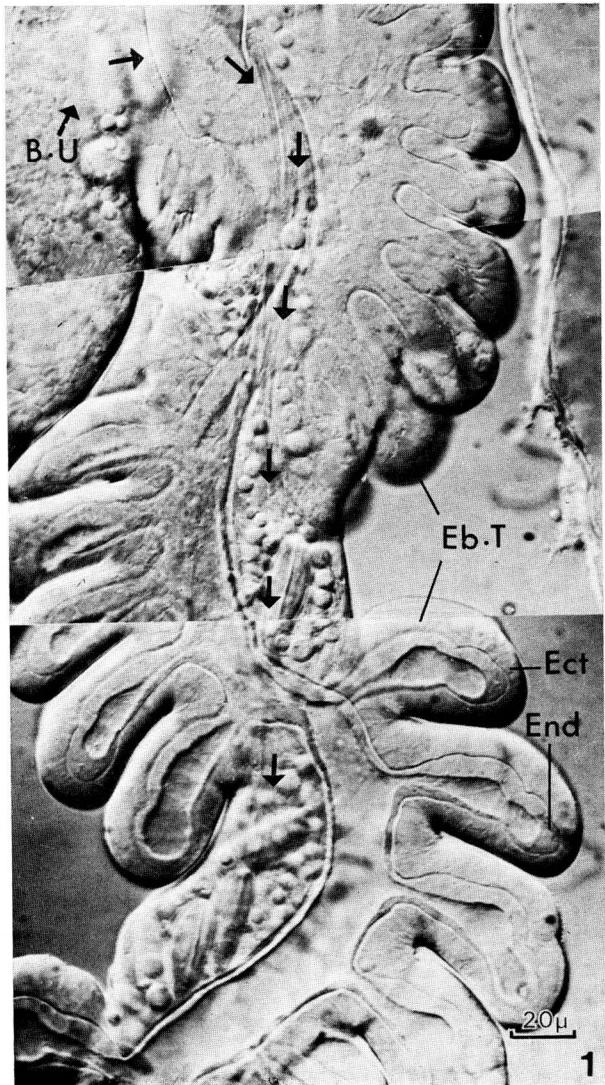


Fig. 2. — Nématocystes migrants à la jonction d'un gastrozoïde et d'un filament pêcheur chez *Hippodius hippocampus* (*Siphonophore calycophore*) X 1 200.

#### Migration dans le filament pêcheur et les tentilles (Pl. I à III).

Le filament pêcheur des Siphonophores est un axe creux ecto-endodermique enroulé en hélice lâche. A sa base, de petits bourgeons également ecto-endodermiques, forment les ébauches des boutons urticants ou tentilles

des nématocystes et pénètrent dans les futures tentilles (Pl. I, fig. 1 et 2). Cette phase de la migration a pu être suivie et photographiée sur le vivant. La planche II illustre la migration des nématocystes dans un filament pêcheur. Simultanément, on note une progression de l'invagination des tubes nématocystiques dans les capsules qui peut



ne pas être achevée au moment de l'arrivée des nématocystes dans les tentilles (Pl. II, fig. 6). Toutefois, il convient de signaler que les grands nématocystes, essentiellement des sténotèles et des mastigophores, commencent à émigrer seulement après la fin de l'invagination du tube externe dans la capsule.

Dans le bourrelet urticant, dans le filament et dans les tentilles le trajet des nématocystes s'effectue entre les cellules de l'ectoderme (Pl. III, fig. 1). L'observation des parois latérales de ces cellules (Pl. III, fig. 2) indique qu'elles ne sont pas déformées par le passage des nématocystes (excepté pour les très grandes cellules urticantes). Il est donc vraisemblable que ceux-ci se déplacent à la base de l'ectoderme, contre la mésoglée.

Une tentille de Siphonophore est un organe très organisé comportant, pour chaque espèce, un nombre bien défini de cellules urticantes (souvent plusieurs centaines). Cette organisation entraîne un agencement progressif des nématocystes au fur et à mesure de leur arrivée et une détermination très précise du nombre de nématocystes de chaque catégorie pénétrant dans chaque ébauche.

#### Migration dans les dactylozoïdes de *Physophora hydrostatica* (Pl. III).

Nous avons signalé que certains nématocystes émigraient à l'apex des dactylozoïdes. Ceci nous a permis des observations intéressantes sur les postlarves de *Physophora hydrostatica*. Ce Siphonophore physonecte possède un stade larvaire constitué par un pneumatophore, un gastrozoïde avec son bourrelet urticant et son filament pêcheur, et par un ou plusieurs dactylozoïdes dont l'extrémité est armée de quatre à cinq grands sténotèles. Ces dactylozoïdes sont dépourvus de bourrelet urticant et tous les nématocystes

de la jeune colonie se différencient dans le bourrelet urticant du gastrozoïde primaire.

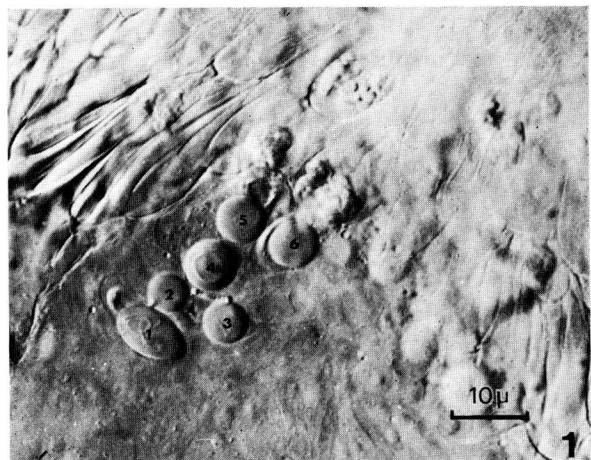
Nous avons fait dévaginer artificiellement, par de légers chocs mécaniques, les sténotèles d'un dactylozoïde. Après 24 heures on observe le passage de nouveaux sténotèles du bourrelet urticant du gastrozoïde vers la région basale du dactylozoïde, puis leur migration le long du dactylozoïde jusqu'à leur site d'utilisation dans la région distale. Les dactylozoïdes de *Physophora* sont des organes digitiformes très transparents et, nous avons pu suivre le cheminement de chaque sténotèle pendant plusieurs heures. L'emploi d'une loupe binoculaire est suffisant pour effectuer des mesures ce qui permet de laisser les larves dans des conditions normales. 26 sténotèles ont été suivis chez différentes larves depuis leur départ du bourrelet urticant du gastrozoïde jusqu'à leur arrivée dans la région apicale d'un dactylozoïde (Pl. III, fig. 3 à 6); leur position a été repérée toutes les dix minutes ce qui nous a permis de calculer la vitesse de la migration qui est de 0,4 mm/heure. Cette valeur est une moyenne générale, les vitesses moyennes de chacun des nématocystes étudiés variant de 0,1 mm/heure à 0,5 mm/heure. Il convient de noter, que la vitesse d'un même nématocyste n'est pas constante pendant toute la durée de sa migration.

Même lorsque cinq à six sténotèles émigrent simultanément vers la région apicale d'un dactylozoïde, ils progressent indépendamment les uns des autres en suivant chacun un trajet particulier. Nous avons pu observer chez certains dactylozoïdes, la migration d'un nématocyste unique.

Deux expériences simples ont été réalisées, toujours chez *Physophora*. Nous avons isolé de la colonie, des dactylozoïdes, juste après l'arrivée de nématocystes dans leur région basale. La migration de ces derniers s'est poursuivie normalement. Dans une seconde

#### PLANCHE I

1. Portion basale d'un filament pêcheur de *Sphaeronectes gracilis* (Siphonophore calycophore) montrant le bourgeonnement des tentilles et le trajet rectiligne des nématocystes migrants qui doublent les premières ébauches de tentilles; microscope à contraste de phase, *in vivo*.  $\times 600$ .
2. Portion suivante du même filament montrant l'arrivée progressive des nématocystes dans les tentilles.  
 $\times 600$ .



expérience, nous avons supprimé la région terminale des dactylozoïdes, soit en place sur la colonie, soit isolés : dans les deux cas les nématocystes ont poursuivi leur mouvement centrifuge.

L'étude *in vivo* de la migration des nématocystes et de leurs nématoblastes, nous a également permis de remarquer qu'au cours de son déplacement la cellule urticante n'est pas un élément polarisé, son orientation variant constamment pendant toute la migration (Pl. II, fig. 6).

### OBSERVATIONS EN MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

#### Ultrastructure des nématoblastes migrants (Fig. 3).

La microscopie électronique confirme le fait que la migration des nématocystes s'effectue uniquement dans l'ectoderme. Nous n'avons jamais observé de cellules urticantes, ni dans la mésoglée, ni dans l'endoderme du bourrelet urticant et du filament pêcheur.

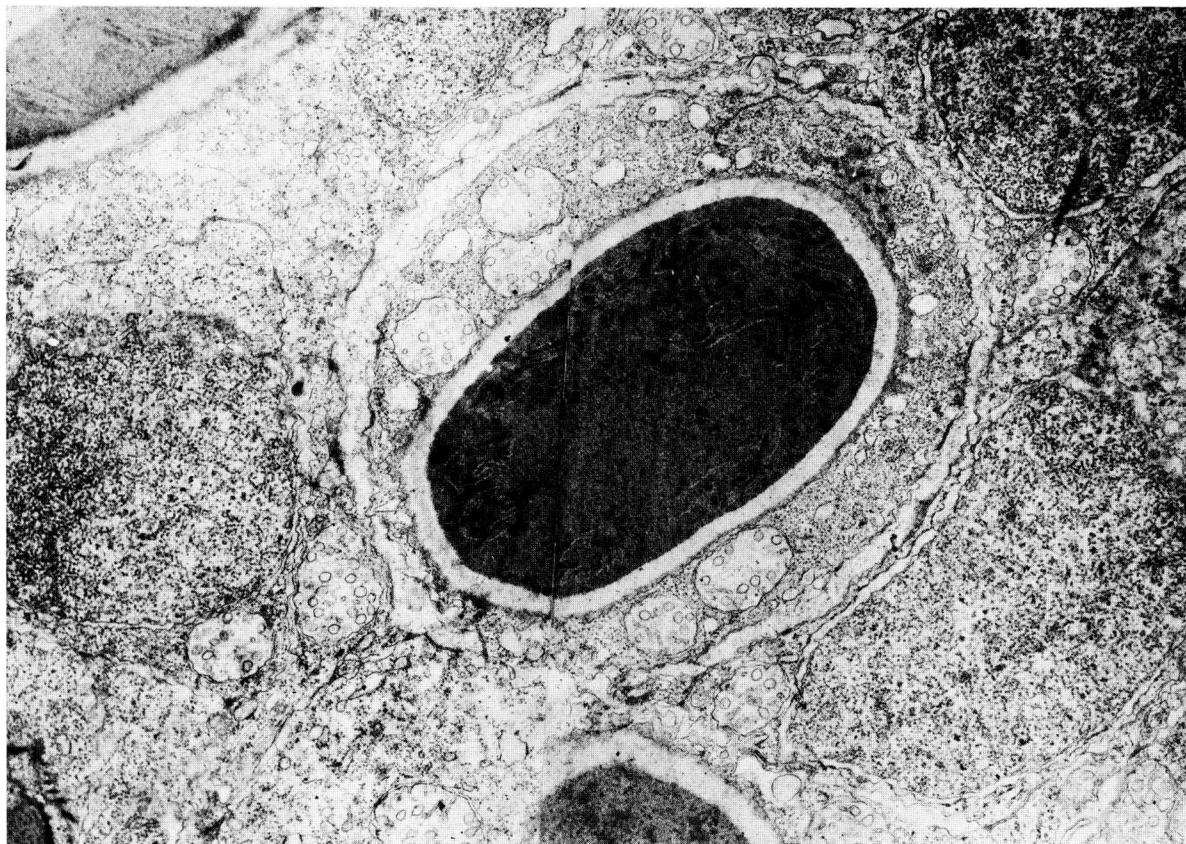
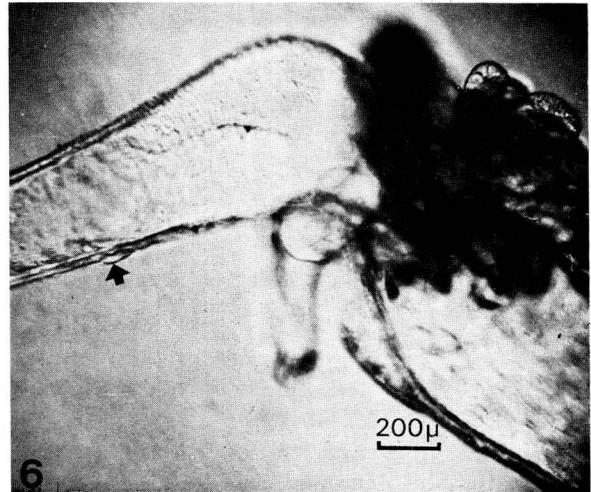
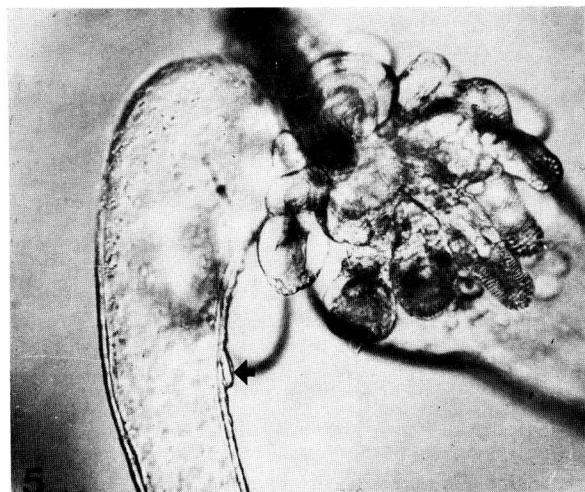
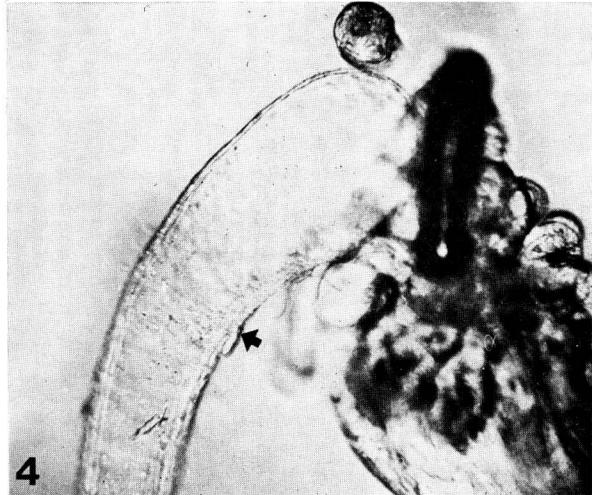
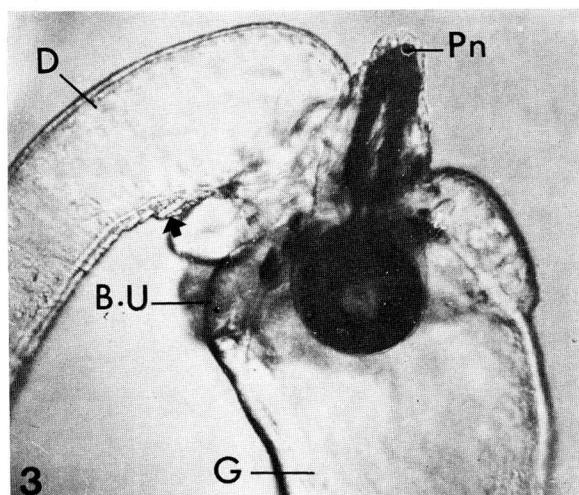
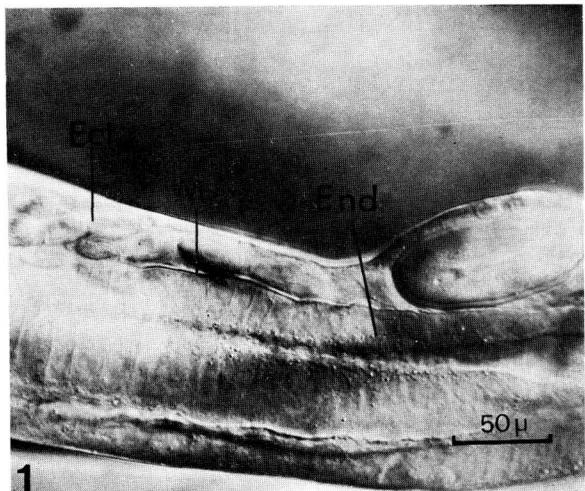


Fig. 3. — Nématoblaste arrivant dans une jeune tentille.  $\times 12\,000$ .

### PLANCHE II

- 1 à 5. Migration de plusieurs nématocystes dans un filament pêcheur d'*Hippopodius hippocampus* (Siphonophore calycophore) ; le nématocyste n° 4 illustre bien la rotation des cellules urticantes pendant leur migration ; il convient de souligner que l'invagination des tubes nématocystiques n'est pas terminée et qu'elle progresse entre les figures 1 à 5 ; microscope à contraste de phase, *in vivo*.  $\times 1\,200$ .
6. Nématocystes dans une ébauche de tentille d'*Hippopodius hippocampus* ; l'orientation des cellules urticantes est encore quelconque.  $\times 1\,200$ .



L'étude ultrastructurale des nématoblastes dans le bourrelet urticant (Carré, 1974) montre que leurs membranes sont dépourvues de contacts spécialisés ; elles ménagent entre elles des espaces intercellulaires qui, à la jonction de plusieurs cellules peuvent se dilater en de véritables méats remplis d'une substance dense aux électrons. Cette absence totale de zones d'adhérence entre les nématoblastes est en accord avec leur mobilité.

Nous avons recherché, dans les nématoblastes migrants situés dans le bourrelet urticant ou le filament pêcheur, des structures permettant de concevoir par quels mécanismes ces cellules progressent. Leur cytoplasme s'est révélé totalement dépourvu d'éléments musculaires et de toutes structures fibrillaires. Seuls quelques microtubules ont été observés, la plupart plaqués contre la capsule nématocystique. Les nématoblastes, si on excepte leurs nématocystes, sont, à ce stade, morphologiquement dédifférenciés et comparables à des cellules interstitielles basales.

#### **Ultrastructure de la base du filament pêcheur et des ébauches des tentilles (Pl. IV).**

L'ectoderme de la région proximale des filaments pêcheurs présente tous les caractères d'un épithélium jeune. Il est formé par une assise de cellules à rapport nucléoplasmique élevé. Le cytoplasme, surtout concentré au pôle externe, est riche en ribosomes libres ; il présente quelques mitochondries et de petits saccules ergastoplasmiques de type « rough ». Le pôle basal des cellules s'appuie contre la mésogée formée par une couche très fine et très dense aux électrons, présentant, en coupe transversale, une striation radiale par rapport à l'axe du filament.

L'endoderme révèle les mêmes éléments figurés que les cellules ectodermiques.

Les premières ébauches des tentilles sont de simples hernies du filament pêcheur et possèdent d'abord les mêmes caractéristiques cellulaires que lui (Pl. IV, fig. 2). Puis, au fur et à mesure que les tentilles se pédiculisent, des appareils de Golgi apparaissent dans les cellules ectodermiques dont les saccules ergastoplasmiques fusionnent en de longues lamelles orientées parallèlement à la surface externe. Les membranes ne présentent pas de différenciations manifestant des adhérences intercellulaires, excepté au pôle externe des cellules où elles forment des desmosomes septés. Avant l'arrivée des nématocystes dans ces ébauches, de gros granules apparaissent dans le cortex des cellules ectodermiques.

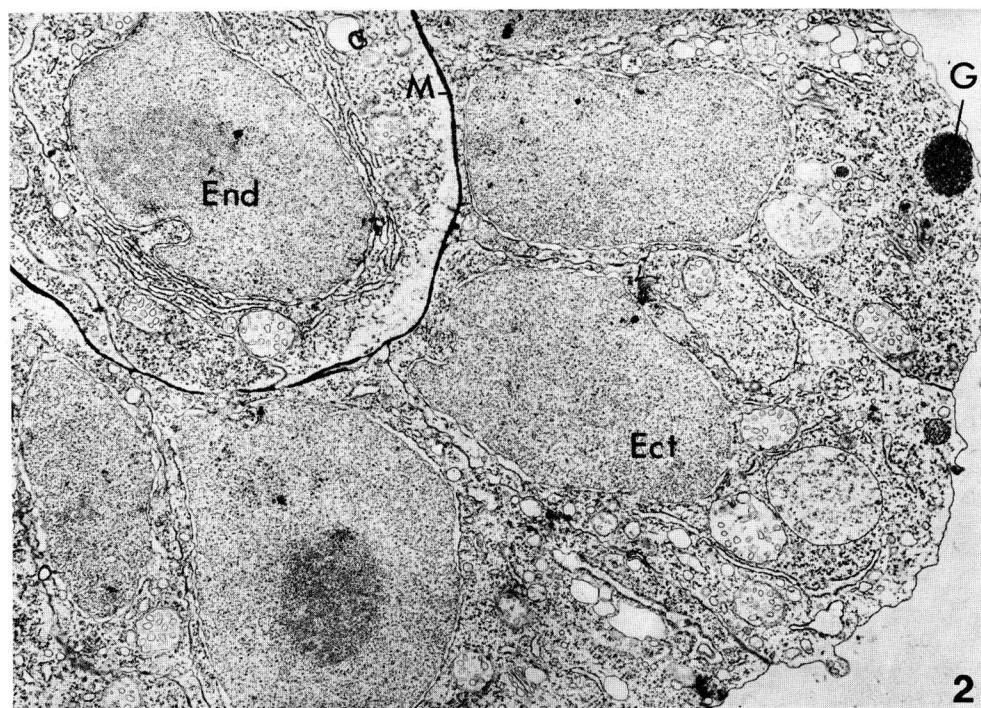
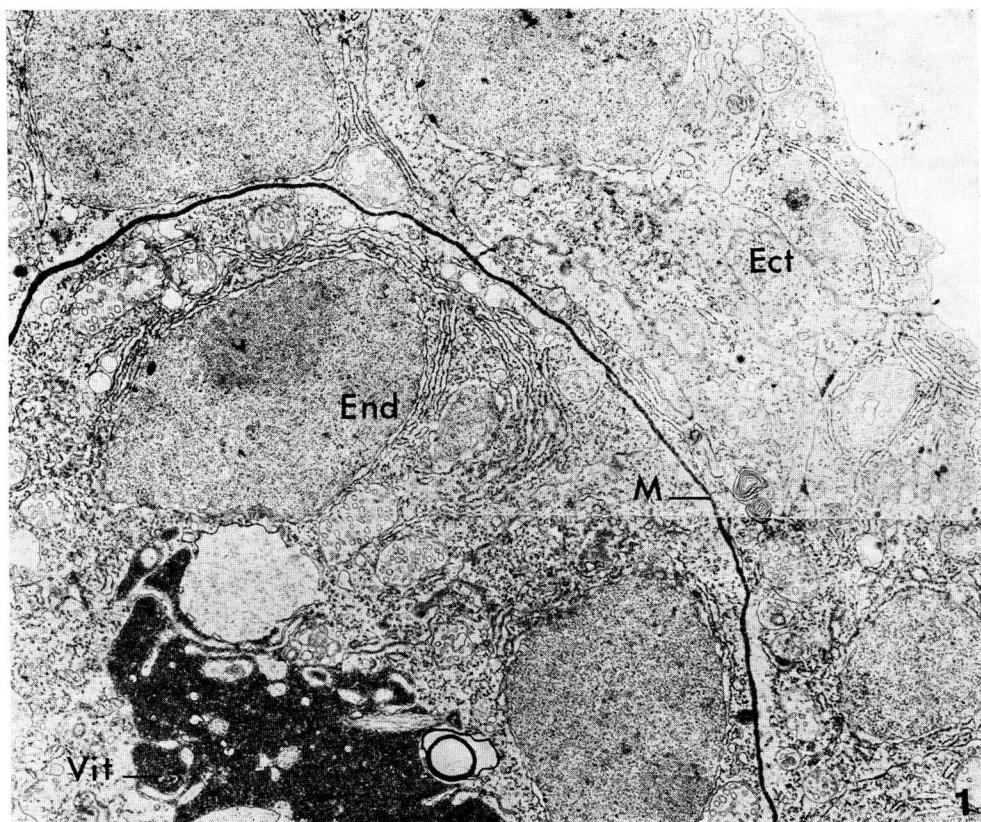
#### **DISCUSSION ET CONCLUSION**

Nous avons établi, de façon certaine, l'existence, chez les Siphonophores, d'une migration des nématocystes des bourrelets urticants vers les tentilles et les autres sites d'utilisation. Ce processus débute presque toujours, sauf pour les plus grands des nématocystes, avant la fin de l'invagination du tube nématocystique. Il peut donc exister un stade pendant lequel la migration du nématoblaste et l'invagination du tube nématocystique se poursuivent simultanément. Jusqu'à présent, les auteurs avaient considéré que la migration concernait uniquement des cellules urticantes différencierées à tube interne.

Chez toutes les espèces étudiées, la migration des nématocystes s'effectue uniquement dans l'ectoderme et, plus précisément, à la base des cellules ectodermiques, contre la mésogée. En microscopie photonique et en

#### **PLANCHE III**

1. Nématocystes migrant dans l'ébauche d'une tentille d'*Halostemma rubra* (Siphonophage physonecte).  $\times 350$ .
2. Photo de l'ectoderme d'un nectophore de *Nanomia bijuga* (Siphonophage physonecte) montrant que les parois latérales des cellules ectodermiques ne sont pas déformées par le passage des nématocystes.  $\times 2\,000$ .
- 3 à 6. Migration d'un sténotèle dans un dactylozoïde de *Physophora hydrostatica* (Siphonophage physonecte) aux temps suivants : 13 t = 0 ; 14 t = 35 mn ; 15 t = 50 mn ; 16 t = 1 h.  $\times 50$ .



microscopie électronique nous n'avons jamais observé de nématocystes dans l'endoderme ou la mésoglée. Les montages *in vivo* ont parfois montré des capsules dans la cavité gastrique mais, à chaque fois, il s'est agi de nématocystes partiellement lysés, en cours de digestion et vraisemblablement ingérés par le Siphonophore en même temps qu'une proie.

La vitesse moyenne de migration a été calculée avec précision pour les sténotèles de *Physophora hydrostatica*; elle est de 0,4 mm/heure. Ceci exclut, comme on l'a envisagé chez l'*Hydre*, d'assimiler la migration à un simple phénomène de croissance. En effet, un sténotèle parcourt un dacdylozoïde de 1 à 2 millimètres de longueur en 2 à 3 heures. Pendant ce laps de temps la croissance de cet organe peut être considérée comme nulle. D'autre part, on peut concevoir, en étudiant la migration dans un filament pêcheur, par exemple, qu'il existe un flux continu de nématocystes, les derniers formés repoussant les plus anciens, et cela indépendamment de la croissance propre de l'organe dans lequel s'effectue la migration. L'étude de *Physophora hydrostatica*, qui a permis de suivre la migration d'un nématocyste isolé, écarte cette éventualité. Enfin, toujours chez cette espèce, nous avons pu constater que, ni la suppression du lieu de leur différenciation, ni celle de leur site d'utilisation, n'entravent la migration d'un nématocyste lorsque celle-ci est amorcée.

Nous pouvons envisager trois modalités de migration des nématoblastes qui peuvent, éventuellement, coexister :

1. Migration passive des cellules urticantes chassées par des contractions des cellules ectodermiques ou endodermiques environnantes ;
2. Migration grâce aux propriétés visco-élastiques de la mésoglée ;
3. Migration par des mouvements amiboides des nématoblastes.

Les cellules ectodermiques d'un gastrozoïde de *Siphonophore* ou de la colonne gastrique d'une *Hydre*, différencient, à leur pôle interne, des fibres musculaires lisses ; dans ce cas, il est possible de concevoir que les nématoblastes se déplacent en glissant contre la mésoglée grâce à la contraction de ces fibres. Mais nous avons observé que les cellules du bourrelet urticant, et celles du filament pêcheur et des ébauches des tentilles, sont dépourvues d'éléments contractiles figurés. Ceci est vrai pour les cellules de l'ectoderme et pour celles de l'endoderme. Il semble donc exclu, dans ces organes tout au moins, d'expliquer les déplacements des nématoblastes par des contractions des cellules environnantes.

L'étude des propriétés visco-élastiques de la mésoglée, limitée à une couche très mince dans les gastrozoïdes et les filaments pêcheurs des Siphonophores, n'a pas été entreprise. Nous ne pouvons pas préciser le rôle de cette assise dans les migrations cellulaires mais nous pensons qu'il ne peut être que limité.

L'étude ultrastructurale des nématoblastes n'a pas permis de relever des modifications cytoplasmiques traduisant un pouvoir de migration. Nous avons simplement noté que l'orientation de ces cellules variait constamment pendant leur trajet et que ces cellules conservaient toujours une forme régulière. Toutefois, ce dernier caractère n'exclut pas des mouvements amiboides. Il est certain que l'importance du nématocyste par rapport au volume total du nématoblaste, écarte à priori la formation de grands pseudopodes.

En conclusion, nos observations contredisent les deux premières hypothèses qui doivent donc être rejetées, mais elles laissent envisager la possibilité d'un déplacement des nématocystes grâce à des mouvements amiboides. Il est intéressant de rappeler que les autres cellules migratrices des Cnidaires,

#### PLANCHE IV

1. Coupe oblique dans la région basale d'un filament pêcheur de *Muggiae kochi* (Siphonophore calyphore).  $\times 10\,000$ .
2. Coupe transversale d'une ébauche de tentille chez *Muggiae kochi*.  $\times 10\,000$ .

qui se déplacent par amibioïsme, sont soit des cellules interstitielles, soit des cellules dédifiérenciées. Dans le cas des nématoblastes on observe, avant la migration, une dédifférenciation au niveau du cytoplasme dont toutes les structures sécrétrices disparaissent. Les nématoblastes migrants, si on excepte leur nématocyste, sont comparables au point de vue ultrastructural à des cellules interstitielles.

Les Siphonophores ont été un matériel de qualité exceptionnelle pour démontrer et illustrer la migration des nématocystes. Il est certain que ce même travail aurait été difficilement réalisable chez l'*Hydre*. Mais peut-être est-il possible, à partir des résultats obtenus chez les Siphonophores, de mettre en évidence de façon indirecte la nécessité d'une migration nématocystique chez les *Hydres*. En effet, chez ces animaux, l'existence de clones de nématocystes semble bien établie : Lehn (1951) puis Rich et Tardent (1969) ont montré que les nématocystes, lorsqu'ils se forment font partie d'un ensemble de cellules urticantes de même type, à un même stade de développement, et provenant de la division de la même cellule primordiale. Semal-Van Gansen (1951) dans son étude sur le cnidosome de l'*Hydre*, précisait déjà que les nids cnidoblastiques étaient « formés d'un groupe de cnidoblastes de même type sensiblement au même stade de développement ». Par ailleurs, les boutons urticants de l'*Hydre* ont une composition assez bien définie : 1 sténotèle, 7 à 9 desmôèmes, 0 ou 1 holotrichie, 0 ou 1 atriche. Il est difficile de comprendre la mise en place d'un tel bouton urticant à partir de nématocystes associés en clones, s'il n'existe pas une migration nématocytaire active. Les voies de cette migration restent à préciser, le transit par la cavité gastrovasculaire admis par plusieurs auteurs paraissant peu vraisemblable (Burnett et Lentz, 1960 ; Znidaric et Lui, 1969). En effet, l'expérience montre que dans de mauvaises conditions d'élevage de nombreux Cnidaires mangent leurs nématoblastes et leurs nématocystes. Ceci permet de penser que ces organites ne sont pas protégés contre les enzymes de la colonne gastrique et qu'ils peuvent difficilement emprunter cette voie sans dommages graves.

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

## ABRÉVIATIONS

B : bouton urticant ; B.U. : bourrelet urticant ; D. : dactylozoïde ; Eb. T. : ébauches des tentilles ; Ect. : ectoderme ; End. : endoderme ; F.T. : filament terminal ; G. : gastrozoïde ; Gr. : granules ; M. : mésoglée ; P. : pédoncule ; Pn. : pneumato-phore ; St. : stolon ; T. : tentille ; Vit. : vitellus.

## BIBLIOGRAPHIE

- BRIEN, P. (1942). — Étude sur deux Hydroïdes gymnoblastiques. *Mémoires Acad. R. Belge*, **20**, 1-116.
- BRIEN, P. et RENIERS-DECOCEN, M. (1949). — La croissance, la blastogenèse, l'ovogenèse chez *Hydra frusca*. *Bull. Biol. de la France et de la Belgique*, **82**, 293-386.
- (1950). — Étude d'*Hydra viridis*. *Ann. de la Soc. R. Zool. de Belgique*, **81**, 33-110.
- BURNETT, A. et LENTZ, T. (1960). — The migration pathways of nematocysts in *Hydra*. *Ann. de la Soc. R. Zool. de Belgique*, **90**, 281-293.
- CAMPBELL, R. (1967). — Tissue dynamics of steady state growth in *Hydra littoralis*. III. Behavior of specific cell types during tissue movements. *J. Exp. Zool.*, **164**, 379-392.
- CARRÉ, D. (1974). — 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.
- HADZI, J. (1907). — Über die Nesselzellenwanderung, bei den Hydropolyphen. *Arb. Zool. Inst. Wien.*, **17**, 5-30.
- JONES, C. (1941). — The place of origin and the transportation of Cnidoblasts in *Pelmatohydra oligactis*. *J. Exp. Zool.*, **87**, 457-475.
- KEPNER, A. et GOODWIN-INGELS (1937). — The place of origin and the manipulation of cnidoblasts in *Chlorohydra viridissima*. *Zool. Anz.*, **121**, 85-94.
- LEHN, H. (1951). — Teilungsfolgen und Determination von I. Zellen für die Cnidenbildung bei *Hydra*. *Z. Naturf.*, **6b**, 388-391.
- RICH, F. et TARDENT, P. (1969). — Untersuchungen zur Nematocysten differenzierung bei *Hydra attenuata*. *Revue Suisse Zool.*, **76**, 779-787.
- SEMAL VAN GANSEN, P. (1951). — Le cnidosome de l'*Hydre* et le bouton urticant. *Acad. R. Belgique*, **37**, 650-664.
- TARDENT, P. et MORGENTHALER, U. (1966). — Autoradiographische Untersuchungen zum Problem der Zellwanderungen bei *Hydra attenuata*. *Rev. Suisse Zool.*, **73**, 468-480.
- ZNIDARIC, D. et LUI, A. (1969). — Dedifferentiation of gland cells in *Hydra* and further development of interstitial cells arising from them. *W. Roux. Arch.*, **374-383**.

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

### II. - Migration.

by Danièle CARRÉ

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

SUMMARY - The migration of the nematoblasts and of their nematocysts is described and studied in Siphonophora. The speed of the migration, which could be calculated, shows that this process is not attributable to a simple growth phenomenon during which the oldest cells are gradually pushed away. It is proved that the stinging cells migrate inside the ectoderm and, more precisely, at the base of the ectodermal layer. They never migrate inside the endodermal layer or the gastral cavity. The ultrastructural study of migrating nematoblasts and of the cells between which they migrate allows the conclusion that the migration probably takes place because of amoeboid movements. Experiments show that once the migration of a nematoblast has begun, it is not stopped either by the removal of the original site, or by the removal of the final site.

### INTRODUCTION

Cell migrations in Cnidarians have been remarkably well studied, represented and interpreted by Brien in his work on growth, blastogenesis and oogenesis in *Hydra fusca* (1949) and in *Clava squamata* (1942). These are processes accompanying normal growth and ensuring tissue maintenance and the establishment of new lineages from interstitial cells or dedifferentiated blastogenetic elements.

When a Cnidarian cell emigrates, it exhibits all the morphological characteristics of an embryonic element except in the case of nematoblasts which, during the migration phase, already contain a perfectly well differentiated nematocystic vesicle. This peculiarity has given rise to numerous studies on the movements of stinging cells, which is facilitated by the very presence of the vesicle which carries out a natural marking of the cells making it possible, in certain cases, to identify them and to follow their path in the tissues. It is unnecessary to go over the results of the various authors in detail and we will limit ourselves to recalling the main hypotheses and interpretations that this research has given rise to.

According to Hadzi (1907) who experimented on *Tubularia* and *Campanularia* the nematocysts differentiate in particular zones then migrate, in an active way, towards the tentacles, crossing the mesogloea, the endoderm, and passing through the gastrovascular cavity. Kepner et al. (1937), from a histological study in *Hydra*, then Jones (1941), adopted this scheme. More recently, Znidaric and Him (1969), still with *Hydra*, have reached the same conclusions.

Brien and Heniers-Decoen (1950) were the first to reject the hypothesis in *Hydra*, under normal conditions, of a transit through the gastric cavity. They consider that the nematocysts are formed continuously in the growth zone of the animal and that their movements towards the tentacles can be explained by a simple process of cell multiplication which gradually pushes the oldest cells towards the extremities. Semai-Van Gansen (1951), then Burnett and Lentz (1960) confirm this opinion and conclude that the "hypothesis of nematocyst migration, with the complications it entails, is useless". However, it should be noted that in an older work on two gymnoblastic hydroids, Brien (1942) attributes to nematoblasts the character of migratory ectodermal elements; it describes their path from the ectoderm of the medusan manubrium, to the ectoderm of the capitate endings of the tentacles, through the mesogloea and the endoderm, thanks to amoeboid movements. This third possibility of effective migration, without the free phase in the gastric cavity, has since been taken up by several authors, in particular Tardent and Morgenthaler (1966) and Campbell (1967). These are the conclusions, often contradictory, which led us to resume the study of the pathways and mechanisms of nematoblast migration. All our observations were made on siphonophores.

### MATERIAL AND METHODS

The siphonophores were collected in the bay of Villefranche-sur-Mer, either by net fishing, or on the surface using plastic bags. As the tentacles are often damaged during harvesting, we also worked on calyconula and siphonula larvae obtained by breeding.

For observations on the living, larvae or fragments of colony they were placed in small culture chambers with circulating water. These assemblies, observed under an interference phase contrast microscope, made it possible to follow the same phenomenon for a long time.

The electron microscopy 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 IIC electron microscope.

### OBSERVATIONS ON THE LIVING

#### **Migration in the basigaster** (Fig. 1 and 2).

In siphonophores, the nematocysts differentiate into specific cnidogenic clumps, located at the base of the gastrozooids, and called basigasters (Fig. 1). In the mature state they are found, almost entirely, in the tentacles; however some go to the apex of the gastrozooids, the dactylozooids or in the outlines of the bracts, swimming bells and, sometimes, pneumatophores.

In the basigaster, the nematoblast clones (Carré, D., 1974a) are most often dissociated before the end of the invagination of the nematocystic tube. This dislocation is linked to the multiplication of neighbouring interstitial cells forming new clones, and also to the beginning of the migration of nematoblasts. Each nematoblast moves independently of the other cells of the clone, but all the paths converge towards the insertion zone of the tentacle on the gastrozooid. The stinging cells form at this place a mass which is clearly distinguished from the rest of the basigaster by the absence of young capsules: it only contains nematocysts at the end of the invagination or completely invaginated (Fig. 2).

#### **Migration into the tentacle and the tentilla** (Pl. 1 to III).

The tentacle of siphonophores is a hollow ecto-endodermal axis coiled into a loose helix. At its base, small buds, also ecto-endodermal, form the outlines of stinging pimples or tentilla (Pl. I, fig. 1). The budding of the young tentilla is continuous while at the end of the filament, the tentilla which have discharged their nematocysts degenerate.

The nematocysts engage in the tentacle after a more or less long journey in the basigaster and progress between the cells of the ectoderm by following the shortest path along a generated route. They pass by the proximal outlines of the tentilla and it is only from the fourth or fifth bud, and beyond, that stinging cells leave the line of nematocysts and enter the future tentilla (Pl. I, fig. 1 and 2). This phase of migration could be followed and photographed in living specimens. Plate II illustrates the migration of nematocysts in a tentacle. At the same time, there is a progression of the invagination of the nematocystic tubes in the capsules which may not be completed until the nematocysts arrive in the tentilla (Pl. II, fig. 6). However, it should be noted that large nematocysts, mainly stenoteles and mastigophores, begin to migrate only after the end of invagination from the outer tube into the capsule.

In the basigaster, in the filament and in the tentilla the path of the nematocysts takes place between the cells of the ectoderm (Pl. III, Hg. 1). Observation of the side walls of these cells (Pl. III, fig. 2) indicates that they are not deformed by the passage of nematocysts (except for very large nematocysts). It is therefore likely that these move at the base of the ectoderm, against the mesogloea. A siphonophore tentillum is a very organized organ comprising, for each species, a well-defined number of nematocysts (often several hundred). This organization causes a progressive arrangement of the nematocysts as they arrive and a very precise determination of the number of nematocysts of each category entering each space.

#### **Migration into the dactylozooids of *Physophora hydrostatica*** (Pl. III).

We have reported that some nematocysts migrate to the apex of the dactylozooids. This allowed us to make interesting observations on the post-larvae of *Physophora hydrostatica*. This physonect siphonophore has a larval stage consisting of a pneumatophore, a gastrozooid with its basigaster and its tentacle, and by one or more dactylozooids whose extremity is armed with four to five large stenoteles. These dactylozooids lack the basigaster and all nematocysts of the young colony differentiate into the stinging basigaster of the primary gastrozooid.

We caused the stenoteles of a dactylozooid to be devaginated artificially by light mechanical shocks. After 24 hours, the passage of new stenoteles from the basigaster of the gastrozooid towards the basal region of the dactylozooid is observed, then their migration along the dactylozooid to their site of use in the distal region. *Physophora* dactylozooids are very transparent finger-like organs and we were able to follow the path of each stenotele for several hours. The use of a binocular magnifying glass is sufficient to carry out measurements that allow the larvae to be left under normal conditions. 26 stenoteles were followed in different larvae from their departure from the basigaster of the gastrozooid until their arrival in the apical region of a dactylozooid (Pl. III, Figs. 3 to 6); their position was located every ten minutes which enabled us to calculate the speed of the migration which is 0.4 mm/hour. This value is a general average, the average speeds of each of the nematocysts studied varying from 0.1 mm/hour to 0.5 mm/hour. It should be noted that the speed of the individual nematocyst is not constant throughout the duration of its migration.

Even when five to six stenoteles migrate simultaneously to the apical region of a dactylozooid, they progress independently of each other, each following a particular path. We have observed in some dactylozooids, the migration of a single nematocyst.

Two simple experiments were carried out, still at *Physophora*. We isolated from the colony, dactylozooids, just after the arrival of nematocysts in their basal region. The migration of the latter has continued normally. In a second experiment, we removed the terminal region of the dactylozooids, either in place on the colony or isolated: in both cases the nematocysts continued their centrifugal movement.

The *in vivo* study of the migration of nematocysts and their nematoblasts has also enabled us to observe that during its movement the nematocyst is not a polarized element, its orientation constantly varying throughout the migration (Pl. II, fig. 6).

## OBSERVATIONS AND ELECTRON MICROSCOPY

### **Ultrastructure of migrating nematoblasts (Fig. 3).**

Electron microscopy confirms that the migration of nematocysts takes place only in the ectoderm. We have never observed stinging cells, either in the mesogloea, or in the endoderm of the basigaster and the tentacle.

The ultrastructural study of nematoblasts in the basigaster (Carré, 1974a) shows that their membranes are devoid of specialized contacts; they leave intercellular spaces between them which, at the junction of several cells, can dilate into real meatuses filled with an electron dense substance. This complete absence of areas of adhesion between the nematoblasts is consistent with their mobility. We have sought, in the migrating nematoblasts located in the basigaster or the tentacle, structures allowing us to investigate by which mechanisms these cells progress. Their cytoplasm was found to be completely devoid of muscular elements and all fibrillar structures. Only a few microtubules were observed, most of them pressed against the nematocystic capsule. Nematoblasts, if we exclude their nematocysts, are, at this stage, morphologically undifferentiated and comparable to the commonplace interstitial cells.

### **Ultrastructure of the base of the tentacle and the outlines of the tentilla (Pl. IV).**

The ectoderm of the proximal region of the tentacles presents all the characteristics of a young epithelium. It is formed by a bed of cells with a high nucleo-plasmatic ratio. The cytoplasm, especially concentrated at the outer pole, is rich in free ribosomes; it presents a few mitochondria

and small ergastoplasmic saccules of the "rough" type. The basal pole of the cells rests against the mesogloea formed by a very thin and very electron dense layer, presenting, in cross section, a radial striation with respect to the axis of the tentacle. The endoderm reveals the same figurative elements as the ectodermal cells.

The first outlines of the tentilla are simple hernias of the tentacle and first have the same cellular characteristics as it (Pl. IV, fig. 2). Then, as pediculate tentilla, Golgi apparatuses appear in the ectodermal cells, the ergastoplasmic saccules of which merge into long lamellae oriented parallel to the outer surface. The membranes do not show differentiations showing intercellular adhesions, except at the outer pole of the cells where they form some desmosome septa. Before the arrival of nematocysts in these spaces, large granules appear in the cortex of ectodermal cells.

## DISCUSSION AND CONCLUSION

We have established, with certainty, the existence, in siphonophores, of a migration of nematocysts from the basigaster to the tentilla and other sites of use. This process almost begins always, except for the largest of the nematocysts, before the end of invagination of the nematocystic tube. There may therefore be a stage during which migration of the nematoblast and invagination of the nematocystic tube continues simultaneously. Until now, authors had considered that the migration concerned only differentiated nematocysts with an inner tube.

In all the species studied, the migration of nematocysts takes place only in the ectoderm and, more precisely, at the base of ectodermal cells, against the mesogloea. In light microscopy and electron microscopy we have never observed any nematocysts in the endoderm or the mesogloea. The *in vivo* assemblages have sometimes shown capsules in the gastric cavity, but each time they were partially lysed nematocysts, being digested and probably ingested by the siphonophore at the same time as a prey.

The mean migration rate was calculated with precision for the stenoteles of *Physophora hydrostatica*, it is 0.4 mm / hour. This excludes, as has been envisaged in the *Hydra*, to assimilate migration to a simple phenomenon of growth. Indeed, a stenotele traversed a dactylozooid of 1 to 2 millimetres in length in 2 to 3 hours. During this time the growth of this organ can be considered as nil. On the other hand, we can conceive, by studying the migration in a tentacle, for example, that: there is a continuous flow of nematocysts, the last formed pushing back the oldest, and this independently of the proper growth of the organ in which migration takes place. The study of *Physophora hydrostatica*, which made it possible to follow the migration of an isolated nematocyst, rules out this possibility. Finally, still in this species, we have been able to observe that neither the elimination of the place of their differentiation, nor that of their site of use, hinders the migration of a nematocyst when this is initiated.

We can consider three modalities of migration of nematoblasts which can, possibly, coexist:

1. Passive migration of nematocysts driven out by contractions of surrounding ectodermal or endodermal cells;
2. Migration thanks to the visco-elastic properties of the mesogloea;
3. Migration by amoeboid movements of nematoblasts.

The ectodermal cells of a gastrozooid of a siphonophore or of the gastric column of a *Hydra*, differentiate, at their internal pole, smooth muscle fibres; in this case, it is possible to conceive that the nematoblasts move by sliding against the mesogloea thanks to the contraction of these fibres. But we have observed that the cells of the basigaster, and those of the tentacle and the outlines of the tentilla, are devoid of figurative contractile elements. This is true for the cells of the ectoderm and for those of the endoderm. It therefore seems to exclude, in these organs at least, to explain the movements of nematoblasts by contractions of the surrounding cells.

The study of the visco-elastic properties of the mesogloea, limited to a very thin layer in the gastrozooids and the tentacles of siphonophores, has not been undertaken. We cannot specify the role of this base in cell migrations, but we believe that it can only be limited.

The ultrastructural study of nematoblasts did not make it possible to identify cytoplasmic modifications reflecting a power of migration. We simply noted that the orientation of these cells was constantly changing during their journey and that these cells always kept a regular shape. However, this last character does not exclude amoeboid movements. It is certain that the importance of the nematocyst in relation to the total volume of the nematoblast, *a priori* rules out the formation of large pseudopodia.

In conclusion, our observations contradict the first two hypotheses which must therefore be rejected, but they suggest the possibility of a displacement of the nematocysts thanks to amoeboid movements. It is interesting to remember that the other migrating cells of cnidarians, which move by amoeboidism, are either interstitial cells or undifferentiated cells. In the case of nematoblasts, before migration, non-differentiation is observed at the level of the cytoplasm, all of the secretory structures of which disappear. Migrating nematoblasts, except for their nematocyst, are ultrastructurally comparable to interstitial cells.

The siphonophores have been a material of exceptional quality to demonstrate and illustrate the migration of nematocysts. It is certain that this same work would have been difficult to achieve in the *Hydra*. But perhaps it is possible, from the results obtained in siphonophores, to indirectly demonstrate the need for nematocytic migration in *Hydra*. In fact, in these animals, the existence of nematocyst clones seems to be well established: Lehn (1951) then Rich and Tardent (1969) have shown that nematocysts, when they form, are part of a set of stinging cells of same type, at the same stage of development, and arising from the division of the same primordial cell. Semal-Van Gansen (1951) in his study on the cnidosome of *Hydra*, already specified that the cnidoblast nests were "formed of a group of cnidoblasts of the same type at substantially the same stage of development". In addition, the cnidobands of *Hydra* have a fairly well defined composition: 1 stenotele, 7 to 9 desmonemes, 0 or 1 holotrich, 0 or 1 atrich. It is difficult to understand the establishment of such a cnidoband from nematocysts associated in clones, if there is no active nematocyst migration. The routes of this migration remain to be specified, transit through the gastrovascular cavity admitted by several authors appearing unlikely (Burnett and Lentz, 1960; Znidaric & Him, 1969). Indeed, experience shows that under poor culturing conditions many cnidarians eat their nematoblasts and their nematocysts. This suggests that these organelles are not protected against enzymes in the gastric column and that they can hardly go this route without serious damage.

#### ABBREVIATIONS

B: cnidoband; B.U.: basigaster; D.: dactylozooid; Eb. T.: tentilla buds; Ect.: ectoderm; End. : endoderm; F.T.: terminal filament; G.: gastrozooid; Gr.: Granules; M.: mesogloea; P.: peduncle; Pn.: pneumatophore; St.: stolon; T.: tentilla; Vit.: yolk.