

ETUDE DU CNIDOME ET DE LA CNIDOGENESE CHEZ *APOLEMIA* *UVARIA* (LESUEUR, 1811) (SIPHONOPHORE PHYSONECTE)

C. CARRÉ et DANIELLE CARRÉ

Station Zoologique, Université de Paris VI, 06230 Villefranche-sur-Mer, France

SUMMARY

The development of different types of cnidocytes in *Apolemia uvaria* (Siphonophore physonekte) has been observed in vivo, using a phase contrast microscope. The main steps of the morphological differentiation of birhopaloïdes, stenoteles, mastigophores and isorhizes are described. In all cases, the Golgi apparatus secretes a capsule and a long external tube at the anterior apex of this capsule. When the tube has reached a certain length, it invaginates in the capsule and becomes the definitive nematocystic filament. In all types of cnidocysts, the external tube, before its invagination, has the same shape as the invaginate tube. The constitution of cnidome of *Apolemia uvaria*, not well known up till now, is defined.

SOMMAIRE

Le développement des différentes catégories de cnidocytes d'*Apolemia uvaria* a été suivi in vivo au microscope à contraste de phase. La morphologie des grandes étapes de la différenciation des birhopaloïdes, des sténoteles, des mastigophores et des isorhizes est décrite. Dans tous les cas, il y a formation d'une capsule sécrétée par l'appareil de Golgi, sur laquelle se développe un long tube externe. Lorsque sa croissance est achevée ce tube s'invagine dans la capsule et donne le filament nématocystique définitif. Chez toutes les catégories de cnidocytes envisagées, le tube, dès le stade externe, présente les caractères morphologiques du filament interne. La composition du cnidome d'*Apolemia uvaria*, encore mal connue jusque là, est précisée.

Les cnidocytes, ou nématocytes, sont des structures sécrétées par des cellules appelées cnidoblastes, ou nématoblastes, caractéristiques du phylum des Cnidaires et jouant un rôle essentiel dans la capture des proies. Ils sont constitués par une capsule renfermant un long filament capable de se dévagner sous l'action de certains stimuli. Très tôt, les zoologistes, intrigués par la complexité structurale de ces organites, ont cherché à comprendre le processus de leur différenciation. Deux modes de formation étaient le plus souvent envisagés. Pour les uns, il se formait d'abord une capsule plus ou moins ovoïde, sur laquelle se développait un long filament

externe décrivant plusieurs spires dans le cytoplasme du cnidoblaste; dans un second temps, ce filament s'invaginait dans la capsule donnant le tube nématocystique définitif. Pour les autres, il y avait formation de la capsule puis différenciation d'un filament intracapsulaire, le stade à filament externe étant interprété, lorsqu'il était observé, comme un artéfact dû à la dévagination précoce d'un nématocyte immature.

Ces dernières années, la microscopie électronique a apporté de nouveaux éléments à l'étude de la cnidogénèse. Les auteurs s'accordent maintenant pour reconnaître l'existence de stades à tube externe; ils ne les

identifient plus à des artéfacts mais les interprètent de diverses façons. Slautterback [5] pense que le filament externe donne le filament intracapsulaire par invagination sans toutefois avoir pu observer le passage d'un stade à l'autre. Westfall [10] assimile le filament externe à une réserve de matériel qui sera utilisée ultérieurement lors de la différenciation du filament intracapsulaire de néoformation. Enfin, Sutton & Burnett [7] concluent à l'existence de deux catégories indépendantes et toutes deux fonctionnelles de nématocystes : les uns à filament externe, les autres à filament interne.

Nous avons repris cette étude en associant les observations en microscopie électronique et les observations sur le vivant. Les Siphonophores se sont révélés un matériel de choix par leur transparence, par la grande taille de certains de leurs nématocystes et par la ségrégation très nette qui existe entre les cnidocystes en cours de différenciation (situés à la base des gastrozoïdes et parfois des dactylozoïdes) et les cnidocystes matures (localisés essentiellement dans les filaments pêcheurs).

Dans un premier travail sur *Muggiaea kochi*, Siphonophore calycophore [1], nous avons montré que la différenciation du cnidocyste présente trois phases successives : formation de la capsule par fusion de vésicules golgiennes, sécrétion du tube externe par l'appareil de Golgi, invagination de ce tube dans la capsule. La petite taille des nématocystes de *Muggiaea kochi*, favorable à une étude en microscopie électronique, ne nous a pas permis de suivre de façon très détaillée, sur le vivant, le développement de toutes les catégories de nématocystes présentes. Aussi était-il intéressant de renouveler les observations in vivo chez une autre espèce : *Apolemia uvaria*. *Apolemia uvaria* se distingue des autres Siphonophores physones par de nombreux caractères, en par-

ticulier au niveau du cnidome. Il possède quatre catégories de nématocystes, trois de ces catégories étant de deux tailles : microbirhopaloïdes et macrobirhopaloïdes, microsténotèles et macrosténotèles, microisorhizes et macroisorhizes, mastigophores.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Nous avons travaillé sur des colonies d'*Apolemia uvaria* recueillies en surface, à l'aide de sacs en plastique, ou sur des fragments de stolon présents dans les coups de filets. Nos observations ont porté essentiellement sur les zones de différenciation des cnidocystes situées à la base des gastrozoïdes et des dactylozoïdes (ou palpons), dans l'ectoderme.

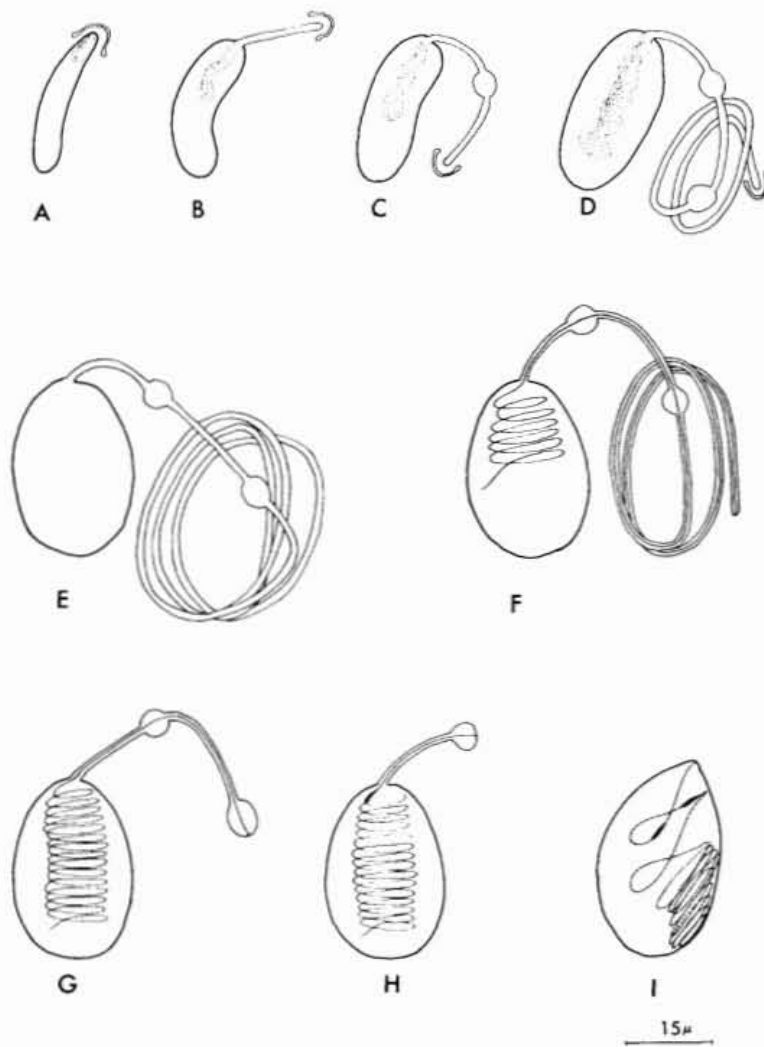
Pour les observations sur le vivant, nous avons isolé des dactylozoïdes et des gastrozoïdes dans de petites chambres de culture à circulation d'eau. Ces montages, observés au microscope à contraste de phase interférentiel ont permis de suivre l'évolution d'un même nématoblaste pendant 3-4 h, de visu et par des photos. Nous avons également réalisé des montages entre lame et lamelle afin d'obtenir des clichés plus nets qui ont servi à illustrer cette note. Ces montages ne permettant pas d'observation prolongée, les principales étapes du développement d'une catégorie de nématocystes ont dû être photographiées sur des préparations différentes.

L'étude en microscopie électronique a été faite sur des fragments de colonies, fixés à la glutaraldéhyde et au tétroxyde d'osmium tamponnés, et inclus suivant la méthode de Spurr [4]. Les sections ultrafines ont été contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb suivant la méthode de Reynolds.

RESULTATS

Différenciation des birhopaloïdes (text-fig. 1)

Les birhopaloïdes, spécifiques d'*Apolemia*, sont caractérisés par la présence de deux dilatations sur la hampe du filament. Ils ont été décrits par Claus [2], Ivantzoff [3] et leur existence a été confirmée par Weill [9] d'après des préparations de A. K. Totton. Nous insisterons plus particulièrement sur le développement de cette catégorie de nématocystes, les plus abondants chez *Apolemia*, car leur originalité morphologique s'est révélée très favorable à la compréhension de la cnidogenèse.



Text-fig. 1. Différenciation des birhopaloïdes d'*Apolemia uvaria*.
× 1 400.

Il existe deux sortes de birhopaloïdes distinctes par la taille : des macrobirhopaloïdes, dont les dimensions concordent avec celles données par les auteurs précédents, et les microbirhopaloïdes non signalés jusqu'ici.

Macrobirhopaloïdes : capsule ellipsoïdale de $24 \times 15 \mu$; hampe isodiamétrique de 66μ de long et de $3,5 \mu$ de diamètre, présentant deux renflements ovoïdes de $10 \times 6,5 \mu$; tube terminal de 2μ de diamètre (fig. 1).

Microbirhopaloïdes : capsule ellipsoïdale de $15 \times 9 \mu$; hampe de 46μ de long et de $2,5 \mu$ de diamètre avec deux dilatations de $6 \times 3,5 \mu$; tube terminal de $1,6 \mu$ de diamètre.

Macrobirhopaloïdes

Formation de la capsule et du tube externe. Tous les nématocystes d'*Apolemia* se développent dans des foyers cnidogènes ectodermiques situés à la base des gastrozoïdes et des dactylozoïdes. Leur formation débute par la sécrétion d'une capsule. Chez les macrobirhopaloïdes cette capsule est tout d'abord allongée, parfois repliée en U. Sa paroi est mince, doublée vers l'intérieur par une couche réfringente, le reste du contenu capsulaire étant clair et homogène. Les observations en microscopie électronique montrent que cette ébauche est sécrétée par

l'appareil de Golgi et confirment la dualité chimique de son contenu : contre la membrane de la capsule une zone claire entoure la région interne sombre et granuleuse (fig. 2).

Lorsque l'ébauche de la capsule a atteint approximativement la longueur de la capsule mature, un capuchon se forme coiffant un de ses pôles que nous qualifierons de pôle antérieur. Il s'agit de l'appareil de Golgi déjà très développé au stade précédent, et qui s'est concentré en un seul endroit dans le nématoblaste devenant de ce fait nettement visible au microscope à contraste de phase. A proximité de l'appareil de Golgi, et à l'intérieur de la capsule, se développe une masse très réfringente qui n'est pas visible en microscopie électronique; elle ne correspond donc pas à une structure membranaire mais à une simple accumulation de substances qui, lors de la fixation, précipitent de façon identique au reste du contenu capsulaire (fig. 3). Cette accumulation se poursuit tandis que le tube externe apparaît au pôle antérieur de la capsule, repoussant peu à peu l'appareil de Golgi. La paroi du tube est en continuité avec celle de la capsule; son contenu est clair et homogène. On voit se différencier successivement : le segment basal de la hampe ($10\ \mu$), un premier renflement, le segment distal rectiligne de la hampe ($18\ \mu$), un deuxième renflement identique au premier terminant la hampe, et enfin le tube proprement dit, moins large que la hampe. Celui-ci poursuit sa croissance de façon isodiamétrique pendant plusieurs heures, son extrémité étant toujours coiffée par l'appareil de Golgi, et forme une dizaine de larges spires au sein du cytoplasme du nématoblaste (figs 4-8).

Il convient de signaler que ce tube externe a d'emblée son diamètre définitif, il ne s'élargit pas secondairement. Sa croissance est terminale et n'est pas associée à une croissance intercalaire. En effet, la distance

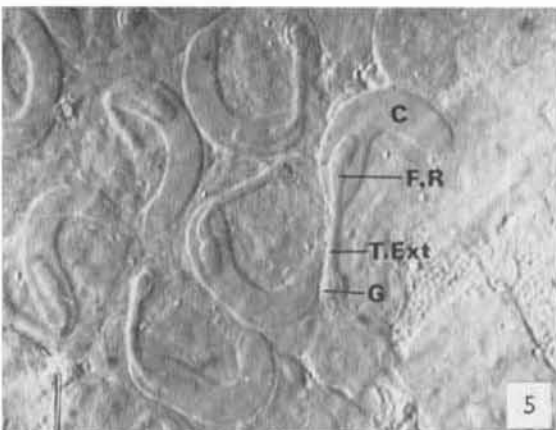
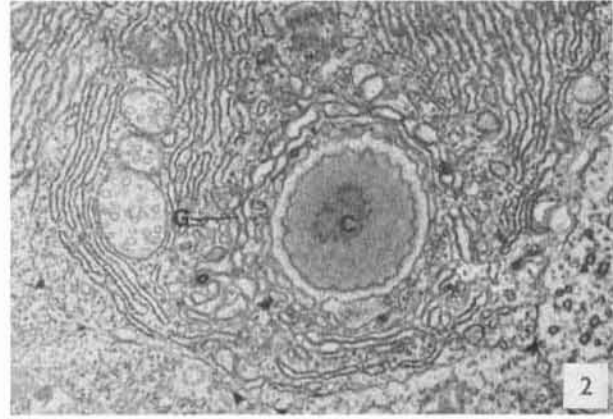
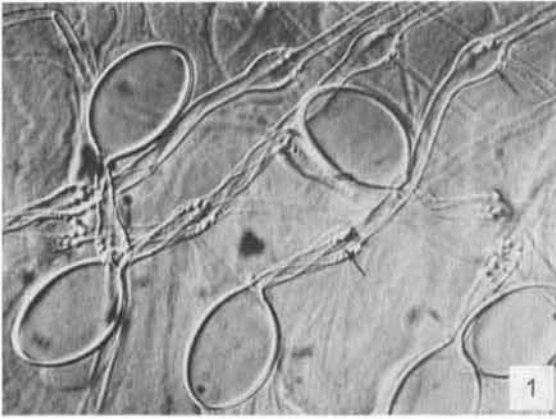
entre la capsule et le premier renflement et celle séparant les deux renflements restent constantes pendant toute la durée du développement du tube.

La capsule qui était une vésicule très allongée, s'élargit peu à peu pour atteindre sa forme définitive ovoïde à la fin de la différenciation du tube. A l'intérieur, la masse réfringente signalée au début de la formation du nématocyste, s'étend. Son aspect, bien que peu distinct, évoque celui de produits ayant été élaborés dans le tube puis repoussés dans la capsule (figs 6, 7). On note souvent une continuité entre ces formations et le contenu du tube. Elles correspondent, peut-être, à des produits élaborés par l'appareil de Golgi ou concentrés au travers de la membrane du tube qui seraient stockés dans la capsule avant d'être utilisés. En effet, après avoir atteint une extension maximum, ces formations régressent peu à peu pour disparaître complètement lorsque la croissance du tube est terminée. L'homogénéité du contenu capsulaire en contraste de phase est le meilleur critère que nous ayons trouvé pour reconnaître le stade précédant le début de l'invagination (figs 8, 15).

Invagination du tube externe. Le développement du tube qui dure plusieurs heures, est immédiatement suivi par son invagination. Il faut regarder un grand nombre de préparations pour observer des stades dont le contenu capsulaire est parfaitement clair,

Abbreviations: C, capsule; FR, formation réfringente; G, appareil de Golgi; Text, tube externe; Tint, tube interne

Fig. 1. Macrobirhopaloïdes d'*Apolemia* après dévagination; microscope à contraste de phase. $\times 1\ 000$; *fig. 2.* jeune capsule de nématocyste d'*Apolemia*; microscope électronique. $\times 14\ 000$; *fig. 3.* jeune capsule de macrobirhopaloïdes; microscope à contraste de phase, in vivo. $\times 1\ 000$; *figs 4-7.* sécrétion du tube externe à deux renflements par l'appareil de Golgi et accumulation de substances dans la capsule. $\times 1\ 000$; *fig. 8.* fin de la différenciation du tube externe. $\times 1\ 000$.



c'est-à-dire dont le tube a terminé sa croissance et n'a pas encore commencé à s'invaginer. Ces stades sont extrêmement fugitifs. Aussitôt l'extrémité libre du tube s'invagine dans le segment sous-jacent et progresse vers la capsule. Il est impossible de suivre le trajet du tube devenu interne tant qu'il n'a pas atteint la capsule. En effet, dès le début de sa migration il se replie sur lui-même suivant trois génératrices ce qui le rend très fin et difficilement observable [1].

Nous avons pu suivre l'arrivée de l'extrémité libre du tube dans la capsule; elle se déplace très lentement mais de façon perceptible en prenant des photos à intervalles de temps réguliers (toutes les 10 minutes par exemple) (fig. 9). La portion invaginée du tube s'organise en spires régulières qui sont de plus en plus jointives au fur et à mesure que l'invagination progresse (fig. 10). La phase terminale de ce processus est la plus démonstrative avec l'invagination du premier renflement puis du second et enfin de la base de la hampe (figs 11-14). Nous avons chronométré le temps d'invagination du segment séparant les deux renflements et obtenu pour cette portion du tube, une vitesse d'invagination de $0,8 \mu/\text{Mn}$ (dans les conditions d'observation).

Lorsque tout le tube est devenu interne son armature commence à se former. Ceci se traduit surtout, en microscopie photonique, par un épaississement du filament (fig. 14).

Migration du cnidocyte. Une des nombreuses particularités morphologiques d'*Apolectia uvaria* est l'absence de tentilles. Chez cette espèce, filaments pêcheurs et palpacules ont la même structure : ce sont de longs tentacules, très minces et contractiles, bordés de macrobierhopaloïdes et de microbierhopaloïdes. C'est vers ces tentacules que, dès la fin de l'invagination du tube nématocystique, les macrobierhopaloïdes, accompagnés des nématoblastes qui les ont sécrétés, émigrent

entre les cellules du feuillet ectodermique. Toutefois, quelques-uns des macrobierhopaloïdes se dirigent vers la région buccale des gastrozoïdes et des dactylozoïdes. C'est seulement lorsque les nématocystes ont atteint leur emplacement définitif, que l'on observe la différenciation des structures cnidociliaires et périnématocystiques.

Microbierhopaloïdes

Les étapes de la formation des microbierhopaloïdes sont identiques à celles que nous avons décrites pour les macrobierhopaloïdes (figs 15, 16). L'observation montre qu'il s'agit, dès les premiers stades, d'une catégorie distincte des macrobierhopaloïdes uniquement par la taille et que cette différence n'est pas acquise secondairement sous l'action de conditions physiologiques particulières.

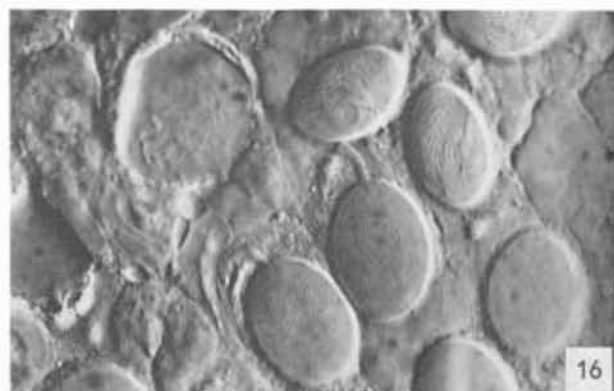
Différenciation des autres catégories de nématocystes

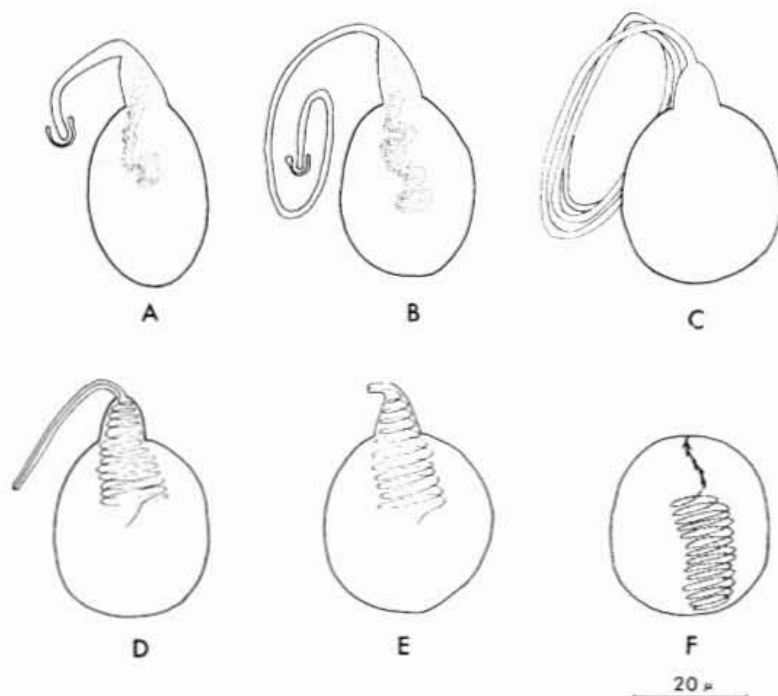
Lors de la différenciation de toutes les catégories de nématocystes d'*Apolectia uvaria* nous avons retrouvé les mêmes étapes fondamentales : sécrétion de la capsule, formation du tube externe dépourvu d'armature, invagination de ce tube à partir de son extrémité libre, étapes qui sont suivies de la migration du nématoblaste. Nous nous bornerons donc à signaler les particularités morphologiques et dimensionnelles de chaque type de nématocyste aux principaux stades de son développement.

Sténotèles (text-fig. 2)

Les sténotèles sont localisés dans la région buccale des gastrozoïdes et des dactylozoïdes.

Fig. 9. Début de l'invagination du tube nématocystique dans la capsule d'une macrobierhopaloïde. $\times 1\,000$; *figs 10-13*, invagination de la hampe et de ses deux renflements. $\times 1\,000$; *fig. 14*, stade migrant de macrobierhopaloïdes. $\times 1\,000$; *fig. 15*, microbierhopaloïdes: stade clair. $\times 1\,000$; *fig. 16*, microbierhopaloïdes: fin d'invagination du filament. $\times 1\,000$.





Text-fig. 2. Différenciation des sténoteles d'*Apolemia uvaria*.
× 1 200.

Comme pour les birhopaloïdes, nous en avons observé deux types.

(1) *Macrosténoteles* : capsule ovoïde de $26 \times 23 \mu$; hampe dévaginée de 35μ avec un segment basal légèrement renflé de $17,5 \mu$ et un segment terminal conique de $17,5 \mu$ portant de nombreux stylets disposés sur trois génératrices; long tube terminal (fig. 17).

(2) *Microsténoteles* : capsule ovoïde de $14 \times 12 \mu$; hampe dévaginée de $10 \times 7,5 \mu$; tube terminal (fig. 24).

Lors de leur différenciation, ces deux types de sténoteles présentent un tube externe dont la région basale est élargie. Il est possible de distinguer, surtout chez les macrosténoteles, un premier segment renflé suivi d'un portion conique, et enfin, le tube proprement dit, plus étroit. Toutes ces formations sont dépourvues d'armature (figs 18, 21).

L'invagination du tube commence par son extrémité libre et se termine par la portion basale qui forme la hampe du nématocyste mature (figs 19, 20, 22). La vitesse moyenne

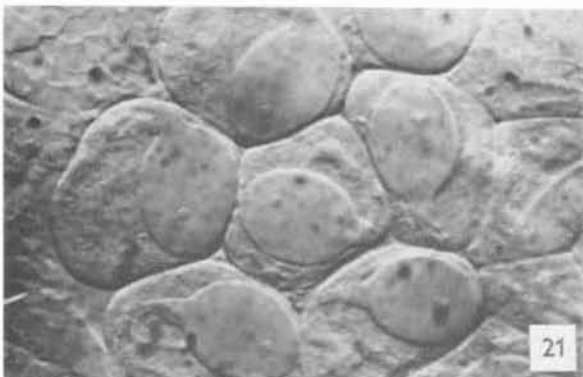
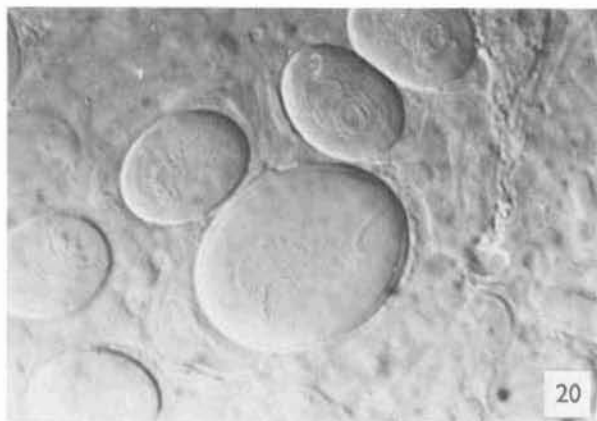
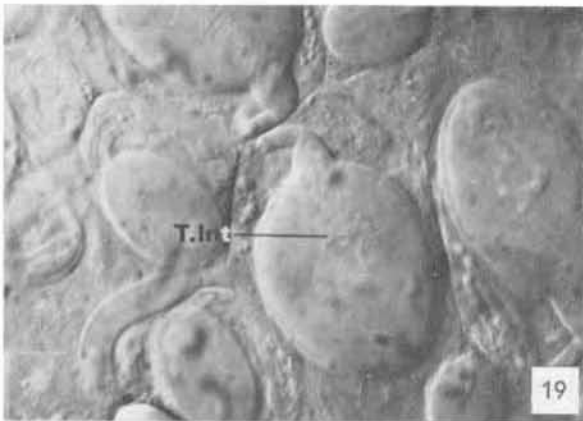
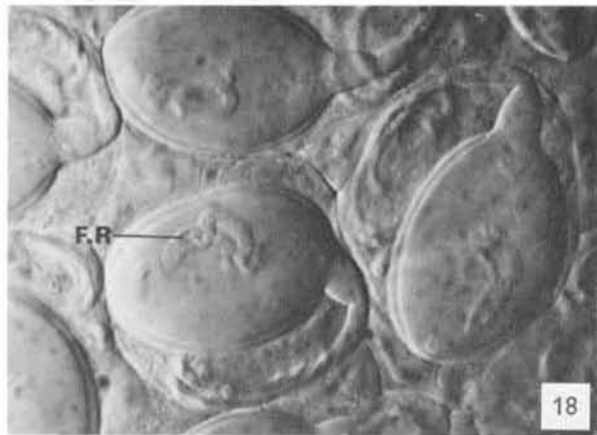
d'invagination de la hampe, dans les conditions d'observation est de $0,6 \mu/\text{min}$.

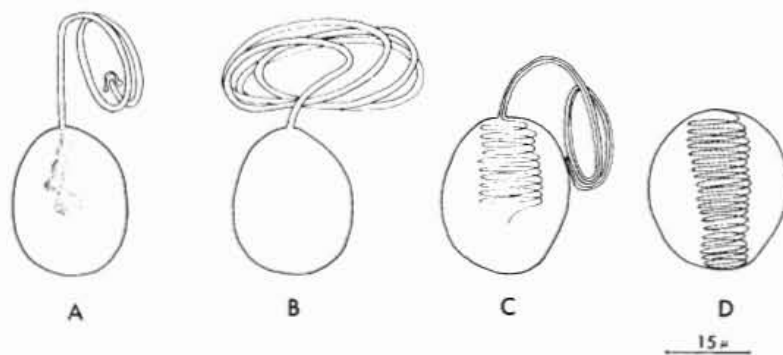
Lorsque tout le tube est devenu interne les macrosténoteles et les microsténoteles émigrent. C'est seulement lorsqu'ils ont atteint leur emplacement définitif que s'achève la différenciation de l'armature et que se différencient les structures cnidociliaires et périnématocystiques.

Isorhizes (text-fig. 3)

Les isorhizes fonctionnels sont localisés à la surface des bractées et des dactylozoïdes. Ils se forment dans les mêmes foyers cnidogènes que les autres nématocystes et peuvent être classés en deux catégories de tailles.

Fig. 17. Macrosténotèle dévaginé. × 1 250; fig. 18, macrosténotèle : différenciation du tube externe. × 1 000; fig. 19, macrosténotèle : invagination de la hampe. × 1 000; fig. 20, macrosténotèle : stade migrant. × 1 000; fig. 21, microsténotèle : différenciation du tube externe. × 1 000; figs 22, 23, microsténotèle : invagination du filament et de la hampe. × 1 000; fig. 24, microsténotèle : stade migrant × 1 000.





Text-fig. 3. Différenciation des isorhizes d'*Apolemia uvaria*. $\times 1\,300$.

(1) *Macroisorhizes* : capsule sphérique de $15\ \mu$ de diamètre ; long filament isodiamétrique de $2\ \mu$ de diamètre, armé sur toute sa longueur (holotriche) (fig. 25).

(2) *Microisorhizes* : capsule sphérique de $7,5\ \mu$ de diamètre; tube isodiamétrique.

Au cours de la différenciation des isorhizes le tube externe est isodiamétrique et ne présente aucune dilatation (figs 26–28).

Mastigophores (text-fig. 4)

Les mastigophores ont la même répartition que les sténotèles : région buccale des gastrozoïdes et des dactylozoïdes. Ce sont les seuls nématocystes d'*Apolemia* ne présentant pas deux catégories de taille.

Mastigophores : capsule allongée de $32,5 \times 14\ \mu$; hampe isodiamétrique de $42,5 \times 14\ \mu$ après dévagination, ornementée par trois hélices d'épines; tube terminal très fin (figs 29, 32).

Avant de s'invaginer, le tube des mastigophores est formé par un segment basal cylindrique dépourvu d'ornementation suivi du tube proprement dit, plus étroit. L'invagination débute par l'extrémité libre du tube et se termine par la région basale élargie qui forme la hampe du nématocyste.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

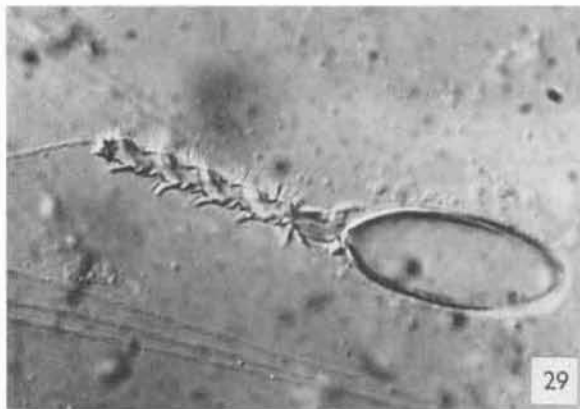
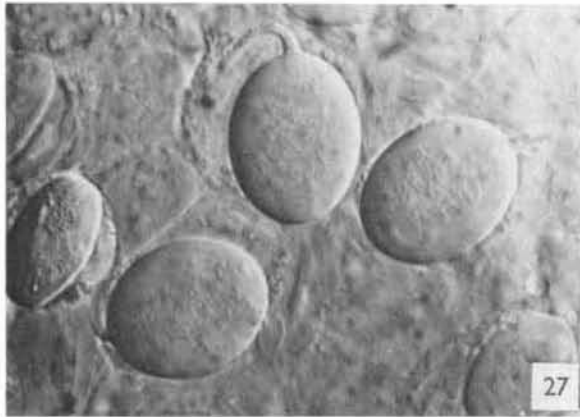
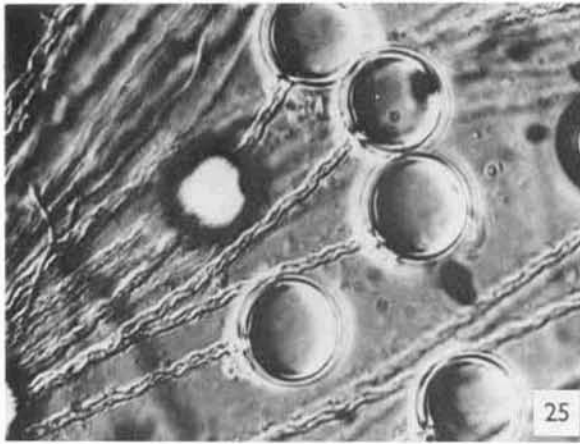
L'étude de la cnidogénèse chez *Apolemia uvaria* a été l'occasion d'une mise au point sur son cnidome. En effet, si on excepte la

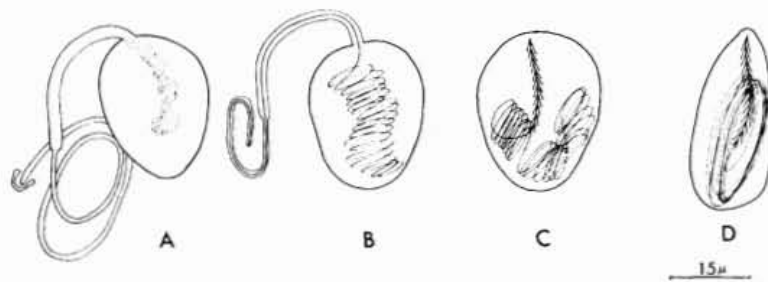
note de Weill [9] confirmant l'existence des birhopaloïdes après l'observation de matériel fixé, aucun auteur depuis Ivantzoff [3] n'avait étudié le cnidome de cette espèce dont l'inventaire des cellules urticantes comportait encore de nombreuses incertitudes.

Apolemia uvaria, par sa morphologie, se détache de l'ensemble des Siphonophores physonectes. A cette anatomie exceptionnelle correspond un cnidome très original. En règle générale il est admis que les sténotèles caractérisent les Siphonophores physonectes et font défaut chez les Siphonophores calycophores. Par contre, les mastigophores, présents chez les calycophores ne s'observent jamais chez les physonectes. Avec *Apolemia uvaria* nous sommes en présence d'une espèce possédant à la fois des sténotèles et des mastigophores. Ce fait est unique chez les Siphonophores connus. Une autre originalité du cnidome de cette espèce est l'absence d'astomocnides (rhopalonèmes et desmonèmes) qui sont présents chez tous les autres Siphonophores. Enfin, les birhopaloïdes sont des nématocystes spécifiques d'*Apolemia* et jamais observés chez aucun autre Cnidaire.

Ce cnidome, intéressant par les types de

Fig. 25. Macroisorhizes dévaginés. $\times 1\,000$; fig. 26, macroisorhize : différenciation du tube externe. $\times 1\,000$; fig. 27, macroisorhize : invagination du tube externe. $\times 1\,000$; fig. 28, microisorhize : différenciation du tube externe. $\times 1\,000$; fig. 29, mastigophore dévaginé. $\times 1\,000$; fig. 30, mastigophore : différenciation du tube externe. $\times 1\,000$; fig. 31, mastigophore : stade migrant. $\times 1\,000$; fig. 32, mastigophores matures. $\times 1\,000$.





Text-fig. 4. Différenciation des mastigophores d'*Apolemia uvaria*.
× 1 300.

nématocystes qui le constituent, l'est aussi par l'existence de catégories dimensionnelles. Nous avons observé des macrobirhopaloïdes et des microbirhopaloïdes, des macrosténotèles et des microsténotèles, des macroïsorhizes et des microïsorhizes. Des nématocystes de même type mais présentant des différences de taille très nettes ont été décrits chez de nombreux Cnidaires et plus spécialement étudiés chez les Lucernaires. Ces Scyphozoaires possèdent des grands et des petits eurytèles. Weill [8] a tenté de suivre le développement de ces nématocystes et admet que les petits eurytèles émigreraient directement des foyers cnidogènes vers leur lieu d'utilisation, tandis que les grands eurytèles effectueraient une étape intermédiaire dans des organes spécifiques des Lucernaires : les réservoirs sélectifs. Il en déduit que « la croissance et la maturation des eurytèles seraient, chez la Lucernaire, corrélatives du séjour temporaire de leurs nématoblastes dans un milieu voisin de l'eau de mer » (le contenu du réservoir sélectif étant considéré comme voisin de l'eau de mer). Chez *Apolemia* nous avons constaté que les différentes catégories dimensionnelles sont identifiables dès les tout premiers stades de la formation des nématocystes. Il nous est donc difficile de retenir, pour cette espèce, l'interprétation de Weill et d'attribuer les différences de tailles à des conditions physiologiques particulières.

Nous avons pu préciser que la croissance de la capsule n'est pas terminée lorsque

débute la formation du tube externe. Ce fait, difficilement perceptible en microscopie électronique, repose le problème de l'origine de la capsule. En effet, après avoir sécrété l'ébauche de la capsule, l'appareil de Golgi s'en éloigne dès le début du développement du tube externe. Il n'est donc pas certain qu'il intervienne, ou soit seul impliqué dans les derniers stades de la croissance capsulaire.

Les observations sur le vivant nous ont permis de connaître la morphologie de quatre catégories de nématocystes aux principales étapes de leur développement. Entre autre, nous avons toujours retrouvé dans la forme du tube externe celle du filament nématocystique définitif : deux renflements pour les birhopaloïdes, dilatation conique pour les sténotèles, dilatation isodiamétrique pour les mastigophores, tube externe sans différenciation basale pour les isorhizes. Ces observations sont un argument supplémentaire pour conclure que le tube externe donne directement le tube interne. Toutefois, nous avons noté une nette différence de diamètre et de longueur entre les tubes nématocystiques externes ou en cours d'invagination et les filaments dévaginés.

Pour les birhopaloïdes, par exemple, le diamètre du tube externe passe de $2\ \mu$ avant l'invagination à $3\ \mu$ après la dévagination et la distance entre les deux renflements qui était de $18\ \mu$, devient de $34\ \mu$. Il est probable que pendant ou après l'invagination le filament s'allonge et se dilate. Il convient

également de signaler que l'armature du filament nématocystique, aussi bien au niveau de la hampe que du tube proprement dit, n'apparaît qu'après l'invagination et n'est achevée qu'après la migration du cnidocyste.

Enfin l'étude de la cnidogenèse in vivo nous a permis de dégager une notion que l'électronique laissait seulement pressentir : celle de clones de nématoblastes. Chaque nématoblaste, lorsqu'il se développe dans le massif cnidogène, fait partie d'un ensemble de cellules urticantes de même type et au même stade de développement. Il sera intéressant, afin d'aborder le problème de l'origine des nématoblastes et du déter-

minisme de leur évolution, d'entreprendre l'étude numérique de ces clones ainsi que leur répartition.

BIBLIOGRAPHIE

1. Carré, D, *Compt rend acad sci* 275 (1972) 1263.
2. Claus, C, *Z wiss zool* XII (1863) 95.
3. Ivantzoff, N, *Bull soc nat Moscou* X (1896) 95.
4. Spurr, A, *J ultrastruct res* 26 (1969) 31.
5. Slautterback, D B, *Biology of hydra*, Loomis (1961) 77.
6. — *J cell biol* 18 (1963) 367.
7. Sutton, J S & Burnett, J W, *J ultrastruct res* 28 (1969) 214.
8. Weill, R, *Trav stn zool Wimereux* 10-11 (1934) 1.
9. — *Compt rend acad sci* 258 (1964) 4243.
10. Westfall, J A, *Z Zellforsch* 75 (1966) 381.

Reçu le 1 février, 1973

Version relue reçue le 13 mars, 1973

Carré, C. and Carré, D. 1973

Study of the cnidome and of cnidogenesis in
Apolemia uvaria (Lesueur, 1811 (Siphonophore, Physonecta)).

Experimental Cell Research **81** 37-249

Summary

The development of different types of cnidocysts in *Apolemia uvaria* (Siphonophora, Physonecta) has been observed *in vivo*, using a phase contrast microscope. The main steps of the morphological differentiation of birhopaloïds, stenoteles, mastigophores and isorhizas are described. In all cases, the Golgi apparatus secretes a capsule and a long external tube at the anterior apex of this capsule. When the tube has reached a certain length, it invaginates into the capsule and becomes the definitive nematocystic filament. In all types of cnidocysts, the external tube, before its invagination, has the same shape as the invaginated tube. The constitution of the cnidome of *Apolemia uvaria*, not well known until now, is defined.

The cnidocysts or nematocysts, are some structures secreted by some cells called cnidoblasts or nematoblasts, characteristic of the phylum Cnidaria and playing an essential role in the capture of prey. They are constituted by a capsule containing a long filament capable of devagination under the action of certain stimuli. Very often, zoologists, intrigued by the complex structure of these bodies, have sought to understand the process of their differentiation. Two modes of formation have most often been envisaged. On the one hand, it is formed firstly by a more or less ovoid capsule, on which is developed a long external filament describing several spirals in the cytoplasm of the cnidoblast; in a few seconds [?], this filament invaginates into the capsule giving rise to the definitive nematocystic tube. For others, they are a formation within the capsule which differentiates into an intracapsular filament, the stage of the external filament being interpreted, when it has been observed, as an artefact due to the devagination process of an immature nematocyst.

In recent years, electron microscopy has brought some new elements to the study of cnidogenesis. The authors now concede to the recognition of the existence of a stage with an external tube; no longer identifying it as some artefact, but they interpret it in diverse ways. Slautterback [5] thinks that the external filament gives rise to the intracapsular filament by invagination without always being able to observe the transition from one stage to the other. Westfall [10] compares the external filament to a reservoir of material that will be utilised at the moment of differentiation of the intracapsular filament of neoformation. Finally, Sutton & Burnett [7] inferred the existence of two independent categories and both function as nematocysts; one to an external filament and the other to an internal filament.

We have reprised these studies in association with electron microscope observations and *in vivo* observations. The siphonophores have been revealed as choice material by their transparency, by the large size of some of their nematocysts and by the very clear segregation which exists between the cnidocysts in the course of differentiation (situated at the base of the gastrozooids and sometimes at those of the dactylozooids) and the mature cnidocysts (essentially localised within the tentacles).

In our former work on *Muggier kochi*, a calycophoran siphonophore [1], we have shown that the differentiation of the cnidocysts shows three successive phases: formation of the capsule by fusion of Golgian vesicles, secretion of an external tube by the Golgi apparatus, invagination of this tube into the capsule. The small size of the nematocysts of *Muggiaea kochi*, favoured an electron microscope study, which did not allow us to follow in a detailed way, *in vivo*, the development of all the categories of nematocysts present. Also, it was interesting to renew the observations *in vivo* of another species: *Apolemia uvaria*. *Apolemia uvaria* is distinguished from other physonect siphonophores by several characters, in particular at the level of the cnidome. It possesses four types of nematocysts, three of these types have two different sizes: microbirhopaloids and macrobirhopaloids, microstenoteles and macrostenoteles, microisorhizas and macroisorhizas, plus mastigophores.

Materials and Methods

We have worked on some colonies of *Apolemia uvaria* collected from the surface, with the aid of plastic bags, or on some fragments of stolon present in plankton nets. Our observations are essentially about the zones of proliferation of the cnidocysts situated at the base of the gastrozooids or some dactylozooids (or palpons), in the ectoderm.

For the *in vivo* observations, we have isolated some dactylozooids and gastrozooids in a small culture chamber with circulating water. These mounts, observed under a phase contrast microscope have allowed us to follow the evolution of the same cnidoblast over 3-4 hours, both visually and by photographs. We have equally undertaken some mounts between slide and cover slip to get some very thin blocks which have served to illustrate this note. These mounts do not allow prolonged observations, and the principal stages of development of a category of nematocyst are the result of photographs of different preparations.

The electron microscope studies have been made on fragments of the colony, fixed in glutaraldehyde and stopped by osmium tetroxide, and included following the method of Spurr [4]. The ultrafine sections have been stained with uranyl acetate and lead citrate following the method of Reynolds.

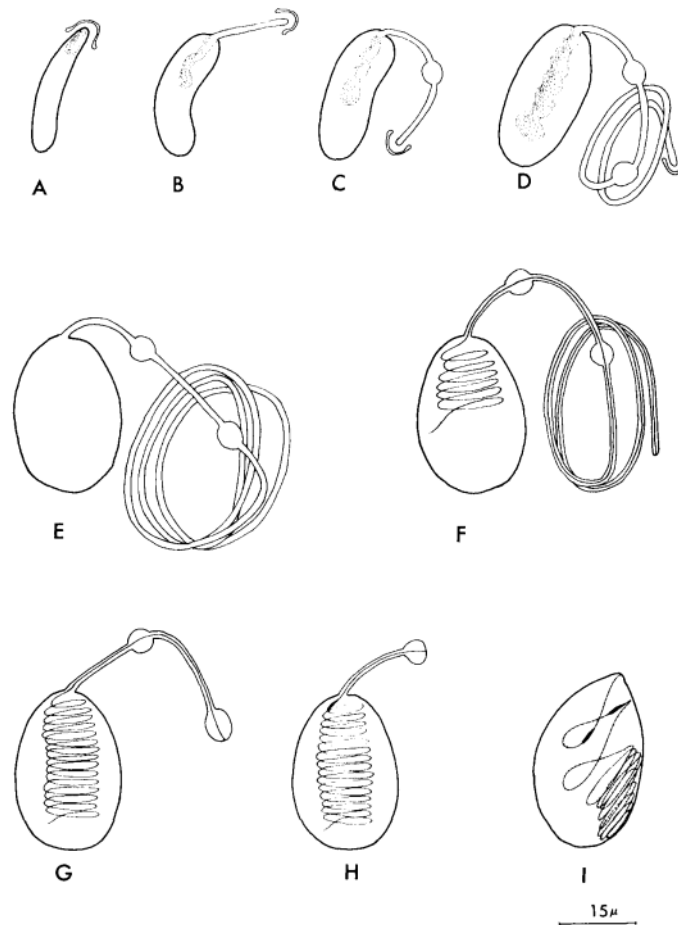
Results

Differentiation of birhopaloides (text fig. 1)

The birhopaloides, specific to *Apolemia*, are characterised by the presence of two dilations on the hampe of the filament. They have been described by Claus [2], Ivantzoff [3] and their existence has been confirmed by Weill [9] after some preparations made by A. K. Totton. We are interested more particularly in the development of this category of nematocyst, the most abundant in *Apolemia*, because their unique morphology has contributed very favourably to the comprehension of cnidogenesis.

There exist two sorts of birhopaloides: some macrobirhopaloides distinguished by their size having dimensions in accord with those given by earlier authors, and some birhopaloides not previously noted. Macrobirhopaloides: ellipsoidal capsule of 34 x 15 μm , isodiametric hampe of 66 μm in length and 3.5 μm in diameter, showing two ovoid swellings of 10 x 6.5 μm ; terminal tube 2 μm in diameter (fig. 1)

Microbirhopaloïdes: ellipsoidal capsule of $15 \times 9 \mu\text{m}$: hampe $46 \mu\text{m}$ in length and $2.5 \mu\text{m}$ in diameter with two dilations of $6 \times 3.4 \mu\text{m}$; terminal filament $1.6 \mu\text{m}$ in diameter.



Text-fig. 1. Differentiation of some birhopaloïdes of *Apolemia uvaria*. x 1400

Macrobirhopaloïdes

Formation of the capsule and the external tube.

All the nematocyst of *Apolemia* are developed in the same ectodermal cnidogenic centres at the base of the gastrozooids and some dactylozooids. Their formation begins with the secretion of a capsule. In the macrobirhopaloïdes this capsule is from the very first, elongated, sometimes bent into a U-shape. Its wall is thin, doubled towards the interior by a refringent layer, the remainder of the contents of the capsule being clear and homogeneous. The electron microscope studies show that this bud is secreted by the Golgi apparatus and confirms the dualistic chemistry of its contents: against the membrane of the capsule a clear zone around the internal region which is dark and granulose.

When the bud of the capsule has attained approximately the length of the mature capsule, a cap is formed covering one of its poles which we will qualify as the anterior pole. It moves about in the Golgi apparatus which is already very developed from the preceding stage, and which is concentrated at a single point in the nematoblast becoming, in fact, clearly visible with phase contrast microscopy. In the region of the Golgi apparatus, and in the interior of the capsule, is developed a very refringent mass which is not visible by electron microscopy; it does not correspond

then to a membranous structure but to a simple accumulation of materials which, during fixation, precipitate in a fashion identical to the rest of the capsular contents (fig.3). This accumulation was followed by the appearance of the external tube at the anterior pole of the capsule, pushing back little by little into the Golgi apparatus. The wall of the tube is continuous with that of the capsule; its contents are clear and homogeneous. One sees the successive differentiations; the basal segment of the hampe (10 μm), a primary swelling, the distal segment rectilinear to the hampe (18 μm), a second, swelling identical to the first terminates the hampe, and finally the so-called tube, less wide than the hampe. The latter continues its growth in an isodiametric fashion over several hours, its extremity always being the cover for the Golgi apparatus, and forms a dozen large spirals in the midst of the cytoplasm of the nematoblast (figs. 4-8).

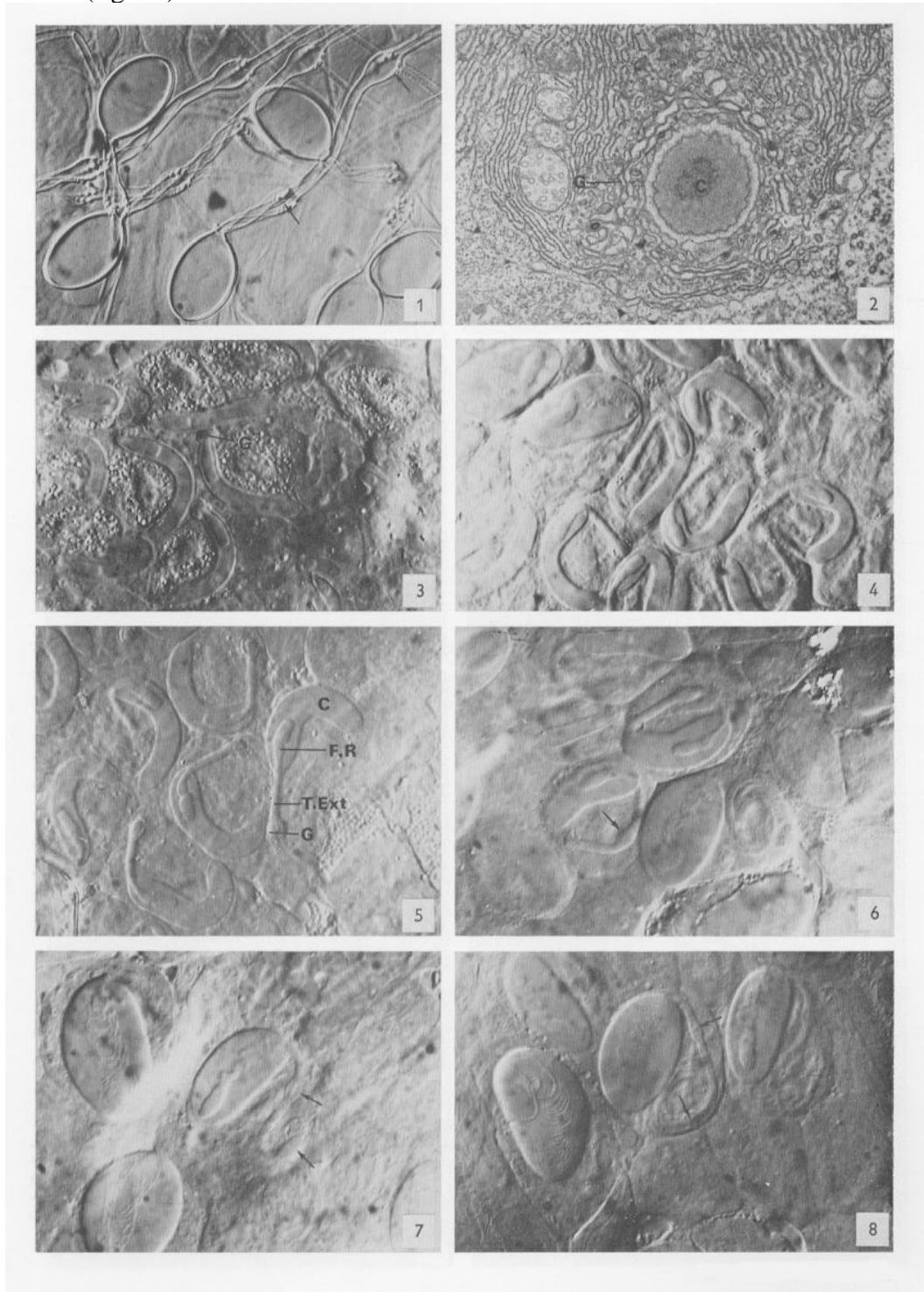
It is convenient to note that this external tube has, at the outset, its definitive diameter. Its growth is terminal and it is not associated with an intercalary growth. In effect, the distance between the capsule and the first swelling and that that separates the two swellings remains constant throughout the duration of the development of the tube.

The capsule which was a very elongated vesicle, enlarges little by little to attain its definitive ovoid shape at the finish of the differentiation of the tube. Inside, the refringent mass, identified at the start of the formation of the nematocyst, spreads out [?]. Its aspect, although indistinct, evokes that of the products that have been elaborated in the tube then driven back into the capsule (figs. 6, 7). One often notes a continuity between these formations and the contents of the tube. They correspond, perhaps, to those products elaborated by the Golgi apparatus or concentrated across the membrane of the tube which will become stored in the capsule before being utilised. In effect, after having attained a maximum extension, these formation regress slowly before disappearing completely when the growth of the tube is finished. The homogeneity of the capsular contents under phase contrast is the best criterion that we have found to recognise the stage preceding the beginning of invagination (figs. 8, 15).

Invagination of the external tube. The development of the tube which takes place over several hours is immediately followed by its invagination. It is necessary to look at a large number of preparations to observe the stages when the capsular contents are perfectly clear, that is to say when the tube has ended its growth but has not yet begun to invaginate. These stages are extremely short. Immediately the free extremity of the tube invaginates into the subjacent segment and progresses toward the capsule. It is impossible to follow the trajectory of the tube becoming internal while it has not reached the capsule. In effect, from the start of its migration it is folded in on itself following three generating [?] that render it very fine and difficult to see [1].

We have been able to follow the arrival of the free extremity of the tube at the capsule; it displaces itself very slowly but in a perceivable fashion by taking photographs at regular intervals (all at 10 minutes for example) (fig. 9). The invaginated portion of the tube is organised into regular spirals which are more and more in contact which each other in proportion to the progress of the invagination (fig. 10). The final phase of this process is best demonstrated with the invagination of the first swelling then the second and finally of the base of the hampe (figs. 11-14). We have timed the length of time of invagination of the segment separated by the two swellings and obtained for this portion of the tube, a speed of invagination of 0.8 $\mu\text{m}/\text{min}$ (under the observed conditions).

When all the tube has become internal its armature begins to be formed. This expresses itself particularly, under the photon microscope, by a thickening of the filament (fig. 14).



Abbreviations: C, capsule; FR, refrigrant formation; G, Golgi apparatus; T ext, external tube; T int, internal tube.

Fig. 1. Macro birhopaloïdes of *Apolemia uvaria* after evagination; phase contrast microscope. x 1000. fig. 2. Young capsule of nematocyst of *Apolemia*; electron microscope. x 14000. fig. 3.. Young capsule of macro birhopaloïdes. Phase contrast microscopy, in vivo. x 1000. figs. 4-7. Secretion of external

tube to the two swellings by the Golgi apparatus and accumulation of substances within the capsule. x 1000. fig. 8. Finish of the differentiation of the external tube. x 1000.

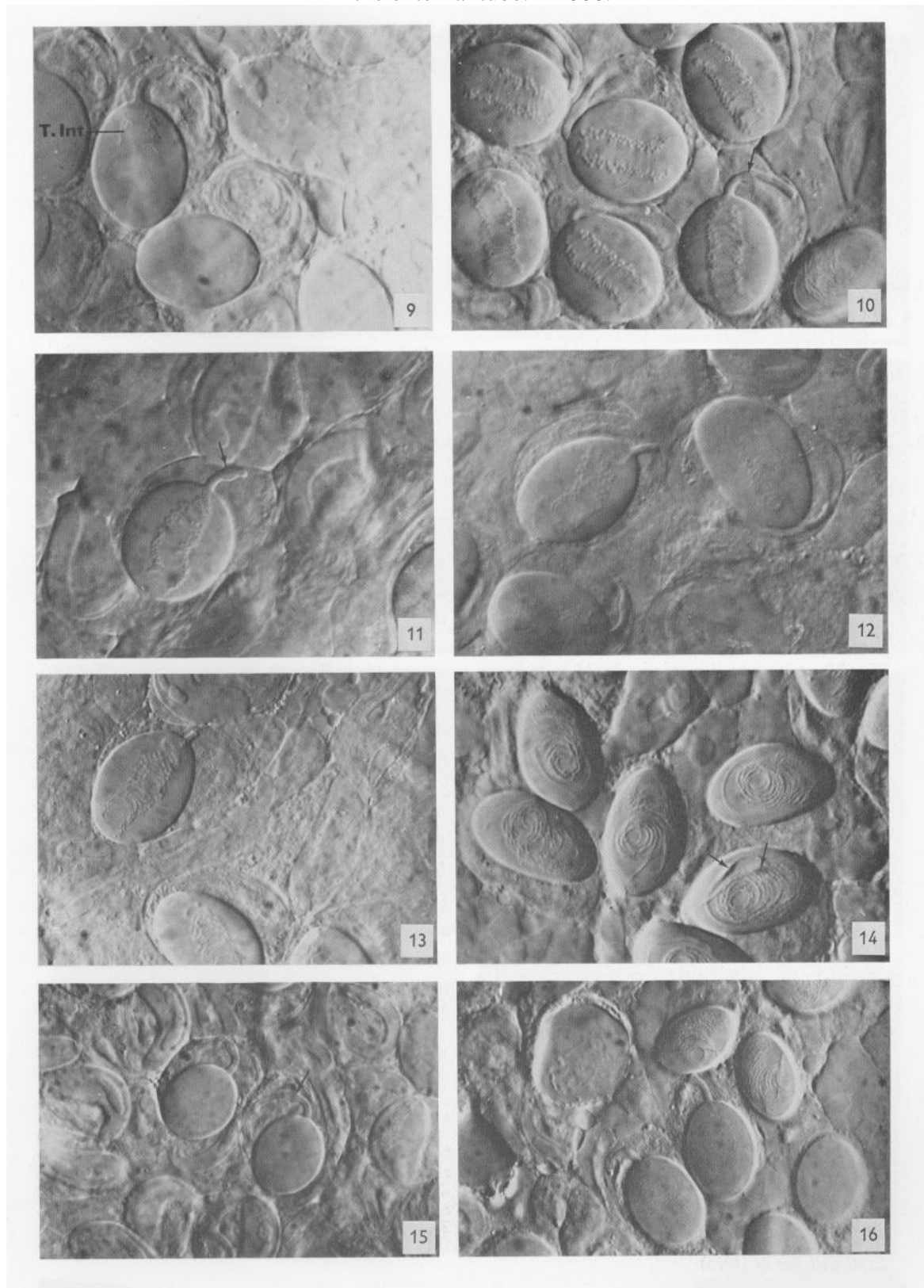


Fig. 9.. Start of invagination of the nematocystic tube of a macro birhopaloïdes. x 1000. figs. 10-13 Invagination of the hampe and its two swellings. x 1000.

fig. 14. Migratory stage of macro birhopaloïdes. x 1000. fig. 15. Micro birhopaloïdes. Clear stage. x 1000. fig. 16. Micro birhopaloïdes: finish of invagination of the filament. x 1000.

Migration of cnidocyst. One of the particular morphological characters of *Apolemia uvaria* is the absence of tentilla. In this species, the tentacles and palpacles have the same structure: these are long tentacles, very thin and contractile, bordered by macrobirhopaloïdes and microbirhopaloïdes. It is towards these tentacles that, from the finish of the invagination of the nematocystic tube, the macrobirhopaloïdes, accompanied by some nematoblasts that they have secreted, emigrate between the cells of the ectodermal layer. Yet, some of the macrobirhopaloïdes are directed towards the buccal region of the gastrozooids and dactylozooids. It is only when the nematocyst have reached their definitive emplacement, that one observes the differentiation of some cnidociliary and perinematocystic structures.

Microbirhopaloïdes

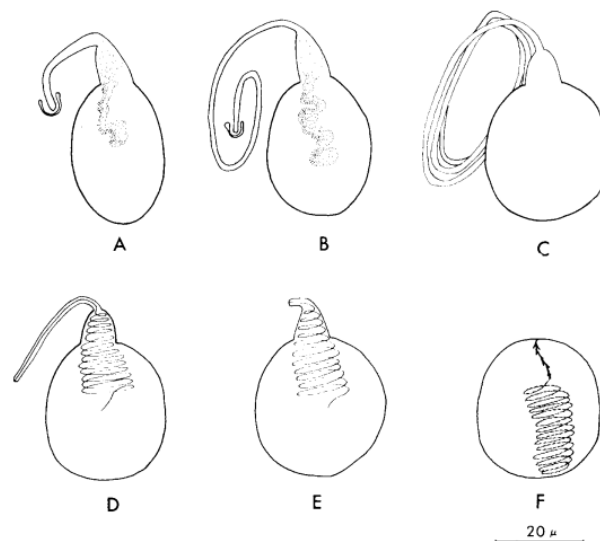
The stages of formation of the microbirhopaloïdes have been identified as the same as that that we have described for the macrobirhopaloïdes (fig. 15, 16). The observations show they move, from the first stages, as a distinct category from the macrobirhopaloïdes uniquely by their size and that this difference is not acquired secondarily under the action of particular physiological conditions.

Differentiation of other categories of nematocysts.

During the differentiation of all the types of nematocysts of *Apolemia uvaria* we have found the same fundamental stages: secretion of the capsule, formation of an external tube deprived of armature, invagination of this tube beginning at its free extremity, stages which are then followed by the migration of the nematoblast. We limit ourselves then to noting the particular morphologies and dimensions of each of the types of nematocyst at the principal stages of their development.

Stenoteles (text-fig. 2)

The stenoteles are localised in the buccal region of the gastrozooids and dactylozooids. Like the birhopaloïdes, we have observed two types.



Text-fig. 2. Differentiation of stenoteles in *Apolemia uvaria*. x 1200.

(1) Macrostenoteles: ovoid capsule; devaginated hampe of 35 μm with a slightly inflated basal section of 17.5 μm and a conical terminal segment of 17.5 μm bearing numerous stylets arranged in three areas; long terminal tube (fig. 17).

(2). Microstenoteles: ovoid capsule of 14 x 12 μm ; devaginated hampe of 10 x 7.5 μm ; terminal tube (fig. 24).

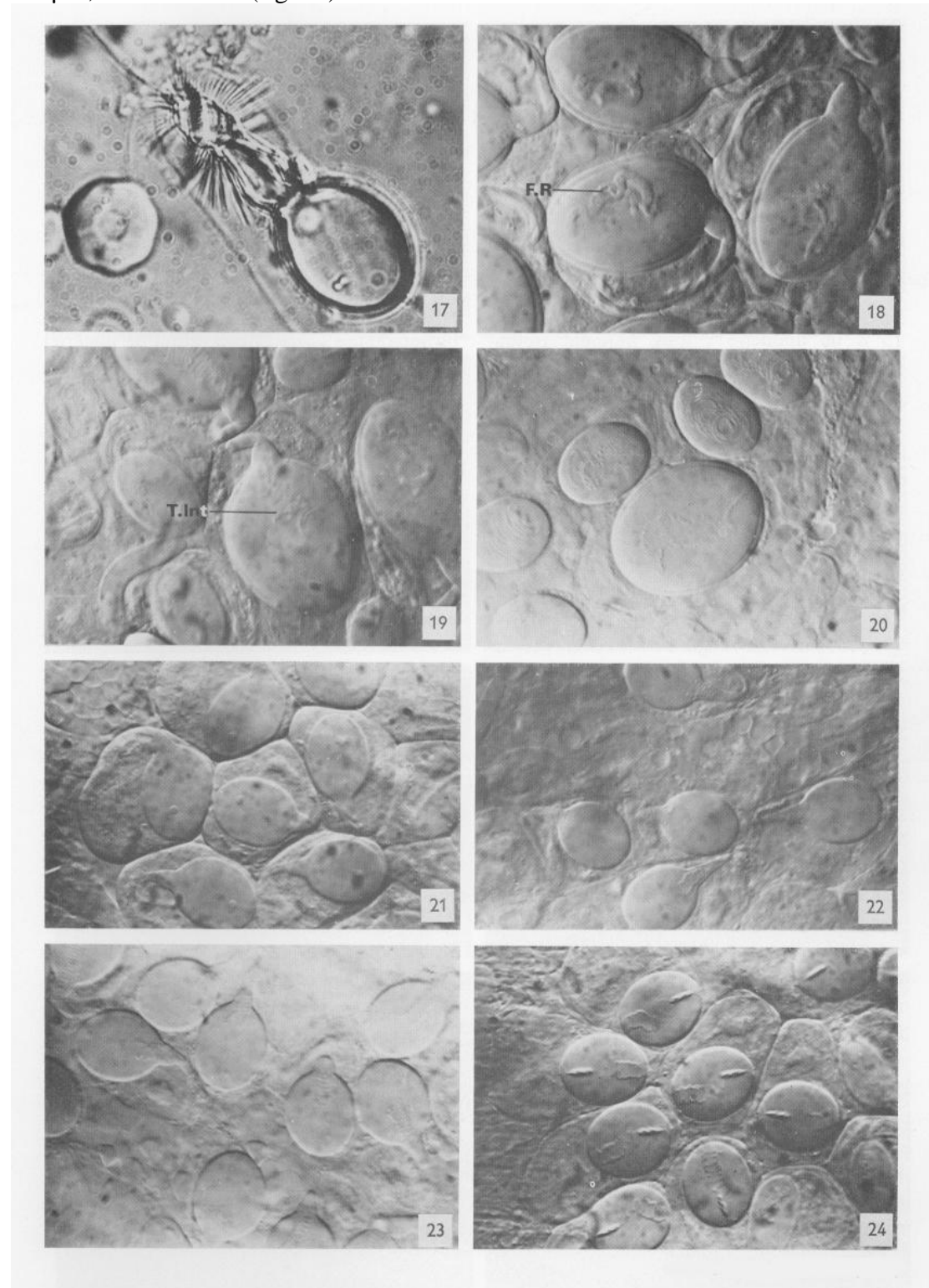


Fig. 17. Macrostenotele evaginated. x 1250. fig. 18. Macrostenotele: differentiation of external tube. x 1000. fig. 19. Macrostenotele: invagination of the hampe. x

1000. fig. 20. Macrostenotele: Migratory stage. x 1000. fig. 21.
 Microstenotele: differentiation of the external tube. x 1000. figs. 22-23.
 Microstenotele: invagination of the filament and the hampe. x1000.
 fig. 24. Microstenotele: migratory stage. x 1000.

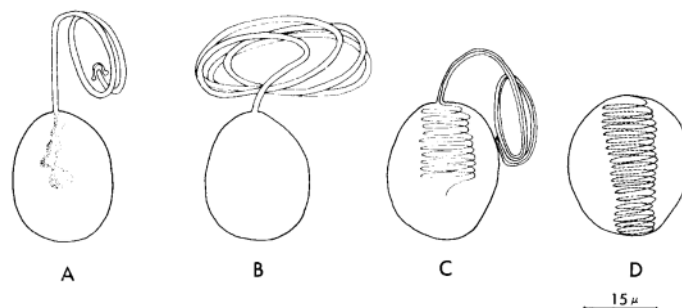
At the time of their differentiation these two types of stenoteles show and external tube while the basal region is enlarged. It is possible to distinguish, especially amongst the macrostenoteles, a primary inflated segment followed by a conical portion, and finally the narrower so-called tube. All these parts are deprived of armature (figs. 18,21).

The invagination of the tube begins at its free extremity and is finished by the basal portion which forms the hampe of the mature nematocyst (figs 19, 20 , 22). The mean speed of the hampe, under the observed conditions was 0.6 $\mu\text{m}/\text{min}$.

When all of the tube has become internal the macro- and microstenoteles migrate. It is only when they have attained their definitive emplacement when the differentiation of the armature is achieved and when are differentiated the cnidociliary and perinematocystic structures.

Isorhizas (text- fig. 3)

The functional isorhizas are localised on the surfaces of the bracts and of the dactylozooids. They are formed in the same cnidogenic layer as the other nematocysts and often are classified into two size categories.



Text-fig. 3. Differentiation of isorhizas in *Apolemia uvaria*. x 1300.

(1) *Macroisorhizas*: Spherical capsule 15 μm in diameter; long isodiametric filament 2 μm in diameter, armed throughout their length (holotrichous) (fig. 25).

(2) *Microisorhizas*: spherical capsule 7.5 μm in diameter; tube isodiametric.

In the course of the differentiation of these isorhizas the external tube is isodiametric, and shows no dilations (figs. 26-28).

Mastigophores (text-fig. 4)

The mastigophores have the same distribution as the stenoteles: buccal region of the gastrozooids and dactylozooids. They are the only category of nematocysts of *Apolemia* that are not represented by two size categories.

Mastigophores: elongated capsule 32.5 x 14 μm ; hampe isodiametric being 42.5 x 14 μm after devagination, ornamented by three helices of spines: terminal tube very fine (figs. 29, 32).

Before invagination, the tube of the mastigophores is made up of a basal cylindrical segment deprived of ornamentation, followed by a narrower tube proper. Invagination begins from the free end of the tube and ends with the enlarged basal region which forms the hampe of the nematocyst.

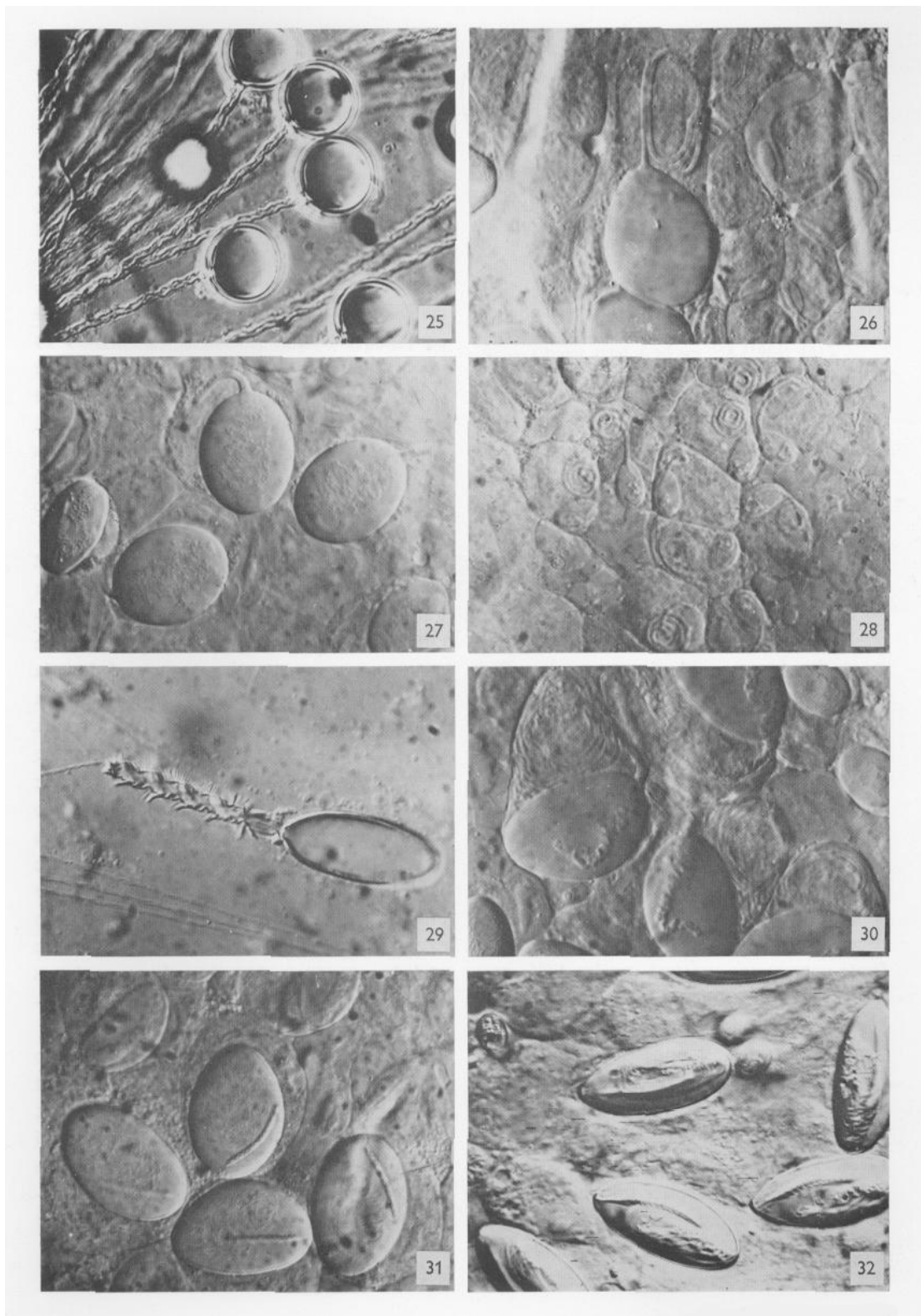
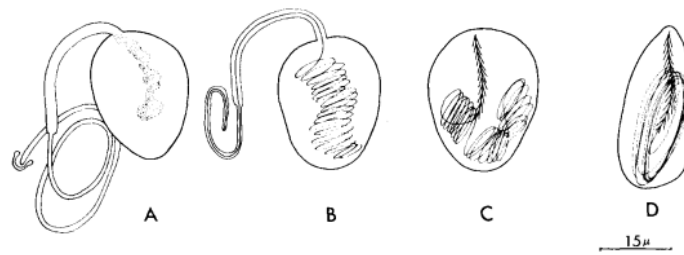


Fig. 25. Macroisorhizas evaginated. x 1000. fig. 26. Macroisorhiza: differentiation of external tube. x 1000. fig. 27. Macroisorhiza: invagination of external tube. x 1000. fig. 28. Microisorhiza: differentiation of external tube. x 1000. Fig. 29. Evaginated mastigophores. x 1000. fig. 30. Mastigophore: differentiation of external tube. x 1000. fig. 31. Mastigophore: Migratory stage. x 1000. fig. 32. Mature mastigophores. x 1000.



Text-fig. 4. Differentiation of mastigophores in *Apolemia uvaria*. x 1300.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The study of the cnidogenesis of *Apolemia uvaria* has been the occasion for a completion of its cnidome. In effect, if one accepts the note of Weill [9] confirming the existence of birhopaloïdes after observations on fixed material, no other author since Ivantzoff [3] has studied the cnidome of this species while the inventory of stinging cells includes additionally numerous uncertainties.

Apolemia uvaria, by its morphology, is separated from the rest of physonect siphonophores. With its exceptional anatomy comes a very original cnidome. As a general rule it is admitted that stenoteles are characteristic of physonect siphonophores and are lacking in the calycophoran siphonophores. In contrast, the mastigophores, present in calycophorans have never been observed in the physonects. With *Apolemia uvaria* we are in the presence of a species possessing at the same time some stenoteles and mastigophores. This fact is unique amongst the known siphonophores. Another uniqueness of the cnidome of this species is the absence of astomocnida (rhopalonemes and desmonemes) which are present in all other siphonophores. Finally, the birhopaloïdes are a nematocyst specific to *Apolemia* and have never been observed in any other cnidarian.

This cnidome, interesting through the types of nematocysts that constitute it, as it is also by the existence of size categories. We have observed some macrobirhopaloïdes and some microbirhopaloïdes, some macrostenoteles and some microstenoteles, some macroisorhizas and some microisorhizas. Some nematocysts of the same type but showing some very clear size differences have been described in numerous cnidarians more especially in studies on the Lucenaria. These Scyphozoans possess some large and some small euryteles. Weill [8] has attempted to follow the development of these nematocysts and admits that the small euryteles migrate directly through the cnidogenic layers towards their place of utilisation, while the large euryteles effect an intermediary stage in the specific organs of Lucenaria: the selective reservoirs. He deduced that "the growth and maturation of euryteles will be, in the Lucenaria, correlated with the temporary stay of their nematoblasts in a medium close to that of sea water" (the contents of the selective reservoirs being considered like that of sea water). In *Apolemia* we have stated that the different size categories are identifiable from all the early stages of formation of the nematocysts. It is then difficult for us to retain, for this species, Weill's interpretation and attribution of differences in size to some particular physiological conditions.

We have been able to state precisely that the growth of the capsule is not completed at the start of the formation of the external tube. This fact, difficult to see with an electron microscope, settles the problem of the origin of the capsule. In effect, after secreting the bud of the capsule, the Golgi apparatus moves away from the

beginning of the development of the external tube. It is not then certain that it intervenes, or is only implicated in the later stages of the growth of the capsule.

The observations *in vivo* have allowed us to understand the morphology of the four categories of nematocyst during the principal stages of their development. Amongst others, we have always found in the shape of the external tube that of the definitive nematocystic filament; two swellings for the birhopaloïdes, conical dilation for the stenoteles, isodiametric dilation for the mastigophores, external tube without basal differentiation for the isorhizas. These observations are a supplementary argument for the conclusion that the external tube gives rise directly to the internal tube. Always we have noted a clear difference in diameter and length between the external nematocystic tubes or in the course of invagination and the evaginated filaments.

For the birhopaloïdes, for example, the diameter of the external tube passes from 2 μm before invagination to 3 μm after devagination and the distance between the two swellings which were 18 μm becoming 34 μm . It is probable that during or after invagination of the filament it elongates and is dilated. It is convenient equally to signal that the armature of the nematocystic filament, also well at the level of the hampe that the so-called tube, only appears after the invagination and is only achieved after the migration of the cnidocyst.

Finally the *in vivo* study of cnidogenesis has allowed us to escape an idea that the electronic omits only to present: that of clones of nematoblasts [?]. Each nematoblast, while it is developing in the cnidogenic mass, forms part of an ensemble of stinging cells of the same type and at the same stage of development. It will be interesting, in order to approach the problem of the origin of the nematoblasts and of the determinism of their evolution, to attempt the numerical study of these clones as well as their distribution.

References

1. Carré, D. 1972. Etude du développement des cnidocystes dans le gastrozoïde de *Muggiaea kochi* (Will, 1844) (Siphonophore calycophore). *Compte Rendu Hebdomadaire des Séances de l'Académie des Sciences. Paris D*, **275**, 1263-1266.
2. Claus, C. 1863. Neue Beobachtungen über die Structur und Entwicklung der Siphonophoren. *Zeit. Wiss. Zool.* **12**, 536-563
3. Ivantzoff, N. 1896. Ueber den Bau die Wirkungsweise und die Entwicklung der Nesselknopfen der Coeleneraten. *Bull. Soc. nat. Moscou* **1896**, 323-354.
4. Spurr, A. 1969. J. ultrastruct. Res. **26**, 31
5. Slautterback, D.B. 1961. Biology of Hydra, Loomis, 77
6. Slautterback, D.B. 1963. J. cell. Biol. **18**, 367
7. Sutton, J.S. & Burnett, J.W. 1969. J. ultrastruct. Res. **28**, 214.
8. Weill, R. 1934. Contribution a l'étude des Cnidaires et de leurs nématocystes. I. Recherches sur les nématocystes (Morphologie - Physiologie - Développement). II. Valeur taxonomique du cnidome. *Travaux de la Station Zoologique de Wimereux* **10-11**, 1-701.
9. Weill, R. 1964. *Compt. Ren. Acad. Sci.* **258**, 4243.
10. Westfall, J.A. 1966. *Z. Zellforsch.* **75**, 381.