

Hypothèse sur le mécanisme de l'évagination du filament urticant des cnidocystes

Hypothesis on the mechanism of cnidocyst discharge

Danièle Carré¹⁾

Station Zoologique, Villefranche-sur-Mer/France

Received July 10, 1979

Accepted October 26, 1979

Cnidogenesis — cnidocystic discharge — nematocysts

The geometric aspects of the cnidocystic filament before invagination, during invagination and after the process of evagination are shown.

Experiments are described that allow an approach to study the mechanism of discharge. It is suggested here that the filament is an elastic tube which, when it is intracapsular, is folded and spiraled and thus, under a constraining action. Evagination then consists simply in the release of the constraining force and reversion of the filament to the primitive cylindric shape. The presence of water seems indispensable to the process to take place; however this does not necessarily imply that a hydration take place in the filament wall. It also seems obvious that if expansion is a normal tendency of the constrained filament, eversion is a result of the continuity between the wall of the filament and that of the capsule.

In conclusion, the invagination of the tube during cnidogenesis may be interpreted as a mean of storing energy for the evagination.

Introduction

Le cnidocyste, qui définit l'embranchement des cnidaires, est un produit de sécrétion présentant un haut degré d'organisation structurale. Il se développe dans une cellule appelée cnidocyte. Il est constitué par une capsule contenant un long filament capable de s'évagner sous l'action de certains stimuli. L'origine, intracapsulaire ou extracapsulaire, du filament urticant est encore controversée dans des publications récentes [1, 19] bien que cette question soit étudiée depuis plus d'un siècle. Cette incertitude tient au fait que les auteurs ont fait des observations ponctuelles sur des cnidocystes fixés. Pour pallier cette difficulté, nous avons travaillé sur de gros cnidocystes de siphonophores observables «in vivo». Ceci nous a permis de suivre, à l'intérieur d'une même cellule, la sécrétion de la capsule par l'appareil de Golgi, puis d'un long filament extracapsulaire qui croît à partir de l'un des pôles de la capsule et devient intracapsulaire dans un second temps, en

s'invaginant progressivement sur lui-même, depuis son extrémité libre jusqu'à sa base [3, 4].

L'étude de la cnidogenèse, outre une meilleure compréhension de la nature des cnidocystes, nous permet d'aborder en termes nouveaux le mécanisme de leur évagination brutale. Plusieurs hypothèses avaient été avancées pour expliquer l'extrusion du filament urticant:

1. Production d'énergie, au moment de l'évagination, par des réactions enzymatiques dans le cytoplasme du cnidocyte [10, 21].

2. Contraction de l'appareil périnématocystique différencié par le cnidocyte autour du cnidocyste. Cette contraction provoquerait une augmentation de la pression intracapsulaire entraînant la sortie du filament [16, 5, 20].

3. Entrée d'eau dans la capsule accompagnée de l'évagination du tube suivant le principe de l'osmomètre de Pfeffer [8, 14, 18, 17].

4. Dilatation du tube cnidocystique. Cette hypothèse, proposée par Picken (12) reprend l'idée «d'élasticité dilatante de la paroi tubulaire» développée par Dujardin [6], Zoja [22] et von Gelei [7]. L'augmentation de la longueur et du diamètre du tube, observée au cours de l'évagination, serait le moteur de son extrusion. Elle résulterait d'un réarrangement de la structure de la membrane par incorporation de molécules d'eau. Ultérieurement, Skaer et Picken [17] dénoncent cette hypothèse après une étude ultrastructurale du filament montrant que l'évagination consiste en un simple retournement en doigt de gant et déploiement d'une structure préexistante.

Nous discutons ces différentes théories en nous basant sur l'étude de la cnidogenèse, sur la géométrie du tube cnidocystique et sur quelques expériences simples.

Matériel et méthodes

Les observations «in vivo» ont été faites chez plusieurs espèces de siphonophores à l'aide d'un microscope à contraste interférentiel.

Les observations en microscopie électronique concernent divers cnidaires fixés à la glutaraldéhyde et au tétroxyde d'osmium tamponnés, puis inclus suivant la méthode de Spurr.

Les expériences ont porté sur des eurytèles microbasiques du siphonophore physonecte *Agalma elegans*.

¹⁾ Danièle Carré, Station Zoologique, F-06230 Villefranche-sur-Mer/France.

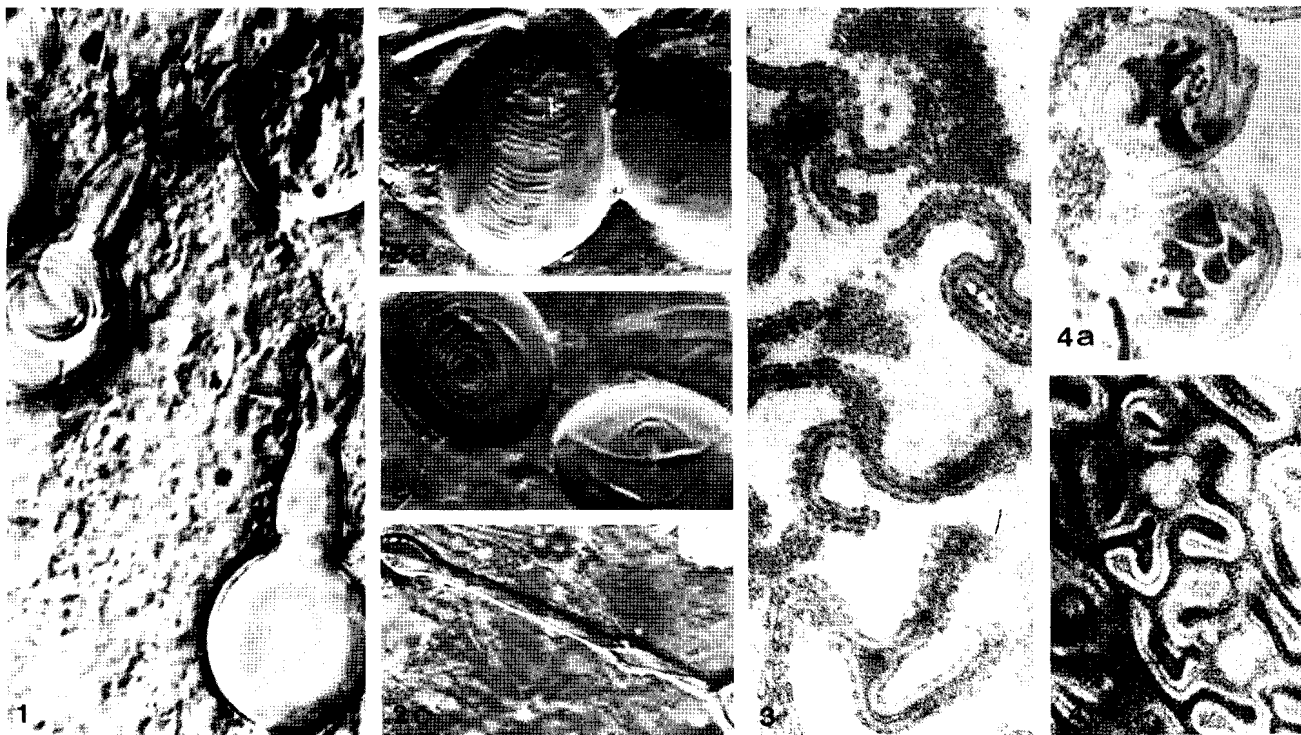


Fig. 1. Sténotèles d'*Apolemia uvaria* (non évaginé-partiellement évaginé-totalement évaginé). — 900 ×.

Fig. 2. Birhapoloïdes d'*Apolemia uvaria*. — **a.** Invagination du 2ème renflement du filament au cours de la cnidogénèse. — 1500 ×. — **b.** Stade à filament interne. — 1100 ×. — **c.** Partie basale d'un filament évaginé. — 700 ×.

Fig. 3. Mastigophore de *Maggiaea kochi*: coupes transversales du filament intracapsulaire replié suivant trois génératrices. — 60 000 ×.

Fig. 4a. Desmonème de *Muggiaea kochi*: coupes transversales du filament intracapsulaire. — 40 000 ×. — **b.** Isorhize d'*Euchlora rubra*: coupes transversales dans le filament intracapsulaire replié suivant cinq génératrices. — 30 000 ×.

Rappels et précisions sur certains aspects de la cnidogénèse

Le tube externe reflète, dès les premiers stades de sa sécrétion dans le cytoplasme, la morphologie du filament définitif: tube externe isodiamétrique chez les isorhizes, à deux renflements chez les birhapoloïdes (Fig. 2a), à base dilatée chez les sténotèles ... [4]. Toutefois, l'invagination du tube dans la capsule ne consiste pas en un simple retournement en doigt de gant d'une structure préexistante. Elle est accompagnée de trois modifications: étirement — formation de replis longitudinaux — spiralisation.

1. Étirement du tube cnidocystique (Fig. 2 a, b, c; Fig. 7)

Les observations «in vivo» des stades à tube externe, puis des stades à tube interne, suggèrent cet étirement. L'étude des birhapoloïdes de *Apolemia uvaria* (siphonophore physonecete) permet de le préciser. La Figure 7 représente l'évolution de la distance entre la base du tube et le deuxième renflement. La longueur de ce segment ne varie pas entre le moment de sa sécrétion et celui de son invagination (26 μm).

Par contre, à l'intérieur de la capsule, il mesure 48 μm. Le tube étant spiralé à ce stade (cf. § 3), le segment considéré est, en fait, plus long, et égal à sa longueur après évagination, soit 65 μm.

Ces mesures permettent de supposer que la longueur du filament cnidocystique double presque au cours de son invagination.

2. Repliement du tube

Dans leur étude sur la géométrie du filament urticant, Skaer et Picken [17] et de nombreux auteurs après eux, ont montré qu'à l'intérieur de la capsule le tube n'avait pas une section circulaire mais était replié suivant trois génératrices (Fig. 3). L'étude de la cnidogénèse nous permet de préciser que ce plissement se produit au moment de l'invagination (Fig. 5). Il peut, en fait, se réaliser suivant plusieurs modalités. Dans tous les cas où le tube est très long et très fin, les replis sont réguliers, le plus souvent au nombre de trois, parfois au nombre de cinq (exemple des isorhizes exogènes du cténophore *Euchlora rubra*, Fig. 4b). Dans le cas de filaments cnidocystiques plus courts et de gros diamètres, comme ceux des rhopalonèmes et des desmonèmes (Fig. 4a) les replis sont moins réguliers, le cas extrême étant celui des ptychocystes [11] dont le nombre de replis diminue en allant de la base vers l'extrémité du tube (de 6 à 10).

3. Spiralisation du tube cnidocystique

Nous distinguons deux types de spiralisation. La première, facilement observable en microscopie photonique, correspond aux larges spires suivant lesquelles s'agence le filament dans la capsule (Figs. 1, 2a, b). La seconde, autour du filament, avec un pas beaucoup plus petit, a été décrite par Bretschneider [2] puis Skaer et Picken [17] en microscopie élec-

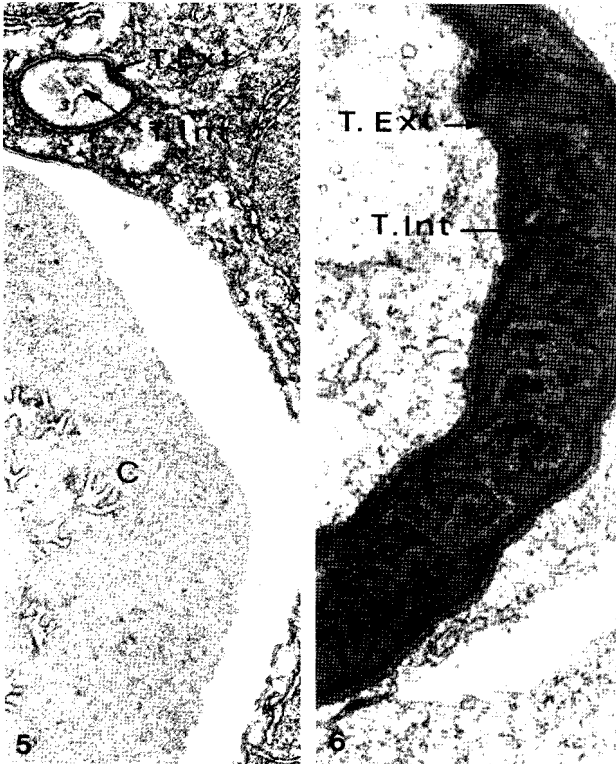


Fig. 5. Cnidogenèse chez *Muggiaea kochi*: dans le cytoplasme du cnidocyte le tube externe (T. Ext) en coupe transversale contient la partie du tube (T. int) en cours d'invagination vers la capsule (C) et déjà repliée suivant 3 génératrices. — 12 000 \times .

Fig. 6. Cnidogenèse chez *Muggiaea kochi*: Tube externe (T. Ext), en coupe longitudinale contenant une portion du tube int (T. int) en cours d'invagination vers la capsule et spiralée. — 16 000 \times .

tronique. En étudiant la cnidogenèse, nous avons observé que cette spiralisierung secondaire se produit au cours de l'invagination du filament qui progresse vers la capsule avec un mouvement de vrille (Figs. 2a, 6). Elle est la règle chez tous les cnidocytes à tube long et fin. Dans le cas des cnidocytes à tube large et relativement court, elle peut faire défaut (cas des ptychocystes et des rhopalonèmes).

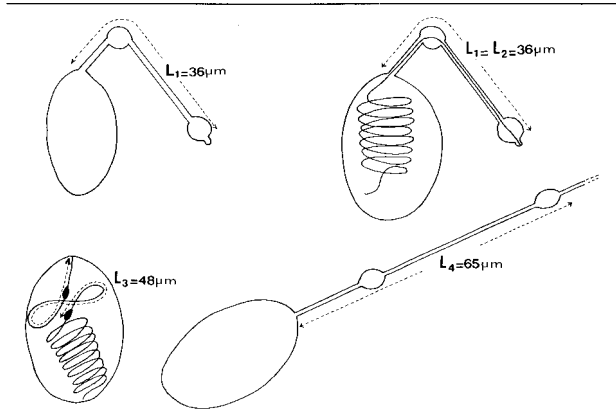


Fig. 7. Birhopaloïde d'*Apolemia uvaria*: étirement du filament cnidocystique.

4. Etude comparée de la géométrie du filament urticant au cours de la vie du cnidocyte

Au stade extracapsulaire le filament, si on fait abstraction des différenciations basales typiques de chaque catégorie de cnidocyte, est cylindrique. A l'intérieur de la capsule, il présente toujours des replis longitudinaux et, le plus souvent, la double spiralisierung. Après évagination il a, de nouveau, une structure cylindrique.

Les expériences que nous allons décrire sont basées sur une hypothèse de travail: l'invagination du filament n'est pas seulement la mise en place d'une structure intracapsulaire; elle est surtout le moyen de stocker, sous forme de contraintes mécaniques, l'énergie nécessaire à l'évagination brutale. Pendant les deux à trois heures de l'invagination, l'organisation spatiale du tube se modifie profondément, la transformation la plus fréquente aboutissant à la structure décrite par Skaer et Picken [17] le cas le plus exceptionnel étant celui des ptychocystes avec un nombre variable de replis et pas de spiralisierung secondaire.

Nous nous proposons d'envisager l'évagination comme une simple suppression des forces de contrainte permettant le retour du tube à sa forme cylindrique initiale, le retournement simultané en doigt de gant n'étant que le résultat de la continuité physique existant entre le tube et la capsule.

Expérimentation

Toutes les expériences ont été faites sur des eurytèles microbasiques d'*Agalma elegans* (siphonophore physonecte) (Fig. 8), isolés mécaniquement et laissés trente minutes dans un dessiccateur afin de détruire le cnidocyte enveloppant normalement la capsule et d'éliminer toute trace d'humidité.

1ère expérience (Figs. 9, 14)

Des eurytèles sont sectionnés transversalement puis réhydratés par l'adjonction d'eau distillée. On observe une extrusion brutale, sans éversion, des fragments de tube contenus dans chaque demi-capsule, qui se déplient et se dés spiralisent. Leur diamètre est égal à celui d'un tube normalement évaginé. Enfin, l'opercule qui obture la zone d'insertion du tube sur la capsule reste en place.

2ème expérience (Figs. 10, 15)

A l'aide d'une aiguille de verre, on effectue une brèche dans la capsule, à proximité de l'opercule, puis on réhydrate la préparation. On observe une extrusion rapide du filament sans éversion, par la brèche sous-operculaire. On note que le diamètre du filament est égal à celui d'un filament normalement évaginé. Il en est de même pour le diamètre et la longueur de la hampe.

3ème expérience (Figs. 11, 16)

Les deux expériences suivantes portent sur des eurytèles partiellement évagins. Pour cela, on place des capsules dans des microgouttes d'eau distillée et on provoque leur évagination par pression. L'extrusion du filament s'arrête d'elle-même dès qu'il émerge de la goutte d'eau. La préparation est alors desséchée et on effectue une brèche sous-operculaire comme



Fig. 8. Eurytèles microbasiques d'*Agalma elegans*. — 500 ×.

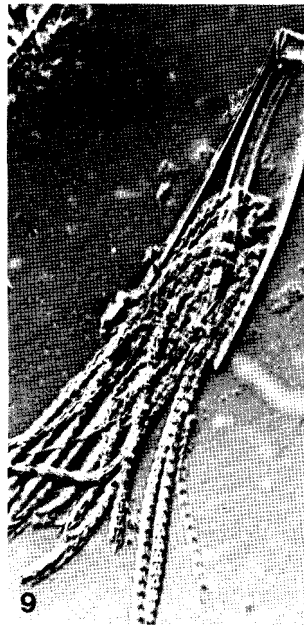
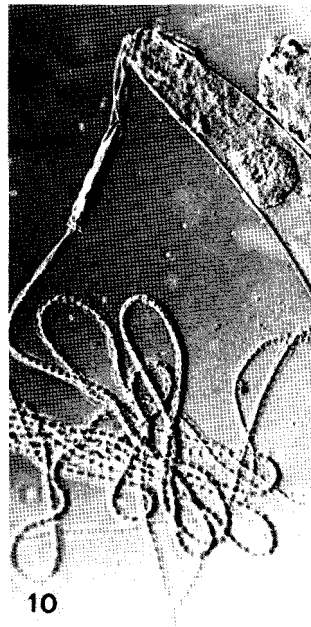


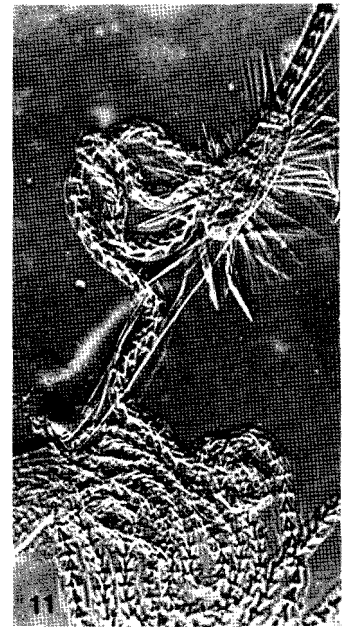
Fig. 9. Expérience 1: extrusion du filament sans éversion après section et réhydratation de la capsule. — 700 ×.

Fig. 10. Expérience 2: extrusion du filament sans éversion, par une brèche sous operculaire. — 500 ×.

Fig. 11. Expérience 3: extrusion du filament sans éversion par une brèche sous-operculaire chez un eurytèle partiellement évaginé. — 850 ×.



10



11

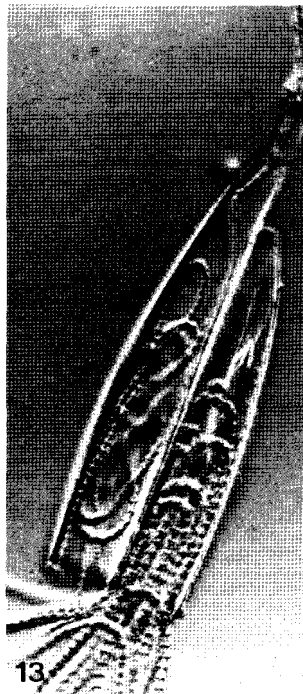
dans l'expérience précédente. La réhydratation n'entraîne pas la reprise de l'évagination, mais la sortie brutale, par la brèche sous-operculaire, de la partie du tube qui était encore dans la capsule. Le tube se déplie, se dés spiralise, mais il n'y a pas d'éversion.

4ème expérience (Figs. 12, 13, 17)

On effectue une très petite brèche dans la capsule d'un eurytèle partiellement évaginé et déshydraté, puis on ajoute une goutte d'eau distillée à proximité de la préparation. Cette atmosphère humide entraîne une hydratation de la partie non évaginée du filament qui se déplisse et se dés spiralise, mais trop progressivement pour provoquer son extrusion. On observe uniquement des mouvements intracapsulaires, qui correspondent à la dés spiralisation, et la réinvagination, dans la capsule, d'une partie du filament contenu dans le tube évaginé (phénomène de «back fire» de Picken et Skaer [11]). Cette réinvagination apparente doit être précisée. En fait, il y avait, en début d'expérience, deux tubes emboîtés: un tube externe, déplié et dés spiralé, contenant un tube en cours d'évagination, plié et spiralé. L'hydratation de la préparation au niveau de la brèche de la capsule, entraîne la dilatation, de proche en proche, du tube interne. De ce fait, il dépasse peu à peu, le tube qui l'enveloppait et pénètre à nouveau dans la capsule. Il ne s'agit donc pas d'une véritable réinvagination, comparable à celle observée au cours de la cnidogenèse, avec formation de replis, mais d'une extension d'une partie du tube qui se déplie et se dés spiralise en direction de la capsule. On peut vérifier la dilatation effective de toute la partie interne du filament en effectuant sur cette préparation l'expérience 1. Après section et réhydratation, il y a émergence brutale des morceaux de filaments contenus dans la capsule 2 servant de témoin, tandis qu'aucune modification n'est induite dans la capsule 1 qui a présenté préalablement le phénomène de «back fire» (Fig. 13, 17).



Fig. 12. Expérience 4: Le cnidocyte 1 a présenté le phénomène de «back fire». Noter l'aspect du filament à l'intérieur de la capsule et de la hampe. — 1000 ×.



13

Fig. 13. Expérience 4: Emerge brutale du filament, sans éversion, uniquement dans le cnidocyte 2. — 500 ×.

5ème expérience

Weill [19] avait montré que les cnidocystes gardaient la capacité de s'évaginer après l'action de certains agents physico-chimiques. Ses résultats souvent oubliés par les auteurs récents, nous ont incité à tester, sur les eurytèles d'*Agalma elegans*, l'action de la dessiccation, de la température et de fixateurs aqueux et non aqueux.

- Action de la dessiccation: nous avons conservé des frottis d'eurytèles pendant plus d'une année dans un dessiccateur, sans observer de baisse de leur pouvoir d'évagination, ce qui concorde avec les résultats de Weill.
- Action de la température: des frottis ont été placés pendant plusieurs semaines dans des étuves à 80, 100 et 140°. Dans tous les cas il a été possible d'obtenir l'évagination des filaments après réhydratation. Par contre, pour des températures supérieures à 140° on note une déformation des capsules et la perte du pouvoir d'évagination.
- Action des fixateurs: nous avons obtenu l'évagination de cnidocystes conservés plusieurs jours dans de l'alcool absolu ou de l'acétone. Par contre, chaque fois que le fixateur contient de l'eau (alcool à 70°, ou formol par exemple) le pouvoir d'évagination diminue rapidement et disparaît au bout de quelques jours.

Cas particulier des cnidocystes d'*Euchlora rubra*

Nous avons étudié pour un autre travail en préparation, les cnidocystes exogènes du Ctenophore *Euchlora rubra*. Ils paraissent un cas intéressant à signaler avant d'aborder la discussion.

Chez *Euchlora rubra* les capsules sont régulièrement distribuées le long des filaments pêcheurs à la place des colloblastes. Elles s'évaginent normalement en réponse à des stimuli appropriés. Pourtant, la microscopie électronique montre qu'il n'existe aucune formation comparable à un appareil périnématocystique autour de ces capsules.

Discussion et conclusions

La première conclusion est que le cnidocyte n'est pas indispensable à l'évagination du filament urticant. Toutes nos expériences ont porté sur des capsules dont la cellule avait été détruite par dessiccation ou par l'action de la chaleur ou d'un fixateur chimique. Le cas particulier des isorhizes d'*Euchlora*, assimilables à des capsules nues, montre que les conditions créées expérimentalement peuvent se retrouver, dans certains cas, «in vivo». Nous refutons donc l'hypothèse de

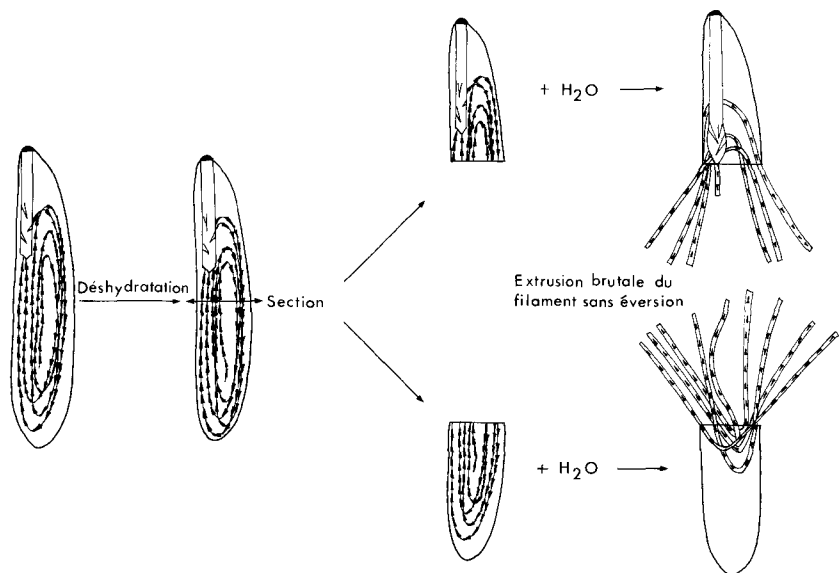


Fig. 14. Expérience 1: Emergence brutale du filament déplié et déspirale sans éversion, après section de la capsule et réhydratation.

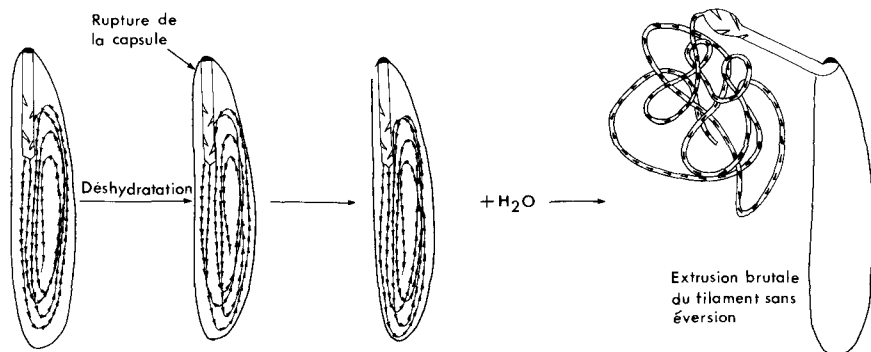


Fig. 15. Expérience 2: Emergence du filament déplié et déspirale, sans éversion, par une brèche sous-operculaire.

Lentz [10] et de Yanagita [21] supposant que le cnidocyte fournit l'énergie nécessaire à l'évagination, ainsi que celle de Russell [16], Chapman et Tilney [5] et Westfall [20] qui associe l'évagination à des contractions de l'appareil périnématocystique.

La troisième hypothèse de Glaser et Sparrow [8], suivis par Robson [14], Slautterback [18] et Skaer et Picken [17], assimile la capsule et son tube à un osmomètre. L'évagination résulterait d'un brusque changement de la perméabilité membranaire entraînant un mouvement d'eau vers la capsule. Les observations de Robson [15] confirment des variations de volume du cnidocyte précédant et accompagnant la décharge. Mais nous avons observé que l'extrusion brutale du filament reste possible lorsque la capsule a été perforée et même sectionnée en deux parties (expériences 1 et 2). Dans ces cas, l'assimilation de la capsule et de son tube à un osmomètre ne peut être acceptée.

La dernière hypothèse est celle avancée puis rejetée par Picken [12, 17]. Cet auteur avait supposé que la dilatation

apparente en longueur et en diamètre du tube au cours de l'évagination, entraînait passivement son extrusion. Mais, ayant observé ultérieurement en microscopie électronique, que la surface du tube ne varie pas entre le stade intracapsulaire et le stade externe, il dénonce sa proposition initiale.

Nos expériences nous conduisent à rejoindre, pour l'essentiel, l'hypothèse première de Picken, c'est à dire, qu'un brusque changement des dimensions du tube est le moteur de son extrusion. Mais, contrairement à cet auteur, et en accord avec les observations ultrastructurales, nous considérons qu'il s'agit d'un changement du volume occupé par le tube et non d'une modification de sa surface [12].

Nous retenons trois étapes dans la vie du cnidocyte:

1. Sécrétion de la capsule et du filament extracapsulaire.
2. Invagination lente du filament dans la capsule (deux à trois heures), accompagnée d'un stockage progressif d'énergie mécanique sous forme d'une spiralisation et de replis longitudinaux du tube.

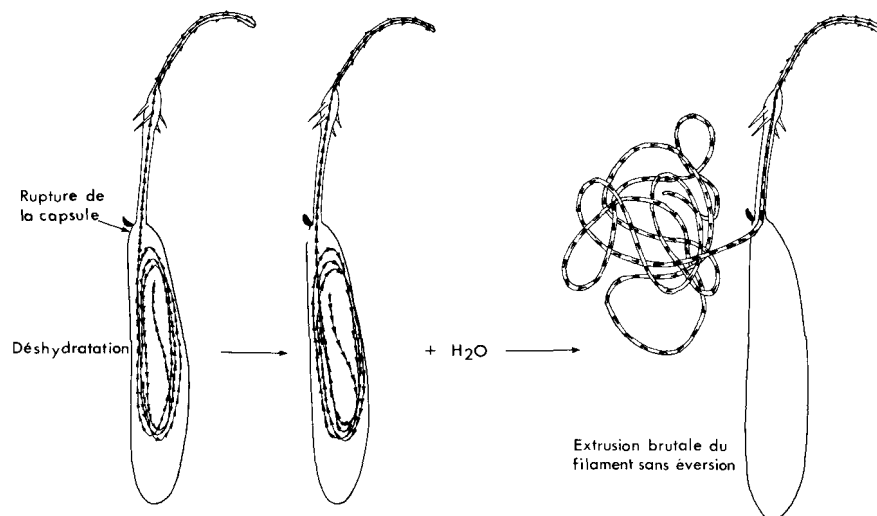


Fig. 16. Expérience 3: Emergence du filament déplié et déspiralé, sans éversion, par une brèche sous-operculaire chez un cnidocyte partiellement évaginé en début d'expérience.

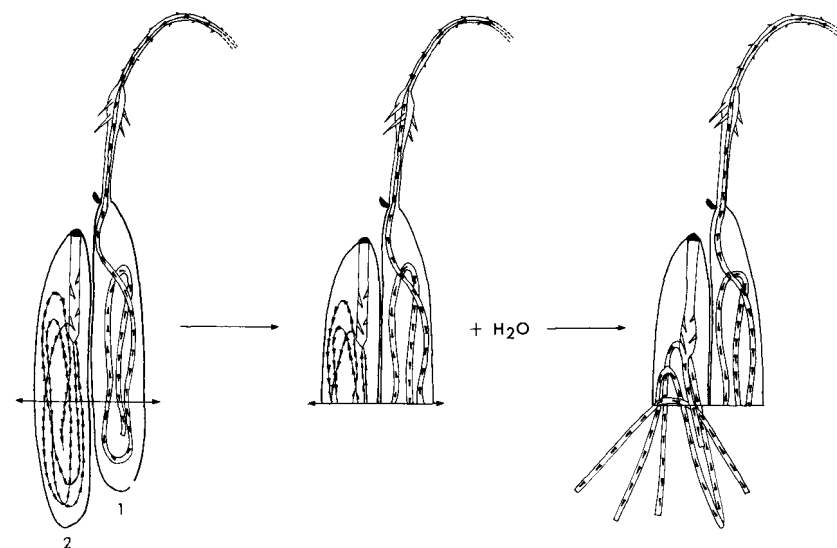


Fig. 17. Expérience 4: Aucune modification n'est induite après section et réhydratation dans le cnidocyte 1 ayant présenté préalablement le phénomène de «back-fire».

3. Rupture des forces de contrainte déformant le tube qui reprend sa forme cylindrique initiale. Le retournement en doigt de gant est un phénomène secondaire résultant uniquement de la continuité qui existe entre le tube et la capsule. Si cette continuité est rompue, ou si une autre voie est ouverte, le tube se détend sans éversion (expériences 1, 2, 3).

Nous ne pouvons pas conclure sur la nature des forces qui maintiennent le tube replié dans la capsule. Il s'agit peut-être de liaisons connectant les membranes jointives. On peut préciser que la suppression de ces forces nécessite la présence d'eau, qu'elle est encore possible après action de la chaleur (jusqu'à 140°), de la dessiccation, de l'alcool absolu. Par contre, nous n'avons jamais obtenu l'évagination de capsules après une fixation prolongée au formol ou dans de l'alcool dilué.

Dans ce travail, nous avons cherché où et quand était produite et éventuellement stockée, l'énergie nécessaire à l'évagination. Nous avons volontairement ignoré les fonctions du cnidocyte dans le contrôle et le déterminisme de ce processus.

Références

- [1] Bouillon, J., C. Massin: La cnidogénèse. *Ann. Soc. r. zool. Belg.* **104**, 7-38 (1974).
- [2] Bretschneider, L. H.: A simple technique for the electron-microscopy of cell and tissue sections. *Proc. K. ned. Akad. Wet.* **52**, 654-666 (1949).
- [3] Carré, D.: Etude du développement des cnidocytes dans le gastrozoïde de *Muggiaea kochi* (Siphonophore calycophore). *C. R. Acad. Sc. Paris.* **275**, 1263-1266 (1972).
- [4] Carré, C., D. Carré: Etude du cnidome et de la cnidogénèse chez *Apolemia uvaria* (Siphonophore physonecte). *Exptl. Cell. Res.* **81**, 237-249 (1973).
- [5] Chapman, G. B., L. G. Tilney: Cytological studies of the nematocyst of *Hydra*. *J. biophys. biochem. cytol.* **5**, 69-84 (1959).
- [6] Dujardin, F.: Mémoire sur le développement des Polypes hydriques et Méduses. *Ann. Sc. Nat. (3)* **4**, 257-281 (1845).
- [7] Geké, J. von: Das Rätsel der Nesselzellen. *Biol. Zbl.* **47**, 327-343 (1927).
- [8] Glaser, O. C., C. M. Sparrow: The physiology of nematocysts. *J. exp. Zool.* **6**, 361-382 (1909).
- [9] Ivester, M. S.: Nematocyst differentiation in the Anthozoon *Renilla reniformis*. *Trans. Amer. Micr. Soc.* **96**, 238-247 (1977).
- [10] Lentz, T. L.: *The Cell Biology of Hydra*. 1-193. North Holland Amsterdam 1966.
- [11] Mariscal, R. N., E. J. Conklin, C. H. Bigger: The ptychocyst, a major new category of Cnida used in tube construction by a cerianthid anemone. *Biol. Bull.*, **152**, 392-405 (1977).
- [12] Picken, L. E. R.: A note on the nematocysts of *Corynactis viridis* Q. *J. Micr. Sci.* **94**, 203-227 (1953).
- [13] Picken, L. E. R., R. J. Skaer: A review of researches on nematocysts. *Symp. Zool. Soc. London* **16**, 19-50 (1966).
- [14] Robson, E. A.: Nematocysts of *Corynactis*. The activity of the filament during discharge. *Quart. J. Micr. Sci.* **94**, 229-235 (1953).
- [15] Robson, E. A.: Discharge of Nematocysts and Capsule Properties. *Publ. Seto Marine Lab.* **20**, 653-673 (1973).
- [16] Russel, F. S.: On the nematocysts of Hydromedusae. III. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* **24**, 515-523 (1940).
- [17] Skaer, R. J., L. E. R. Picken: The structure of the nematocyst thread and the geometry of discharge in *Corynactis viridis* Phil. *Trans. R. Soc. London* **250**, 131-164 (1965).
- [18] Slautterback: Nematocyst development. In: *The biology of Hydra*. (Lenhoff, H. M. et Loomis, W. F. Eds.). 77-129. Univ. of Miami Press. Coral Gables/Florida 1961.
- [19] Weill, R.: Contribution à l'étude des Cnidaires et de leurs nématocystes. *Trav. Sta. Zool. Wimereux* **10**, **11**, 1-701 (1934).
- [20] Westfall, J. A.: Nematocysts of the sea anemone *Metridium*. *Amer. Zool.* **5**, 377-393 (1965).
- [21] Yanagita, T. M.: Cnidoblast as an excitable system. *Publ. Seto Marine Lab.* **20**, 675-693 (1973).
- [22] Zoja, R.: Alcune ricerche morfologiche e fisiologiche sull'*Hydra*. *Boll. Sc.* **12**, 1-90 (1890).