

Amicalement
D. Carré

CYTOLOGIE. — *Etude du développement des cnidocystes dans le gastrozoïde de Muggiaea kochi (Will, 1844) (Siphonophore calycophore). Note (*) de M^{me} Danièle Carré, transmise par M. Pierre-Paul Grassé.*

Les cnidocystes de *Muggiaea kochi* se développent dans les cellules ectodermiques du bourrelet urticant du gastrozoïde, ou cnidoblastes. Leur différenciation présente trois phases : 1. Formation d'une capsule par fusion de vésicules golgiennes ; 2. Sécrétion d'un tube externe par l'appareil de Golgi ; 3. Invagination de ce tube à l'intérieur de la capsule. A l'issue de ce processus, le cnidoblaste et son cnidocyste émigrent dans le filament pêcheur.

INTRODUCTION. — Le cnidocyste, ou nématocyste, est un produit de sécrétion présentant un haut degré d'organisation structurale et qui se développe à l'intérieur d'une cellule appelée cnidoblaste. Il est constitué par une capsule contenant un long tube capable de se dévagner sous certaines influences.

L'étude de la cnidogenèse a été l'objet de nombreux travaux et controverses au siècle dernier et au début de ce siècle. Les auteurs se sont intéressés, en particulier, à la formation du tube nématocystique. Ils ont presque tous observé, dans les massifs cnidoblastiques, des cnidocystes à tube externe et des cnidocystes à tube interne. Weill (1), après avoir fait une importante mise au point sur les hypothèses de ses prédécesseurs, pense que les stades à tube externe sont peut-être des cnidocystes dévaginés précocement. Plus récemment, et avec l'appui de la microscopie électronique, Slautterback, Westfall, Sutton et Burnett ont donné d'autres interprétations des stades à tube externe. Slautterback (2) les considère comme une étape dans la différenciation des cnidocystes sans toutefois avoir pu observer le passage d'une forme à une autre. Westfall (3) assimile le tube externe de la cellule urticante à une réserve de matériel qui sera utilisée lors de la différenciation du tube interne de néoformation. Enfin, Sutton et Burnett (4) concluent à l'existence de deux catégories différentes toutes deux fonctionnelles de cnidocystes.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES. — Notre étude a été effectuée sur des larves du Siphonophore calycophore *Muggiaea kochi* obtenues par fécondations artificielles. Ce matériel présente des qualités remarquables. Son peu d'opacité permet de suivre sur le vivant, au microscope à contraste de phase, les grandes étapes de la cnidogenèse. La petite taille des massifs nématoblastiques est favorable à une étude en microscopie électronique. Enfin, la région où se différencient les cnidocystes est relativement éloignée de leur lieu d'utilisation ; il est donc facile de distinguer les nématocystes en cours de différenciation, situés dans le gastrozoïde, des nématocystes fonctionnels, portés par les tentilles du filament pêcheur (fig. 1).

Les larves, après fixation dans la glutaraldéhyde et le tétraoxyde d'osmium tamponnés, ont été incluses suivant la méthode de Spurr (5). Les sections ultrafines ont été contrastées suivant la méthode de Reynolds (6).

RÉSULTATS. — Le massif nématoblastique, ou bourrelet urticant, est formé, chez la calyconula, par des cellules ectodermiques situées sur la face ventrale de la larve, sous le nectophore. Ces cellules, ou cnidoblastes, présentent les caractères des cellules embryonnaires : le noyau est volumineux, le cytoplasme contient peu d'éléments figurés à l'exception de quelques mitochondries et de nombreux granules nucléoprotéiques.

1. *Sécrétion de la capsule.* — Le développement de l'appareil de Golgi est la première manifestation visible de la cnidogenèse. Il est accompagné de l'élaboration de petites vésicules golgiennes au contenu dense qui, sitôt formées, fusionnent entre elles et donnent l'ébauche de la capsule du cnidocyste (fig. 2).

La capsule, dès le début de sa sécrétion, est constituée par une zone externe claire, amorphe, et une zone interne sombre et granuleuse. Elle s'accroît par l'adjonction de nouvelles vésicules golgiennes.

L'ergastoplasme, pratiquement absent dans les tous premiers stades de la cnidogénèse, apparaît sous forme de saccules isolés, disposés autour du noyau et de la capsule. Ces saccules fusionnent rapidement formant un complexe lamellaire de type « rough » (fig. 2, 3, 4).

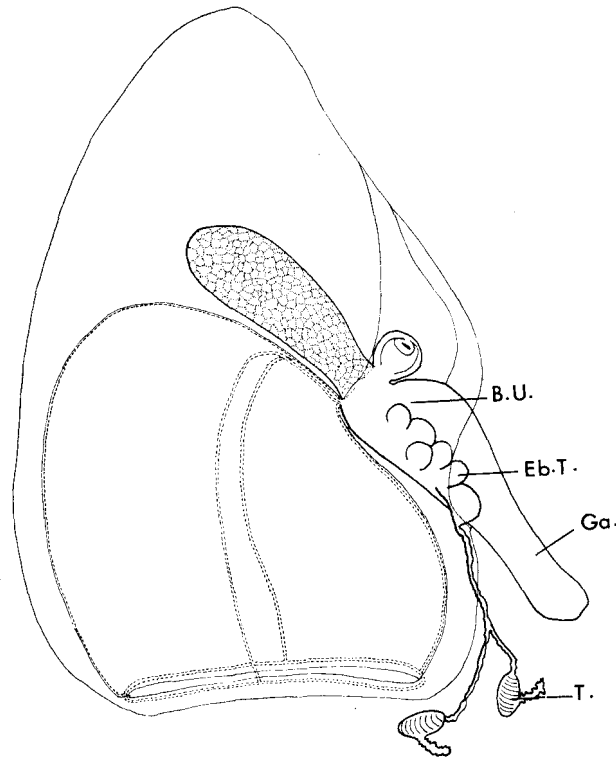


Fig. 1. — Calyconula de *Muggiaea kochi*

2. *Formation du tube externe.* — Le tube externe est aussi un produit de sécrétion de l'appareil de Golgi. Son développement a pu être suivi *in vivo* chez *Muggiaea kochi* et chez d'autres espèces de Siphonophores (*Sphaeronectes gracilis*, *Hippopodiu hippopus*, *Rosacea cymbiformis*, *Apolemia uvaria*). Dans tous les cas, le tube, dont

EXPLICATION DES PLANCHES

B. U., bourrelet urticant ; C, capsule ; Cn, cnidocyste ; Eb. T., ébauches des tentilles ; Erg., ergastoplasme ; G, appareil de Golgi ; Ga, gastrozoïde ; Mt, microtubules ; N, noyau ; T, tentille ; T. Ext, tube externe ; T. Int, tube interne ; V. G., vésicules golgiennes.

Planche I

Fig. 2. — Sécrétion de la capsule (G \times 25 000).

Fig. 3. — Jeunes capsules (G \times 10 000).

Planche II

Fig. 4. — Formation du tube externe (G \times 26 000).

Fig. 5. — Stade à tube externe (G \times 15 000).

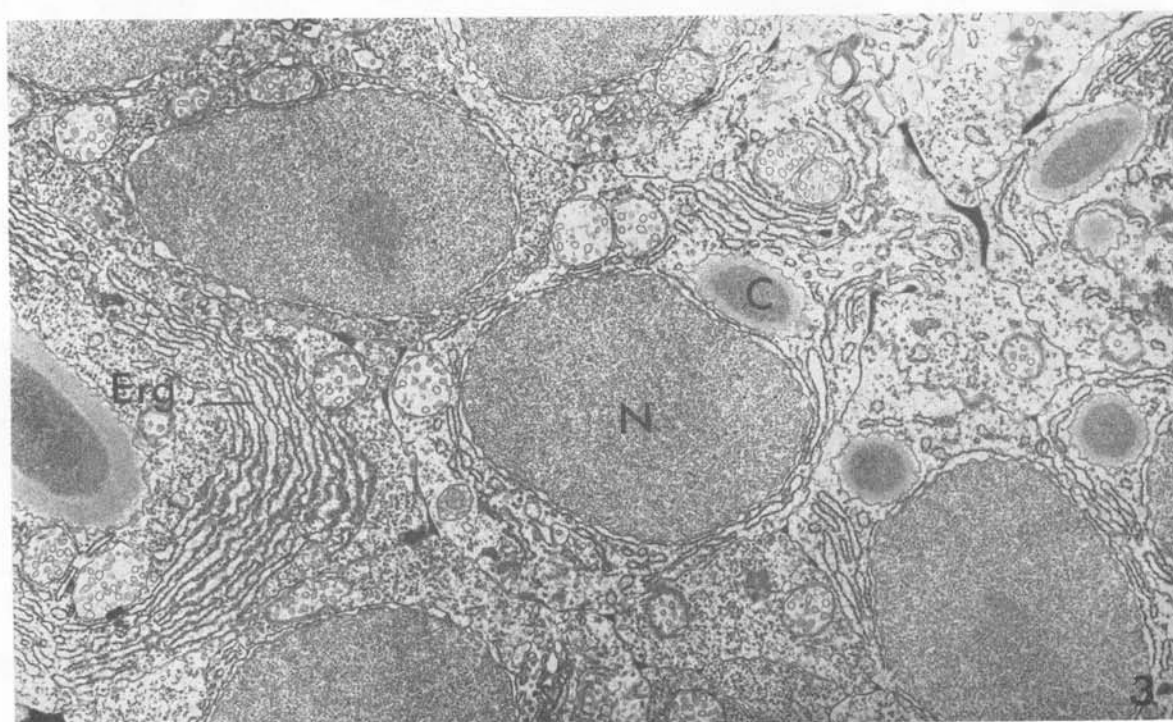
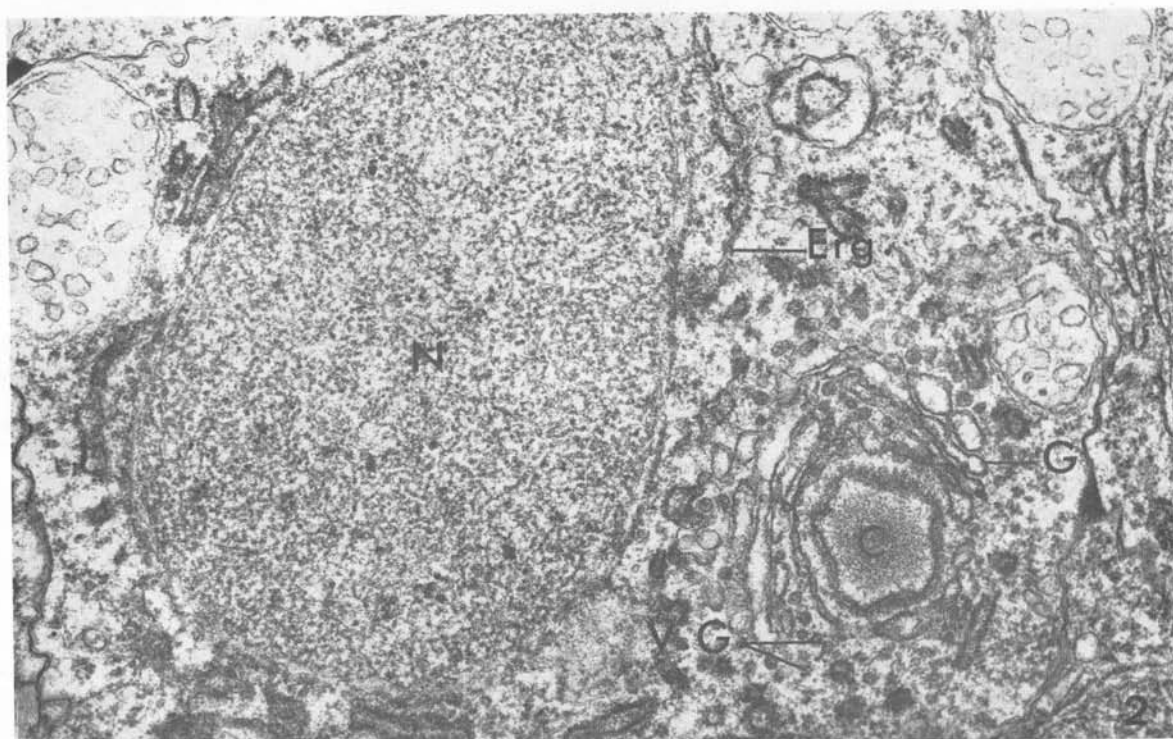
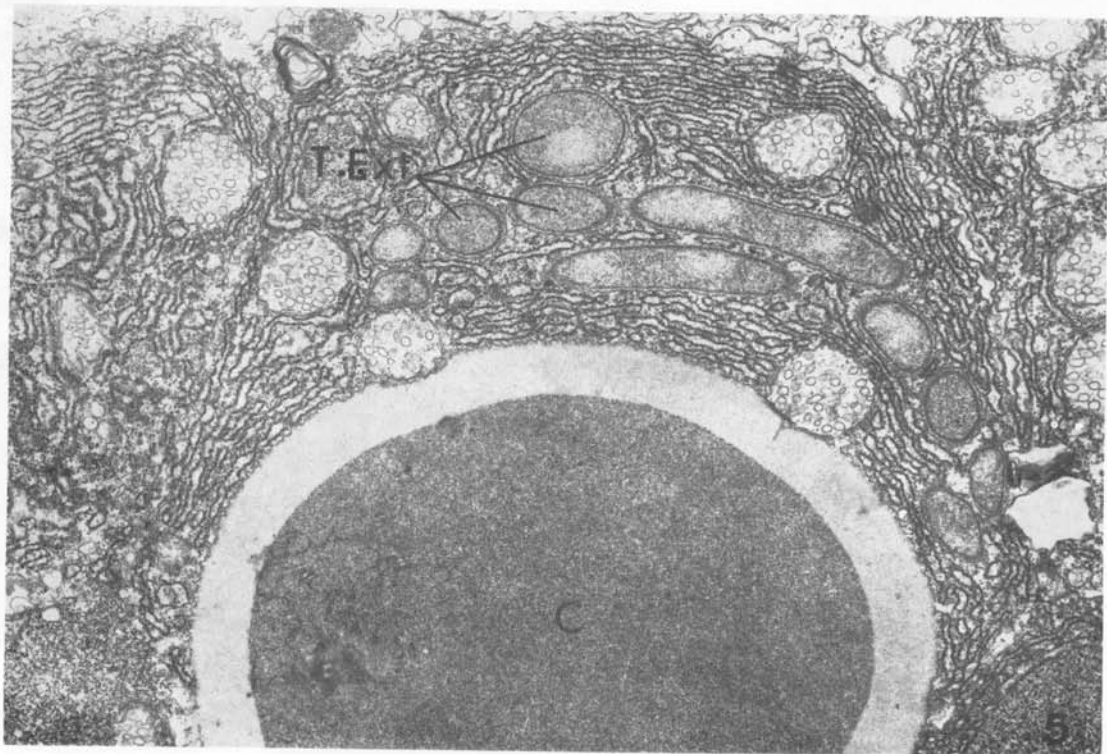
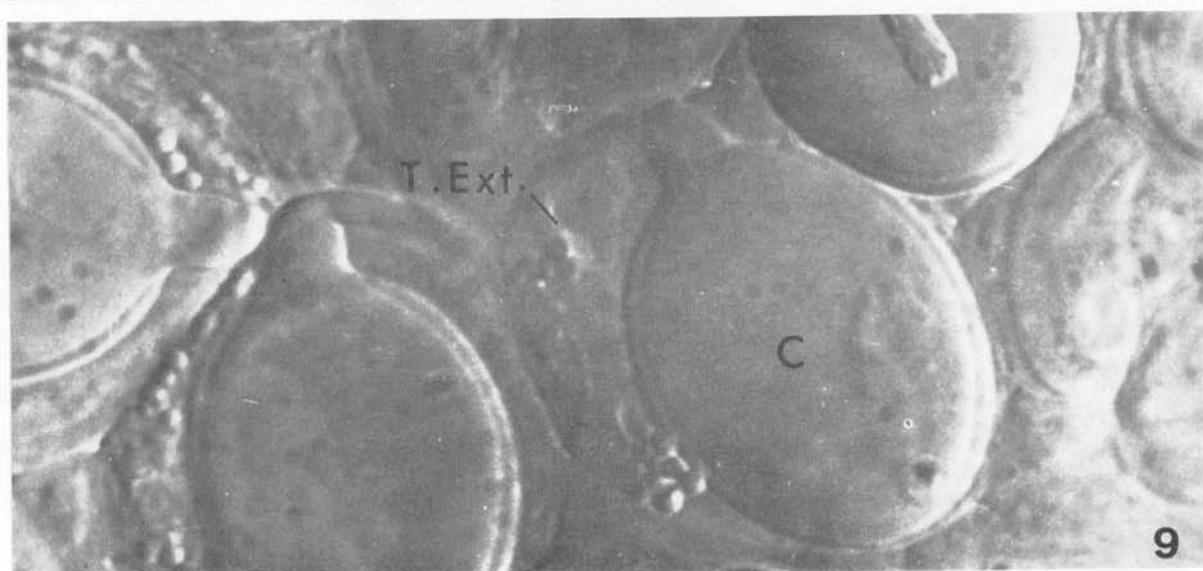
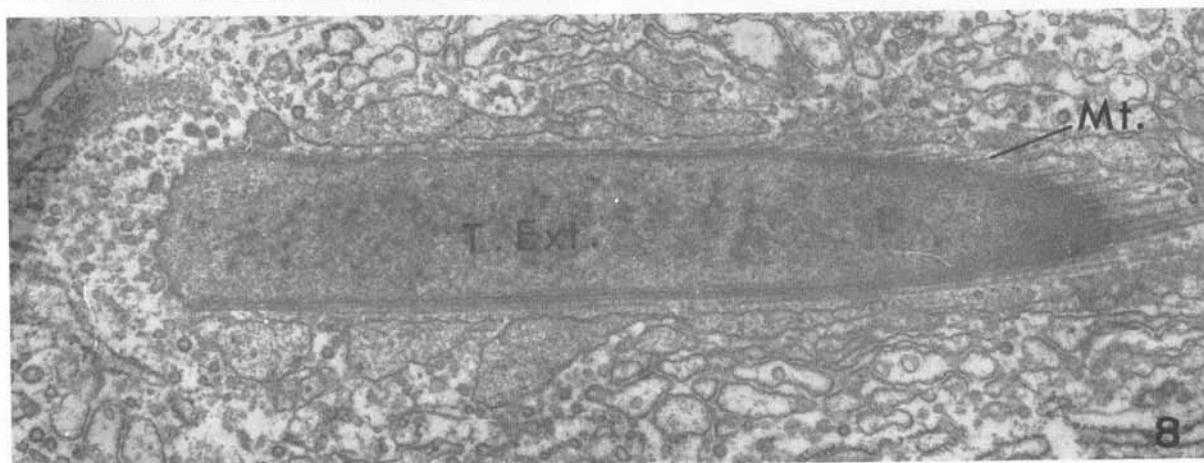
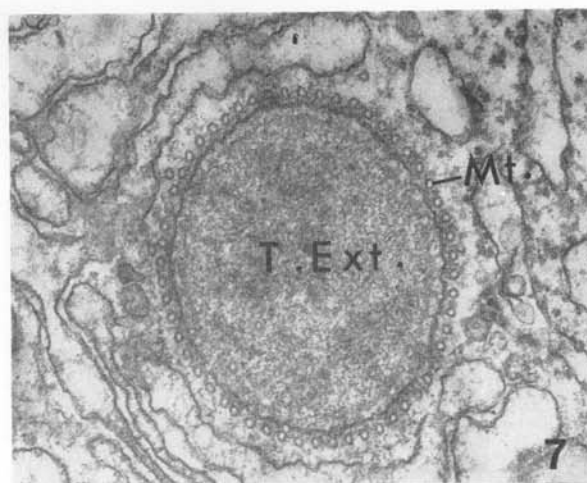
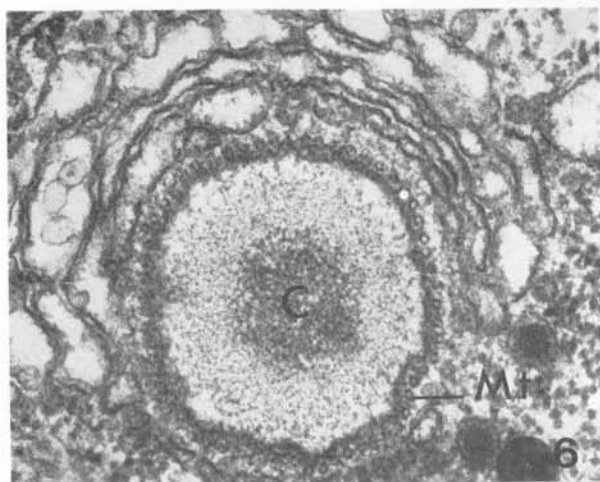


PLANCHE II.





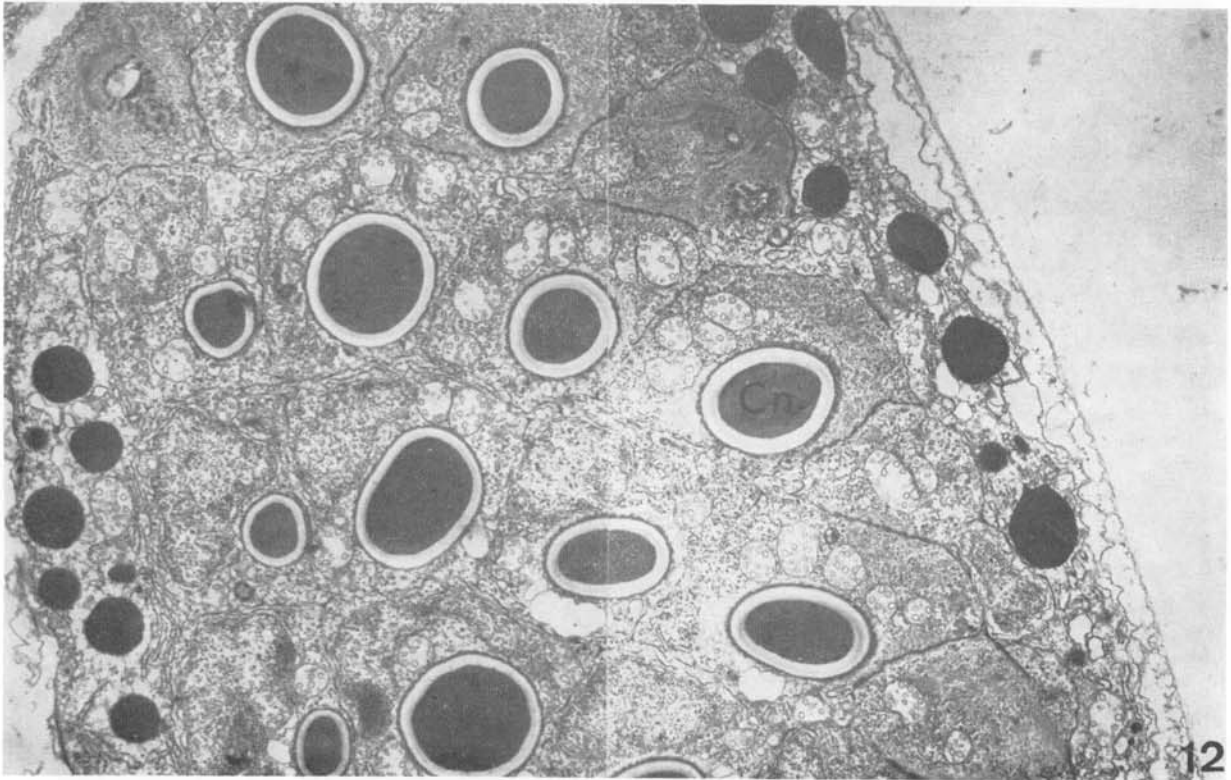
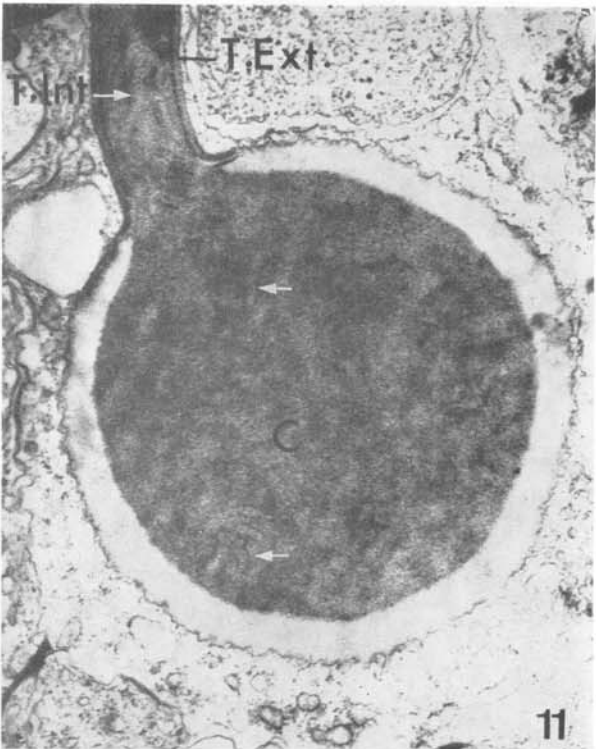
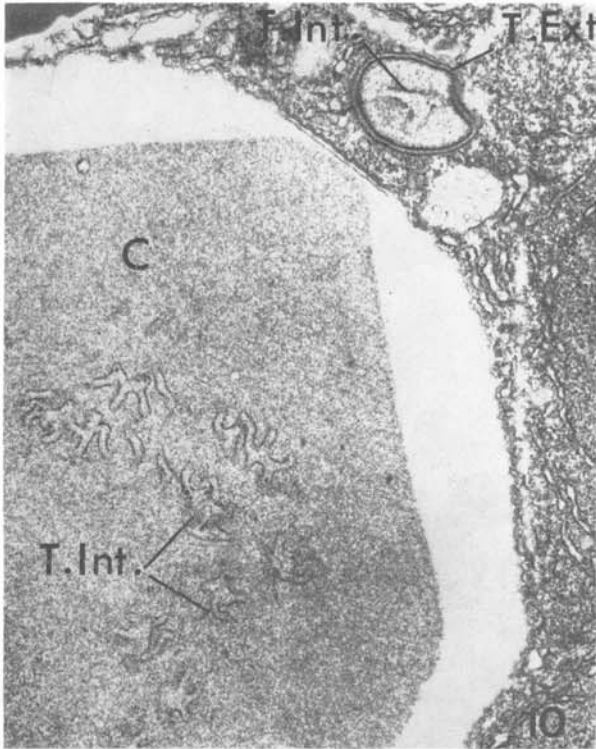


Planche III

- Fig. 6. — Coupe transversale d'une jeune capsule ($G \times 58\,000$).
Fig. 7. — Coupe transversale d'un tube externe ($G \times 65\,000$).
Fig. 8. — Coupe longitudinale d'un tube externe ($G \times 24\,000$).
Fig. 9. — Sténotèles d'*Apolemia uvaria*. Stade à filament externe ($G \times 2\,300$).

Planche IV

- Fig. 10. — Invagination du filament ($G \times 12\,000$).
Fig. 11. — Invagination du filament ($G \times 16\,000$).
Fig. 12. — Coupe transversale d'anisorhizes après leur migration dans la tentille ($G \times 9\,500$).

l'extrémité est coiffée par l'appareil de Golgi croît en décrivant un arc vers la région postérieure de la capsule (le pôle antérieur étant celui où apparaît le tube), puis forme plusieurs spires dans la région nucléaire au sein du cytoplasme (fig. 4, 5, 9).

L'activité élaboratrice de l'ergastoplasme est maximale au cours de la formation du tube externe. Après ce stade, on observe une désorganisation rapide des lamelles accompagnée de la libération de nombreux polysomes.

Slautterback (⁷) signale, chez *Hydra littoralis*, la présence de tubules cytoplasmiques de 180 Å de diamètre autour de la capsule en cours de différenciation. Ces mêmes structures ont été observées chez *Muggiaea kochi* orientées suivant l'axe antéro-postérieur de la capsule. Nous les avons également trouvées le long du tube externe (fig. 6, 7, 8). La signification fonctionnelle de ces tubules n'est pas connue. Slautterback pense que ces structures transmettent à la capsule les produits concentrés par l'appareil de Golgi. Une telle fonction est discutable pour les tubules entourant le tube externe dont la croissance est uniquement terminale. Il est possible que, dans ce cas, les microtubules interviennent surtout dans le maintien de la forme du tube.

3. *Invagination du tube externe.* — La différenciation du nématocyste s'achève par la pénétration du tube à l'intérieur de la capsule. Ce processus, que nous avons observé *in vivo* chez les nématocystes de plusieurs espèces de siphonophores dure approximativement 2 h. Il débute par l'extrémité libre du tube qui s'invagine dans le segment sous-jacent et progresse vers la capsule. Dans la capsule, la portion invaginée du filament s'organise en larges spires tandis qu'à l'extérieur l'invagination se poursuit de proche en proche jusqu'à la pénétration de la région basale du tube.

Les figures 10 et 11 illustrent cette phase de la différenciation du cnidocyste. Sur ces deux clichés, la capsule renferme un filament interne. Dans le cytoplasme, on observe en coupe transversale (fig. 10) et en coupe longitudinale (fig. 11) le filament externe contenant une portion de tube en cours d'invagination. On note que dès le début de sa pénétration vers la capsule le tube nématocystique présente les trois replis longitudinaux typiques des filaments internes. Par contre, il est dépourvu d'armature qui se différencie seulement après la fin de l'invagination.

4. *Migration des nématocystes.* — Lorsque l'invagination du tube est terminée, le cnidocyste, ainsi que le cnidoblaste qui l'a sécrété, émigrent entre les cellules ecto-

dermiques jusqu'à l'ébauche de la tentille qui est portée par le filament pêcheur (fig. 12). C'est dans cette ébauche que se différencieront ultérieurement les structures cnidociliaires et périnématocystiques des quatre catégories de cellules urticantes présentes chez *Muggiaea kochi* (mastigophores microbasiques, anisorhizes, desmonèmes, rhopalonèmes).

CONCLUSION. — L'étude de la cnidogenèse chez les larves de Siphonophores a permis d'observer que les cnidocystes à filament externe sont situés uniquement dans la zone de différenciation des cellules urticantes. Dans la tentille, tous les cnidocystes ont un filament interne.

Nous avons suivi, sur le vivant, le passage d'un stade à filament externe à un stade à filament interne.

En microscopie électronique, nous n'avons jamais observé de stades de dégradation du tube externe. Par contre, nous avons plusieurs fois reconnu des stades d'invagination de ce tube.

L'ensemble de ces observations nous permet de conclure que les cnidocystes à filament externe ne sont ni des artefacts ⁽¹⁾, ni des catégories particulières de cnidocystes ⁽⁴⁾, mais une étape vers la différenciation de la cellule urticante. Le passage d'une forme à une autre n'est pas le résultat d'une dégradation accompagnée de l'élaboration d'une structure nouvelle à l'intérieur de la capsule ⁽³⁾, mais il se fait par l'invagination du tube dans la capsule.

(*) Séance du 31 juillet 1972.

(1) R. WEILL, *Trav. Stn. zool. Wimereux*, 10 (11), 1934, p. 1-701.

(2) D. B. SLAUTTERBACK, *Biology of Hydra*, Loomis, 1961, p. 77-129.

(3) J. A. WESTFALL, *Zeit. Zellforschung*, 75, 1966, p. 381-403.

(4) J. S. SUTTON et J. W. BURNETT, *J. Ultr. Res.*, 28, 1969, p. 214-234.

(5) A. SPURR, *J. Ultr. Res.*, 26, 1969, p. 31-43.

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

(7) D. B. SLAUTTERBACK, *J. Cell. Biol.*, 18, 1963, p. 367-388.

(8) Travail effectué dans le cadre de l'Equipe de Recherche associée au CNRS n° 228.

Station Zoologique,
06230 Villefranche-sur-Mer, Alpes-Maritimes

Study of the development of the cnidocysts in the gastrozoid of *Muggiaea kochi* (Will, 1841) (calycophoran siphonophore).

Note by Mrs. Danielle Carré, presented at meeting by Mr. P-P. Grassé.

The cnidocysts of *Muggiaea kochi* are developed in the ectodermal cells of the basigaster of the gastrozoid, or cnidoblasts. Their differentiation shows three phases: 1. Formation of a capsule by the fusion of some Golgi vesicles; 2. Secretion of an external tubules by the Golgi apparatus; 3. Invagination of this tubule into the interior of the capsule. At the end of this process, the cnidoblast and its cnidocyst emigrate to the tentacle.

INTRODUCTION. - The cnidocyst, or nematocyst, is a product of secretion showing a high degree of structural organisation and which is developed in the interior of a cell called a cnidoblast. It is formed by a capsule containing a long tubule capable of devagination under certain circumstances.

The study of cnidogenesis has been the object of numerous works and controversies throughout the last century and the beginning of this. The authors have been interested, in particular, with regard to the formation of the nematocystic tubule. They have all observed, in the cnidoblastic masses, some cnidocysts with a external tube and some cnidocyst with an internal one. Weill (1), after a major study of the assumptions of his predecessors, believed that the stages with an external tube were perhaps the result of the cnidocyst having devaginated precociously. More recently, and with the support of electron microscopy, Slautterback, Westfall, Sutton & Burnett have given some other interpretations of the stage with an external tube. Slautterback (2) considered them as a stage in the differentiation of the cnidocyst without having observed the transition from one stage to the other. Westfall (3) equated the external tube of the stinging cells as a reserve of material to be used in the differentiation of the internal tube of neoformation. Finally, Sutton & Burnett (4) established the existence of both categories.

MATERIAL AND METHODS. - Our study has been carried out on some larvae of the calycophoran siphonophore *Muggiaea kochi* obtained by artificial fertilisation. This material shows a remarkable quality. Its slight opacity allows us to follow in life, using phase contrast microscopy, the main stages of cnidogenesis. The small size of the nematoblastic tissues also supports a study using electron microscopy. Finally, the region where the differentiation of the cnidocysts is relatively distant from their place of use; so it is easy to distinguish the nematocysts undergoing differentiation, located in the gastrozoid, from the function nematocysts, carried to the tentilla of the tentacle (fig. 1).

The larvae, after fixation in glutaraldehyde and osmium peroxide have been included using the Spur method (5). The ultrafine sections were contrasted using Reynolds method (6).

RESULTS. - The nematoblastic cells, the basigaster, is formed, during the calyconula, by the ectodermal cells situated on the central surface of the larva, beneath the nectophore. These cells, or cnidoblasts, present the characters of embryonic cells: the nucleus is voluminous, the cytoplasm contains little of the elements figured with the exception of some mitochondria and numerous nucleoproteic granules.

1. *Secretion of the capsule.* - The development of the Golgi apparatus is there the first visible manifestation of cnidogenesis. It is accompanied by the development of small Golgi vesicles with dense contents that soon after formation merge to produce an outline of the cnidocyst capsule (Fig. 2).

The capsule, from the start of its secretion, consists of a clear amorphous outer region and a dark and gritty internal one. It grows by adding new Golgi vesicles.

The ergastroplasm, practically absent during the first three stages of cnidogenesis, appears as isolated sacs, distributed around the nucleus and the capsule. These sacs rapidly fuse to form a complex lamella of type "rough" (figs. 2, 3, 4)

2. *Formation of the external tube.* - The external tube is also a product of secretion by the Golgi apparatus. Its development could be followed *in vivo* in *Muggiaea kochi* and in other siphonophores (*Sphaeronectes gracilis*, *Hippopodius hippopus*, *Rosacea cymbiformis*, *Apolemia uvaria*). In all cases, the tube, whose end is capped by the Golgi apparatus grows in an arc towards the posterior region of the capsule (anterior pole being the ones where the tube appears), then forms several turns in the nuclear region of the cytoplasm (figs. 4, 5, 9).

The elaboration activity of the ergastroplasm is maximal during the formation of the external tube. After this stage, one observes a rapid disorganisation of the lamellae accompanied by the release of many polysomes. Slautterback (7) reported, for *Hydra littoralis*, the presence of cytoplasmic tubules of 180A in diameter around the capsule during differentiation. These same structures were observed in *Muggiaea kochi* orientated following the antero-posterior axis of the capsule. We have also found them along the external tube (figs. 6, 7, 8). The functional significance of these tubules is not known. Slautterback considered that these structures transmitted to the capsule the concentrated products of the Golgi apparatus. Such a function is questionable for the tubules surrounding the external tube whose growth is uniquely terminal. It is possible that, in this case, the microtubules are involved in maintaining the shape of the tube.

3. *Invagination of the external tube.* - The differentiation of the nematocyst is achieved by the penetration of the tube to the interior of the capsule. This process, which we have observed *in vivo* for the nematocyst of several siphonophore species takes approximately 2 hours. It begins at the free extremity of the tube which invaginates into the underlying segment and progresses toward the capsule. In the capsule the invaginated portion of the filament organises itself into large spirals while the exterior invagination continues step by step as far as the penetration of the basal region of the tube.

Figures 10 & 11 illustrate this phase in the differentiation of the cnidocyst. In these two photos, the capsule contains an internal filament. In the cytoplasm is observed, in cross (fig. 10) and longitudinal (figure 11) sections the external filament containing a portion of the tube in the course of invagination. One notes that from the beginning of its penetration into the nematocyst capsule the tube has the three longitudinal folds typical of the internal filaments. In contrast, it is without armature, which differentiates only after invagination.

4. *Migration of the nematocysts.* - After the invagination of the tube is complete, the cnidocyst, and the cnidoblast that secreted it, emigrates between the ectodermal cells to the bud of the tentillum that is borne by the tentacle. It is in this bud that the final differentiation of the cnidocilial and perinematocystic structures of the four categories of stinging cells that are present in *Muggiaea kochi* (microbasic mastigophores, anisorhizas, desmonemes and rhopalonemes).

CONCLUSION. - The study of cnidogenesis in the larvae of siphonophores has allowed us to observe that the cnidocysts have an external filament only in the region where the stinging cells are differentiated. In the tentilla, all the cnidocysts have an internal filament.

We have followed, in life, the transition from the stage with an external filament to that with an internal one.

With electron microscopy, we have never observed stages of degradation of the external tube. In contrast, we have repeatedly recognised stages of the invagination of the tube.

From all of these observations we conclude that the cnidocysts with an external tube are neither artefacts nor some particular type of cnidocyst (4), but a stage in the differentiation of the stinging cell. The passage from one form to another is not the result of degradation accompanied by a new structure inside the capsule (3), but it results from the invagination of the tube into the capsule.

(*) Meeting 31 July 1972

(1) R. Weill. *Trav. Stn. zoo. Wimereux* 10(11), 1934, pp. 1701.

(2) D.B. Slautterback. *Biology of Hydra* Loomis, 1961, pp. 77-129.

(3) J.A. Westfall. *Zeit. Zellforschung*. 75, 1966, pp/ 381-403.

(4) J.S. Sutton & J.W. Burnett. *J. Ultr. Res.* 28, 1969, pp. 214-234.

(5) A. Spurr. *J. Ultr. Res.* 26, 1969, pp. 31-43.

(6). Observations by electron microscopy have been carried out in the Laboratory of Pro. Cachon, Faculty of Sciences, Nice.

(7). D.B. Slautterback. *J. Cell Bio.*, 18, 1963, pp. 367-388.

(8) Work carried out as part of the research team associated with CNRS No. 228.

Figure 1. Calyconula of *Muggiaea kochi*.

Explanation of Plates.

B.U. Basigaster; C. capsule; Eb. T., bud of tentillum; Erg. ergastroplasm; G. Golgi apparatus; Ga. gastrozoid; Mt. microtubules; N. nucleus; T. tentillum; T. Ext. external tube; T. int. internal tube. V.G. Golgi vesicles.

Plate I. Fig. 2. Secretion of capsule (G x 25000);

Fig. 3. Young capsules (G x 10000);

Plate II. Fig. 4. Formation of external tube (G x 26000).

Fig. 5. Stage with external tube (G x 15000).

Plate III. Fig. 6. Transverse section of young capsule (G x 58000).

Fig. 7. Transverse section of external tube (G x 65000).

Fig. 8. Longitudinal section of external tube (G x 24000).

Fig. 9, Stenotele of *Apolemia uvaria*. External filament stage (G x 2300).

Plate IV. Fig. 10. Invagination of filament (G x 12000).

Fig. 11. Invagination of filament (G x 16000)

Fig. 12. Transverse section of anisorhiza after the migration into the tentillum (G x 9500).