

ULTRASTRUCTURE DE LA LARVE PARENCHYMETTA DE DÉMOSPONGE.

I. *MYCALE CONTARENII* (Martens)

par

Claude Lévi

Laboratoire de Biologie générale, Faculté des Sciences, Strasbourg.

Résumé

On peut distinguer 7 types cellulaires dans la larve parenchymella de *Mycala contarenii* (Martens), dont 6 dans le mésenchyme larvaire déjà très différencié dès l'éclosion. Leurs caractères cytologiques sont décrits. Le collagène produit par les collencytes est abondant dans la larve ; il participe à la formation de la lame mésothéliale, lors de la métamorphose.

I. INTRODUCTION

On sait qu'il existe deux types de larves chez les Spongiaires. Dans la classe des Démosponges, la larve amphiblastula creuse est caractéristique du seul petit groupe des Homosclérophores et la parenchymella est la larve typique de la classe. Cette parenchymella est un organisme ovoïde polarisé, vivement pigmenté, dont le revêtement de cellules flagellées peut être complet, à moins que le massif de cellules internes ne fasse hernie au pôle postérieur, ce qui est fréquent chez beaucoup d'éponges siliceuses. L'histologie larvaire est actuellement bien connue et la microscopie optique ne peut guère apporter de données nouvelles essentielles complémentaires. En revanche, la métamorphose de la larve depuis la fixation jusqu'à l'ouverture du premier oscule de l'éponge est moins étudiée, hormis les très belles études de Delage, Maas et Brien. C'est au cours de cette métamorphose que se produit la célèbre « inversion des feuillets » décrite par Delage et dont Brien a singulièrement modifié l'interprétation à la suite de ses études sur les Spongilles. Au cours de ce processus qui débute à la fixation larvaire, les cellules périphériques flagellées et les cellules internes opèrent un double déplacement opposé, de telle sorte que les cellules flagellées sont rapidement enveloppées par un manteau de cellules internes. Chez quelques espèces primitives, les cellules flagellées peuvent être considérées comme choanoblastes ou même choanocytes mais, chez la majorité des Démosponges incubantes, un très grand nombre de cellules flagellées sont phagocytées et la différen-

ciation des choanocytes est normalement postérieure à la fixation, sauf chez les Spongillides et débute un ou plusieurs jours après l'étalement de la larve sur le substrat. Le tissu cellulaire interne de la parenchymella atteint un degré de différenciation variable suivant les espèces ; les scléroblastes y sont déjà fonctionnels chez les Siliceuses et plusieurs types cellulaires du mésenchyme adulte peuvent y être identifiés. L'origine de la « spongine » est encore peu connue. On ne voit pas de spongoblastes dans les larves de Keratosa et la « spongine » décrite chez quelques larves de Ceractinomorphes est d'origine douteuse. Il nous a donc paru nécessaire de reprendre, à l'aide du microscope électronique, l'étude des larves parenchymella et de leur métamorphose, après fixation.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Au cours d'un séjour en août 1962 à la Station Biologique de Roscoff, nous avons récolté des larves parenchymella de *Mycale contarenii* (Martens). Ces larves se sont fixées et métamorphosées au laboratoire sur fond de verre. Elles ont été fixées à l'acide osmique à 1 p. 100 ou 2 p. 100, tamponné selon Palade, incluses à l'araldite, selon Glauert et colorées au plomb, selon Karnovsky. Les coupes sont examinées au microscope Siemens, Elmiskop I, du Centre de Recherches nucléaires de Strasbourg-Cronenbourg.

III. DESCRIPTION DES CELLULES LARVAIRES

a) Cellules ciliées, périphériques : (pl. I, a, b, c) :

La larve, ovoïde, de *Mycale contarenii*, jaune brunâtre, est relativement grande et mesure 600-800 μ de long et 500 μ de large. Les 4/5 de la surface se composent de cellules ciliées, étroitement serrées et le 1/5 postérieur, de cellules du mésenchyme. Les cellules ciliées sont très allongées, atteignent 30-40 μ de long et 1,2-1,6 μ de large et s'épaissent seulement dans la région nucléaire où elles atteignent 3 μ de diamètre. Elles sont très jointives et leur section est polygonale, mais leurs extrémités apicales sont souvent plus lâchement unies et parfois même assez nettement séparées. L'épithélium ciliaire est bien organisé et les cinétosomes forment une couche parfaitement régulière à 4 μ de la surface. Chaque flagelle traverse donc la zone cytoplasmique superficielle dans une cheminée, dont la section est successivement en fer à cheval, puis circulaire ; hors de l'éponge, la couronne fibrillaire reste entourée d'une gaine cytoplasmique. Les cinétosomes longitudinaux, à paroi très osmophile, sont prolongés par deux racines ciliaires obliques et divergentes, à structure striée caractéristique, dont la périodicité est de l'ordre de 500 Å. Certaines cellules ciliées ont deux flagelles, soit juxtaposés dans une cheminée unique, soit éloignés, dans deux cheminées distinctes, signe probable d'un début de division cellulaire. Les membranes cellulaires sont particulièrement osmio-

philes au niveau des cinétosomes et c'est à ce niveau qu'est assurée la cohésion épithéliale, par des desmosomes peu différenciés. Le cytoplasme renferme divers types d'inclusions, parmi lesquels les grains de pigment apparaissent, en coupe, soit homogènes, soit composés d'une importante enveloppe osmiophile entourant une région sphérique claire. Comme dans les autres cellules de la larve, il existe diverses petites vésicules isolées, dont certaines sont ouvertes, avec une membrane en C ; elles sont dispersées dans toute la cellule comme le sont également les mitochondries. Le noyau des cellules ciliées contient quelques fines travées granulaires très osmiophiles, sur un fond homogène, sans nucléole structuré. Le contraste entre les deux régions varie avec la réussite de la fixation.

b) Les cellules du mésenchyme larvaire.

Sans considérer dès maintenant leurs rapports phylétiques, nous décrirons les morphotypes cellulaires du mésenchyme larvaire, dont la diversité est équivalente à celle du mésenchyme adulte.

1) Les **amoebocytes** (pl. VII, a et VIII, a) sont caractérisés par leur grand noyau à nucléole sphérique compact. Ces cellules allongées, à section elliptique, contiennent quelques inclusions pigmentaires analogues à celles des cellules ciliées. Leurs mitochondries sont dispersées et les ribosomes y sont très abondants. Dans certains amoebocytes, on observe des membranes ergastoplasmiques avec ribosomes associés. Cet ergastoplasme élémentaire est toujours peu développé et n'apparaît pas sur toutes les coupes d'amoebocytes. Ces sacs ergastoplasmiques assez périphériques restent aplatis, à section longitudinale canaliculaire. Contre le noyau, on voit plusieurs dictyosomes très denses, nettement séparés, à saccules empilés, dont les plus internes sont juxtaposés à la membrane nucléaire. Le grand nucléole d' $1,5 \mu$ de diamètre est composé d'un amas de granules, de taille comparable à celle des ribosomes cytoplasmiques.

2) Les **collencytes, fibroblastes** (pl. II, V, b et VIII, b). Ces cellules, abondantes, sont analogues aux précédentes, dont elles diffèrent surtout par la taille très réduite du nucléole et par leur forme généralement irrégulière, mais dictyosomes, mitochondries et ribosomes y sont distribués de façon similaire. D'abondantes fibrilles de collagène, externes, donnent l'illusion de sortir en parallèle de la couche superficielle de la cellule, dans certaines zones où, corrélativement, la membrane plasmique n'est pas nette. Ces fibrilles s'étendent en larges faisceaux intercellulaires. Le collagène est déjà extrêmement abondant dans le mésenchyme larvaire ; il est souvent orienté dans le sens longitudinal, mais il peut être aussi en direction transverse ou oblique et l'orientation des fibrilles dépend vraisemblablement des mouvements cellulaires du mésenchyme. Au début de la métamorphose, les collencytes en migration participent à la formation de la lame mésothéliale et le collagène est alors produit, en abondance, dans toute la lame qui sera la base de fixation de l'éponge (pl. VII, b). L'enchevêtrement des fibrilles et leur orientation très variable témoignent des déformations cellulaires importantes que subissent les collencytes au cours de cette phase de grande activité.

3) Les **pinacocytes postérieurs** (pl. V, a) n'ont aucun caractère remarquable qui permette de les distinguer des collencytes, si ce n'est leur position périphérique. Ce sont des cellules allongées, aplatis, dont le cytoplasme est riche en vésicules de toutes tailles. On n'y observe pas de grains de pigment et peu de grosses inclusions. Certaines vésicules renferment un amas de granules sphériques de 50 μ de diamètre.

4) Les **cellules vacuolaires** (pl. III, a, b, c). Elles sont abondantes dans la larve de *Mycale* et se répartissent en deux groupes : les unes sont situées, en majorité, dans la région sous-jacente à l'épithélium cilié et s'insinuent très fréquemment entre les cellules ciliées, apparaissant même à la surface de la larve. Elles possèdent un noyau de type pinacocytaire et renferment un petit nombre (3-6) de grandes vacuoles de 2-2,5 μ , qui contiennent une substance fibrillaire. A l'exception de ces vacuoles, le cytoplasme est presque dépourvu de vésicules. Il en subsiste néanmoins quelques-unes, très petites. Les mitochondries sont réparties entre les vacuoles. Les autres cellules vacuolaires sont groupées dans la région postérieure. Comme les précédentes, elles peuvent s'introduire dans l'épithélium cilié. Elles ont une structure semblable, avec un noyau souvent plus homogène et ne renferment qu'une seule vacuole de très grande taille, entourée par une mince enveloppe cytoplasmique ; le noyau, qui fait souvent hernie au bord de la vacuole, est entouré d'un reste cytoplasmique avec vésicules et mitochondries. Dans certaines vacuoles, dont le contenu est sans structure, subsistent quelques fibrilles, qui indiquent la parenté évidente des deux types de cellules vacuolaires.

5) Les **cellules vacuolaires à bâtonnets** (pl. IV, b, c). Relativement peu nombreuses et surtout réparties dans la moitié postérieure de la larve, ces cellules de type pinacocytaire sont caractérisées par leurs vacuoles (4-6), emplies de granulations allongées en bâtonnets, très courts, mesurant 0,15 à 0,2 μ de long, dont les plus périphériques s'ordonnent perpendiculairement à la surface et dont la nature est encore inconnue.

6) Les **scléroblastes** (pl. IV, a). Ils sont en majorité situés en couronne dans la région postérieure, entre l'épithélium cilié et les amoebocytes. Leur structure est analogue à celle des collencytes et des pinacocytes et leur forme, comme celle du noyau, dépend du degré de développement de la baguette spiculaire. Cette baguette s'étend entre deux grandes vacuoles qui entourent ses extrémités (Lévi, 1963).

Il existe donc, dans la larve de *Mycale*, six catégories cellulaires nettement distinctes, dont il est malaisé d'estimer les rapports phylétiques. Certains amoebocytes à nombreuses inclusions, conservent un caractère archaeocytaire, d'autres ne peuvent être identifiés comme amoebocytes et distingués de certains collencytes que par leur gros nucléole granulaire. Toutes les autres cellules dérivent évidemment des amoebocytes sans qu'il soit possible de trouver des états intermédiaires. Si les collencytes sont les fibroblastes les plus actifs, certaines autres cellules, comme les pinacocytes ou les scléroblastes, sont également capables de fibrillogenèse.

IV. DISCUSSION

1) Les cellules larvaires.

Maas (1892), Delage (1892), Wilson (1891, 1894, 1935) ont étudié la structure histologique des larves de diverses *Mycale* et leur métamorphose et aboutissent à des conclusions assez contradictoires en ce qui concerne notamment la structure du tissu larvaire et l'évolution des cellules ciliées. Toute l'argumentation de Wilson est basée sur le postulat d'un état syncytial larvaire, l'absence d'épithélium conventionnel et l'existence d'un mésenchyme syncytial, qui paraît néanmoins nettement cellulaire, puisque Wilson parle, non seulement de plusieurs types de noyaux, mais de cellules nucléolées ou anucléolées. Tout le délicat travail de Wilson est donc faussé par cette malheureuse interprétation et la meilleure description de la larve de *Mycale* est celle de Delage (1892), dont la précision d'observation et l'intelligence des phénomènes est tout à fait remarquable.

Delage distingue dans la larve de *Mycale (sordida) similaris* (Bow.) 5 types cellulaires : cellules ciliées, amoéboïdes, épidermiques, intermédiaires et cellules mères des spicules. Dans sa catégorie des cellules intermédiaires, nous groupons les collencytes, les cellules vacuolaires, les cellules rares, à granulations ou bâtonnets et, peut-être, les scléroblastes ; ses cellules épidermiques correspondent aux pinacocytes et aux cellules isolées, dispersées à travers ou au-dessous de l'épithélium cilié. Maas, comme plus tard Wilson (1935), ne distingue dans la larve de *Mycale syrinx (Esperia lorenzi)* Schmidt, que des cellules ciliées, indifférenciées, nucléolées ou différenciées, anucléolées. Leur description est donc nettement insuffisante ; nous confirmons ici entièrement les observations de Delage, qui indiquent une différenciation du mésenchyme larvaire analogue à celle du mésenchyme adulte, différenciation précoce, tout à fait caractéristique du développement des Spongaires. L'étude au microscope électronique d'autres larves de Démospanges, indique également la présence dans le mésenchyme larvaire des types cellulaires les plus différenciés du mésenchyme adulte.

2) Ultrastructure des cellules larvaires.

Notre étude des larves amphiblastula d'*Oscarella lobularis* Schmidt (Lévi et Porte, 1962) nous avait permis d'analyser la structure des cellules ciliées, seul type cellulaire de cette larve sans mésenchyme et nous y notions l'existence d'un appareil golgien parabasal apical orienté. L'appareil ciliaire des cellules périphériques de la larve de *Mycale* semblait être plus complet, puisqu'il comporte le cil, deux corpuscules basaux perpendiculaires et deux racines ciliaires, mais nous avons récemment observé dans les cellules ciliées d'amphiblastula d'*Oscarella*, le même appareil aussi complet avec racines ciliaires obliques. Les cils, à structure typique, sont entourés par la membrane cellulaire. Nous y observons toutes les fibrilles pariétales, axiales et secondaires, décrites par Gibbons et Grimstone. Chez *Mycale*, les cinétosomes sont toujours situés au fond d'une cheminée dont nous

avons précisé la structure. Au début de la métamorphose, comme nous le préciserons ultérieurement, l'appareil ciliaire régresse et le cil est incorporé en entier puis résorbé dans le cytoplasme, ce qui autorise à rejeter l'expression souvent utilisée « à la métamorphose, le cil tombe ». L'appareil de Golgi est particulièrement net dans les amoebocytes et les collencytes où il existe sous forme de dictyosomes toujours juxtaposés à la membrane nucléaire ; chaque dictyosome comprend 6 à 9 saccules parallèles, très aplatis, dont le profil correspond à celui de la membrane nucléaire. Aucune vésicule de grande taille ne leur est associée, mais de petites vacuoles apparaissent latéralement comme dans d'autres types de dictyosomes. Dans les scléroblastes, les dictyosomes existent également, mais leur position intracellulaire est plus variable et leur nombre est réduit. Dans les autres types cellulaires, y compris les cellules ciliées, les dictyosomes, lorsqu'ils sont visibles, ont des saccules très mal dessinés, ce qui peut être imputable à la coloration utilisée ; nous n'avons pas trouvé dans les cellules ciliées des larves de *Mycale*, de dictyosome de type parabasal, comme on peut en trouver dans d'autres larves parenchymella (p. ex. *Hali-chondria*) ou dans les choanocytes d'espèces variées.

Les mitochondries globulaires ou allongées sont réparties de façon assez régulière et uniforme dans tous les types cellulaires de la larve et de l'adulte. Leurs crêtes sont obliques et irrégulières.

Les ribosomes sont nombreux dans toutes les cellules, à l'exception des cellules vacuolaires et des cellules à bâtonnets, à cytoplasme très réduit, mais s'ils restent dispersés dans les cellules ciliées, ils s'alignent parfois le long de quelques membranes ergastoplasmiques, soit dans les amoebocytes, soit dans les collencytes ; ils restent très abondants dans le cytoplasme de ces deux types cellulaires du mésenchyme. Enfin, le cytoplasme de toutes les cellules est multivésiculaire. On trouve assez souvent des vésicules closes remplies de globules.

Les fibrilles de collagène de 150-200 Å d'épaisseur, produites par les collencytes, sont abondantes dans tout le mésenchyme larvaire et forment des faisceaux souvent très denses ; l'écart des fibrilles au niveau de la membrane cellulaire est assez constant et approximativement égal au double de l'épaisseur des fibrilles elles-mêmes, soit environ 300-400 Å.

M. Pavans de Ceccatty et Y. Thiney (1963) indiquent que les fibrilles de collagène de *Tethya aurantium* Pallas sont formées par la membrane cellulaire ou par les membranes de vésicules ou inclusions libérées par désintégration des lophocytes. Il est hors de doute que la membrane cellulaire intervient dans la fibrillogénèse, suivant un mécanisme général pour tous les fibroblastes de Métazoaires encore inconnu, mais nous n'avons encore jamais constaté, dans les larves, de fibrillogénèse, à partir d'inclusions intracollencytaires libérées par désintégration. Les lophocytes décrits dans certaines éponges ne représentent qu'une spécialisation des collencytes dont l'activité fibrillogène se manifeste, comme nous le voyons, dès la formation du mésenchyme larvaire, avant même l'éclosion des larves. Signalons enfin que Brondsted et Carlsen (1951) ont, dès le début de la microscopie électronique, établi l'existence, dans la lame basale d'une *Spongilla*, obtenue par germination gemmulaire, d'un réseau de fibrilles de 150 à 1 500 Å ; les fibrilles seraient normalement produites par les cellules

qui entrent au contact du substrat sur lequel elles se fixent, car l'épithélium des jeunes stades de germination ne laisse pas de fibres visibles. Nous constatons, après la fixation de la larve de *Mycale* et lorsque s'ébauche la formation de la future lame mésothéliale basale, la présence d'un tel réseau dense de faisceaux de fibrilles, mais il est difficile d'établir, dans cette sécrétion du collagène, la part qui pourrait revenir à une stimulation mécanique due à l'étalement de la cellule sur ce substrat et celle qui correspond à la fibrillogenèse normale, sans doute liée aux déplacements et aux déformations des collencytes.

Summary

Seven cell types are recognized in *Mycale* parenchymella larva; six of them, in the larval mesenchyme, highly differentiated. Their cytological characters are described. The collagen produced at the surface of the collencytes, already before and after the hatching, is abundant (and will form an important part of the mesothelial lamina at the beginning of metamorphosis).

Zusammenfassung

In den Parenchymellalarven von *Mycale contarenii* (Martens) kann man 7 Zelltypen unterscheiden, wovon 6 sich im Larvenmesenchym befinden, das beim Schlüpfen schon sehr differenziert ist. Ihre zytologischen Eigenschaften werden beschrieben. Das von den Collencyten erzeugte Kollagen ist reichlich in der Larve; es ist während der Metamorphose an der Bildung der Mesothelialschicht beteiligt.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BRONDSTED, H.V. et CARLSSEN, F.E., 1951. — A cortical cytoskeleton in expanded epithelium cells. *Exp. Cell Res.*, 2, pp. 90-96.
- DELAGE, Y., 1892. — Embryogénie des Eponges. *Arch. Zool. Exp. Gén.* (2), 10, pp. 345-498.
- GLAUERT, A.M. et GLAUERT, R.H., 1958. — Araldite as embedding medium for electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4, pp. 191-194.
- GROSS, J., SOKAL, Z. et ROUGVIE, M., 1956. — Structural and chemical studies on the connective tissue of marine sponges. *Journ. Histochem. and Cytochem.*, 4, pp. 227-246.
- HARKNESS, R.D., 1961. — Biological function of collagen. *Biol. Rev.*, 36, pp. 399-463.
- KARNOVSKY, M.J., 1961. — Simple methods for staining with lead at high pH in electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 11, pp. 729-732.
- LÉVI, C., 1963. — Scléroblastes et spiculogenèse chez une éponge siliceuse. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 256, pp. 497-498.
- LÉVI, C. et PORTE, A., 1962. — Etude au microscope électronique de l'éponge *Oscarella lobularis* et de sa larve amphiblastula. *Cah. Biol. Mar.*, 3, pp. 307-315.
- MAAS, O., 1892. — Die Metamorphose von *Esperia lorenzi* O.S. *Mitt. Zool. St. Neapel*, 10, pp. 408-440.
- MAAS, O., 1894. — Die Embryonalentwicklung u. Metamorphose der Cornacuspiongen. *Zool. Jahrb. Abt. Morphol.*, 7, pp. 331-448.
- MEEWIS, H., 1939. — Etude comparative d'Eponges siliceuses. *Assoc. Fr. Avanc. Sc.*, Liège, pp. 660-669.
- PAVANS de CECCATY, M. et THINEY, Y., 1963. — Microscopie électronique de la fibrillogenèse cellulaire chez l'éponge siliceuse *Tethya aurantium* Lmk. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 256, pp. 5406-5408.
- WILSON, H.V., 1894. — Observations on the gemmule and egg development of marine Sponge. *J. Morph.*, 9, pp. 277-406.
- WILSON, H.V., 1935. — Some critical points in the Metamorphosis of the halichondrine sponge larva. *J. Morphol.*, 58, pp. 285-345.

LÉGENDES DES PLANCHES

PLANCHE I

- a. Cellules ciliées ; coupe transversale de la région apicale $\times 20.000$.
- b. Cellules ciliées ; coupe longitudinale de la région apicale $\times 20.000$.
- c. Niveau des centrosomes ; racines ciliaires et desmosomes $\times 30.000$.

PLANCHE II

Collencyte, fibroblaste $\times 23.000$.

PLANCHE III

- a. Cellule vacuolaire $\times 9.000$.
- b. Cellule vacuolaire et collencyte $\times 10.000$.
- c. Cellule vacuolaire « épidermique » $\times 10.000$

PLANCHE IV

- a. Sclérobaste $\times 17.500$.
- b. Cellule vacuolaire à bâtonnets $\times 10.000$.
- c. Cellule vacuolaire à bâtonnets $\times 8.800$.

PLANCHE V

- a. Pinacocytes postérieurs $\times 8.700$.
- b. Collencytes et cellules ciliées après fixation de la larve $\times 7.500$.

PLANCHE VI

Cellules ciliées au début de la métamorphose $\times 19.000$.

PLANCHE VII

- a. Amoebocyte $\times 10.500$.
- b. Collencyte en migration, dans la lame mésothéliale $\times 13.000$.

PLANCHE VIII

- a. Amoebocyte avec gros nucléole granulaire, ergastoplasme rudimentaire $\times 20.000$.
- b. Collencyte en fibrillogénèse voisinant avec un amoebocyte $\times 28.000$.















