

ASPIDISCA ORTHOPOGON n.sp.
RÉVISION DE CERTAINS MÉCANISMES
DE LA MORPHOGENÈSE
A L'AIDE D'UNE MODIFICATION DE LA TECHNIQUE
AU PROTARGOL

par

Gilbert Deroux
Station Biologique de Roscoff

et

Michel Tuffrau
Centre de Recherches Hydrobiologiques de Gif-sur-Yvette

Résumé

Les caractéristiques favorables d'une nouvelle espèce du genre *Aspidisca* et l'accession à un contrôle relatif de la pénétration du protéinate d'argent ont permis de préciser l'origine et le mode d'organisation de certaines parties de la ciliature dans ce genre. Cette espèce, pour laquelle nous proposons le nom d'*Aspidisca orthopogon*, est décrite en détails. L'imprégnation au protéinate est appliquée à des populations infusoriennes développées directement sur des lames immergées et ne nécessite aucune manipulation individuelle des organismes étudiés. Le contrôle des étapes de pénétration et d'adsorption de l'argent sur les structures à imprégner a permis, dans le cas présent, de limiter le noircissement à l'infraciliaire seule.

Les résultats nous ont permis de suivre, sans solution de continuité, toutes les étapes de la morphogenèse de bipartition et de les comparer entre diverses espèces du genre, en particulier entre la nouvelle espèce et *Aspidisca lyncaster*.

Chaque cirre a été rapporté à son origine, notamment le cirre fronto-ventral I/I et les petits cirres surnuméraires dont ni la présence ni l'emplacement ne sont constants dans le genre. Nous avons, par ailleurs, établi l'origine réelle des membranelles antérieures : elles représentent, chez toutes les espèces examinées, une série individualisée de quelques membranelles erratiques au cours de la bipartition, issues, par fractionnement, de l'extrémité antérieure de la frange adorale opisthienne encore à l'état d'ébauche.

I - INTRODUCTION

Le précédent travail de l'un d'entre nous sur la morphogenèse des *Aspidisca* (Tuffrau, 1964) nous a conduits à constater que la solution de certains des problèmes soulevés pouvait être approchée, chez une espèce marine encore inédite, par une nouvelle étude des mêmes pro-

cessus de bipartition, poursuivie cette fois à l'aide d'une technique d'imprégnation au Protargol quelque peu modifiée.

Cette espèce, que nous avons dénommée *Aspidisca orthopogon* (1), présente en effet une particularité que n'avaient pas les espèces précédemment étudiées : les bases ciliaires buccales sont suffisamment écartées des bases ciliaires somatiques pour que, au cours de la stomatogenèse, ces éléments néoformés ne se juxtaposent jamais avec les éléments primitifs, quels que soient les mouvements des replis cuticulaires ; l'analyse descriptive se trouve d'autant plus facilitée que, d'autre part, négligeant toute information sur les structures fibrillaires endoplasmiques, nous avons employé des imprégnerations uniquement superficielles destinées avant tout à mettre en évidence la seule infraciliature.

Nous avons donc été amenés à réviser entièrement les processus précédemment décrits, confirmant la généralité des résultats acquis, mais complétant et même corrigéant quelques-uns d'entre eux qui n'avaient pu être alors suffisamment approfondis, d'une part faute d'un matériel aussi favorable que l'espèce décrite ici, d'autre part parce que la méthode alors utilisée visait plus à révéler le maximum de structures que certains détails particuliers.

C'est ainsi que nous montrerons dans la présente étude l'origine adorale maintenant indiscutable de la frange antérieure, la néoformation du cirre 1/I opisthien qui se fait à distance de celui du proter et non à son contact, comme pouvait le suggérer la première description et, d'abord — après un exposé des modifications techniques employées —, les caractères fondamentaux de la nouvelle espèce ici décrite.

II - TECHNIQUE

En dehors des dispositions anatomiques plus favorables de la nouvelle espèce, une nouvelle analyse de la morphogenèse ciliaire dans le genre *Aspidisca* en général, a été facilitée par deux moyens pratiques permettant, l'un, d'obtenir des images très clarifiées, l'autre, d'examiner directement des populations complètes, développées naturellement sur les lames traitées, comme le proposait en 1931 Fauré-Fremiet et que plusieurs techniques appropriées permettent de fixer « *in situ* » sans en détruire les rapports écologiques (G. Deroux et Cl. Faidy).

1°) Principe d'une méthode rapide au protéinate d'argent.

Le nombre croissant des variantes connues pour chaque méthode classique d'imprégnation à l'argent montre bien la souplesse d'emploi de ces techniques, mais c'est aussi la preuve de l'empirisme presque complet auquel sont astreints les histologistes en neurologie et en

(1) Le terme « *orthopogon* » évoque l'allongement rectiligne très particulier de la frange des membranelles adorales de cette espèce.

protistologie, depuis les découvertes de Cajal (1910), de Bielschowsky (1902, 1904, 1905) et de Bodian (1937), et l'application aux Protistes de ces mêmes principes à la façon de Klein (1926, 1927), de Chatton et Lwoff (1930, 1936) ou à la façon de Kirby (1950), etc...

Dans le cas de l'emploi des protéinates comme source de grains d'argent réduit, nous avons assisté à des perfectionnements rapides depuis 1950 (E.N. Kozloff, 1960; Dragesco, 1962; Tuffrau, 1964).

Ces progrès vont plus dans le sens d'une multiplication des structures spécifiquement révélées que dans le sens d'une spécialisation du choix des zones à atteindre. Nous avons signalé, dans le cas présent, les inconvénients d'une trop grande richesse d'informations simultanées : l'occultation réciproque de détails superposés, par exemple.

Une expérimentation technique, conduite à la Station Biologique de Roscoff par G. Deroux et Cl. Faidy, cherche une orientation plus précise des dépôts d'argent. Les images, sur lesquelles nous avons pu lire les étapes de la morphogenèse de différents *Aspidisca* et, en particulier de cette espèce, ont été obtenues au cours de modifications systématiques des conditions d'imprégnation qui tiennent compte du fait que s'y déroulent simultanément des phénomènes indépendants dont les variations obéissent en proportions différentes aux facteurs généraux qui régissent tout le processus.

Nous avons pensé que trois de ces phénomènes sont particulièrement responsables du type définitif de l'image à obtenir :

1° - la cinétique des micelles de protéinate, d'abord au cours de l'imbibition dans les colloïdes gélifiés (les cellules fixées et l'albumine d'enrobage) puis après l'établissement de l'équilibre de concentration entre la couche exposée et la solution qui la baigne ;

2° - les propriétés variables d'adsorption, vis-à-vis de ces micelles, des diverses structures rencontrées ;

3° - le rôle spécifique joué par certaines de ces structures (dites argyrophiles) dans l'induction de l'image latente au sein de ces micelles par l'amorçage de l'extraction d'argent ionique puis métallique hors du complexe protéique.

Certains facteurs, comme, par exemple, l'état exact de l'albumine employée pour l'enrobage, nous échappent. Mais nous pouvons agir sur d'autres sans recourir à des opérations trop complexes : la concentration de la solution de protéinate d'argent, les temps et les températures, pour chaque étape du processus et l'usage approprié de la catalyse cuivre.

L'abaissement de la concentration en protéinate (à 0,5 p. 100) et l'emploi des températures moyennes (40°-45°) semblent limiter l'accumulation des particules aux niveaux où les structures se montrent relativement les plus adsorbantes (grains ciliaires et plaques basales) et ils évitent une trop rapide extension de cette adsorption vers le reste des structures argyrophiles (en profondeur : fibrilles et noyaux; vers l'extérieur : cils, membranelles).

Les temps d'action ont été strictement adaptés, pour chaque température employée, à la réalisation complète des fixations à ces niveaux, sans que la poursuite de l'accumulation vers l'intérieur ou l'extérieur reste possible ensuite. Pour les Ciliés, l'ordre de grandeur

se situe entre cinq et dix minutes d'immersion à 50°, aux environs de quinze minutes à 45° et entre vingt et vingt-cinq minutes à 40°.

Pour déclencher la réalisation d'une image lisible au bout d'un temps de contact aussi court, il est évident que la catalyse doit intervenir alors très énergiquement.

Nous avons clairement constaté que la catalyse cuivrique agissait, sans doute exclusivement, sur la vitesse de formation de l'image latente. Nous ne l'utilisons donc qu'après l'écoulement complet du temps d'action reconnu efficace du protéinate à chaud. Cette précaution évite une répartition non spécifique d'argent réductible que nous observons toujours plus ou moins, et dans les tests à hautes températures (50°-55°) sans cuivre, et dans les tests à catalyse continue.

Il est donc indispensable de se servir d'un cuivre hautement actif en surface, ce que nous obtenons en précipitant dans l'alcool 70° — *en immersion totale* pour éviter tout risque d'inflammation — la tournure de cuivre (même garantie pure à 99,5 p. 100) après l'avoir portée au rouge dans tout son volume au-dessus du bec Bunsen. La réaction est fortement endothermique, il se produit une cavitation violente à la surface des tournures immergées sans aucune remontée de gaz ni de vapeurs vers la surface. Le cuivre, brutalement réduit par ce trempage, se refroidit immédiatement au fond de l'alcool, en atmosphère réductrice. Dans ces conditions, le contact du cuivre activé avec la solution d'imprégnation où trempent les lames peut être abrégé à 5 ou 6 minutes.

2º) Le traitement direct de lames immergées en milieux biologiques choisis.

Les lames à préparation microscopique sont immergées dans des endroits reconnus favorables au développement des associations écologiques fréquentées par l'animal recherché (Möbius, 1883 ; Fauré-Fremiet, 1931). Il suffit en général de six à huit jours pour obtenir sur leur surface un début d'équilibre biocoenotique correspondant à l'installation d'*Aspidisca orthopogon*, avant même qu'elles aient atteint le degré de colonisation biologique de la zone où elles ont été placées.

La richesse de la population est vérifiée au microscope sur la lame choisie et, sans perdre l'eau résiduelle qui doit toujours baigner la face à traiter, nous procédons à une très courte fixation aux vapeurs de formol pur ou aux vapeurs mêlées de formol et d'acide osmique (Os O_4). Cette opération nous permet de conserver presqu'intégralement l'aspect naturel de tous les organismes vivant sur la surface entière au moment où nous y ajoutons l'albumine qui servira de médium gélifié au cours des manipulations suivantes. Cette gélification du mélange de l'albumine et de l'eau de mer résiduelle se fait en partie par évaporation et légère cuisson, en partie par une fixation plus profonde dans un liquide fixateur acétique du type Bouin Duboscq ou Pampel (alcool 95° : 40 cm³ ; eau : 40 cm³ ; formol : 15 cm³ ; acide trichloracétique : 2 g).

Ainsi le résultat terminal nous restitue, en plus des renseignements histologiques apportés par l'imprégnation et les autres colora-

tions possibles, un aspect relativement naturel des rapports entre les différents organismes en présence.

3^o) Pratique.

La fixation par les vapeurs osmiées ou formolées doit se faire sans perte d'eau et c'est une bonne précaution de l'opérer au réfrigérateur. Il suffit de 2 ou 3 minutes. Sur la lame humide, deux gouttes d'albumine glycérinée assurent la couche d'enrobage. Elle est homogénéisée longuement par circumduction de la main qui tient la lame et l'eau est évaporée par un séjour de quelques minutes sur une platine chauffante parfaitement horizontale. Le vernis obtenu peut être cuit par chauffage du dos de la lame au-dessus d'un bœuf Bunsen, mais assez haut pour qu'il soit possible de la tenir entre les doigts, jusqu'au début de l'émission de vapeurs. Si le reste des opérations est remis à plus tard, on peut simplement laisser sécher, aussi longtemps qu'on veut, ces lames albuminées, à sec, dans une étuve à 40°.

Le passage, pendant 10 minutes, au fixateur acétique est indispensable, ainsi qu'un lavage, de même durée au minimum, à l'alcool 70°. On peut, après un rapide retour à l'eau, opérer le blanchiment classique au permanganate et à l'acide oxalique.

L'imprégnation elle-même nous a donné les meilleurs résultats avec les temps suivants : 15 à 20 minutes dans le protéinate d'argent à 0,5 p. 100 (dissous à 37° et porté à 45° avant l'immersion des lames).

On pose le cuivre, traité juste avant, dans les récipients sortis de l'étuve ou du bain-marie. Au bout des 5 ou 6 premières minutes, le cuivre est entièrement recouvert d'argent, mais on peut laisser refroidir encore quelque temps ; il est bon néanmoins de ne pas dépasser 10 minutes.

Le reste revient aux techniques déjà décrites.

4^o) Surcoloration.

Une bonne fixation à l'hyposulfite est nécessaire après le virage à l'or, de façon à éviter toute résurgence ultérieure d'argent résiduel, ainsi qu'un long lavage à l'eau courante pour éliminer complètement l'hyposulfite.

L'examen à ce stade montre un noircissement net et tranché des seules structures infraciliaires, qui laisse le cytoplasme interne et le noyau rigoureusement incolores. Toutes les colorations supplémentaires, compatibles avec la fixation employée, sont alors possibles si le lavage terminal a été suffisant. Pour ce travail, nous avons simplement coloré l'appareil nucléaire au carmin aluné de Grenacher (20 min. environ) avec différenciation éventuelle à l'alcool chlorhydrique. Le contraste des noyaux carminés, intenses mais très transparents, avec le noir de l'or et parfois un très léger vert lumière pour le reste de la cellule, permet une lecture parfaite et sans gêne réciproque de tous les caractères essentiels en systématique et en morphologie des stades de division.

III - MORPHOLOGIE GÉNÉRALE

Infusoire d'assez grande taille (80-110 μ), de contours régulièrement ovalisés avec une dissymétrie caudale à peine marquée, *Aspidisca*

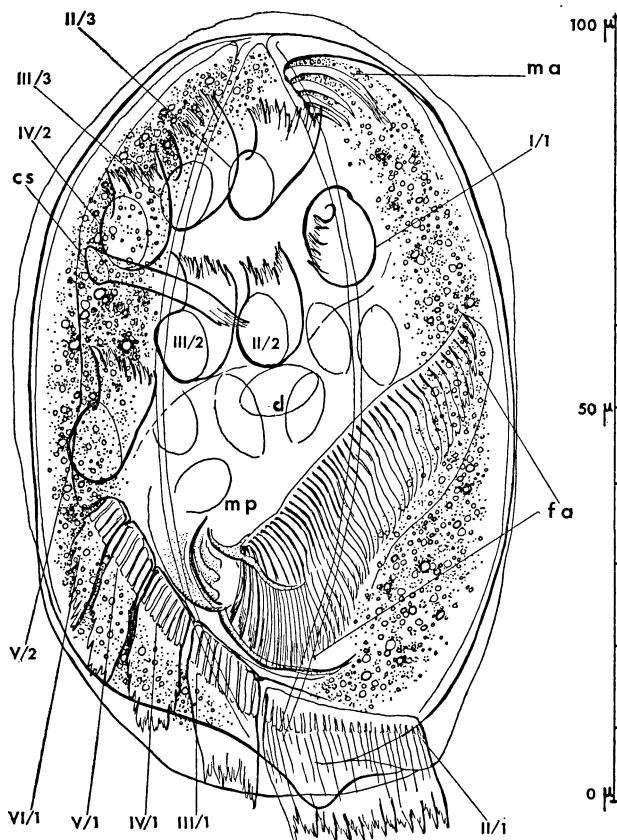


FIG. 1

Aspidisca orthopogon n.sp., dessiné vivant à la chambre claire, temporairement immobilisé à la fumée de tabac, examiné par sa face ventrale ; les côtes, en relief dorsal, sont visibles par transparence.

Les chiffres romains : I, II, III, etc., correspondent aux méridiens auxquels se rattachent les cirres, selon la nomenclature de Wallengren (1900).

cs : cirre surnuméraire spécial à cette espèce - d : Diatomées ingérées - fa : frange des membranelles adorales - ma : membranelles antérieures - mp : série des membranelles parorales ; I/1, II/2, II/3, III/2, III/3, IV/2 et V/2 : cirres frontaux-ventraux ; II/1, III/1, IV/1, V/1 et VI/1 : cirres transverses.

orthopogon est très facilement reconnaissable *in vivo* par suite de la présence autour du sac endoplasmique d'une large bande de granulations réfringentes, qui le ceinture à quelque distance de la périphérie, laissant ainsi 4 à 5 μ de cuticule transparente tout autour (Fig. 1). Ses déplacements sont assez réguliers, interrompus parfois

par des pauses prolongés mais ils comportent moins de saccades que ceux de nombreux autres *Aspidisca*; sa vitesse est très moyenne en comparaison de celle des autres éléments mobiles des biocénoses qu'il fréquente.

C'est un consommateur des Diatomées de petite taille (moins de 20 μ) qui tapissent les parois éclairées sur lesquelles on le trouve (Fig. 1-d); il circule également sur les Mélobésières encroûtantes qui peuvent recouvrir en grande partie ces parois.

Nous avons adopté, pour désigner les cirres, la nomenclature de Wallengren (1900), telle qu'elle a pu être transposée au genre *Aspidisca* par Tuffrau (1964) (1). Leur répartition sur la face ventrale, comme celle de la ciliature buccale est du type classiquement décrit chez les *Aspidisca* (Plough, 1916; Kahl, 1932), mais avec deux particularités essentielles, qu'il importe, dès à présent, de retenir.

D'une part, il existe un cirre surnuméraire qui peut être un peu plus long que les autres mais dont la base est plus étroite (Fig. 1, cs). Comparable au cirre qu'on appelle « satellite » chez d'autres *Aspidisca*, il est ici plus antérieur et implanté immédiatement à droite du cirre 2/IV.

D'autre part, la série des membranelles adorales se prolonge suivant une ligne oblique assez relevée, mais surtout beaucoup plus allongée qu'on ne peut l'observer chez toutes les espèces décrites jusqu'à présent (Fig. 1, fa). En ce qui concerne ce dernier point, l'étude de très nombreux individus, tous originaires des eaux intercotidales du chenal de l'Ile Verte devant la Station Biologique de Roscoff, montre une variation du nombre de ces membranelles comprise entre un minimum de 40 et un maximum de 45, c'est-à-dire un ordre de grandeur proche du double de ce qu'il est coutume d'observer chez les *Aspidisca* aux franges les plus longues.

Les 4 membranelles antérieures, sur l'origine desquelles nous aurons à revenir, prennent place non loin du pôle apical déterminé par la jonction des cinéties dorsales (Fig. 1, ma). Elles semblent posséder chacune une base dédoublée et la première d'entre elles est plus grande que les autres.

Les cirres frontaux-ventraux, au nombre de huit en comprenant le petit cirre surnuméraire, se trouvent morphologiquement répartis en deux groupes apparents, le cirre le plus ventral se trouvant placé très bas au-dessous des autres, à droite et comme dans le prolongement de l'arc très régulier dessiné par les 5 cirres transverses.

Ceux-ci sont issus de fortes plaques basales dont la situation exceptionnellement oblique amène les trois plus à gauche, transversalement très allongées, à passer un peu au-dessous de la zone buccale qu'elles contournent jusqu'à toucher le bord postérieur de l'*Aspidisca*: les cirres transverses dépassent ainsi nettement les limites de l'Infusoire (Fig. 1, II/1). Il faut noter qu'entre le cirre transverse 1/II et la frange adorale, mais en position suborale, on peut observer, chez

(1) Sur les figures, la désignation du méridien précède le numéro d'ordre de chaque cirre, pour des raisons évidentes de commodité et d'homogénéité : l'antériorité de l'alignement des ébauches sur l'individualisation des cirres y oblige, au moins dans la représentation des stades les plus précoce (cf. Fig. 4).

tous les individus en interscission, deux forts corpuscules imprégnables à quelques microns l'un de l'autre (Fig. 2, ch).

Dorsalement (Fig. 2), *Aspidisca orthopogon* comporte 4 cinéties méridiennes bipolaires rectilignes, parallèles à l'axe de symétrie du corps, ce qui dispense l'Infusoire de la courbure générale caractéristique, par exemple, d'*Aspidisca lyncaster* (O.F. Müller) Stein 1859, dont les alignements cinétosomiens dorsaux ont une forte convexité droite. Une variante imprévue de la technique au protéinate, compor-

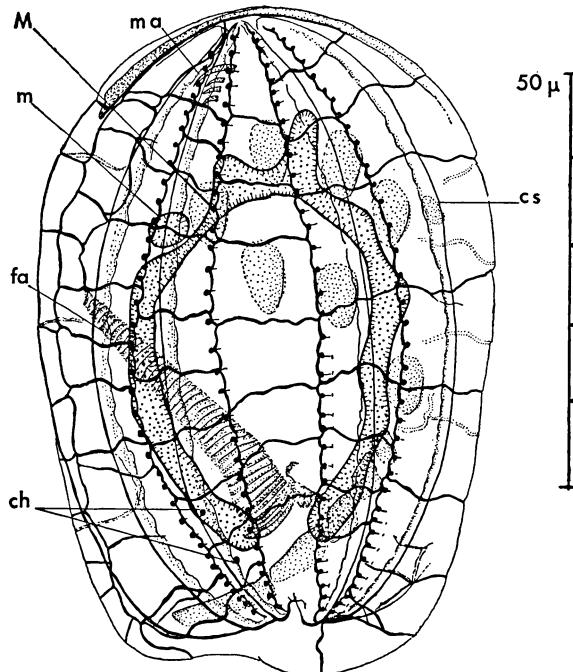


FIG. 2

Vue dorsale d'*Aspidisca orthopogon* n.sp., fixé et imprégné au protéinate d'argent avec une phase de dessication avant la réduction. Figure semi-schématique d'après plusieurs dessins à la chambre claire. Système nucléaire coloré au carmin aluné.

Tracé continu fort : argyrome dorsal - double trait pointillé : parties visibles de l'argyrome ventral - M : macronucléus - m : micronucléus - infraciliature ventrale en pointillé. ch : corpuscules hypostomiens imprégnables, constamment présents sous la frange adorale - cs : cirre surnuméraire - fa : frange des membranelles adorales - ma : membranelles antérieures.

(La différence de taille entre les individus observés vivants et les animaux montés au baume est toujours du même ordre de grandeur pour tous les fixateurs utilisés ici.)

tant une phase de dessication de la couche albumineuse au cours des processus d'imprégnation, a mis clairement en évidence, à la manière d'un négatif photographique, les mailles de l'argyrome dorsal; celui-ci est du type le plus simple, comportant des argyronèmes transversaux assez espacés les uns des autres, si bien que l'ensemble de ce réseau se présente comme une sorte de damier, régulier sur les 3 bandes centrales, plus confus latéralement.

Classiquement en fer à cheval (F.M. Summers, 1935), le macro-

nucléus présente un renflement antérieur formant une pointe assez marquée à gauche de laquelle se situe un micronucléus (Fig. 2, m) particulièrement volumineux (5μ , $5 \pm 0 \mu$, 5, moyenne et extrêmes sur 10 individus, après coloration et montage au baume) (1) repérable également de part sa position non loin au-dessous du cirre 1/I.

IV - MORPHOGENÈSE

Nous n'aurons pas à revenir sur l'ensemble des processus de néoformation de la ciliature somatique, mais le très grand nombre de stades que nous avons pu observer — et notamment de stades précoces — nous autorisent à préciser certains points.

Ainsi qu'il a été montré précédemment (Tuffrau, 1964), les premiers signes décelables de la morphogenèse commençante sont bien, outre la bande de réorganisation qui se montre en haut du macro-nucléus, l'apparition de trois des ébauches ciliaires qui vont se développer à gauche du cirre ventral 2/V (Fig. 3, a). Mais, chez *Aspidisca orthopogon*, nous voyons les cinétosomes primordiaux apparaître au-dessus des cirres transversaux 1/V à 1/VI, au niveau d'une future ligne de séparation du proter d'avec l'opisthe, beaucoup plus équatoriale qu'elle ne l'est au départ chez *Aspidisca lyncaster* (O.F. Müller) Stein.

Ce plan de bipartition est en effet légèrement différent selon les espèces, car il occupe une position plus ou moins oblique selon l'inclinaison plus ou moins marquée de la série des cirres transverses, elle-même fonction de la place occupée par la zone cytopharyngienne : l'ensemble de cette disposition étant avant tout souligné par la croissance plus ou moins allométrique des cinéties dorsales.

Les autres ébauches ciliaires qui se constituent par la suite, sont d'abord celles qui contournent le cirre ventral 2/V par la droite (Fig. 3, b; Fig. 4, A), puis enfin les ébauches responsables des cirres 1/I du proter et de l'opisthe que l'on voit se former de part et d'autre de la zone buccale (Fig. 3, c et Fig. 3, d en I/1-o et I/1-p).

Les cinétosomes primordiaux se multiplient au début dans le sens longitudinal, produisant de la sorte des alignements sinueux simples et parallèles : ceux-ci prolifèrent ultérieurement vers la gauche, sous forme d'élargissements granuleux successifs, à partir de quoi s'individualisent les nouveaux cirres tandis que se résorbent progressivement les anciens (Fig. 4).

Il est à remarquer que si l'accroissement des champs morphogénétiques s'effectue d'abord selon des directions linéaires centrifuges symétriques par rapport à leur zone d'apparition transversale originelle (Fig. 4, A), par contre, la chronologie de la différenciation des ébauches ciliaires se produit dans le même sens pour chacun des tomites, suivant une polarité nouvelle correspondant à celle des deux

(1) Un micronucléus de taille comparable n'a été signalé, à notre connaissance, que chez deux autres Hypotriches : *Euplates aberrans* Dragesco 1960 ; *Euplates tegulatus* Tuffrau, 1960.

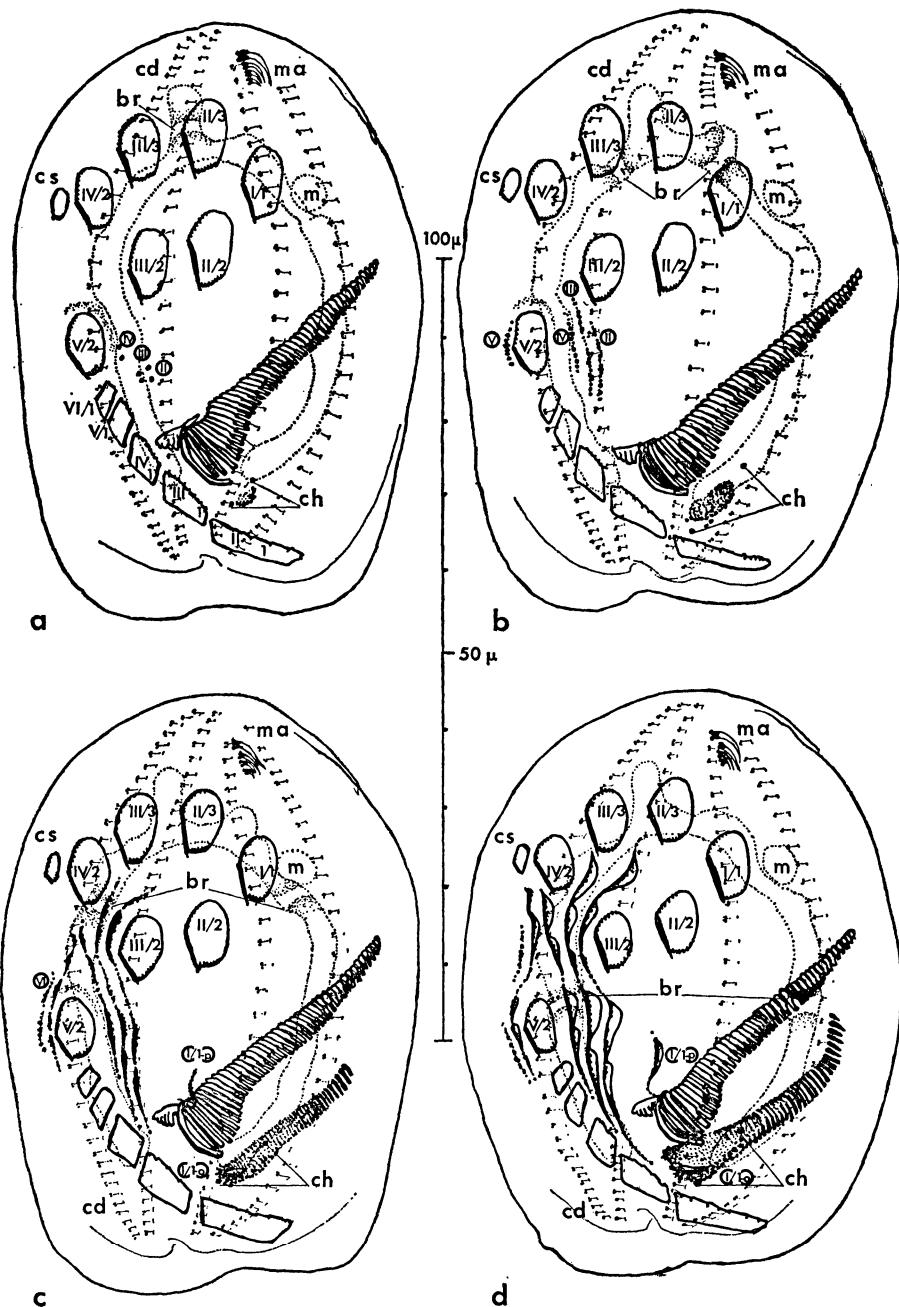


FIG. 3

Premiers stades de la morphogenèse d'*Aspidisca orthopogon* n. sp., en bipartition.
Tous les dessins sont exécutés directement à la chambre claire.

a) Départ de la bande de réorganisation macronucléaire et apparition de la plage stomatogène entre les deux corpuscules hypostomien ; les cinétosomes primordiaux des futurs méridiens II, III et IV sont en place au niveau du cirre 2/V.

b) Première extension du champ stomatogène, les deux corpuscules argyrophiles

futurs individus, c'est-à-dire de haut en bas aussi bien dans la partie protérienne que dans la partie opisthienne (Fig. 4, B).

Tout au long de ce processus, on constate la disparition d'un certain nombre de cinétosomes quand ils ne participent finalement pas aux ébauches génératrices des cirres : ceci est particulièrement net dans le cas de l'ébauche du cirre 1/I protérien qui apparaît toujours en trois parties distinctes dont la médiane seule subsiste (Fig. 3, c et d).

L'analyse détaillée des processus de néoformation montre que le cirre surnuméraire est issu d'une ébauche autonome très probablement originaire du champ situé sur le cinquième méridien morphogénétique : ceci explique que nous ne pensions pas souhaitable de lui conserver le terme de « satellite », employé jusqu'à présent pour les cirres comparables (Dragesco, 1960), car ce terme suggère une dépendance vis-à-vis du cirre le plus proche, en réalité tout à fait distinct (Fig. 3, d; Fig. 4, B; Fig. 5 a, b et Fig. 6).

En ce qui concerne le cirre 1/I, tel qu'il apparaît devoir être dénommé de part sa morphogenèse même, il est bien évident, si l'on s'en réfère au schéma transposé de la figure de Wallengren (1900) (Tuffrau, 1964), que l'alignement dont il provient ne peut en aucun cas dépasser le niveau buccal auquel il aboutit postérieurement : cela implique donc que le même cirre, pour se reformer sur l'opisthe, naîsse d'une ébauche indépendante quoique située sur le même méridien (Pl. I, 7; Fig. 3, c, d; Fig. 4, A, B; Fig. 5, a : *A. orthopogon*, c et d : *A. lyncaster*).

Ce dernier point est ici important à noter car si, dans les recherches précédentes, le 1/I du proter avait naturellement pu être mis en évidence sans la moindre difficulté, il n'en avait pas été de même pour son homologue opisthien, difficile à voir dans le cas d'une espèce à structures buccales resserrées, comme l'est *Aspidisca lyncaster* (Müller) Stein; en sorte qu'une confusion a pu naître entre la naissante ébauche de ce cirre, dissimulée par surcroît sous la ciliature adorale, et l'origine recherchée de la frange antérieure (Fig. 5, c, d).

On a vu, dans la description de l'espèce, que chaque individu quiescent présentait, d'une façon permanente, deux granulations argyrophiles suborales qui semblent participer à la stomatogenèse. L'ébauche buccale apparaît au contact immédiat du granule postérieur sous

commencent à s'éloigner l'un de l'autre. Les ébauches II, III et IV s'étendent en lignes parallèles, l'ébauche V est visible sur le côté opposé du cirre 2/V.

c) Toutes les ébauches des futurs cirres sont en place, avec l'apparition de VI, au-delà de V et celles des deux futurs 1/I, du proter au-dessus du contact adoral-paroral ; de l'opisthe au-dessus de la base du champ stomatogène. L'extrémité antérieure de ce dernier organise les plaques basales des futures membranelles.

d) Individualisation des ébauches de chaque futur cirre le long des champs linéaires ; accroissement distinctif de la deuxième membranelle antérieure au bout de l'ébauche de la future frange adorale. I/1, II/1, II/2, etc. : repérage des cirres de la cellule parente, en accord avec la nomenclature de Wallengren (1900); (I/1-o), (I/1-p) ébauches des cirres 1/I de l'opisthe et du proter ; (II), (III), (IV), etc. : repérage correspondant des champs d'ébauches de cirres des futures tomites - br : bandes de réorganisation du macronucléus - ed : cinétosomes dorsaux - ch : corpuscules argyrophiles hypostomiens permanents - m : micronucléus - ma : membranelles antérieures.

forme d'un champ de cinétosomes disposé en croissant ouvert vers le haut avec une convexité bordée de 5 à 6 cinétosomes plus gros (Pl. I, 4; Fig. 3, a). Cet aspect en croissant ne tarde pas à se structurer par suite de l'extension du champ en prolifération (Pl. I, 2; Fig. 4, b) qui

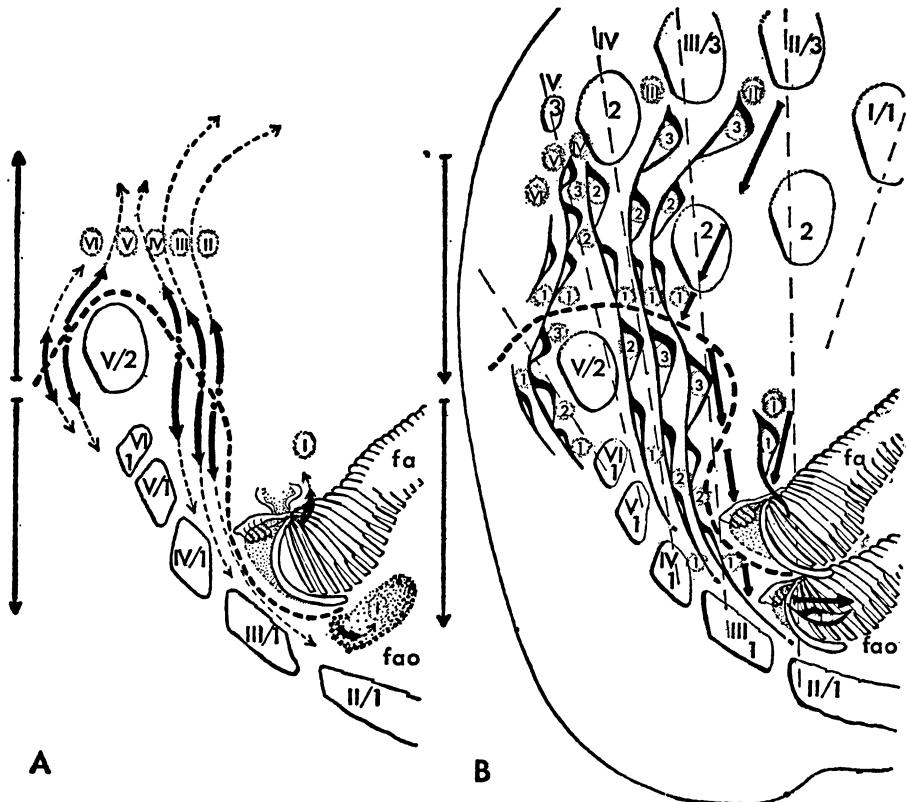


FIG. 4

Schéma de l'extension et de l'organisation du plan d'ébauches.

A) Stades d'extension linéaire des champs cirrogènes. Flèches épaisses : direction des mouvements d'extension - flèches interrompues : limites d'extension des champs cirrogènes linéaires - flèches de gauche : bipolarité symétrique du phénomène.

B) Stades d'organisation individuelle des ébauches de cirres. Traits fins interrompus : méridiens du plan de ciliation du parent - flèches grasses : chronologie et direction d'accroissement de l'épaisseur des ébauches individuelles - flèches de gauche : unipolarité identique au niveau du proter et au niveau de l'onisthe

Tirets épais : limite virtuelle des territoires protérien et opisthiien.

Nomenclature des organites parentaux : I, II, III, etc. : appartenance aux méridiens de Wallengren ; 1, 2, 3, etc. : numérotation, selon Wallengren, de chaque cirre.

Nomenclature des ébauches : (I), (II), (III), etc., pour les champs, et (1), (2), (3), etc., pour la correspondance avec la place des cirres adultes.

fa : frange des membranelles adorales d'origine - fao : frange adorale néoformée de l'opisthe.

s'allonge bientôt obliquement tout en gardant le voisinage des granules précitées : l'ébauche prend alors la disposition classique chez les Hypotriches, les premières membranelles à se différencier étant les plus antérieures (Pl. I, 5; Fig. 3, c).

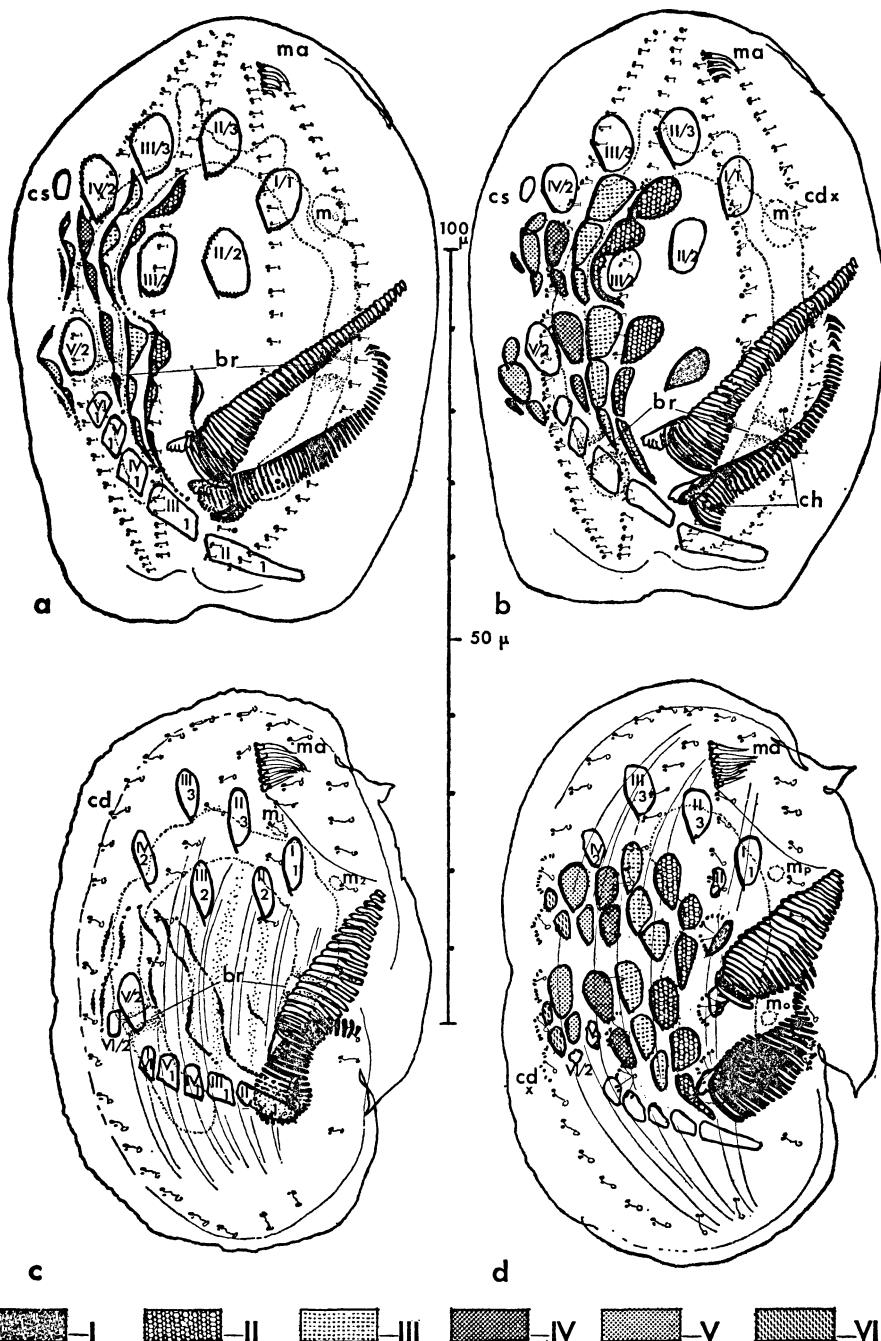


FIG. 5

Aspidisca orthopogon n. sp. [a) et b)], *Aspidisca lyncaster* Stein [c) et d)], dessins directs à la chambre claire ; les différents grisés se rapportent aux méridiens de Wallengren appliqués à la nomenclature des ébauches, les cirres marqués I/1, II/1, II/2, etc., sur leurs surfaces sont les cirres 1/I, 1/II, 2/II, etc., originels du parent - cd x : cinétosomes dorsaux en multiplication - le reste des lettres comme pour la Fig. 3.

Fig. 5 (Suite)

- a) Stade de la torsion des cinq premières membranelles de l'ébauche adorale opisthienne.
- b) Disparition de la membranelle la plus antérieure et séparation des quatre suivantes ; début de la multiplication des cinétosomes dorsaux (cd x) ; division, à la fois dans la partie protérienne et dans la partie opisthienne, de chacun des deux corpuscules argyrophiles hypostomiens (ch).
- c) Stade de la bipartition d'*A. lyncaster* correspondant, à peu près, à celui de la Fig. 3-c pour *A. orthopogon*, mais avec une organisation plus avancée de l'ébauche de la ciliature buccale et la torsion des membranelles antérieures (m_1 et m_2 les deux micronucléus de cette forme).
- d) Stade d'*A. lyncaster* équivalent à celui de la Fig. 5-b pour l'évolution des membranelles antérieures, mais à celui de la Fig. 6-b pour l'état nucléaire (m_o et m_p , micronucléus de l'opisthe et du proter, résultant de la division de l'un des deux précédents).

Les cinq premières d'entre elles se montrent toujours un peu plus colorables, paraissant ainsi plus épaisses, tandis que la seconde à partir de l'avant apparaît rapidement plus grande que les quatre autres (Pl. I, 6; Fig. 3, d; Fig. 5, a); lorsque la frange adorale ainsi néoformée est pratiquement devenue aussi longue que la frange primitive, à quelques membranelles près, ces cinq premières membranelles se séparent toutes ensemble (Pl. I, 6 et 7; Fig. 5, a, b) d'avec les précédentes puis ne forment qu'une série unique qui bascule ensuite légèrement vers l'arrière tandis que la plus antérieure disparaît (Pl. I, 7; Fig. 5, b).

La série des quatre membranelles restantes migre alors vers l'avant de l'opisthe au fur et à mesure que se poursuit puis s'achève la bipartition (Fig. 6), selon les mouvements cuticulaires imposés par la mise en place de la ciliature définitive : ce fragment détaché de la frange adorale néoformée représente donc ce que l'on nomme la frange ou série antérieure de l'opisthe qu'il nous paraît plus exact de reconnaître simplement comme un ensemble de membranelles erratiques, reliquat de la frange primitive ainsi que l'ont déjà supposé quelques auteurs (Hall, 1953; Dragesco, 1963).

Du côté dorsal, les cinétosomes répartis le long des cinéties méridiennes se multiplient de part et d'autre de l'étranglement équatorial un peu avant que celui-ci ne se marque vraiment : les cinétosomes qui se dédoublent les premiers ne sont néanmoins pas ceux qui sont directement localisés sur la zone de bipartition mais des cinétosomes qui en sont relativement éloignés (Fig. 5, b; Fig. 6). La

Fig. 6 (Suite)

- a) Fin du parcours de la bande de réorganisation dans le macronucléus et métaphase du micronucléus ; extension longitudinale de la multiplication des cinétosomes dorsaux ; migration des quatre membranelles erratiques.
- b) Début de la détorsion du macronucléus, division du micronucléus ; les cirres de la cellule parente commencent leur résorption progressive (2/III et 1/VI ont déjà disparu, 2/II est très réduit).
- c) Les surfaces ventrales et dorsales des territoires protérien et opisthien achèvent leur réorganisation réciproque, tandis que le sillon de séparation équatorial progresse à partir des faces latérales. Les cinétosomes dorsaux commencent leur réalignement de part et d'autre.
- d) Le sillon de séparation a gagné le centre des surfaces dorso-ventrales ; le proter et l'opisthe ont reconstitué le plan ciliaire spécifique à part quelques résidus, en résorption rapide, de l'ancienne ciliature.

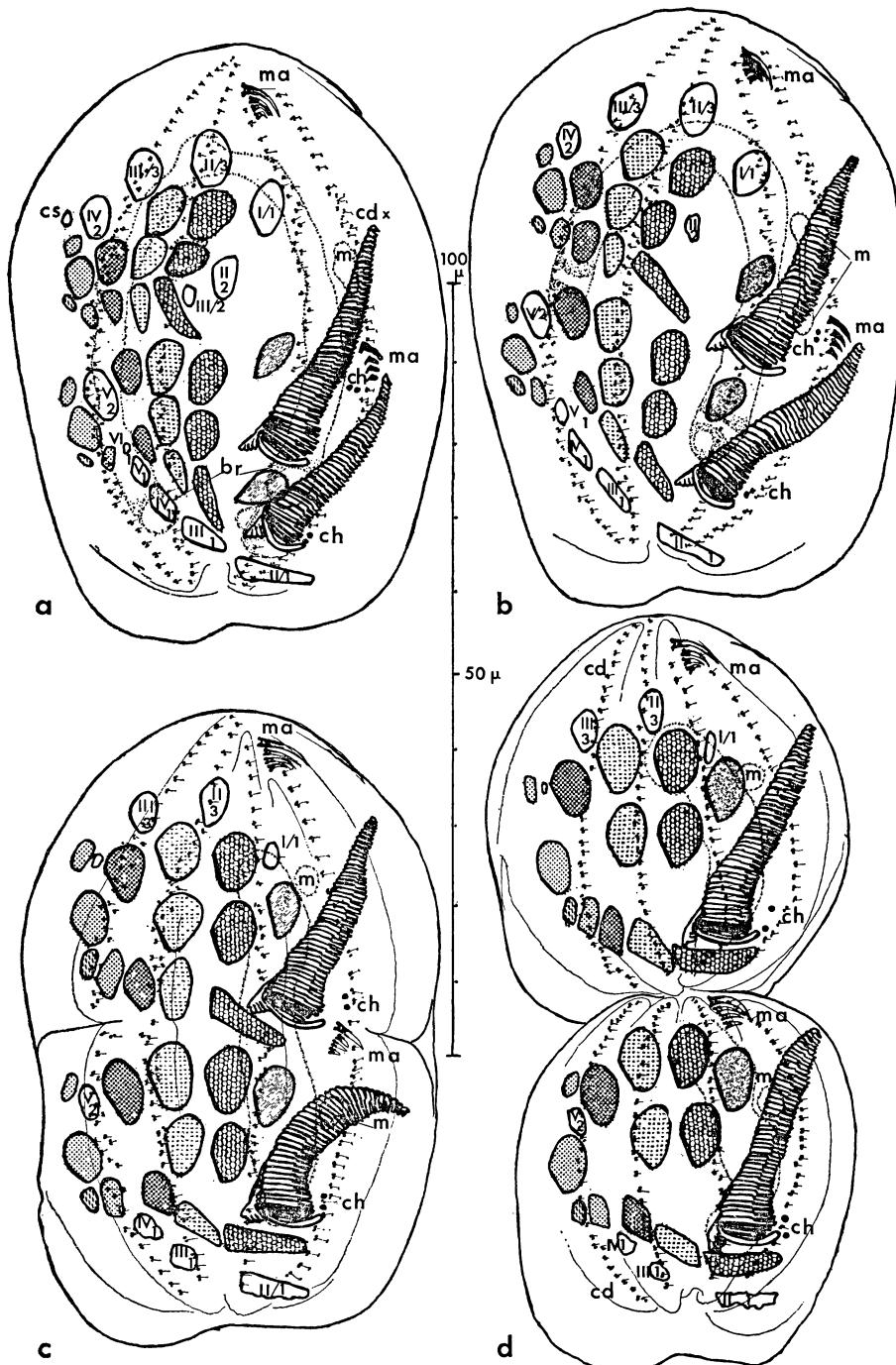


FIG. 6

Derniers stades de la bipartition chez *Aspidisca orthopogon* n. sp. (chambre claire).
Grisés comme sur la Fig. 5, lettres et chiffres comme pour les Fig. 3 et 5.

multiplication cinétosomienne s'étend alors à la presque totalité de chaque cinétie, d'abord en groupements linéaires puis en petits groupes de plus en plus dispersés.

V - CONCLUSIONS

L'étude d'*Aspidisca orthopogon* n. sp. nous a permis, sur des bases antérieurement établies (Tuffrau, 1964), de discuter, tout en décrivant cette nouvelle espèce, quelques détails particuliers de la morphogenèse.

Dans les mêmes conditions de prélèvements et d'imprégnation, il nous a été possible de réexaminer, à titre comparatif, des stades de la bipartition chez *Aspidisca lyncaster* (O.F. Müller) Stein 1859 (Fig. 5, c et d) et *Aspidisca polystyla* Stein 1859.

Cela nous a amenés à constater l'identité du mécanisme de la formation des cirres, de la nouvelle frange adorale et de sa portion erratique, mais aussi à souligner les détails structuraux qui placent cette nouvelle espèce un peu à l'écart des deux autres.

L'alignement presque strictement longitudinal des cinéties méridiennes dorsales et la disposition plus rectiligne des ébauches ciliaires correspondent chez *Aspidisca orthopogon* à l'absence de torsion bipolaire accusée propre aux deux autres espèces. Cette torsion détermine chez ces dernières un tassement général du corps sur le côté gauche, ce qui provoque une certaine juxtaposition des organites ciliaires au niveau de la zone buccale. La ligne de bipartition rendue ainsi plus oblique entraîne l'étirement de tout le plan d'ébauches et abaisse sensiblement les points d'apparition des cinétosomes d'origine.

C'est ce qui explique, chez *Aspidisca lyncaster* en particulier, que l'ébauche du cirre 1/I opisthien (Fig. 5, c) se forme dans un plan qui surplombe celui de la jeune parorale accolée elle-même à l'ébauche adorale, l'ensemble étant placé sous la frange primitive.

Ce resserrement des structures buccales, chez un individu en division, rend malaisée la lecture de la phase de séparation de la série des membranelles erratiques qui s'effectue de surcroît au-dessous de la ciliature buccale du proter sous un angle très redressé en direction de la surface ventrale (Fig. 5, d).

Cette difficulté n'existe pratiquement pas chez *Aspidisca orthopogon*, étant donnée la distance qui sépare la nouvelle frange de l'ancienne et, d'une façon générale, la répartition plus aérée de toute la ciliature.

En fin de compte, les caractères particuliers les plus frappants de cette nouvelle espèce sont, en résumé : la bipolarité rectiligne de l'ensemble somatique, l'emplacement antérieur du cirre surnuméraire et son appartenance, à l'origine, au méridien V de Wallengren, la longueur de la frange adorale et le volume exceptionnel du micronucléus. Sans affecter aucune des caractéristiques générées établies pour les *Aspidisca*, il nous semble conférer à *Aspidisca orthopogon* une situation jusqu'ici isolée et peut-être plus proche d'un aspect primitif hypothétique dans ce genre.

Summary

The favourable characteristics of a new species from the genus *Aspidisca*, and the accession to a control relative to the silver proteinate penetration have permitted to state the origin and the way of organization of some parts of the ciliature in this genus. This species, for which we propose the name of *Aspidisca orthopogon*, is described in detail. The proteinate impregnation is applied to infusorian populations directly developed on immersed slides and do not want any individual manipulation of the studied organisms. The control of the penetration and adsorption stages of silver on the structures to impregnate has permitted, in the present case, to limit the darkening to the only infraciliature.

The results have permitted to us to follow, without a solution of continuity, every stage of the morphogenesis of fission and to compare them with various species of the genus, particularly with the new species and *Aspidisca lyncaster*.

Each cirrus has been reported to its origin, especially the frontoventral cirrus 1/I and the small supernumerary cirri whose presence and place are not constant in the genus. Besides, we have shown clearly the actual origin of the anterior membranelles: they represent, for all the species observed, an individualized series of some erratic membranelles during the fission issued, by dividing, from the anterior end of the adoral opisthial fringe still on anlage.

Zusammenfassung

Die günstigen Karakteristiken einer neuen Art der Genus *Aspidisca* und die gegebene Möglichkeit das Eindringen des Silberproteinats zu kontrollieren, haben erlaubt den Ursprung und die Art der Organisation einiger Teile der Bewimperung dieses Genus zu beschreiben. Diese Art, für die wir den Namen *Aspidisca orthopogon* vorschlagen, ist im Detail beschrieben. Die Proteinatimpregnierung ist an Infusorienbewölkungen die sich direkt auf eingetauchten Glasträgern entwickelt haben, ausgeführt und benötigt absolut keine individuelle Manipulation der zu untersuchenden Organismen. Die Kontrolle der Etappen des Eindringens und der Adsorption des Silbers auf den zu impregnierenden Strukturen hat erlaubt die Schwärzung an die Infrabewimperung allein zu beschränken.

Die Resultate haben uns erlaubt alle Etappen der Zweiteilungsmorphogenese, ohne Unterbrechung zu verfolgen und sie zwischen verschiedenen Arten des Genus zu vergleichen, sonderlich zwischen der neuen Art und *Aspidisca lyncaster*.

Jedes Cirre ist seinem Ursprung zugestellt worden, insbesondere das frontoventrale 1/I Cirre und die kleinen überzähligen Cirren deren Anwesenheit und Localisation in diesem Genus nicht konstant sind. Wir haben andererseits den wirklichen Ursprung der vorderen Membranellen feststellen können. Sie stellen, bei allen untersuchten Arten eine Serie von mehreren individuellen Membranellen dar, die während der Zweiteilung erratisch durch Fraktionierung des vorderen Endes der Opisthen-Membranellenband die noch im Stadium der Anlage ist, entstehen.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BIELSCHEWSKY, M., 1902. — Färbung der Achsenzylinder. *Neurolog. Zentralbl.*, 21.
- BIELSCHEWSKY, M., 1904. — Die Silberimpregnation der Neurofibrillen. *J. für Psych. u. Neur.*, 3.
- BIELSCHEWSKY, M., 1905. — Die Darstellung des Achsenzylinder peripherischer Nervenfasern. *J. für Psych. und Neur.*, 4.
- BODIAN, D., 1937. — The staining of paraffin sections of nervous tissues with activated protargol. The role of fixatives. *Anat. Rec.*, 69, pp. 153-162.
- CAJAL, R.S., 1910. — Las formulas del proceder del nitrato de plata reducido y sus efectos sobre los factores integrantes de las neuronas. *Trab. del Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid*.
- CHATTON, E. et LWOFF, A., 1930. — Imprégnation, par diffusion argentique, de l'infra-ciliature des Ciliés marins et d'eau douce, après fixation cytologique et sans dessication. *C.R. Soc. Biol. Paris*, 104, pp. 834-836.

- CHATTON, E. et LWOFF, A., 1936. — Technique pour l'étude des Protozoaires, spécialement de leurs structures superficielles (cinétome et argyrome). *Bull. Soc. Fr. Micr.*, 5, pp. 25-39.
- DEROUX, G. et FAIDY, cl., 1965. — Imprégnations rapides à la Nigrosine applicables à la microécologie des surfaces. *Hydrobiologia* (sous presse).
- DRAGESCO, J., 1960. — Ciliés mésopsammiques littoraux. Systématique, morphologie, écologie. *Trav. St. Biol. Roscoff (N.S.)*, 12, 356 pp.
- DRAGESCO, J., 1962. — L'orientation actuelle de la systématique des Ciliés et la technique d'imprégnation au Protéinate d'argent. *Bull. Micr. Appl.*, 11, pp. 49-58.
- DRAGESCO, J., 1963. — Compléments à la connaissance des Ciliés mésopsammiques de Roscoff. II. *Cah. Biol. Mar.*, IV, pp. 251-275.
- FAURÉ-FREMIET, E., 1931. — Quelques résultats obtenus avec la méthode des lames immergées. *Bull. Soc. Zool. France*, 56, 6.
- HALL, R.P., 1953. — Protozoology. Prentice-Hall, Inc. New York, 682 pp.
- KAHL, A., 1932. — Die Tierwelt Deutschlands. I. Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria). Gustav Fischer, Jena, 689 pp., *Aspidiscidae*, p. 643.
- KIRBY, H., 1950. — Materials and Methods in the study of Protozoa. Univ. Calif. Press, Berkeley, 72 pp.
- KLEIN, B.M., 1926. — Ergebnisse mit einer Silbermethode bei Ciliaten. *Arch. Protistenk.*, 56, pp. 243-279.
- KLEIN, B.M., 1927. — Über die Darstellung der Silberliniensysteme des Ciliatenkörpers. *Mikrokosmos*, 20, pp. 233-235.
- KOZLOFF, E.N., 1960. — Morphological studies on holotrichous ciliates of the family *Hysterocinetidae*. *Jour. Protozool.* 7, pp. 17-19.
- MÖBIUS, K., 1883. — Kleine Mittheilungen aus der Zoologischen Technik. *Zool. Anz.* 6, n° 130, pp. 52-53.
- PLOUGH, H., 1916. — The genus *Aspidisca* Ehrenberg. *Trans. Amer. micr. Soc.*, 35, pp. 233-244.
- STEIN, F., 1859. — Der organismus der Infusionstiere nach eigenen Forschungen in systematischer Reihenfolge bearbeitet. I. Leipzig, 206 pp.
- SUMMERS, F.M., 1935. — The division and reorganisation of the macronuclei of *Aspidisca lynceus* Müller, *Diophysys appendiculata* Stein, and *Styloynchia pustula* Ehrbg. *Arch. f. Protistenk.*, 85, 2, pp. 174-208.
- TUFFRAU, M., 1960. — Revision du genre *Euplates*, fondée sur la comparaison des structures superficielles. *Hydrobiologia*, 15, pp. 1-77.
- TUFFRAU, M., 1964 a. — Quelques variantes techniques de l'imprégnation des Ciliés par le Protéinate d'Argent. *Arch. Zool. Exp. (Protistologica)*, 104, 2, pp. 186-190.
- TUFFRAU, M., 1964 b. — La morphogenèse de bipartition et les structures neuro-motrices dans le genre *Aspidisca* (Ciliés Hypotriches). Revue de quelques espèces. *Cah. Biol. Mar.*, V, pp. 173-199.
- VACELET, E., 1961. — La faune infusorienne des « sables à Amphioxus » des environs de Marseille. *Bull. Inst. Océan. Monaco*, 1202, pp. 1-12.
- WALLENGREN, H., 1900. — Zur Kenntnis der vergleichenden Morphologie der Hypotrichen Infusorien. *Bih. Svenska Vet. Akad. Handl.*, 26, pp. 1-31.

PLANCHE I

Morphogenèse ciliaire, au cours de la bipartition d'*Aspidisca orthopogon* n.sp. ; imprégnation au protéinate d'argent (pénétration superficielle contrôlée).

1 : Début de l'extension longitudinale des champs cirrogènes II, III et IV. 2 : Progression des champs linéaires vers le haut et vers le bas. En bas, à droite : ch, corpuscules hypostomiens permanents - fao, ébauche de l'ensemble de la ciliation buccale opisthienne. 3 : Modelage des ébauches individuelles des futurs cirres, par épaissements latéraux le long des champs linéaires. 4 : Apparition du champ stomatogène au niveau des corpuscules (cinétosomes ?) argyrophiles hypostomiens (ch). 5 : Priorité antérieure dans l'organisation de l'ébauche adorale et différenciation précoce des cinq premières membranelles. 6 : Les cinq premières membranelles se séparent de la nouvelle frange adorale ; elles sont encore, ici, sur le même plan que les suivantes (br : emplacement correspondant de la bande de réorganisation macronucléaire gauche - coloration au carmin aluné de Grenacher). 7 : La première des membranelles antérieures erratiques s'est résorbée, les quatre autres subissent les mouvements de torsion et de migration vers la face ventrale qui vont, définitivement, les désolidariser du reste de la frange adorale néoformée ; (1/I) ébauche du futur cirre 1/I de l'opisthe, sur un plan plus ventral, mais en superposition avec celui de l'ébauche parorale.

