

## CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE DE LA

# Régénération naturelle et expérimentale CHEZ LES CLAVELINIDAE

PAR

PAUL BRIEN

Laboratoire de Biologie animale — Faculté des Sciences — Université de Bruxelles

## PLAN

|   |     |
|---|-----|
| <i>Introduction.</i> — Ontogénèse blastogénétique et embryogénique                                    | 20  |
| <i>Chapitre I.</i> — Régénération naturelle chez les <i>Clavelinidae</i> :                            |     |
| A. <i>Clavelina lepadiformis</i> (MULLER)   | 25  |
| B. <i>Clavelina phlegrea</i> (SALFI)  | 30  |
| <i>Chapitre II.</i> — Régénération expérimentale des stolons de <i>Cl. lepadiformis</i> :             |     |
| A. Régénération de fragments distaux de stolons   | 40  |
| B. Régénération stoloniale après sectionnement du postabdomen   | 55  |
| C. Conclusions  | 63  |
| <i>Chapitre III.</i> — Régénération expérimentale des segments œsophagiens de <i>Cl. lepadiformis</i> | 65  |
| A. Allure générale de la régénération   | 67  |
| B. Organogénèse du thorax aux dépens de l'épicarde  | 70  |
| C. Conclusions :  |     |
| 1. Résumé   | 81  |
| 2. Comparaison avec le bourgeonnement épicardique   | 82  |
| 3. Comparaison avec le développement embryonnaire   | 82  |
| 4. Bipolarité des segments œsophagiens  | 83  |
| <i>Chapitre IV.</i> — Les cellules vacuolaires de l'haemocoèle de <i>Cl. lepadiformis</i> . —         |     |
| Formation de la tunique   | 87  |
| <i>Conclusions générales</i> :  |     |
| A. Les éléments ontogéniques dans la régénération   | 99  |
| B. L'isolement physiologique  | 103 |
| C. La polarité et les corrélations dans la régénération   | 106 |
| Liste des auteurs cités   | 110 |

## INTRODUCTION

Si l'on caractérise un mode de bourgeonnement par la nature du tissu blastogénétique le plus important, les tuniciers présenteraient les modes de bourgeonnement suivants :

*Mésoblastique* chez les *Clavelinidae* (4,5) et *Perophoridae* (6) ;  
*Epicardique* chez les *Polyclinidae* (35), *Polycitoridae* (33) et les *Thaliacae* (9) ;

*Entéroépicardique* chez les *Diazonidae* (14, 43), *Didemnidae* (12) et un *Polyclinidae*, *Aplidium zostericola* (7) ;

*Péribranchial* ou *palléal* chez les *Polystyelinae* (22) et les *Botryllidae* (39).

Cependant chacun de ces bourgeonnements se réalise avec des modalités différentes selon les groupes qui le possèdent. Dans les *Botryllidae* et les *Polystyelinae*, la vésicule endoblastique et blastogénétique du bourgeon est d'origine péribranchiale. Mais les blastozoïdes des *Botryllidae* restent en relation directe et physiologique les uns avec les autres et se disposent en coenobies généralement bien coordonnées, tandis que chez les *Polystyelinae*, les bourgeons se constituent aux dépens des stolons de l'ascidiozoïde souche, et fixés au support. Ils s'isolent ensuite et prennent parfois l'aspect de véritables statoblastes.

Le bourgeonnement épicardique est postabdominal chez les *Polyclinidae*, tandis que chez les *Polycitoridae*, il se fait par strobilisation d'un stolon épicardique sous-endostylaire comme chez les *Thaliacae* où d'ailleurs ce stolon gemmifère présente encore des aspects différents selon qu'il se réalise chez les *Doliolum*, les *Salpes* ou les *Pyrosomes*.

Chez les *Diazonidae* et l'*Aplidium zostericola*, c'est l'abdomen qui se strobilise; chaque strobile reconstitue un blastozoïde aux dépens d'un fragment épicardique et de deux fragments de l'anse digestive : le bourgeonnement y est bien entéroépicardique. Mais le bourgeonnement entéroépicardique des *Didemnidae* est notablement distinct puisque le thorax du blastozoïde s'édifie aux dépens de deux évaginations épica- diques sous-endostylaires de l'individu souche, tandis que son anse digestive dérive de l'anse digestive initiale.

Enfin, ainsi qu'il sera rappelé avec plus de détails dans la première partie de ce travail, le bourgeonnement mésoblastique des *Clavelines* est statoblastique, c'est-à-dire qu'il se réalise dans des fragments isolés de stolons, tandis que chez *Perophora*, le bourgeonnement mésoblastique est stolonial, les blastozoïdes se formant le long des stolons et restant en communication physiologique les uns avec les autres.

Les diverses modalités d'un même mode de bourgeonnement correspondent pour les organismes qui les présentent, à des positions différentes dans la phylogénie des Tuniciers. C'est-à-dire que l'évolution du bourgeonnement est parallèle et superposable à l'évolution morphologique ainsi que j'ai essayé de le montrer dans mes travaux précédents (1).

\* \* \*

Dans le bourgeonnement, les bourgeons sont toujours des fragments plus ou moins compliqués d'un ascidiozoïde. Ces fragments s'isolent soit morphologiquement (strobiles, statoblastes), soit physiologiquement, pour des raisons dont l'étude constitue un des problèmes les plus importants de la biologie et qu'il convient de poursuivre par une analyse expérimentale.

Or, on peut provoquer expérimentalement des phénomènes de régénération extrêmement étendus ainsi qu'un bon nombre d'auteurs l'ont montré depuis longtemps.

Entre la régénération expérimentale et la régénération naturelle par bourgeonnement, il n'existe aucune différence essentielle.

Bourgeonnement, régénération sont un même phénomène.

Les processus organogénétiques selon lesquels un strobile de *Polyclinidae* reconstitue un nouvel individu, sont identiques à ceux selon lesquels un *Circinalium* sectionné au niveau du postabdomen reconstitue son thorax et son abdomen (exp. de CAULLERY [2]).

La régénération d'un *Circinalium* sectionné au niveau de l'anse digestive est entéroépicardique exactement comme dans la régénération naturelle aux dépens de strobiles d'*Aplidium zostericola* et de *Diazona* (7, 43, 44).

M. DE SELYS-LONGCHAMPS (22) a montré que la reconstitution des organes internes d'une *Styela* éviscérée, se poursuit comme la formation d'un blastozoïde aux dépens du statoblaste de *Stolonica*.

Nous verrons dans la seconde partie de ce travail qu'il en est de même pour la régénération naturelle et la régénération expérimentale chez les *Clavelinidae*.

Expliquer l'une c'est expliquer l'autre, c'est-à-dire déterminer les facteurs qui provoquent : 1) la fragmentation d'une portion de l'individu bourgeonnant ; 2) la dédifférenciation des cellules primitivement différenciées morphologiquement et physiologiquement dans un sens, pour qu'elles puissent se différencier dans un autre, si possible ; 3) le réveil

(1) P. BRIEN, Notes sur le développement de l'épicarde des *Polyclinidae*. (*An. Soc. R. Zoologique de Belgique*, tome LX, 1929).

chez les cellules restées indifférenciées, comme une réserve embryonnaire parmi les cellules somatiques de la souche, d'un grand pouvoir de prolifération et des potentialités organogénétiques latentes ; bref, préciser les conditions et les processus physicochimiques, de ce que CHILD a si heureusement appelé *l'isolement physiologique*, nécessaire et préparatoire à la mise en marche du développement organogénétique proprement dit du bourgeon.

\* \* \*

L'ontogénèse peut se réaliser par voie embryogénétique ou blastogénétique. L'édification d'un nouvel organisme est la fonction soit de l'œuf fécondé, soit de certaines cellules somatiques capables de régénération.

Apparemment l'organogénèse dans la régénération se poursuit selon des processus différents de ceux de l'embryogénèse.

L'œuf des Tuniciers, par exemple, donne généralement naissance à un organisme qui, d'abord, ne rappelle l'adulte que de très loin : c'est une larve libre. En corrélation avec son comportement spécial et temporaire, cette larve, le têtard, possède des organes adaptatifs provisoires : ce sont, entre autres, la vésicule neurale munie d'un œil et d'un otolithe, l'organe propulseur, la queue.

De plus, au cours du développement ontogénétique, il apparaît outre ces organes larvaires provisoires, des organes qu'on nomme ancestraux, tels sont le tube neural et la chorde du têtard d'Ascidie, homologues tous deux au tube neural et à la chorde des chordés proprement dits.

Ces organes larvaires, ces organes ancestraux disparaissent lors de la métamorphose, quand la jeune ascidie se fixe et acquiert une structure et un comportement propres à l'adulte.

Or dans la régénération, le développement est simple et direct ; d'un bourgeon d'ascidie, se forme immédiatement une ascidie fixe et typique sans écart organogénétique ancestral ou larvaire.

L'œuf est donc plus riche en potentialités organogénétiques que le bourgeon. Cependant l'organogénèse dans la régénération et dans l'embryogénèse doit être conditionnée par des facteurs d'induction ou de corrélation essentiellement identiques.

L'action de ces facteurs de corrélation apparaît nettement dans les bourgeons. Dans la forme la plus simple en effet, le bourgeon animal est formé d'un amas de cellules toutes semblables, équivalentes. Les différenciations qu'elles prendront progressivement avec pour fin un organisme parfait et en harmonie physiologique, ne peuvent être

conditionnées que par les corrélations complexes que ces cellules présenteront entre elles.

Par contre dans l'embryogénèse, l'ébauche initiale est l'œuf, une cellule très spécialisée, et considérablement dilatée au cours du grand accroissement et de la maturation. Cette cellule subira les divisions de la maturation, la fécondation, la segmentation avant qu'elle ne se soit cellularisée en un amas de cellules, physiologiquement semblable à l'agrégat des cellules d'un bourgeon, et être, dès ce moment, l'objet de l'organogénèse.

Ainsi dans le développement embryogénétique, se superposent à l'organogénèse proprement dite, des processus très particuliers et préparatoires mais qui ne peuvent être considérés comme appartenant à l'organogénèse elle-même.

D'ailleurs les processus de maturation ne confèrent pas nécessairement à l'œuf ses propriétés organogénétiques, puisque dans la régénération toute cellule somatique indifférenciée les possède, et puisque dans les cas de sporogonie, chez les Dicyémides, les Trématodes, les Narcoméduses, des oogonies n'ayant pas subi les phénomènes de maturation, se divisent et se développent complètement.

Les premières phases embryogéniques sont liées aux nécessités physiologiques qu'entraîne la reproduction sexuée comme la dédifférenciation et l'isolement physiologique le sont aux nécessités physiologiques de la reproduction asexuée.

Il n'est pas moins vrai que l'œuf présente des propriétés qu'il impose par la suite à l'ébauche pluricellulaire organogénétique, blastula et gastrula, tels sa polarité, sa symétrie et parfois même des territoires protoplasmiques à potentialité organogénétique déjà définie. Il en résulte que la segmentation, c'est-à-dire la cellularisation de l'œuf est une mise en place de territoires organogénétiques dans l'ébauche pluricellulaire dont la polarité et la symétrie sont ainsi préétablies à sa formation.

Il s'agit là d'accélérations embryologiques plus ou moins accentuées.

Elles ne sont pas seulement propres à l'œuf mais aussi à certains cas de régénération où dans l'ébauche régénératrice, existent des organes ou fragments d'organes, susceptibles d'être utilisés, tels, par exemple, que les strobiles d'*Applidium zostericola* ainsi que nous l'avons rappelé précédemment.

Mais dans la régénération la plus simple, où l'ébauche est formée d'un agrégat de cellules toutes semblables, gémule, massif blastogénétique de Claveline, la polarité de l'ensemble, la symétrie, et enfin la différen-

ciation progressive ne peuvent s'établir que par l'interaction des cellules les unes sur les autres. L'organogénèse s'y réalise ainsi selon les processus les plus nets, par induction ou corrélation cellulaire.

Dans la régénération se posent donc les problèmes de la polarité, de la symétrie, de la différenciation progressive et inductive, c'est-à-dire les problèmes essentiels de toute organogénèse et par le fait même, de l'hérédité, puisque l'hérédité résulte de la répétition des mêmes causes actuelles de la physiologie embryonnaire, lesquelles, agissant sur le même substratum protoplasmique, provoquent de génération en génération, nécessairement l'apparition des mêmes organes.

\* \* \*

Le but du présent travail n'est pas d'analyser le problème complexe de la polarité dans la régénération artificielle chez les Clavelines, mais de déterminer sous quel aspect il se présente dans la régénération des stolons et des fragments œsophagiens, de préparer ainsi la voie à des expériences plus précises par une analyse histologique qui avait été volontairement laissée de côté par le grand initiateur de ces recherches, Hans DRIESCH.

Nous avons rappelé aussi les données récentes relatives au bourgeonnement chez les *Clavelinidae* dont les travaux généraux parus récemment n'ont pas tenu compte. En même temps quelques détails ont été apportés au sujet de la régénération et du bourgeonnement chez une nouvelle espèce de Claveline, *Clavelina phlegrea*, dont l'essentiel a été dit cependant dans une note préliminaire déjà publiée (Congrès national des Sciences, Bruxelles 1930).

Ces recherches ont pu être faites à Naples, et continuées au laboratoire de biologie animale de l'Université de Bruxelles, grâce à un subside généreusement accordé par la FONDATION UNIVERSITAIRES, à laquelle j'adresse ici l'expression de ma reconnaissance.

Je remercie aussi M. le Professeur R. DOHRN, directeur de la Station zoologique de Naples pour l'amabilité avec laquelle il m'a reçu en son laboratoire.

## CHAPITRE I

Régénération naturelle chez les *Clavelinidae*.A. — CHEZ *CLAVELINA LEPADIFORMIS*

Les bourgeons de *Clavelina lepadiformis* se forment aux dépens des stolons qui s'irradient du postabdomen et sont fixés aux algues ou aux pierres des grèves.

SEELIGER, VAN BENEDEEN et JULIN ont cru que les bourgeons de *Clavelina* restaient en rapport physiologique du moins momentanément avec la souche : c'est ce que montre le dessin classique de SEELIGER (50).

En réalité les bourgeons naissent dans des fragments du stolon et n'ont aucun rapport avec l'Ascidiozoïde initial (BRIEN-GAVAGE [4, 5]).

Les auteurs, cités plus haut, avaient déjà signalé l'importance du septum du stolon dans le bourgeonnement. D'après ces mêmes auteurs, ce septum serait une cloison double ou plus exactement encore un sac très allongé à cavité virtuelle, séparant sur tout le trajet du stolon deux sinus sanguins, un sinus afférent et un sinus efférent, ne communiquant entre eux qu'à l'extrémité distale du stolon.

Selon SEELIGER (50) ce sac fonctionnant comme cloison, serait un prolongement du péricarde, c'est ce que montre la figure qu'il en a donnée.

Pour VAN BENEDEEN et JULIN (53), cette cloison double proviendrait de l'épicarde. Le schéma de *Clavelina lepadiformis*, publié par KORSCHELT et HEIDER (34) repris par GODLEVSKY et BRACHET (1) tend à concilier ces deux interprétations, et présente ainsi une double erreur en faisant communiquer le septum avec l'épicarde et le péricarde.

En réalité le péricarde est un sac clos que ne dépasse pas postérieurement l'anse digestive, et d'autre part l'épicarde ne s'étend pas au delà de la portion antérieure du péricarde (fig. 1). Ni l'un ni l'autre de ces organes n'interviennent dans la formation du septum. Celui-ci par contre est une simple cloison mésenchymateuse plus ou moins mince selon les endroits stoloniaux et qui se prolonge par le mésenchyme périphérique tapissant l'ectoderme. C'est ce que montre le schéma ci-joint (fig. 1). Les cellules mésenchymateuses du septum dérivent elles mêmes des cellules lymphoblastiques de l'hæmocœle. Elles sont aussi peu différenciées quoique très étirées. Les cellules septales et les lymphocytes sont deux formes d'un même élément initial. D'autre part, le septum étant un élément essentiel aux dépens duquel se forme le bourgeon,

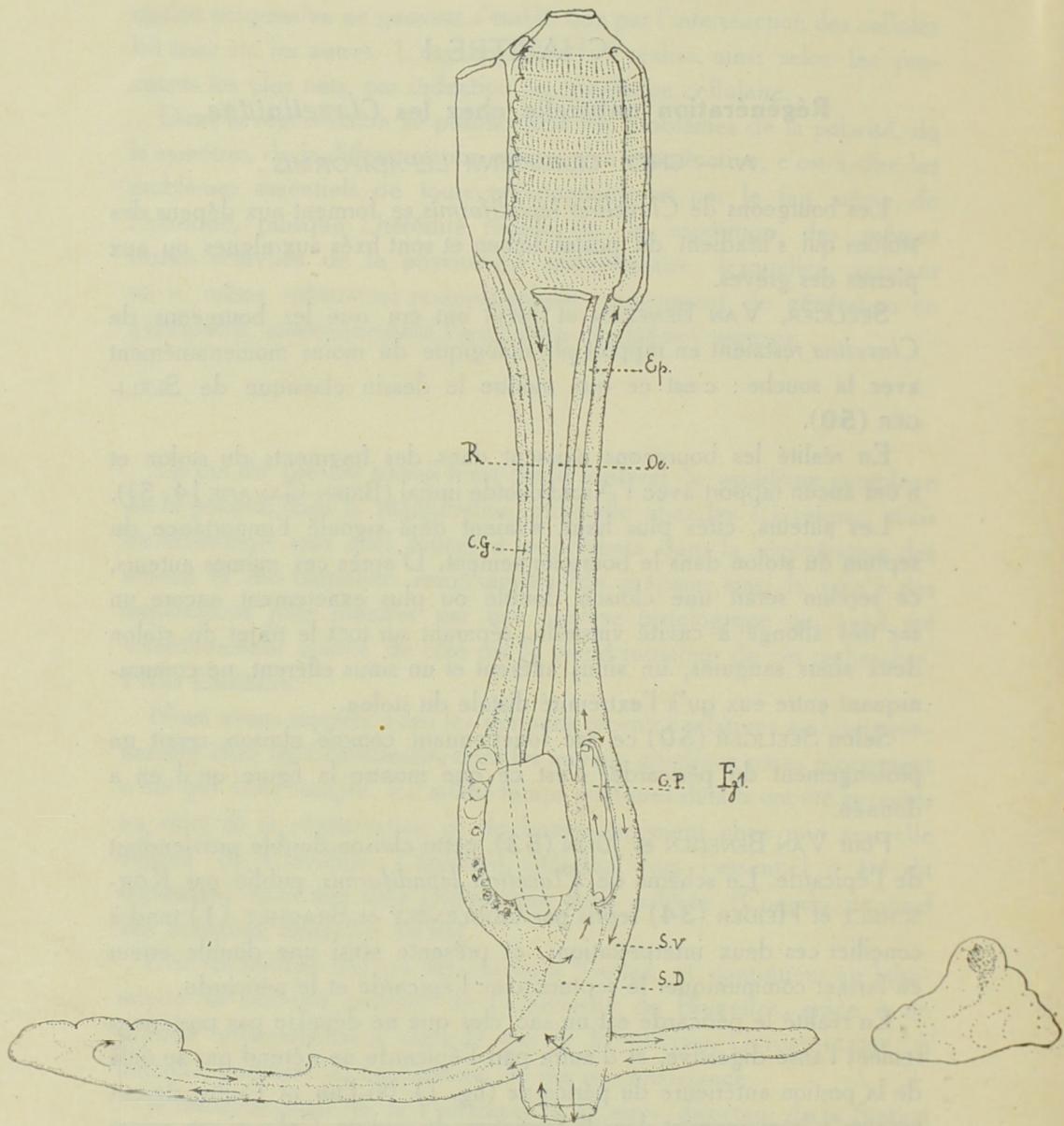


Fig. 1. — Schéma d'un ascidiozoïde bourgeonnant de *Clavelina lepadiformis* montrant :

- les trois segments du corps : le thorax, l'abdomen (régions œsophagiennes et stomacale), le postabdomen avec les stolons.
- l'origine mésenchymateuse du septum de l'haemocœle postabdominal et stolonial.
- le sens du courant sanguin, à un moment donné, dans les sinus latéroventral (*S. v.*) et latérodorsal (*S. d.*) du postabdomen, ainsi que dans les sinus afferent et éfferent de chacun des stolons.
- la dilatation distale du stolon gauche en une chambre bourgeonnante ; à droite, l'isolement d'une autre chambre bourgeonnante et où s'est produite la concentration d'éléments mésoblastiques en un massif ontogénétique.

*Ep.* = épicarde ; *Oe.* = œsophage ; *R* = rectum ; *C. P.* = org. cardiopéricardique.

le bourgeonnement est donc bien mésoblastique (BRIEN-GAVAGE [4, 5]).

\* \* \*

Chez les *Clavelina lepadiformis*, que l'on rencontre abondamment sur les côtes de la Manche et de la Méditerranée, les stolons en voie d'accroissement prennent un aspect variqueux, surtout à leurs extrémités distales ou aux points de bifurcation.

Ces dilatations, irrégulières, lobulées, grossissent, deviennent opaques, et d'un blanc crayeux ; bientôt elles s'isolent du stolon dont elles dérivent ; ce sont les *chambres bourgeonnantes*.

Les chambres bourgeonnantes ont une structure histologique un peu spéciale. La tunique est plus épaisse et plus compacte. L'ectoderme se dilate ; les cellules y deviennent très hautes et cylindriques. Chacune de ces cellules présente une zone périphérique deutoplasmique, bourrée de sphérolites homogènes et acidophiles ou granuleuses, les granules étant fortement basophiles. La portion interne de chaque cellule ectodermique est, par contre, claire, vacuolisée. Entre ces deux portions on distingue le noyau parfois accolé à l'une des cloisons latérales de la cellule et possédant un gros caryosome central en même temps que de petits grains chromatiques périphériques (fig. 2, 3).

La cavité de la chambre bourgeonnante est encombrée d'éléments de réserve : ce sont des cellules énormes à grosses inclusions basophiles, généralement sphériques, en phagocytose ou en désintégration. SPEK (54) y a décrit sur le vivant, la présence de cellules vacuolaires dont il sera question plus loin.

Ces chambres ainsi bourrées de cellules, constituant une sorte de pseudovitellus ont été dénommées par SEELIGER, chambres nourricières parce que cet auteur les supposait destinées à fournir les réserves nécessaires aux bourgeons en voie de formation dans le voisinage. En réalité, ces chambres renferment elles-mêmes, une ébauche blastogénétique. Celle-ci est représentée par un massif de cellules ayant toutes l'aspect de lymphoblastes, c'est-à-dire de petites cellules à cytoplasme peu abondant, légèrement basophile, autour d'un noyau vésiculeux et clair à gros caryosome central (fig. 1, 2). D'après la structure et l'aspect de ce massif, on se rend aisément compte qu'il provient d'une concentration des cellules du septum, lequel s'est plus ou moins désagrégé lors de l'isolement de la chambre bourgeonnante. Il s'y adjoint également des lymphocytes restés libres dans la cavité hæmocœlienne.

C'est ce que montre la fig. 2. Ce massif se reconstitue dans les lobes

dorsaux de la chambre, opposé ainsi à la face de fixation. Il ne tarde pas à se creuser et donne une vésicule blastogénétique d'où dériveront la plupart des organes du blastozoïde ; l'ectoderme du lobe sous lequel

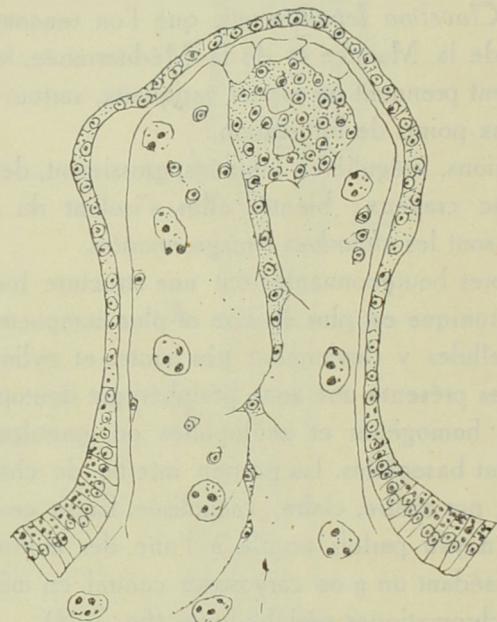


Fig. 2. — Formation du massif mésoblastique dans un lobe dorsal d'une chambre bourgeonnante de *C. lepadiformis*, par condensation des cellules septales, mésenchymateuses indifférenciées. (4, 1927).

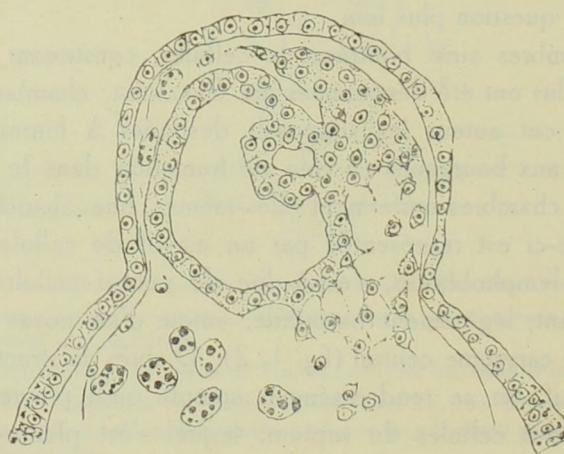


Fig. 3. — Formation aux dépens du massif mésoblastique dans un lobe dorsal de la chambre bourgeonnante de *C. lepadiformis*, de la vésicule endoblastique du blastozoïde. (4, 1927).

s'est constituée l'ébauche bourgeonnante ne donnant que l'ectoderme du nouvel ascidiozoïde (fig. 3).

Au fur et à mesure de la croissance du blastozoïde, la chambre bourgeonnante se vide, et finit par disparaître, complètement résorbée.

Les chambres bourgeonnantes se forment pendant toute l'année, du moins sur les côtes de la Manche. Mais elles y sont particulièrement bien développées à l'approche de l'hiver.

Quand les Clavelines meurent et se désagrégent, à leur emplacement subsistent, étroitement fixées aux supports, les chambres bourgeonnantes, capables de résister aux mauvaises conditions de l'hivernation. Dès que le printemps revient, les phénomènes organogénétiques très lents, dont elles étaient le siège au cours de l'hiver, se précipitent et de chacune d'elles surgit le blastozoïde.

Les chambres bourgeonnantes, jouent le rôle d'hibernacula, de gemmules ou de statoblastes. Le bourgeonnement des Clavelines est donc un *bourgeonnement mésoblastique statoblastique*.

Ces chambres bourgeonnantes existent également sur les côtes de la Méditerranée, à Naples par exemple où je les ai observées. Mais elles sont moins importantes. Il arrive d'ailleurs que pendant la période de bourgeonnement interne, elles ne diffèrent guère d'un fragment de stolon légèrement plus opaque. C'est ce qui ressort d'ailleurs des descriptions de SEELIGER (50), Paolo DELLA VALLE (21) et de Mario SALFI (44, 45).

Mais la formation de bourgeons y est la même, Mario SALFI a d'ailleurs confirmé l'origine mésoblastique du bourgeon (1926-1927 [44, 45]).

Ultérieurement aussi, SPEK (1927 [52]) a dessiné les massifs et la vésicule blastogénétiques que nous décrivions plus haut. Mais cet auteur suppose qu'à la formation de ces ébauches blastogénétiques concourent des cellules du mésenchyme très spéciales, cellules amiboides, renfermant une vésicule de substance colorable sur le vivant au rouge neutre, et qui seraient omnipotentes.

Nous avons pu retrouver fort aisément ces éléments cellulaires dont nous avons tâché de préciser le rôle. Ces cellules peuvent être considérées comme des cellules trophiques, on ne peut voir en elles les cellules blastogénétiques proprement dites. Dans le bourgeon, seules les cellules mésenchymateuses indifférenciées, lymphoblastiques, le sont. Nous reviendrons sur ce point dans la seconde partie de notre travail.



Il est curieux de retrouver un mode de bourgeonnement presque identique chez les Pérophores qui appartiennent cependant aux *Phlebobranchiata* et sont voisines des *Phallusia* (6).

Mais chez ces formes aberrantes, les vaisseaux du test, homologues d'ailleurs au système stolonial des *Aplousobranchiata*, au lieu d'être enrobés dans la tunique ainsi qu'ils le sont chez les *Phlebobranchiata* typiques, sont libres et ramifiés sur le support. Ils redeviennent gemmifères. Le septum est l'élément blastogénétique essentiel. Or, ce septum n'est ni épicardique — il n'y a pas d'épicarde ni chez les Pérophores, ni chez les *Phallusiadae* — ni péricardique ; il est mésenchymateux (BRIEN-GAVAGE, 1927 [6]).

C'est-à-dire que le bourgeonnement est mésoblastique chez *Perophora* comme chez *Clavelina*. Cependant, chez les Pérophores, les bourgeons restent en rapport physiologique et constituent de vraies colonies.

Le bourgeonnement de *Perophora* est *mésoblastique stolonial*.

#### B. — RÉGÉNÉRATION ET BOURGEONNEMENT CHEZ *CLAVELINA PHLEGREA*

Mario SALFI (46) a découvert en 1929 une nouvelle espèce de *Clavelina*, *Cl. Phlegrea*, qui, d'après l'auteur est fort voisine de *Cl. lepadiformis*, mais constitue des colonies dont les abdomens, et les postabdomens stoloniaux sont enrobés dans une tunique commune à la façon des colonies de *Diazona*. Dans la masse de la tunique commune, les stolons de chaque individu se ramifient, s'intriquent tout en présentant sur leur parcours des dilatations irrégulièrement lobulées à la façon des chambres stoloniales de *Clavelina lepadiformis* mais beaucoup plus nombreuses.

SALFI a reconnu également dans la tunique commune parmi les lacis de stolons, des petits ascidiozoïdes qu'il a supposé être issus par un mode de bourgeonnement mésoblastique à la façon de *Clavelina lepadiformis*.

En février et en mars 1930, j'ai eu l'occasion, au laboratoire de Naples, de reprendre l'étude de cette espèce de Claveline.

Je les ai obtenues au lac de Fusaro et de Mare Morto, deux lagunes du golfe de Naples où l'eau présente une salinité légèrement supérieure à celle du golfe en été et inférieure en hiver.

Les *C. Phlegrea* y sont très nombreuses. Mais à l'époque de mes récoltes, février et mars, elles n'ont pas l'aspect que nous leur connaissons d'après la description de SALFI. On trouve en effet sur les murailles des

rives de ces lagunes, parmi les nombreuses colonies d'une variété de *Cl. lepadiformis*, très grandes et en pleine reproduction sexuelle, des touffes de rhizomes courts, ramifiés et irréguliers, intriqués et étroitement soudés les uns aux autres en même temps que solidement incrustés dans les pierres des berges. Ces rhizomes sont en tunique. Au lac de Fusaro, ils sont généralement minces et grêles, ramifiés, recouverts superficiellement d'un dépôt opaque brun chocolat. L'extrémité distale est tronquée et la surface de section parfaitement transparente laisse voir des masses jaunâtres enrobées dans la tunique. La fig. 4 représente une touffe de ces rhizomes dont les différentes branches ont été écartées les unes des autres.

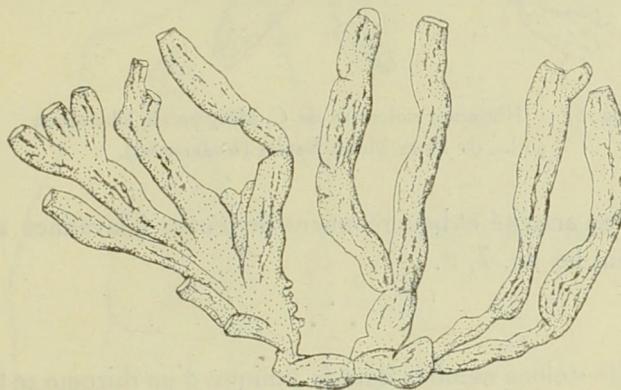


Fig. 4. — Rhizomes stoloniaux de *C. phlegrea* en hibernation au lac Fusaro-Naples (février-mars).

Au lac de Mare Morto, les rhizomes sont plus robustes, généralement en forme de massue, le gros bout libre, émergeant d'une masse mamelonnée et irrégulière. Ils sont translucides et l'on voit dans la tunique des linéaments également d'un brun jaunâtre, surtout apparents à l'extrémité libre (fig. 5).

Si l'on fait une coupe longitudinale dans ces rhizomes, on constate que chacun d'eux renferme, enrobé dans sa tunique transparente, d'une consistance cartilagineuse et apparemment homogène, un lacsis de stolons le long desquels s'égrènent des dilatations lobulées (fig. 6).

Il ne peut être question de rapprocher ces rhizomes de *Rhopalea*, ni d'une colonie de *Diazona* hivernant. Par contre ils présentent les caractères signalés par Mario SALFI au sujet de la tunique basilaire de *C. Phlegrea*. C'est-à-dire qu'ils seraient la forme hivernante de cette espèce de Claveline. La démonstration est aisée à faire si l'on attend

le printemps, ou si l'on place les rhizomes dans des aquariums thermostatiques maintenus à une température de 22 à 25 degrés. Ces rhizomes

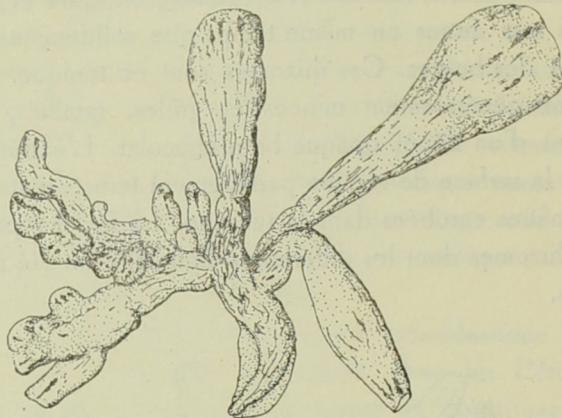


Fig. 5. — Rhizomes stoloniaux de *C. phlegrea* en hibernation au lac de Mare Morto-Naples (février-mars).

entrent alors en activité et bourgeonnent de jeunes Clavelines ainsi que le représentent les fig. 7, 8.

\* \* \*

Les lacs de stolons enrobés dans la tunique d'un rhizome se terminent au sommet de celui-ci par des dilatations stoloniales visibles d'ailleurs par transparence, ou par des masses opaques blanc jaunâtre, ovoïdes, beaucoup plus grosses que les simples dilatations stoloniales et qui se révèlent être des abdomens d'ascidiozoïde amputés de leur thorax (fig 6).

C'est-à-dire qu'au début de l'hiver *C. Phlegrea*, comme les *Diazonidae* (*Diazona*, *Rhopalopsis*, *Rhopalea*) perd le thorax, pour conserver pendant la mauvaise saison l'abdomen enrobé et protégé dans une tunique épaisse et résistante. D'après la description de SALFI et ainsi que le montre la fig. 9, les thorax sont libres et entourés chacun d'une tunique mince et souple. *Les colonies de C. Phlegrea se trouvent donc dans les mêmes conditions éthologiques que les Diazonidae et comme celles-ci, présentent le même comportement*, contrairement aux *Clavelina lepadiformis* où les ascidiozoïdes entièrement libres ne sont enveloppés que de leur mince tunique propre et où seules les chambres bourgeonnantes à tuniques épaisses résistent.

Les abdomens amputés du thorax et qui ont passé l'hiver régénèrent au printemps ; la fig. 6 nous montre un de ces abdomens en voie de

régénération. Nous en verrons l'organogénèse à propos de la régénération de l'abdomen de *C. lepadiformis*. Signalons simplement que les organes du nouveau thorax, comme il fallait s'y attendre, se reconstituent à partir de l'épicarde. Aussitôt que l'épicarde forme la première vésicule, ébauche du pharynx et des cavités péribranchiales (fig. 6), la tunique de la section terminale du rhizome s'épaissit, forme un dôme où s'engage le nouveau thorax.

Cette régénération abdominale est une simple conséquence de la structure de la tunique chez les *C. phlegrea*. Elle permet de reformer

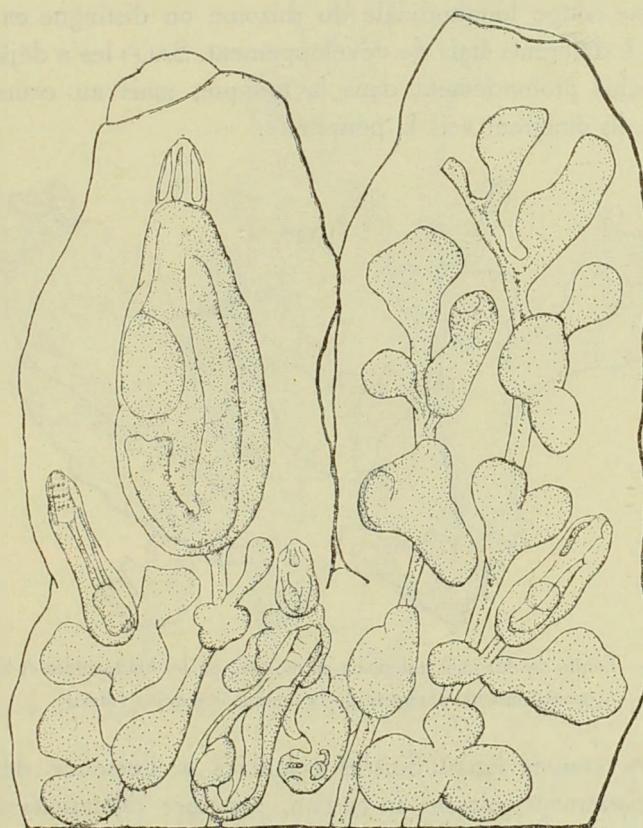


Fig. 6. — Section longitudinale dans deux branches de rhizome hivernant de *C. phlegrea* montrant :

- les stolons variqueux enrobés dans la tunique commune.
- un abdomen d'un ascidiozoïde de l'année précédente, reconstituant un nouveau thorax sous un dôme de nouvelle tunique formée à la section de l'amputation hivernale (branche gauche).
- blastozoïdes aux différents stades organogénétiques, depuis le stade de vésicule endoblastique dans les dilatations stoloniales (branche droite) jusqu'au stade de blastozoïde complet prêt à émigrer vers la périphérie (branche gauche).

certains ascidiozoïdes de l'année précédente, comme le fait *Rhopalea*, mais n'intervient nullement dans l'accroissement de la colonie, alors que chez les *Diazona*, ainsi que l'ont décrit CAULLERY (14) et SALFI (43), l'abdomen amputé et enrobé dans la tunique commune, se strobilise, multipliant par régénération de ces strobiles, les individus de la colonie qui s'accroît ainsi sans cesse.

L'accroissement de la colonie de *C. Phlegrea* est due au bourgeonnement proprement dit, dont nous allons nous occuper maintenant.

Dans une coupe longitudinale du rhizome on distingue en effet des bourgeons à différents états de développement. SALFI les a déjà signalés. Ils sont inclus profondément dans la tunique, mais au cours de leur croissance, ils émigrent vers la périphérie.

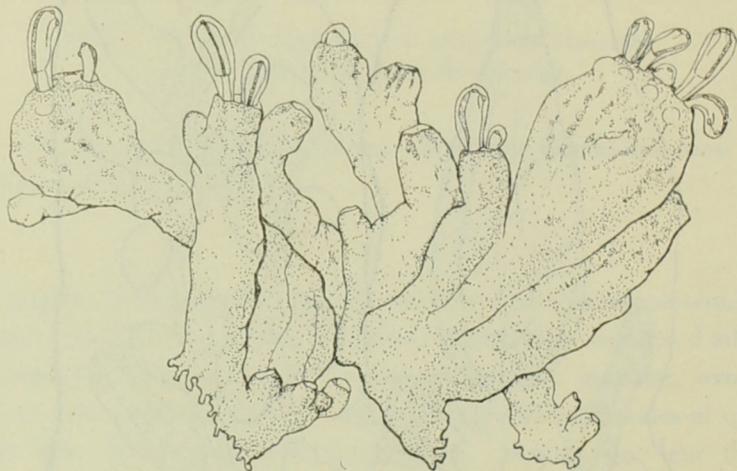


Fig. 7. — Touffe de rhizomes stoloniaux au moment où les blastozoïdes et les thorax en régénération émergent de la tunique commune (mars).

Dans les coupes longitudinales éclaircies à l'essence de bois de cèdre et légèrement colorées au carmin, certaines dilatations stoloniales montrent une vésicule endoblastique, identique à la vésicule endoblastique du bourgeon de *C. lepadiformis* (fig. 6). Les dilatations stoloniales seraient donc bien homologues aux chambres bourgeonnantes de *C. lepadiformis*.

L'examen histologique sur coupes montre d'ailleurs que dans l'espèce qui nous occupe, le bourgeonnement est bien mésoblastique.

Les stolons ont les caractères de ceux de *C. lepadiformis*, et le septum stolonial est ici comme dans l'autre espèce, une paroi mésenchymateuse en continuité avec le mésenchyme périphérique sous-ectodermique.

Dans les dilatations ou chambres stoloniales, les tractus mésenchymateux se maintiennent, se ramifiant selon les lobulations de la chambre. Entre les grandes mailles de ce vague réseau de tractus mésenchymateux, la cavité de la chambre est occupée par de grandes cellules, à grosses inclusions basophiles, phagocytaires, identiques à celles que nous

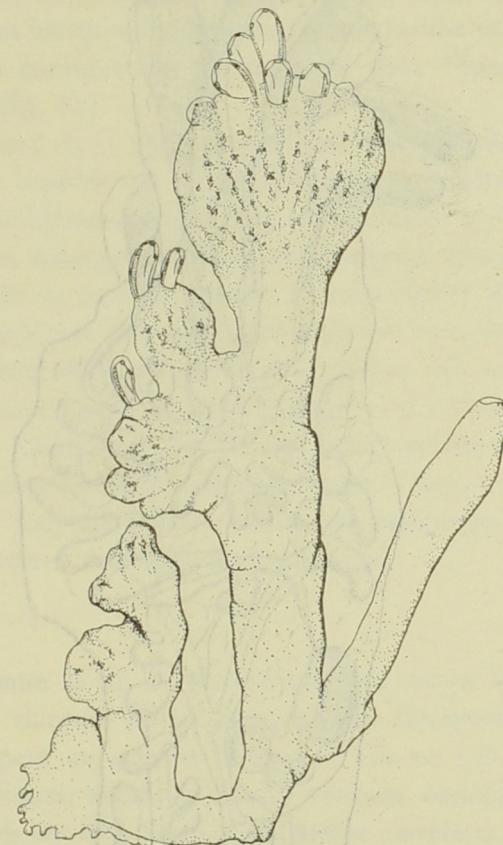


Fig. 8. — Rhizome stolonial, au moment de la sortie des blastozoïdes (mars).

avons décrites chez les *C. lepadiformis*. D'autre part il existe des leucocytes de différents aspects et enfin les lymphocytes. Entre les lymphocytes et les cellules mésenchymateuses, il est difficile d'établir d'ailleurs des distinctions radicales. Ils semblent bien être les deux aspects d'une évolution réversible d'un même élément, le lymphoblaste.

L'ectoderme des chambres stoloniales est par contre très différent de l'ectoderme des chambres bourgeonnantes de *C. lepadiformis*. Les cellules n'y sont pas cylindriques, tout au plus cubiques, et ne présentent pas les inclusions deutoplasmiques décrites dans l'autre espèce. Certaines de ces chambres stoloniales sont blastogénétiques comme le sont les chambres bourgeonnantes de *C. lepadiformis*. Le septum y est

rompu et les éléments mésenchymateux condensés en un massif dont les cellules ont repris l'aspect de lymphocytes, c'est-à-dire de petites

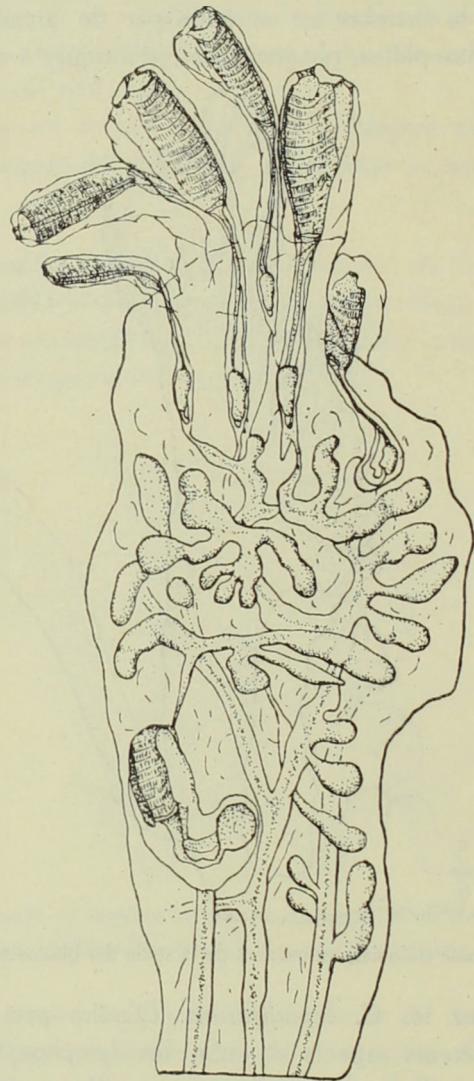


Fig. 9. — Coupe longitudinale d'un rameau de rhizome stolonial au moment où les siphons des jeunes ascidiozoïdes s'ouvrent et fonctionnent.

On y voit aussi la tunique commune nouvelle, prolongeant le rhizome initial et enveloppant les régions abdominales des ascidiozoïdes.

cellules étroitement accolées, et dont le cytoplasme légèrement basophile entoure un noyau clair à caryosome central (fig. 10).

Ce massif présente une solution de continuité avec les septums des stolons qui aboutissent à la chambre bourgeonnante, mais celle-ci, con-

trairement à ce qui se passe chez les *lepadiformis*, ne s'est pas isolée du reste des stolons.

L'organogénèse suit les processus connus. Le massif se creuse (fig. 11) et forme la vésicule endoblastique aux dépens de laquelle s'édifieront tous les organes des blastozoïdes. Cependant une portion du massif reste libre, et servira à constituer le mésenchyme dans l'haemocoele du nouvel organisme (fig. 12).

*Le bourgeonnement de C. phlegrea est donc bien mésoblastique tout comme celui de C. lepadiformis.* Il s'en distingue cependant en ce que la portion stoloniale blastogénétique reste en continuité avec les stolons dont elle fait partie, quoique l'ébauche du bourgeon elle-même se soit complètement isolée du reste du septum. Il est probable d'ailleurs que lors de la croissance, les blastozoïdes accentuent leur individualité et acquièrent un système stolonial propre. Les stolons sont si étroitement intriqués qu'il ne nous a pas été possible de préciser ce point.

Comme chez *C. lepadiformis* les cellules régénératrices sont bien des cellules mésenchymateuses indifférenciées, ayant l'aspect de lymphoblastes, et pas du tout des cellules vacuolaires auxquelles SPEK aurait voulu attribuer un rôle si actif dans la régénération.

\* \* \*

Ainsi que le montre la fig. 6, représentant une coupe longitudinale d'une portion de rhizome de *C. phlegrea*, les bourgeons de cette espèce se développent au sein de la tunique. On en voit à différents stades organogénétiques, depuis la simple vésicule endoblastique jusqu'au moment où ils ont déjà l'aspect de petites clavelines.

Alors tout comme chez les *Polyclinidae* où les *Polycitoridae*, ces blastozoïdes se déplacent dans la tunique pour venir émerger généralement au sommet du rhizome ainsi que le montrent les fig. 7, 8.

Cette floraison des jeunes blastozoïdes au sommet du rhizome se réalise au printemps, au moment où les processus blastogénétiques ralentis au cours de l'hiver, se trouvent considérablement accélérés.

Au point d'émergence du jeune thorax, la tunique s'épaissit, forme un petit dôme (fig. 6, 7, 8), qui gonfle à la façon d'une pustule au fur et à mesure que le thorax surgit. Ce dernier s'introduit dans ce dôme de tunique nouvelle et ainsi progressivement le nouveau thorax acquiert son revêtement propre, de tunique mince, souple et transparente.

Les jeunes thorax libres forment de véritables bouquets au sommet du rhizome hivernant. Ils ont généralement la même orientation. Elle est conditionnée sans doute par la gravitation car les thorax se dressent ver-

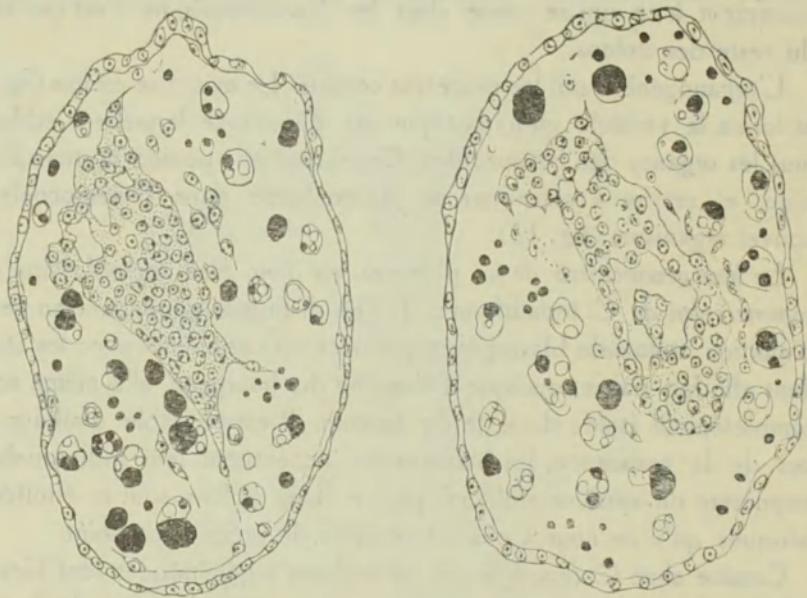


Fig. 10. — Massif blastogénétique mésoblastique de *C. phlegrea*, formé de cellules septales, mésenchymateuses indifférenciées, dans une dilatation stoloniale.

Fig. 11. — Début de la formation de la cavité centrale dans le massif blastogénétique de *C. phlegrea*.

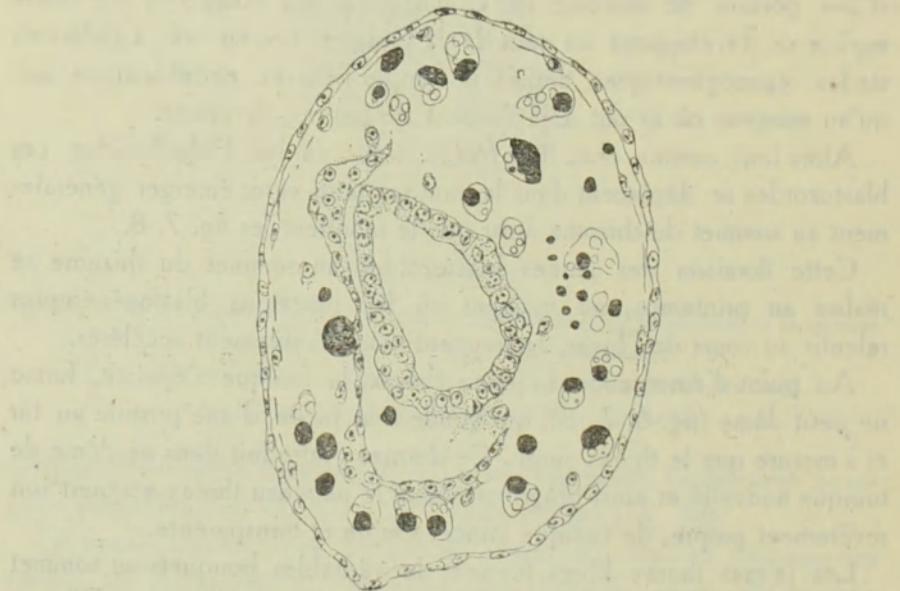


Fig. 12. — Vésicule endoblastique du blastozoide de *C. phlegrea*.

ticalement. Ils sont aussi très souvent tournés dans le même sens, ce qui fait supposer que la lumière pourrait avoir une influence sur leur orientation. Ce sont là de simples remarques qu'il conviendrait de préciser.

À un certain moment de croissance, ces jeunes blastozoides se distinguent difficilement du ou des autres thorax provenant de la régénération d'abdomens d'ascidiozoïdes de l'année précédente, et qui ont hiverné. Tous ensemble ils constituent au sommet du rhizome des coénobies. La fig. 9 nous en représente un fragment au moment où les thorax nouvellement formés, ouvrent leurs siphons et commencent à fonctionner.

Les nouveaux ascidiozoïdes s'accroissent, et émergent de plus en plus de ce qui fut le rhizome d'hiver. Les abdomens eux mêmes s'élèvent, entourés de nouvelles tuniques communes, lesquelles ne tardent pas à s'épaissir, de telle sorte que le nouveau manchon de tunique commune aux abdomens d'ascidiozoïdes, surmonte ce qui était le rhizome initial.

Il arrive d'ailleurs que les ascidiozoïdes bourgeonnant au sommet du rhizome hivernant, se groupent en deux ou trois coénobies, de telle sorte que le rhizome se bifurquera à son sommet en s'allongeant, à la façon des colonies de *Colella*, telles par exemple que les *Colella* décrites par SALFI (41, 42).

Enfin les blastozoides nés à l'intérieur de la tunique peuvent surgir non au sommet du rhizome mais latéralement (fig. 7, 8). Ils sont alors le point de départ des ramifications assez irrégulières que présentent les rameaux hivernants.

Ainsi non seulement la colonie de *C. phlegrea* se reconstitue par régénération des abdomens, mais s'accroît, se ramifie par bourgeonnement mésoblastique aux dépens des chambres stoloniales blastogénétiques.

Le nombre des générations qui se sont succédées dans la formation d'une colonie peut s'évaluer approximativement par les lignes de démarcation qui subsistent assez nettement sur les branches des rhizomes et surtout aux nœuds de bifurcation.

Il résulte qu'il importera d'apporter une légère modification à la description que nous a donnée M. SALFI, d'une colonie de *C. phlegrea*.

Les ascidiozoïdes d'une colonie n'ont pas tous leurs abdomens réunis en une masse commune, comme le sont ceux d'une colonie de *Diazona*. Mais ces ascidiozoïdes constituent plutôt de petites coénobies dont les abdomens sont groupés en rhizomes ramifiés un peu à la façon des colonies de *Circinalium concrescens*, avec cette différence que dans chaque coénobie les thorax restent indépendants dans leur tunique propre comme des thorax de *Diazona*.

## CHAPITRE II

**Régénération expérimentale des stolons  
de *Clavelina lepadiformis***

A. — RÉGÉNÉRATION DES FRAGMENTS DISTAUX DE STOLONS

Nous savons, d'après les travaux de DRIESCH (24, 25), et de P. DELLA VALLE (21), que les stolons de *Clavelina lepadiformis* ont un grand pouvoir de régénération. Notre but en reprenant cette étude était de reproduire expérimentalement les processus blastogénétiques du bourgeonnement et d'observer autant que possible sur le vivant les phénomènes histologiques qui les accompagnent et tout particulièrement de déterminer exactement le rôle des cellules vacuolaires décrites par SPEK (52).

Afin de nous placer dans des conditions les plus voisines du bourgeonnement, les extrémités distales des stolons seules furent isolées, mais à un moment où rien ne faisait prévoir le bourgeonnement et où ces fragments stoloniaux étaient bien transparents. Ces circonstances étaient d'ailleurs nécessaires pour l'examen microscopique à l'immersion du matériel frais.

Les Clavelines qui furent plus particulièrement l'objet de ces observations avaient de longs stolons et provenaient du Port militaire de Naples. L'expérience fut faite en mars.

Les segments stoloniaux distaux isolés artificiellement étaient simples ou le plus souvent bifurqués afin de pouvoir plus aisément les orienter à chaque examen. Les résultats sont d'ailleurs identiques dans les deux cas.

Les fragments stoloniaux sectionnés ont été placés en grand nombre dans des boîtes de Pétri, fermées afin d'empêcher l'évaporation. Chaque jour, quelques fragments étaient examinés de façon à établir pendant les dix jours d'observation, la moyenne du stade en fonction du temps.

Une partie du matériel prélevé chaque jour était observée sur le vivant, une autre fixée au Bouin sans acide acétique de façon à confirmer par la méthode des coupes les premières observations.

Les fragments de stolons qui étaient destinés à l'examen sur le vivant séjournaient au préalable dans une solution très diluée de rouge neutre, celle préconisée par SPEK lui-même, de façon à provoquer la coloration des vésicules cytoplasmiques des cellules mésenchymateuses que cet auteur a décrites. Enfin, pour rendre l'examen plus aisé et plus précis,

le fragment stolonial ainsi coloré était détuniqué soigneusement de façon à ne provoquer aucune blessure, puis il était placé entre lame et lamelle.

Les stolons traités de cette façon ont une teinte rosée due à la coloration des vésicules des cellules vacuolaires. La teinte n'est pas uniforme mais généralement plus intense à l'extrémité distale. Cette intensité de la coloration dépend naturellement de la densité des cellules vacuolaires, les seules qui soient colorées. À l'examen microscopique, même au faible grossissement, ces cellules sont très visibles. Elles se détachent nettement, comme de petites taches arrondies ou ovalaires d'un rouge rubis, sur la teinte pâle du reste du stolon (fig. 13).

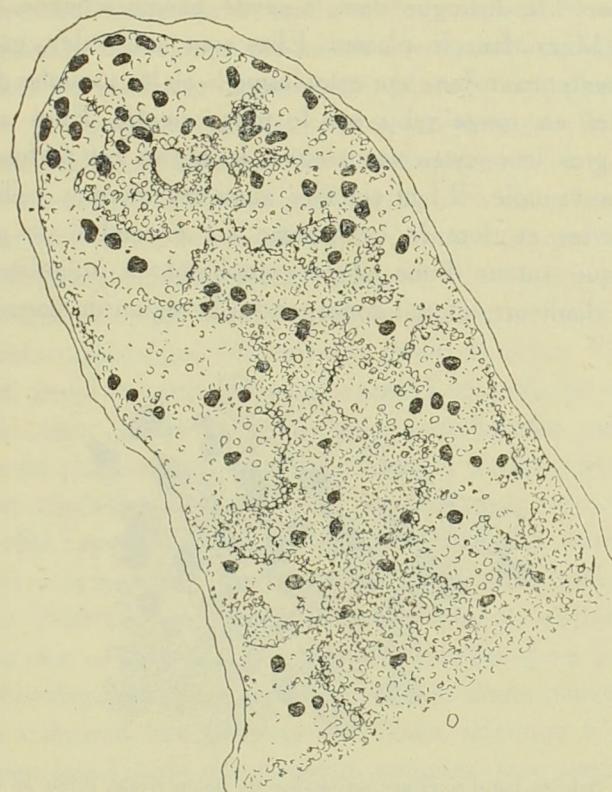


Fig. 13. — Schéma fait d'après une préparation d'un stolon vivant coloré au rouge neutre, vue à un faible grossissement et montrant la répartition des cellules vacuolaires (taches noires), des cellules septales et lymphocytaires (trainée centrale dans la cavité du stolon).

Elles sont réparties dans toute la cavité haemocœlienne avec une légère concentration à la périphérie contre l'ectoderme, et à l'extrémité distale. Mais, si nombreuses et frappantes soient-elles, elles sont loin d'occuper tout l'haemocœle du stolon.

La fig. 13 nous montre approximativement la répartition des cellules vacuolaires dans un stolon observé immédiatement après la section, à un faible grossissement. Les vacuoles colorées au rouge neutre sont représentées par des taches noires, réparties ainsi que nous l'avons dit plus haut. On constate déjà à ce faible grossissement, l'importante trainée mésenchymateuse qui occupe l'axe du stolon et une grande partie de la cavité haemocœlienne. C'est le septum. Il paraît irrégulier par suite des tractus mésenchymateux qui le rattachent, à travers les sinus stoloniaux, à l'ectoderme, et aussi par suite des agglomérations de lymphocytes qui, passivement entraînés par le plasma, se fixent entre les mailles des tractus mésenchymateux stoloniaux, ou adhèrent au septum même.

La fig. 14 nous montre une portion de ce même fragment stolonial vu à l'immersion. On distingue dans la cavité haemocœlienne les cellules vacuolaires libres dans le plasma. Elles sont amiboides, généralement arrondies, renfermant dans leur cytoplasme la ou les vacuoles déformables et colorables en rouge rubis par le rouge neutre. Elles apparaissent comme de gros leucocytes vacuolaires, le noyau est parfois visible et accolé à la vacuole. Il faut signaler aussi les énormes cellules leucocytaires inertes et dont le cytoplasme est encombré de granulations blanc opaque autour d'une plage cytoplasmique irrégulière, souvent indistincte d'ailleurs, et qui correspond à la région du noyau.

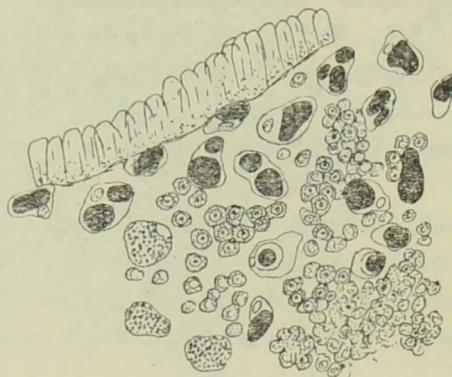


Fig. 14. — Schéma fait d'après une préparation de stolon vivant, coloré au rouge neutre, et vue à un fort grossissement montrant les cellules à vacuole (en noir sur le dessin), les leucocytes granuleux et les lymphocytes : petites cellules indifférenciées avec caryosome.

Ces cellules, par la contraction que subit la chambre bourgeonnante ou le stolon en régénération, donnent ultérieurement à ce fragment du stolon la teinte blanc crayeux caractéristique.

Les cellules les plus nombreuses sont les petites cellules non colorées,

les unes libres, les autres agglomérées en îlots ou en tractus se continuant par le septum : ce sont les lymphocytes ou cellules primordiales et les cellules mésenchymateuses. Il n'est pas possible d'établir de distinction entre les unes et les autres : lymphocytes libres et déplacés par la circulation du plasma, cellules mésenchymateuses accolées et en tractus, ont la même structure : leur diamètre ne dépasse guère 5 à 6  $\mu$ ; le cytoplasme y est peu abondant, homogène ; il apparaît bleuâtre par réfringence ; le noyau est clair, arrondi, et, en son centre, il est possible parfois de distinguer un nucléole réfringent.

Ces cellules ont donc sur le vivant les mêmes caractères que dans le matériel fixé décrit précédemment (fig. 2, 3, 10, 11, 12).

L'examen sur le frais nous confirme dans l'idée que les lymphocytes et cellules mésenchymateuses ne sont que deux aspects réversibles de mêmes éléments. Il faut ajouter cependant que dans les cellules septales les caryosomes ou nucléoles apparaissent généralement plus distincts. D'autre part, les lymphocytes passivement entraînés par le sang présentent parfois de légères déformations pseudopodiales.

Lorsque l'examen du stolon se prolonge au delà d'une heure, on est frappé de l'activité de certaines cellules qui d'abord passent inaperçues, parmi les lymphocytes. Elles en ont l'aspect histologique, mais sont franchement amiboides. Il semble que cette activité soit accrue par les conditions défavorables dans lesquelles se trouve le stolon. Ces amibocytes glissent parmi les cellules granuleuses et les cellules vacuolaires qu'elles embrassent parfois dans leurs longs pseudopodes comme dans un processus de phagocytose. Dans les chambres bourgeonnantes, dans les stolons en régénération dont il sera question dans un moment, on constate en effet l'apparition rapide de cellules énormes, distendues par des inclusions et paraissant bien être des éléments cellulaires phagocytés. Or, la chambre bourgeonnante, les stolons en régénération, se trouvent dans des conditions également défavorables pour bon nombre d'éléments histologiques du stolon. Ceux-ci sans doute peuvent s'histolyser, ce qui amènerait leur phagocytose. Notre intention n'est pas de poursuivre plus loin l'étude des éléments sanguins, mais simplement de signaler les cellules qui vont intervenir dans la régénération.

\* \* \*

Vingt-quatre heures après la section, les fragments stoloniaux présentent quelques modifications importantes.

Ainsi que l'avaient signalé DRIESCH (24, 25) et Paolo DELLA

VALLE (21), le stolon s'est fortement contracté. Cette contraction se poursuit d'ailleurs pendant plusieurs jours et ramène parfois le fragment stolonial au tiers ou à la moitié de ce qu'il était primitivement.

Occupant un plus faible volume, les éléments décrits précédemment sont plus condensés. Sans contester que les leucocytes granuleux et vacuolaires peuvent augmenter en nombre, leur densité plus grande est pour beaucoup dans l'impression qu'ils donnent d'être plus nombreux dans l'haemocœle du stolon. Les grosses cellules phagocytaires — du moins ce que nous avons interprété comme telles — se sont certainement multipliées. Aussi le stolon devient très opaque. Mais parmi ces leucocytes, les lymphocytes et les cellules mésenchymateuses ont conservé leur aspect et leur importance. Elles aussi se sont concentrées, formant des agglomérations, spécialement à l'extrémité proximale où s'est produite l'incision. Si dans le fragment stolonial, elles sont masquées par de gros leucocytes, une légère pression peut provoquer la déchirure de l'ectoderme et la sortie du contenu de l'haemocœle où les lymphocytes réapparaissent identiques en nombre et en forme à ce qu'ils étaient précédemment (fig. 15, 17).

La fig. 15 représente d'ailleurs une coupe longitudinale d'un stolon fixé peu de temps après l'incision et montrant déjà les processus de condensation, surtout chez les éléments mésenchymateux et lymphocytaires.

Les cellules phagocytaires ont déjà fait leur apparition. Les cellules vacuolaires y sont reconnaissables sous forme de leucocytes un peu contractés, ratatinés, et dont la vacuole vidée est maintenant irrégulière.

Par suite de la contraction concomitante à l'incision, les bords de la tunique se rapprochent et s'affaissent sur la blessure. Les lèvres de celle-ci, comme un diaphragme, se rapprochent et se resserrent progressivement jusqu'à la cicatrisation complète et rapide.

Les cellules ectodermiques sont cubiques, deviennent parfois cylindriques, surtout à l'extrémité distale, leur cytoplasme présente de petites inclusions, se colorant en rouge sur le vivant, par le rouge neutre, et qui sur le matériel fixé, apparaissent comme des sphérolites deutoplasmatiques pareilles à celles de l'ectoderme des chambres bourgeonnantes. Mais sur les bords de la plaie, et où se réalisera la cicatrisation, les cellules sont aplatis et dépourvues d'inclusions (fig. 15).

Le collagène du mésenchyme coagulé par le fixateur apparaît nettement, tapissant l'ectoderme, reliant les cellules mésenchymateuses, s'écartant parfois de l'ectoderme par suite d'une contraction plus violente du mésenchyme au moment de la fixation. Au point de cica-

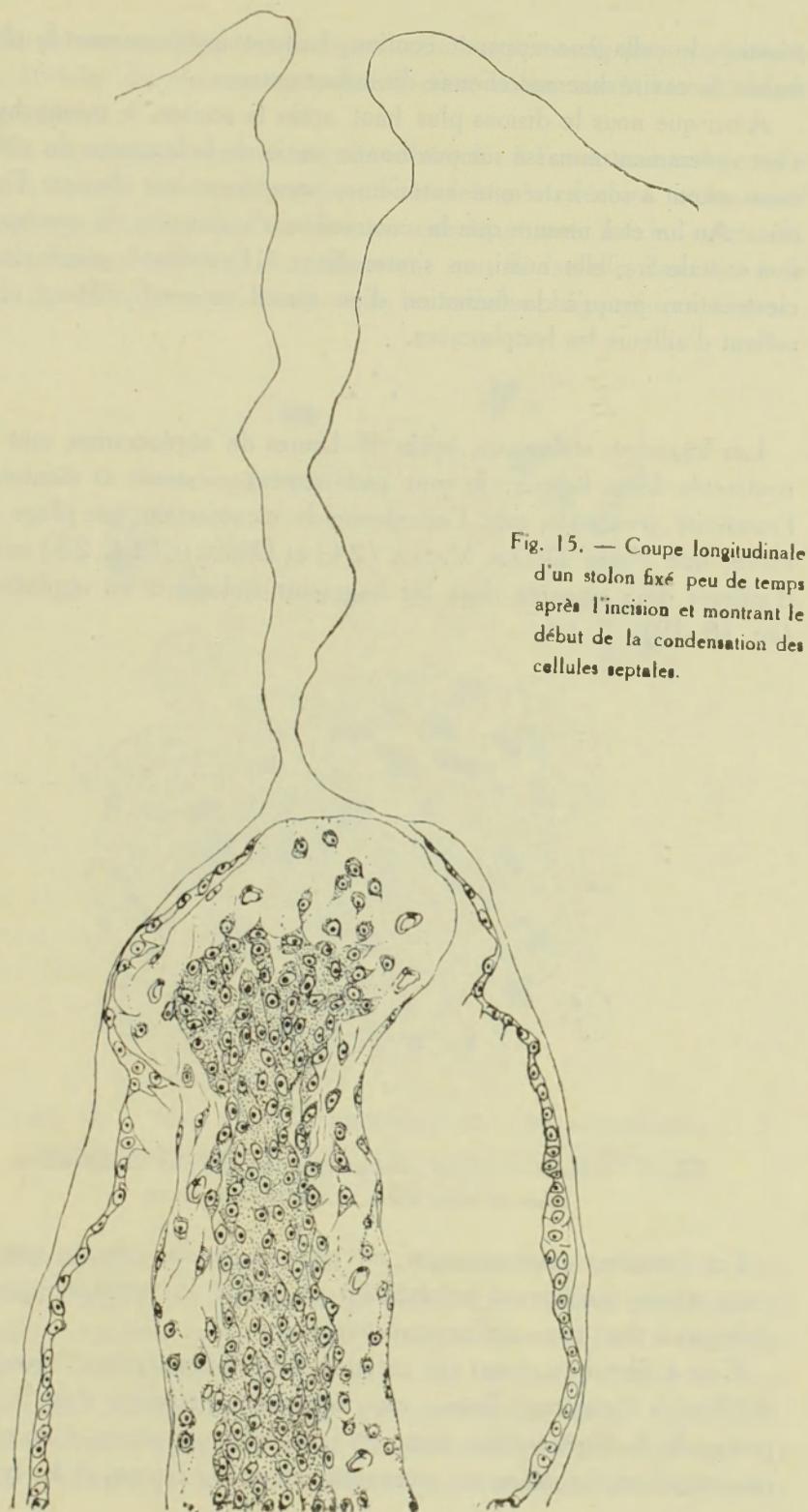


Fig. 15. — Coupe longitudinale d'un stolon fixé peu de temps après l'incision et montrant le début de la condensation des cellules septales.

trisation, le collagène apparaît continu, fermant intérieurement la plaie, isolant la cavité haemocœlienne du milieu externe.

Ainsi que nous le disions plus haut, après la section, le mésenchyme s'est violemment ramassé sur une bonne partie de la longueur du stolon, mais surtout à son extrémité antérieure, immédiatement derrière l'incision. Au fur et à mesure que la contraction s'accentuera, la concentration septale ira, elle aussi, en s'intensifiant à l'extrémité proximale de cicatrisation jusqu'à la formation d'un massif mésenchymateux où se mêlent d'ailleurs les lymphocytes.

\* \* \*

Les fragments stoloniaux, après 48 heures de régénération, sont plus contractés, blanc laiteux, ils sont parfaitement cicatrisés et montrent à l'extrémité proximale, sous l'ectoderme de cicatrisation, une plage plus claire, que Paolo DELLA VALLE (21) et DRIESCH (24, 25) avaient d'ailleurs déjà signalée dans les fragments stoloniaux en régénération (fig. 18, 19).

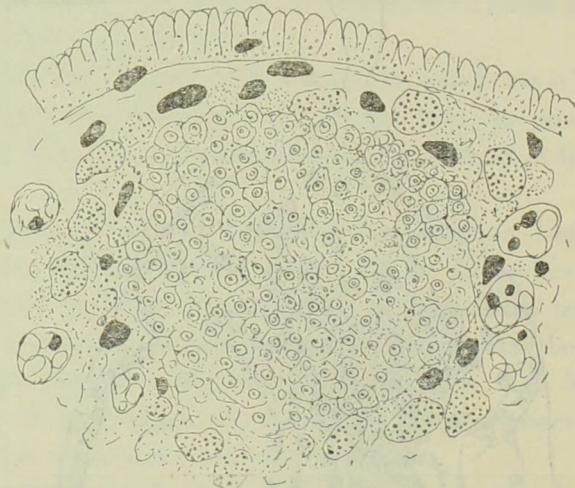


Fig. 16. — Massif de cellules mésoblastiques dans un stolon en régénération, coloré au rouge neutre, et observé sur le vivant.

Par l'examen microscopique, on peut se rendre compte que cette plage claire correspond précisément au massif mésenchymateux lymphocytaire dont nous parlions précédemment.

C'est-à-dire que parmi les cellules vacuolaires surtout abondantes d'ailleurs à l'extrémité distale, mais également présentes dans la région proximale de régénération, parmi les leucocytes granuleux et les cellules phagocytaires, les éléments mésenchymateux du septum et les lympho-

cytes se sont concentrés à la région orale en un massif que représente la fig. 16 faite d'après une préparation d'un stolon vivant à ce stade de régénération.

Ce massif lymphocytaire est très cohérent; si l'on exerce une pression sur la lamelle de la préparation, l'ectoderme se déchire, et le massif lymphocytaire s'écoule d'un bloc, en entraînant avec lui les autres éléments haemocoeliens qui se dispersent sous la lamelle, dans l'eau de mer (fig. 17). On constate alors que les cellules phagocytaires énormes,

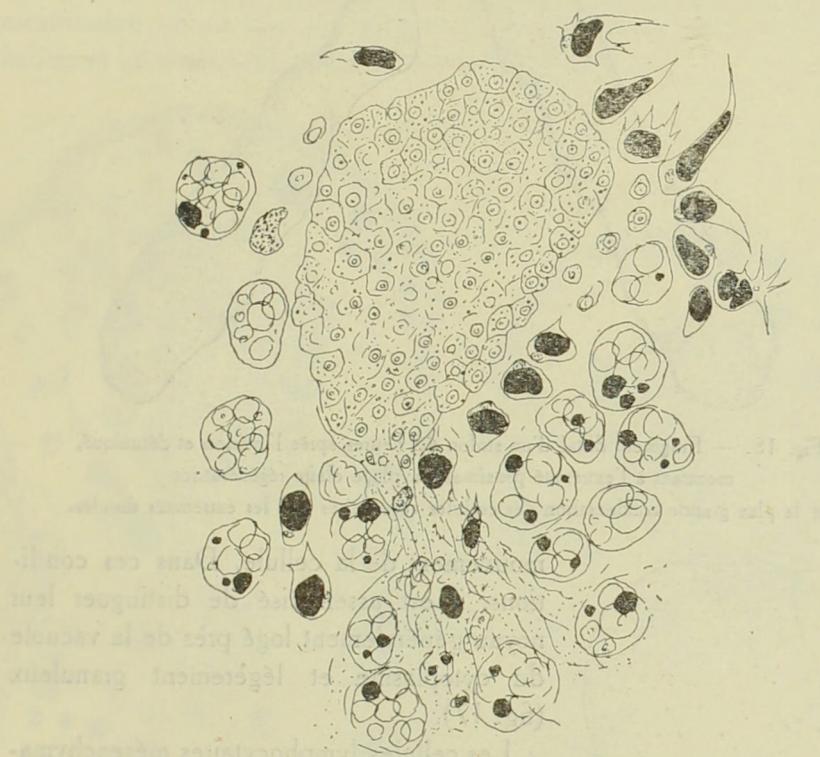


Fig. 17. — Massif de cellules mésoblastiques d'un stolon en régénération, sorti de l'haemocoele et entouré de cellules vacuolaires et de phagocytes (coloration au rouge neutre).

pouvant atteindre un diamètre de  $25 \mu$ , sont extrêmement nombreuses et occupent presque toute la cavité du stolon. Les cellules granuleuses et les cellules vacuolaires ont toujours le même aspect. Mais ces dernières, sorties de l'haemocoele, s'étalent dans l'eau de mer, émettant de longs pseudopodes filiformes ou ramifiés qui apparaissent comme des coulées protoplasmiques conditionnées par des phénomènes d'adhérence avec le support. Elles se déplacent, prennent une configuration étoilée des

plus curieuses, sans que la vésicule colorée au rouge neutre subisse d'autres changements que des modifications de forme concomitantes au

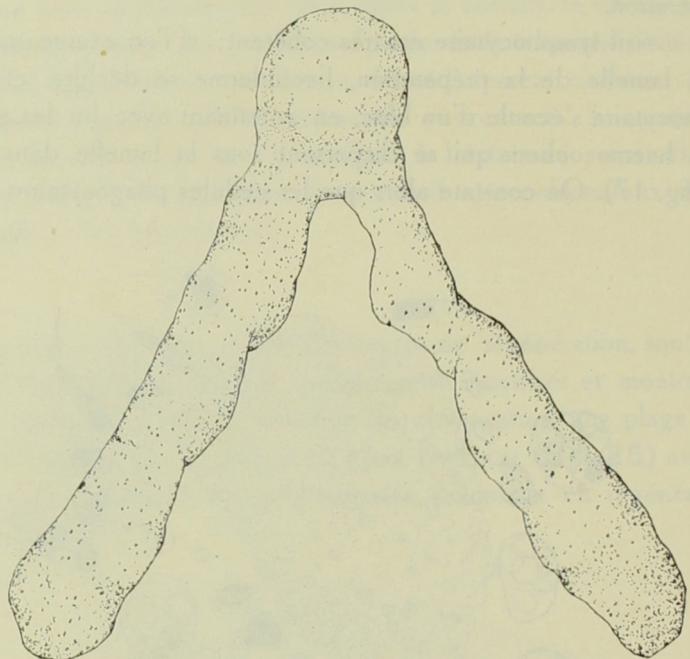


Fig. 18. — Fragment distal d'un stolon 48 heures après l'incision et détuniqué, montrant à l'extrémité proximale la plage claire régénératrice et la plus grande condensation des cellules vacuolaires vers les extrémités distales.

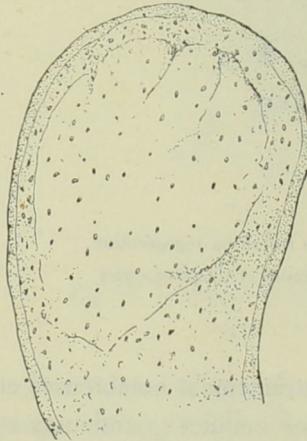


Fig. 19. — Extrémité proximale d'un fragment stolonial détuniqué et en régénération depuis 48 heures, montrant le massif mésoblastique entouré des cellules vacuolaires disséminées.

mouvement de la cellule. Dans ces conditions, il est assez aisé de distinguer leur noyau généralement logé près de la vacuole du cytoplasme et légèrement granuleux (fig. 17).

Les cellules lymphocytaires mésenchymateuses ont conservé, elles aussi, leur caractère lymphoblastique : petite taille, cytoplasme indifférencié, bleuté par réfringence, noyau clair avec nucléole très net. Il faut signaler pourtant que le cytoplasme de ces cellules renferme maintenant quelques granulations réfringentes (fig. 16, 17). Elles sont toujours distinctes des autres éléments haemocoeliens et elles seules, comme on vient de le voir, constituent le massif blastogénétique qui régénérera la nouvelle Cl-

veline. Il ne peut donc être question d'une dédifférenciation des cellules vacuolaires en cellules blastogénétiques ainsi que SPEK le supposait.

Ces observations peuvent d'ailleurs être confirmées d'une façon décisive sur du matériel fixé.

Les fig. 20 et 21 représentent l'extrémité proximale de coupes sagittales faites dans un stolon après 48 heures de régénération. On constate que l'incision est parfaitement cicatrisée, l'ectoderme ne présente aucune solution de continuité. Cependant, on peut parfois distinguer la région de cicatrisation en ce que les cellules du nouvel ectoderme sont moins hautes et généralement moins chargées d'inclusions.



Fig. 20 et 21. — Extrémité proximale (orale) de coupes sagittales faites dans deux stolons en régénération fixés, montrant la concentration des cellules mésoblastiques septales en un massif régénérateur entouré de cellules phagocytaires et vacuolaires.

Les cellules phagocytaires s'y retrouvent toujours très caractérisées ainsi que les cellules vacuolaires sous l'aspect que nous leur connaissons sur le matériel fixé. Mais ce qu'il y a de plus net, c'est le massif blastogénétique. On y voit bien le *septum contracté*, ramené vers la région proximale en un agrégat d'ailleurs peu compact encore, puisque des

inéats subsistent entre les cellules. Ces dernières y ont le même caractère morphologique que sur le vivant.

Lors de l'incision du stolon, le système mésenchymateux très contractile s'est donc ramassé en une pelote, qui corrélativement à la contraction plus lente et progressive du stolon, attire à elle le septum distal, moins dense, moins fixé.

D'ailleurs dans les stolons dont les fig. 20 et 21 représentent les coupes sagittales antérieures, le septum n'existe plus dans les régions distale et moyenne ; l'haemocoele est rempli uniquement par les leucocytes déjà décrits et surtout par les cellules phagocytaires.

On peut par la même méthode continuer à suivre l'évolution des fragments de stolons. Il y a d'ailleurs une grande variation dans la vitesse de régénération, sans qu'il me soit possible de préciser en ce moment les facteurs qui la conditionnent.



Fig. 22. — Apparition de la vésicule endoblastique dans le massif mésoblastique de régénération.

Après 72 heures de régénération, nous trouvons en effet des stades correspondant à ce que nous venons de décrire pour les stolons ayant subi une régénération de 48 heures, et aussi des stades organogénétiques propres au quatrième jour qui suit l'opération.

D'ailleurs, une fois amorcée, l'organogénèse se déroule très rapidement.

Les fig. 23, 24 nous représentent un des aspects les plus fréquents de la régénération après 72 heures. La fig. 23 correspond à un stolon vivant, la fig. 24 à un stolon fixé.

La répartition des cellules vacuolaires se fait selon le même gradient que précédemment. Abondantes aux extrémités distales, leur nombre diminue progressivement vers l'extrémité proximale (fig. 23).

Dans le champ du microscope à l'immersion, elles ont une densité trois fois moindre dans la région moyenne que dans la région distale. Le nombre augmente légèrement autour du massif régénérant. Celui-ci forme toujours à l'extrémité proximale un îlot clair très distinct. Ce massif, après 72 heures, est généralement creux et évolue en une vésicule endoblastique que l'on peut faire sortir du stolon par dilacération.

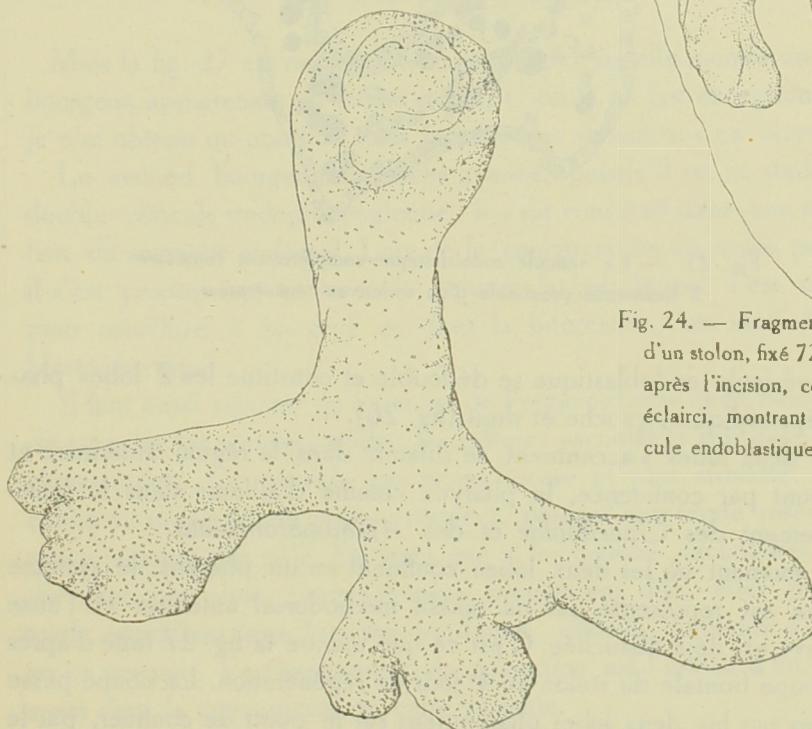


Fig. 23. — Fragment de stolon vivant, détuniqué, 72 heures après l'incision, montrant par transparence, la vésicule endoblastique du nouvel ascidiozoïde et les cellules vacuolaires plus abondantes aux extrémités distales.

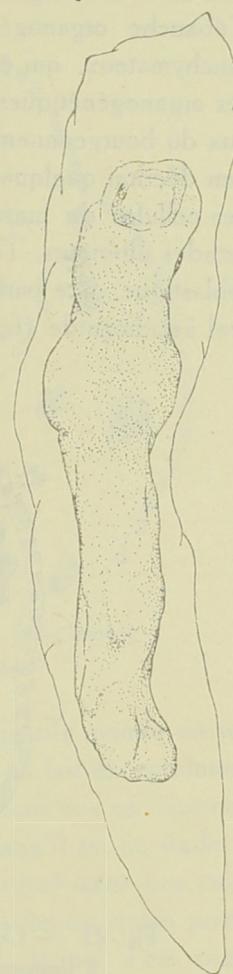


Fig. 24. — Fragment distal d'un stolon, fixé 72 heures après l'incision, coloré et éclairci, montrant la vésicule endoblastique.

La régénération du fragment stolonial se réalise donc exactement comme dans le bourgeonnement naturel.

L'ébauche organogénétique initiale est un massif lymphocytaire mésenchymateux, qui évolue en une vésicule endoblastique ; tous les stades organogénétiques de la régénération sont d'ailleurs superposables à ceux du bourgeonnement.

J'en décrirai quelques-uns d'après le matériel fixé.

Les cellules du massif se divisent, et cette prolifération s'accentue aux stades ultérieurs. Tout le massif ne concourt pas à former la vésicule endoblastique, une partie se désagrège pour former le mésenchyme du nouvel ascidiozoïde (fig. 22, 25).



Fig. 25. — La vésicule endoblastique complètement constituée à l'extrémité proximale d'un stolon en régénération.

La vésicule endoblastique se dédouble et constitue les 2 lobes pharyngépicardiques, gauche et droit (fig. 26).

Ces deux lobes s'accentuent, se dilatent dans la région antérieure et formeront par confluence, le pharynx comme d'ailleurs dans le bourgeonnement des *Clavelinidae* et des *Aplousobranchiata*.

Au moment où les deux lobes confluent en un pharynx, le système nerveux est représenté par un massif médiadorsal antérieur et l'anse digestive est déjà ébauchée. C'est ce que montre la fig. 27 faite d'après une coupe frontale du stolon au 4<sup>e</sup> jour de régénération. La coupe passe à la fois par les deux lobes pharyngiens sur le point de confluer, par le système nerveux et l'anse digestive.

A ce moment donc l'organisme est déjà sur le point d'être constitué, du moins dans ses éléments essentiels.

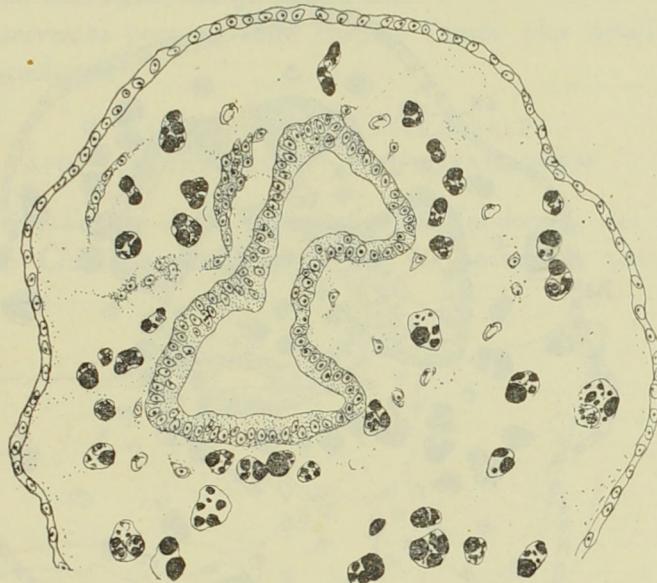


Fig. 26. — Dédoublement de la vésicule endoblastique en deux lobes pharyngogépicardiques.

Mais la fig. 27 est encore intéressante parce qu'elle montre un second bourgeon appartenant au même stolon. C'est là un fait exceptionnel que je n'ai obtenu qu'une fois dans la série des stolons mis en observation.

Le second bourgeon est moins avancé, puisqu'il est au stade de la double vésicule endopharyngienne. Il s'est constitué dans une ramification du segment stolonial. Lors de la concentration du stolon principal, il s'est produit une rupture du septum latéral, lequel s'est contracté pour constituer à lui seul et dans la bifurcation, un second centre blastogénétique.

Il faut aussi signaler qu'au cours de l'organogénèse dont nous venons de rappeler les premiers stades, les cellules vacuolaires subissent certains changements. La vésicule est moins grosse et plus arrondie. Elle se colore au rouge neutre moins vivement, prenant une teinte rosée ou un rouge incarnat très pâle. De sorte que si les cellules vacuolaires n'interviennent pas dans l'organogénèse proprement dite, elles pourraient avoir cependant une fonction trophique, difficile d'ailleurs à préciser en ce moment. Le changement de coloration est l'indice d'un changement dans la composition de cette vésicule.

D'autre part, si SPEK a mis nettement en évidence la nature protéique

de la vésicule, l'action du lugol par contre y provoque la coloration typique brun acajou du glycogène. Le contenu de la vacuole serait

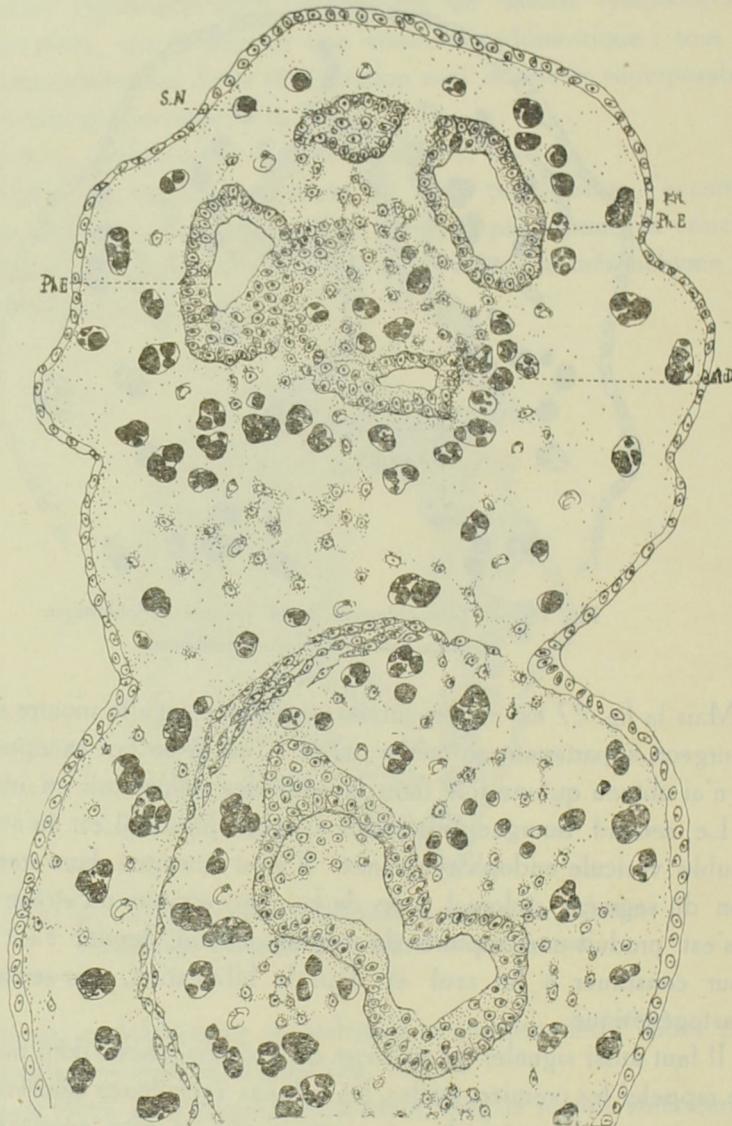


Fig. 27. — Coupe frontale d'un stolon en régénération, montrant deux ascidiozooides à des stades différents de développement.

S. N. = tube neural ; A. D. = anse digestive ; Ph. E. = lobes pharyngoépicardiques.

peut-être formé de glycoprotéines. Ainsi la régénération des clavelines se réaliserait dans un métabolisme glycogénétique comme les premiers stades de tout développement embryonnaire.

Il est d'ailleurs curieux de constater que selon les recherches de

CASTRO et POURBAIX (11) les inclusions des archaeocytes formant les gemmules d'éponges présentent des réactions qui justifient l'idée qu'elles sont, elles aussi, des glycoprotéines.

Nous réservons pour un autre chapitre l'étude plus détaillée des cellules vacuolaires.

B. — RÉGÉNÉRATION STOLONIALE  
APRÈS SECTIONNEMENT DU POSTABDOMEN

En vue de l'étude de la régénération de l'abdomen, des postabdomens de *Clavelina lepadiformis* ont été sectionnés sous l'anse

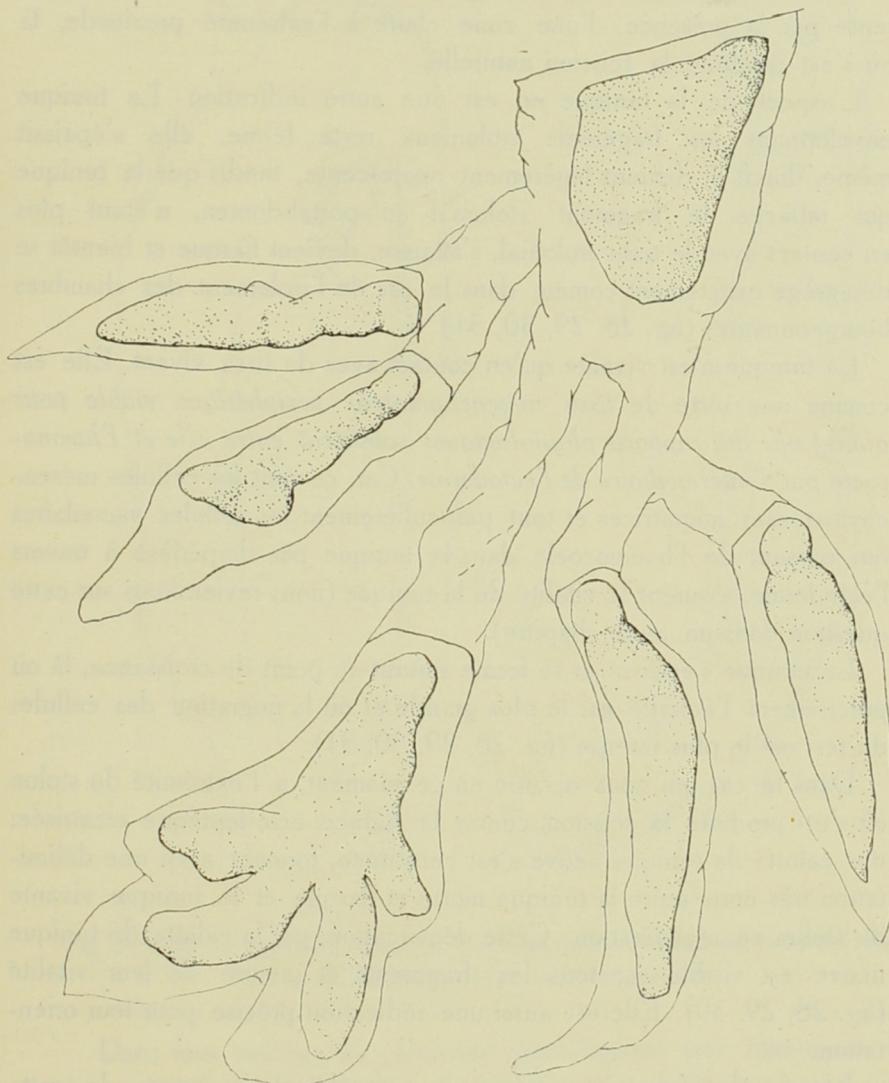


Fig. 28. — Postabdomen sectionné sous l'anse digestive.  
Les portions distales des stolons s'isolent et régénèrent.

digestive et abandonnés dans les boîtes de Petri, avec tout le système stolonial.

Après quelques jours, celui-ci se trouve fractionné ainsi que le montre la fig. 28.

Le postabdomen s'isole dans son manchon de tunique en une masse contractée opaque, d'un blanc laiteux, fort comparable à une chambre bourgeonnante.

Les stolons tout en restant ainsi dans leur enveloppe de tunique, se détachent du postabdomen et se contractent vers leur extrémité distale.

Tous ces fragments sont en régénération. Celle-ci est rendue apparente par la présence d'une zone claire à l'extrémité proximale, là où s'est produite la scission naturelle.

L'aspect de la tunique en est une autre indication. La tunique enveloppant les fragments stoloniaux reste ferme, elle s'épaissit même, durcit et devient légèrement opalescente, tandis que la tunique qui rattache le fragment stolonial au postabdomen, n'étant plus en contact avec le tissu stolonial, s'affaisse, devient flasque et bientôt se désagrège exactement comme dans le cas de l'isolement des chambres bourgeonnantes (fig. 28, 29, 30, 31).

La tunique n'est vivante qu'en contact avec du tissu vivant. Elle est comme une sorte de *tissu mésenchymateux périphérique viable pour autant que des rapports physiologiques subsistent entre elle et l'haemocoele par l'intermédiaire de l'ectoderme*. Car, ce sont les cellules mésenchymateuses migratrices et tout particulièrement les cellules vacuolaires qui, passant de l'haemocoele dans la tunique par diapédèse à travers l'ectoderme, assurent la vitalité de la tunique (nous reviendrons sur cette question dans un autre chapitre).

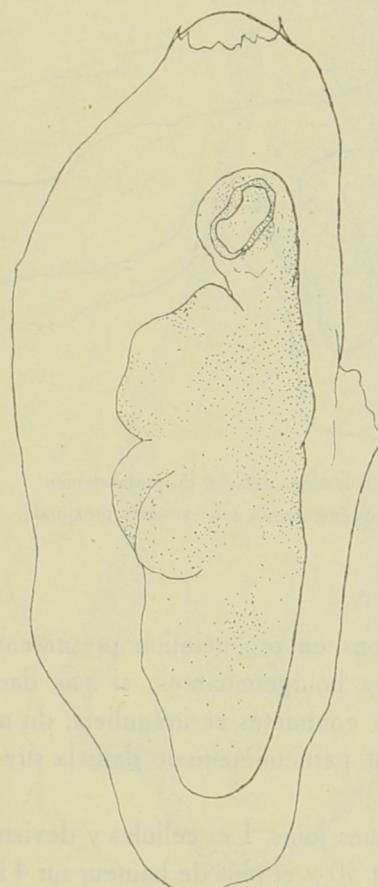
La tunique s'épaissit et se forme surtout au point de croissance, là où précisément l'activité est le plus grande et où la migration des cellules du test est le plus intense (fig. 28, 29, 30, 31).

Dans le cas qui nous occupe en ce moment, à l'extrémité du stolon où s'est produite la scission, contre la surface ectodermique cicatrisée, une calotte de tunique neuve s'est constituée, formant ainsi une délimitation très nette entre la tunique morte et flasque et la tunique vivante du stolon en régénération. Cette démarcation, par la calotte de tunique neuve est visible sur tous les fragments et assure de leur vitalité (fig. 28, 29, 30). Elle est aussi une indication précise pour leur orientation.

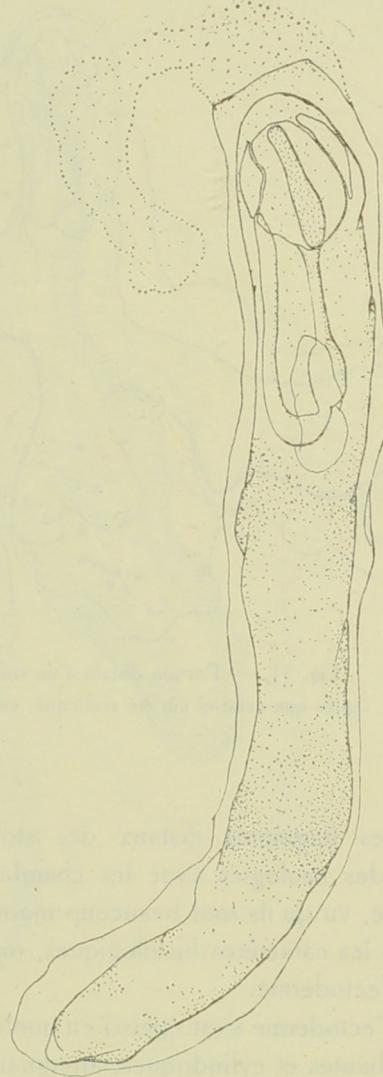
Lorsque les fragments stoloniaux sont détachés, autour de cette calotte orale de la tunique, on retrouve encore, sous forme d'une cou-

ronne dentelée, les lambeaux de la vieille tunique désagrégée (fig. 29).

Les fragments stoloniaux isolés sont simples ou bifurqués, parfois même ils sont constitués de tout un système stolonial ramifié (fig. 31).



29



30

Fig. 29 et 30. — Extrémités distales de stolons détachés du postabdomen sectionné (fig. 28) et en régénération à leur extrémité proximale.

Dans tous ces cas, les processus régénératifs sont identiques, mais les stades de la régénération ne sont pas aisés à déceler sur le vivant. Par contre, sur les stolons fixés, colorés au carmin et éclaircis à

l'essence de bois de cèdre, il est possible de suivre les différents stades de l'organogénèse qui se passent dans la cavité stoloniale avant la sortie de la jeune claveline complètement constituée.

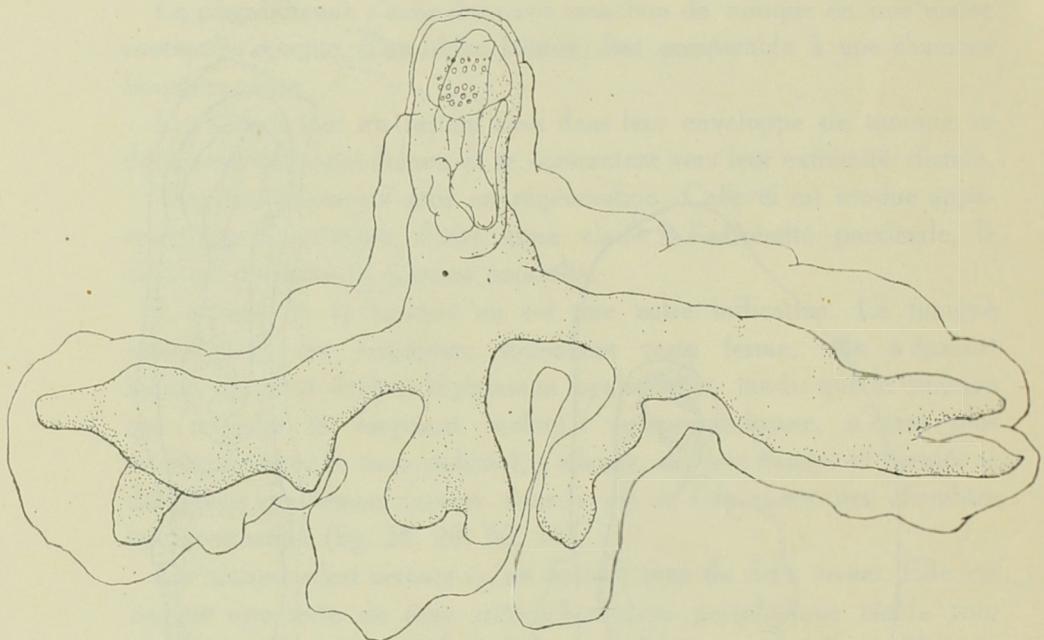


Fig. 31. — Portion distale d'un stolon ramifié, détaché du postabdomen après que celui-ci eût été sectionné, en régénération à son extrémité proximale.

\* \* \*

Les fragments distaux des stolons en régénération présentent de grandes analogies avec les chambres bourgeonnantes, si pas dans la forme, vu qu'ils sont beaucoup moins contractés et irréguliers, du moins dans les caractères histologiques, tout particulièrement dans la structure de l'ectoderme.

L'ectoderme s'est épaisse en quelques jours. Les cellules y deviennent très hautes et cylindriques, atteignant  $30 \mu$  et plus de hauteur sur  $4$  à  $5 \mu$  d'épaisseur (fig. 32, 33).

La fixation au Bouin n'est peut-être pas suffisante pour une étude complète de l'histologie de ce singulier épithélium. Elle permet toutefois de montrer l'identité entre ces fragments stoloniaux et les chambres bourgeonnantes (fig. 32, 33, 2 et 3).

La moitié interne de ces cellules est claire, le cytoplasme vacuolisé formant un réseau très lâche, au point que dans les préparations, cette

portion des cellules paraît vide. La moitié externe est au contraire bourrée d'inclusions sphériques que l'on peut considérer, comme dans les chambres bourgeonnantes, être de nature deutoplasmique.

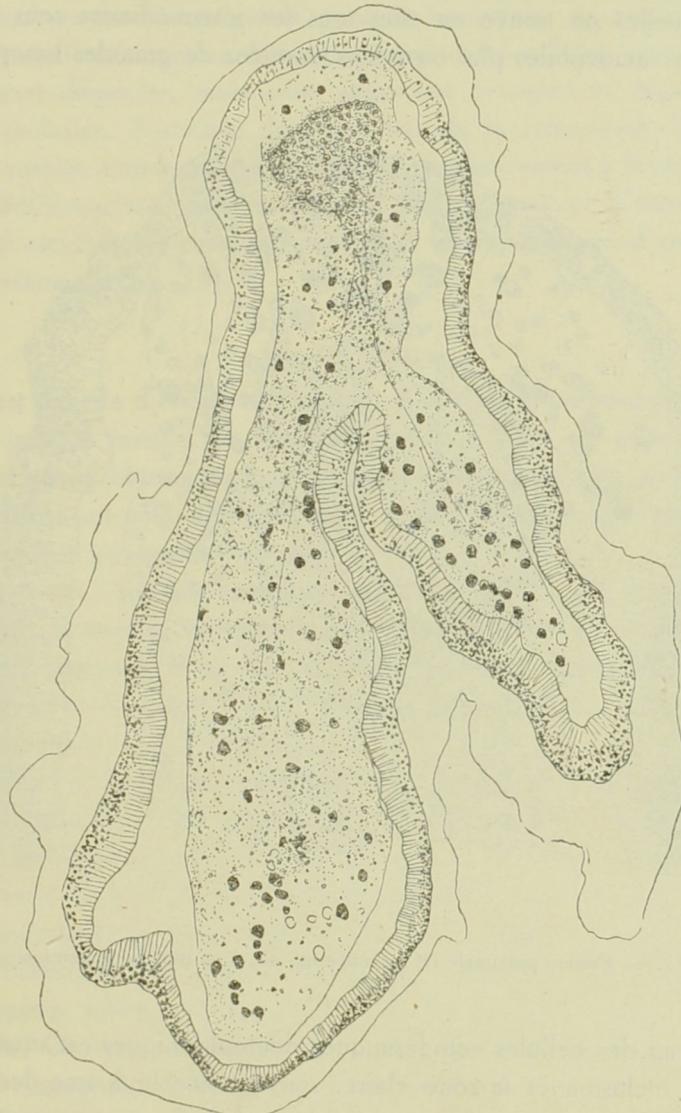


Fig. 32. — Coupe sagittale d'un stolon détaché d'un postabdomen sectionné, montrant la désagrégation du septum stolonial dans la région distale mais sa concentration dans la région proximale pour y former un massif mésoblastique régénératrice.

Ces inclusions sphériques sont ou bien homogènes, acidophiles ou bien densément granuleuses, les granules étant fortement basophiles.

Les inclusions granuleuses et basophiles sont plus grandes que les premières, elles peuvent atteindre un diamètre de 4 à 5  $\mu$ , alors que les autres n'ont au plus que 2 à 3  $\mu$ . Il apparaît cependant que ces inclusions sont les points extrêmes d'une même évolution physiologique et entre lesquelles on trouve en effet tous les intermédiaires sous forme d'inclusions acidophiles plus ou moins chargées de granules basophiles.

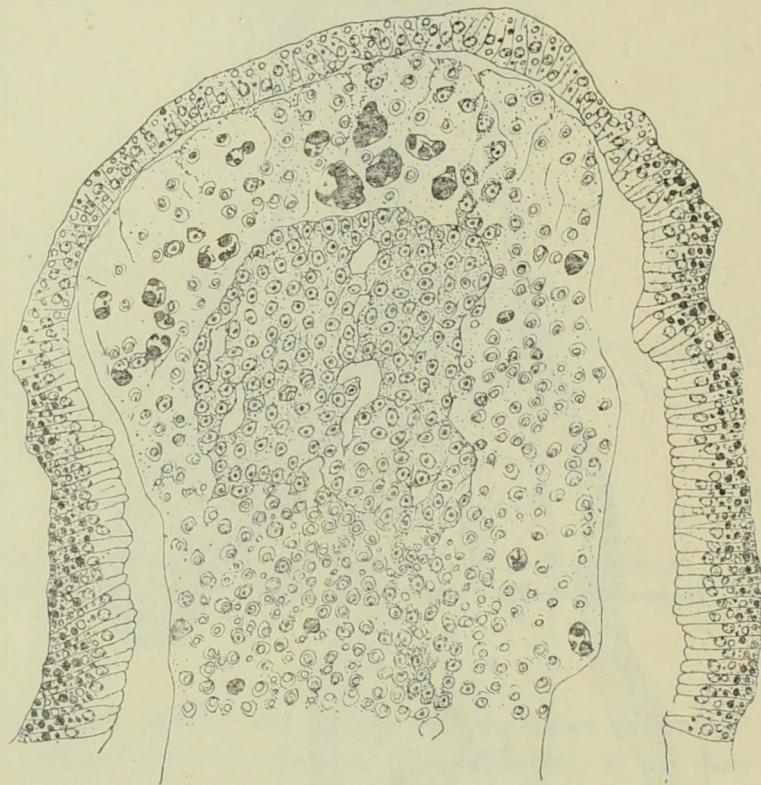


Fig. 33. — Portion proximale de la coupe fig. 32, à un plus fort grossissement.

Le noyau des cellules ectodermiques deutoplasmiques est situé entre la zone à inclusion et la zone claire, souvent accolé à une des parois latérales. C'est un gros noyau atteignant 4 à 5  $\mu$ , occupant ainsi presque toute la largeur de la cellule et renfermant à côté d'un gros caryosome central, de petits granules chromatiques disposés en un vague réseau.

Il faut signaler qu'à l'extrémité proximale, là où s'est produite la cicatrisation consécutive à la scission, l'ectoderme est légèrement différent.

Il est beaucoup moins riche en éléments deutoplasmiques, les inclusions acidophiles y étant presque seules représentées. Les cellules ne forment pas le tissu régulier et palissadique si caractéristique dans les autres portions des stolons. Le cytoplasme montre d'ailleurs de réels phénomènes de désagrégation, quoique les noyaux subsistent avec tous leurs caractères normaux. En certains points les cellules sont plus régulièrement disposées, mais alors elles sont cubiques et dépourvues de toute inclusion. Il semble donc que lors de la scissiparité, les cellules de la portion ectodermique étranglée, corrélativement à la régénération, se dédifférencient progressivement pour constituer l'ectoderme du nouvel ascidiozoïde comme dans le lobe blastogénétique d'une chambre bourgeonnante (fig. 33).

\* \* \*

Il est difficile d'établir un rapport entre la chambre bourgeonnante et la polarité initiale de l'individu souche. Tout au plus semble-t-il que le massif blastogénétique se constitue dans un des lobes dorsaux, c'est-à-dire au pôle opposé à celui de la fixation comme dans la régénération des gemmules d'éponge.

Par contre, dans les fragments stoloniaux dont il est question en ce moment, le massif régénérant est toujours localisé à l'extrémité proximale du fragment, là où s'est produite la scission stoloniale, exactement comme dans les expériences signalées précédemment et où le stolon était sectionné artificiellement.

Si l'on fait des coupes sagittales dans les stolons isolés naturellement après section du postabdomen, on se rend compte que dans la majeure partie de l'haemocoele, le septum est désagrégé ; il ne subsiste plus que sous forme de rares tractus mésenchymateux, lesquels montrent d'ailleurs une dislocation de leurs cellules. Mais au contraire à l'extrémité orale ou proximale, il s'est constitué un massif de cellules identiques à celles du septum initial ou des tractus encore présents dans les régions distales. Ce sont, comme toujours, des cellules à cytoplasme indifférencié basophile, légèrement granuleux sur matériel fixé, à noyau arrondi, clair avec gros caryosome central et petites granulations chromatiques.

Des cellules semblables sont disséminées dans tout l'haemocoele du stolon, mais leur densité augmente progressivement de la région distale vers le massif proximal. C'est ce que montrent les fig. 32 et 33 à des grossissements différents.

De l'ensemble de ces constatations on peut admettre que consécuti-

vement à l'isolement du fragment stolonial, et corrélativement aux modifications ectodermiques que nous avons signalées plus haut, le septum initial se désagrège, les cellules se disséminent dans tout l'haemocoele en se concentrant cependant de plus en plus dans la région proximale où se réalise la cicatrisation. Dans le massif où elles se sont agrégées, dans l'haemocoele où elles sont libres, ces cellules lymphocytaires sont en division caryogamique active. Elles ont l'aspect de gros lymphocytes. Les lymphocytes sont d'ailleurs extrêmement nombreux dans l'haemocoele du stolon et de taille variable. A côté des gros lymphocytes dont il fut question il y a un moment et dont les noyaux peuvent atteindre de 4 à 5  $\mu$  au maximum, il y a une multitude de petits lymphocytes dont le noyau présente 2 à 3  $\mu$  et dont la taille n'excède pas 5  $\mu$ . Mais si ces mesures se poursuivent sur un très grand nombre de lymphocytes, on s'aperçoit que ces lymphocytes de taille extrême sont reliés par des formes intermédiaires dont les noyaux ont un diamètre de 2, 2 1/2, 3, 3 1/2  $\mu$ . Il y a donc une échelle de cellules lymphocytaires dont on peut distinguer les formes extérieures, mais qu'il est impossible de différencier l'une de l'autre par un caractère essentiel. Nous arrivons à la même conclusion que précédemment. Ces cellules lymphocytaires, qu'elles soient des lymphocytes proprement dits, ou des cellules mésenchymateuses libres, n'en sont pas moins des aspects différents des lymphoblastes identiques et initiaux.

Signalons encore dans l'haemocoele, les cellules phagocytaires bourrées des éléments cellulaires ingérés et devenant fortement basophiles ; les cellules amiboides dont le cytoplasme s'encombre de granulations basophiles d'abord très petites puis grossissant progressivement ; des cellules vacuolaires ratatinées, à vacuoles vides et irrégulières, des leucocytes à grosses inclusions acidophiles, des leucocytes à cytoplasme acidophile très pâle, avec noyau petit et granuleux, c'est-à-dire tous les éléments sanguins des clavelines dont il conviendrait de faire une étude complète, mais que nous ne nous étions pas proposé de poursuivre avec la simple fixation au Bouin dont nous nous sommes servi pour les recherches précédentes.

\* \* \*

*Le massif de régénération est donc exclusivement formé par des cellules lymphoblastiques provenant en grande partie du septum disloqué. Comme dans le cas du bourgeonnement et de la régénération artificielle de fragments stoloniaux, la régénération est ici encore mésoblastique.*

Ce massif assez nettement limité à la région antérieure, l'est beaucoup

moins à la région postérieure où il se prolonge par des traînées de cellules lymphoblastiques également d'origine septale, et dernier vestige d'ailleurs du septum initial. Les cellules du massif sont en division très active mais le massif n'est pas compact. Entre les cellules du massif subsistent des méats qui sans doute conflueront pour la formation de la cavité centrale de la vésicule endoblastique régénératrice. Celle-ci ne tarde pas à se former et dès lors l'organogénèse se poursuit identique à ce que nous connaissons déjà dans les bourgeons naturels et la régénération mésoblastique de stolons sectionnés expérimentalement.

#### C. — CONCLUSIONS DU CHAPITRE II

Le bourgeonnement naturel, la régénération de stolons sectionnés artificiellement, la régénération de stolons isolés naturellement après section du postabdomen, se poursuivent selon des processus identiques.

Dans les trois cas, elle est l'œuvre exclusive de cellules indifférenciées lymphoblastiques, mésenchymateuses provenant du septum ; elle est donc mésoblastique. Mais l'identité est spécialement étroite entre le bourgeonnement des chambres bourgeonnantes et la régénération des stolons après section du postabdomen non seulement par la structure que prend l'ectoderme dans ces deux cas, mais aussi par la formation du massif régénérateur.

Dans les stolons sectionnés expérimentalement, l'opération est si brutale que le septum se contracte lui-même immédiatement en un massif mésoblastique. Dans les deux autres cas, le processus est plus lent, le septum se désagrège plus profondément, avant que les cellules ne se concentrent en un massif proximal.

Dans ces deux derniers cas d'ailleurs les conditions de régénération sont très semblables.

La section du postabdomen sous l'anse digestive a pour effet de supprimer la circulation du sang comme dans un ascidiozoïde que le froid ou autre facteur externe ou interne, tue et désagrège. Il en résulte que le fractionnement des stolons serait corrélatif à une circulation sanguine devenue déficiente ou même suspendue dans le système stolonial.

Or, dans une claveline normale, plus le stolon s'allonge et se bifurque, plus la circulation est difficile ; les pulsations du cœur s'y font de moins en moins sentir, les tractus mésenchymateux lui offrent une résistance de plus en plus grande. Il se produit alors un engorgement variqueux des extrémités distales du stolon ou des régions de bifurcation.

Les éléments sanguins s'y accumulent, bloquent la circulation comme dans les expériences relatées plus haut. C'est alors que le stolon s'isole et que les processus régénératrices se poursuivent.

Il en serait de même aussi pour les *Polyclinidae* où le postabdomen se fragmente après avoir atteint une taille déterminée et s'être bourré d'éléments sanguins.

Telle serait peut-être la cause initiale qui déclenche les processus de bourgeonnement naturel. A ce premier chaînon s'en ajoutent d'autres que nous sommes loin de posséder.

On peut se rendre compte alors que dans cet haemocoele isolé, le plasma immobile subit des changements physico-chimiques importants, que révèlent d'ailleurs les variations dans la coloration vitale au rouge neutre des cellules vacuolaires, l'évolution deutoplasmique de l'ectoderme et les phénomènes de phagocytose.

Ces changements encore inconnus du plasma de la petite vésicule close qu'est un stolon isolé, déterminent sans doute les facteurs physiologiques qui éveillent chez des cellules mésenchymateuses indifférenciées, c'est-à-dire lymphoblastiques et mésoblastiques, les potentialités organogénétiques étonnantes grâce auxquelles la régénération est assurée.

Dans le bourgeonnement naturel hâtif, sans formation de chambre bourgeonnante réelle, le jeune blastozoïde se développe distalement. C'est ce que montrent les dessins de PAOLO DELLA VALLE (21) et de MARIO SALFI (44, 45). Un jeune ascidiozoïde apparaît à l'extrémité libre de chaque stolon.

Dans les cas de régénération que nous venons d'envisager, l'ascidiozoïde est proximal. Il y a donc eu renversement de la polarité de régénération.

Peut-être faut-il en donner une raison mécanique plutôt que de faire intervenir l'action d'une polarité hypothétique fixée dans le stolon selon celle de l'organisme souche dont il dépend et qui orienterait l'ascidiozoïde de régénération dans le même sens que l'ascidiozoïde souche.

Dans le cas du stolon sectionné artificiellement, c'est à la contraction brusque du septum dans la région de la plaie qu'il faut attribuer la formation du massif proximal.

Dans le bourgeonnement naturel, l'engorgement sanguin du stolon étant progressif de la région distale à la région proximale, c'est distalement que se fait la concentration mésoblastique.

Dans la fragmentation stoloniale après section artificielle du postabdomen, les stolons s'isolent à un moment où ils ne sont pas dans les

conditions naturelles du bourgeonnement et dès lors se trouvent dans le cas de la régénération d'un stolon sectionné artificiellement.

C'est-à-dire que la concentration du massif blastogénétique en un pôle ou en un autre serait due à des causes physiques simples, liées à la structure anatomique des stolons mêmes, auxquelles il faudrait ajouter peut-être des facteurs de tropisme conditionnés eux-mêmes par un gradient métabolique que je n'ai pu mettre actuellement en évidence, mais qui existe fort probablement.

### CHAPITRE III

Ainsi que DRIESCH (25) l'avait déjà fait, les individus de *Clavelina lepadiformis* ont été sectionnés en quatre segments : les segments postabdominaux, abdominaux ou stomachaux, œsophagiens et thoraciques.

Dans le présent travail, nous ne nous occuperons que de la régénération des segments œsophagiens, laissant pour une prochaine publication la question de la régénération abdominale et thoracique.

La régénération du thorax a d'ailleurs été minutieusement étudiée par DRIESCH (24, 25), SCHULTZ, E. (Reduction u. Regeneration des Kiemenkorbes bei *Clavelina* [Arch. f. Entw.-Mech., 24 Bd., 1907]), SCHAXEL J. (Rückbildung und Wiederaufrischung tierischer Gewebe [Verh. D. Zool. Ges., 24, 1914]).

Signalons seulement que dans la régénération simple et normale du thorax, c'est l'épicarde resté attaché au thorax qui reforme l'organe cardiopéricardique.

Les segments abdominaux régénèrent très facilement, que l'œsophage soit ou ne soit pas amputé. De toute façon, il se reforme un thorax aux dépens de l'épicarde abdominal selon les processus que nous allons décrire à propos de la régénération dans les segments œsophagiens.

#### Régénération du fragment œsophagien

Les *Clavelina lepadiformis* du Lac Fusaro qui m'ont servi de sujets d'expérience sont très grandes ; la région œsophagienne est très allongée ; elles constituent donc un matériel favorable à la section d'un fragment œsophagien.

La section a été faite sous le thorax, auquel restent attachés l'entonnoir de l'œsophage et l'extrémité antérieure de celui-ci, le rectum terminal et la région bifurquée de l'épicarde antérieur, d'autre part au dessus de l'estomac.

Ce fragment œsophagien qui peut être assez long (5 à 8 mm.) renferme donc un segment du rectum, branche ascendante de l'anse digestive, un segment de l'œsophage, branche descendante, un fragment de l'utérus et du canal déférent, les individus opérés étant en maturité sexuelle. Telle que l'incision a été faite, aucun de ces organes ne présente dans sa structure propre, de différenciation apparente sur toute la longueur du fragment œsophagien envisagé.

Comme pour les fragments stomachaux et thoraciques, les fragments œsophagiens étaient placés dans des cristallisoirs à eau de mer courante, dès le moment de l'incision. Dans ces conditions la mortalité était relativement faible, ces expériences ayant été faites de la fin de février à la fin de mars.

DRIESCH a attaché peu d'attention à la régénération de cette portion de l'ascidiozoïde. Il la signala à peine en quelques mots.

La régénération des fragments œsophagiens tels que je viens de les définir présente cependant un intérêt spécial :

1<sup>o</sup> Au point de vue phylétique.

Nous avons rappelé dans l'introduction que *Diazona* et parmi les *Polyclinidae*, *Aplidium zostericola* se reproduisent asexuellement par strobilisation de l'abdomen. Chaque strobile renferme un fragment de la branche descendante du tube digestif, un fragment de la branche montante du rectum, un fragment des glandes génitales, c'est-à-dire exactement les éléments d'un fragment œsophagien de claveline.

Il était donc curieux de vérifier expérimentalement si la claveline possédait virtuellement un pouvoir régénérant qui se manifeste normalement chez un *Polyclinidae* et un *Diazonidae*, c'est-à-dire dans deux groupes que l'on doit considérer comme issus phylogénétiquement des *Clavelinidae*.

2<sup>o</sup> Au point de vue de la physiologie des corrélations et du problème de la polarité.

Les fragments œsophagiens tels que nous les avons choisis et définis, ne présentent aucune différenciation sur toute la longueur des segments des 3 organes importants : épicarde, œsophage, rectum.

Il était donc possible de s'assurer si la régénération dans ces fragments serait orientée par une polarité préétablie, dépendant uniquement de la polarité de l'ascidiozoïde normal, et fixée dans le segment œsophagien indépendamment de toute structure morphologique visible des organes, ou si la polarité de régénération au contraire est un phénomène actuel conditionné par des causes actuelles relevant des corrélations entre les ébauches, et par conséquent susceptibles d'être modifiées, d'être renversées si les conditions de corrélation le permettent.

## A. — ALLURE GÉNÉRALE DE LA RÉGÉNÉRATION

On se rend compte à l'aspect de la tunique, si le fragment est vivant et en régénération. En effet les fragments œsophagiens se contractent violemment dans le manchon de la tunique qui les protège. Cette enveloppe de tunique devient trop grande pour eux. Elle n'est plus en contact avec l'ectoderme du segment en régénération, elle meurt, devient flasque et se désagrége.

Mais autour du globule ovoïde que forme le fragment œsophagien contracté, une nouvelle tunique se constitue étroitement appliquée contre l'ectoderme, transparente et dure, remplie de fines gouttelettes réfringentes qui ne sont autres que les cellules vacuolaires émigrées de l'haemocœle à travers l'ectoderme.

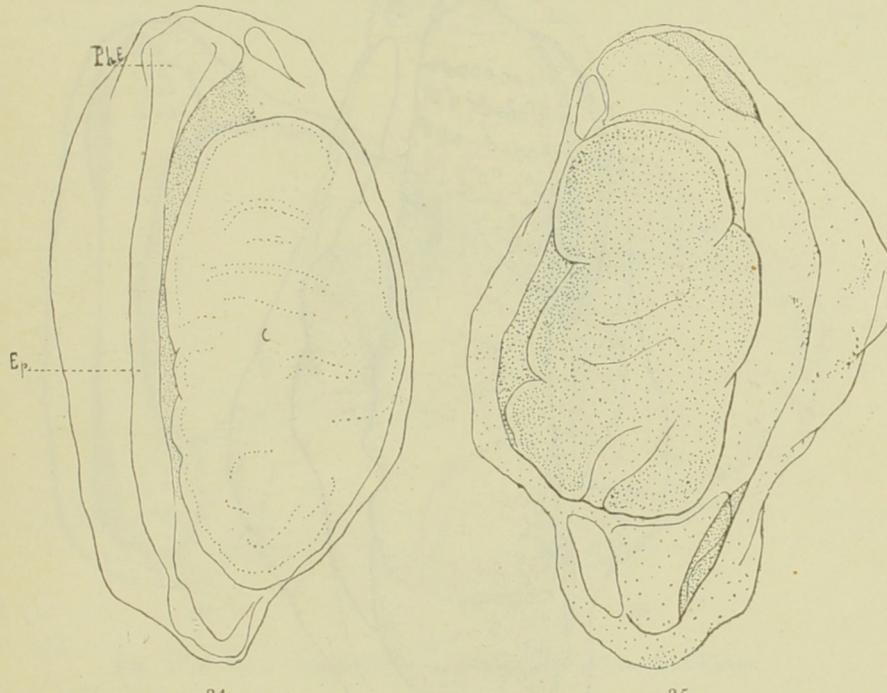


Fig. 34. — Fragment œsophagien bithoracique, de 4 jours.

Fig. 35. — Fragment œsophagien bithoracique, de 8 jours.

Le fragment œsophagien est entouré de sa nouvelle tunique dès le 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> jour. Il sort généralement alors du manchon informe de la vieille tunique, auquel il reste cependant accolé par l'une de ses faces.

Il est difficile, du moins pendant les 3 ou 4 premiers jours, de se rendre compte sur le vivant, du stade organogénétique du fragment que l'on sait être en régénération. Ce n'est que vers le 8<sup>e</sup> ou 10<sup>e</sup> jour que l'on peut distinguer les éléments du nouveau thorax.

Par contre, sur le matériel fixé, coloré au carmin et éclairci à l'essence de bois de cèdre, il est aisé de suivre le développement des organes.

Il arrive parfois que les segments œsophagiens se réduisent en sphé-rules certainement viables mais dont je n'ai pu suivre la régénération très lente sans doute. D'autre part, la vitesse de régénération est loin d'être uniquement fonction du temps. Elle dépend de facteurs individuels internes. Il arrive qu'au 2<sup>e</sup> jour, des segments soient plus avancés que d'autres au 4<sup>e</sup> ou 5<sup>e</sup> jour. Enfin, dans tous les cas où j'ai observé la régénération, il y avait hétéromorphose. Les fragments œsophagiens possédaient une bipolarité extériorisée par l'existence de deux thorax.

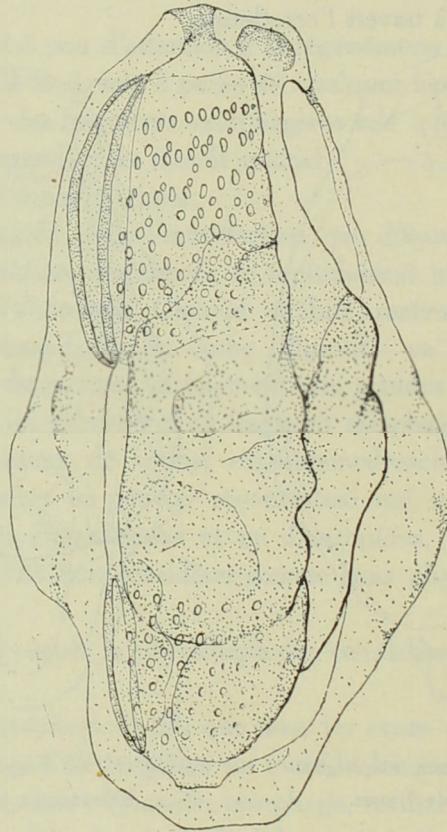


Fig. 36. — Fragment œsophagien bithoracique de 11 jours.

C'est ce que montrent les fig. 34, 35, 36, 37, 38, schématisées et faites d'après quelques-uns des nombreux cas observés, fixés, colorés et éclaircis.

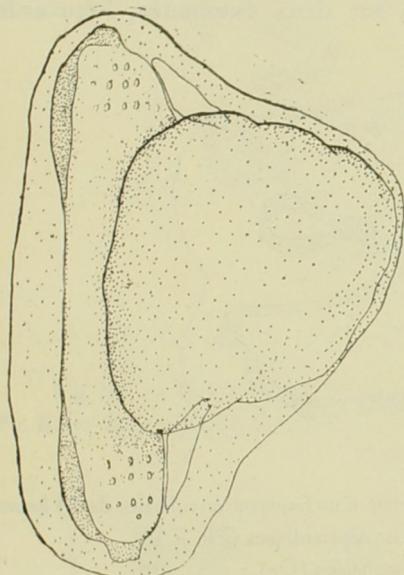
La fig. 34 représente un fragment œsophagien expérimenté le 8 mars, fixé le 12 mars après 4 jours de régénération.

La fig. 35 correspond à un fragment œsophagien, sectionné le 12 mars et fixé le 19 mars après 7 jours de régénération.

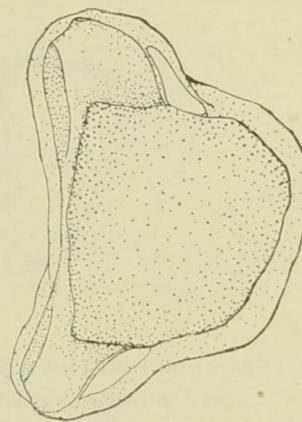
La fig. 36 est faite d'après un fragment œsophagien sectionné le 8 mars et fixé le 19 mars après 11 jours de régénération.

Les fig. 37, 38, d'après 2 fragments œsophagiens sectionnés le 18 mars, fixés le 28 mars après 10 jours de régénération.

La cicatrisation est très rapide : un jour après la section, la plaie est fermée, l'ectoderme est continu, la régénération a d'ailleurs déjà commencé ainsi qu'il sera montré tantôt.



37



38

Fig. 37 et 38. — Fragments œsophagiens bithoraciques de 10 jours.

Ces dessins *in toto* ont été faits au même grossissement, et l'on peut constater que la taille du fragment n'influe pas sur la vitesse de régénération. Il se produit d'ailleurs au cours de la régénération une contraction progressive due au remaniement des tissus anciens en vue d'une régulation parfaite des organes.

Le simple examen des individus *in toto* permet de comprendre non seulement l'allure générale de la régénération, mais aussi de se rendre compte que le tissu régénérant essentiel est l'épicarde. Il est intéressant cependant de suivre l'organogénèse dans le détail par la méthode des coupes.

B. — ORGANOGENÈSE DE LA RÉGÉNÉRATION DU THORAX  
AUX DÉPENS DE L'ÉPICARDE

A tous les stades que nous envisagerons, les fragments de l'anse digestive, rectal et œsophagien, ne subiront guère de changement histologique. Il en est de même des organes génitaux. Ce sont des tissus hautement spécialisés dont le rôle régénératrice est faible ; au contraire l'épicarde est un tissu très peu différencié. C'est une sorte de tissu embryonnaire dont le pouvoir de prolifération et de régénération est considérable. Ayant été sectionnés aux deux extrémités, les fragments rectal, œsophagien, utérin et testiculaire se cicatrisent et deviennent autant de sacs clos de toute part. A ses deux extrémités, l'épicarde entre en régénération.

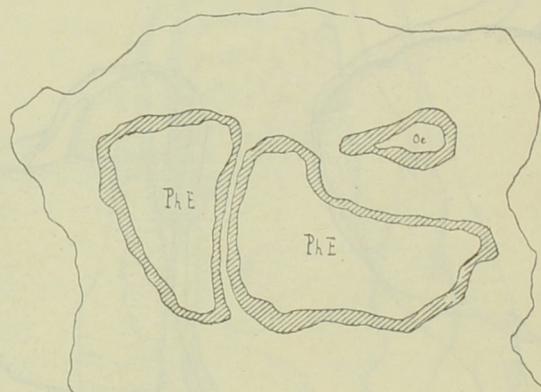


Fig. 39. — Coupe transversale passant par l'extrémité d'un fragment œsophagien de 24 heures  
où l'on voit les deux lobes pharyngocardiaques (Ph. E.)  
et le prolongement œsophagien (Oe).

Les fig. 39 à 44 correspondent à des coupes transversales d'un fragment œsophagien en régénération depuis 24 heures. La cicatrisation de l'ectoderme, de l'œsophage, du recium, des organes génitaux est terminée. A ses deux extrémités, l'épicarde cicatrisé et déjà en pleine régénération organogénétique, s'est dédoublé, constituant deux lobes gauche et droit. Les fig. 39 et 40, 43 et 44 montrent ce dédoublement aux deux extrémités antérieure et postérieure. On peut constater toutefois que les lobes antérieurs (fig. 39, 40) sont plus développés que les lobes postérieurs (fig. 43, 44). Antérieurement, en effet, les lobes épocardiques dépassent déjà l'œsophage (à peine entamé dans la coupe), s'accolent étroitement, préparant ainsi leur confluence prochaine en une cavité pharyngienne, exactement comme dans le bourgeonnement des *Clavelinidae*, celui des *Polyclinidae* et des *Didemnidae*.

Quoique la régénération soit la même aux deux extrémités, on ne pourrait pas à ce stade en déduire nécessairement l'existence d'une bipolarité. On sait (7), en effet, que dans le bourgeonnement de *Clavelina* et des *Aplousobranchiata* en général, l'organe cardiopéricardique

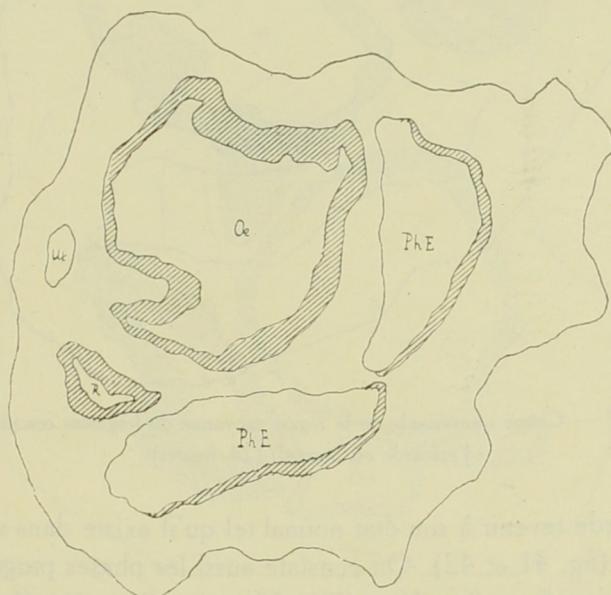


Fig. 40. — Coupe transversale immédiatement postérieure à la coupe fig. 39.  
Ph. E. = lobes pharyngocardiaques ; Oe. = œsophage ; R. = rectum ; Ut. = utérus.  
(24 heures).

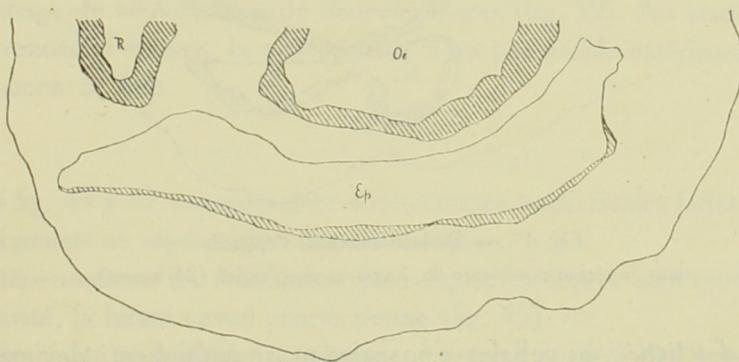


Fig. 41. — Coupe transversale postérieure à 40 : l'épicarde est simple, mais sa paroi ventrale est en prolifération régénératrice (24 heures).

à la région postérieure de l'épicarde, débute par la formation de 2 lobes épicardiques à peu près identiques à ceux représentés dans les fig. 43 et 44). Ainsi le pharynx, et l'organe cardiopéricardique aux deux

extrémités de l'épicarde se constituent aux dépens d'ébauches semblables. Si l'on envisage, de part et d'autre des extrémités du segment en régénération, des coupes de plus en plus rapprochées du centre, on

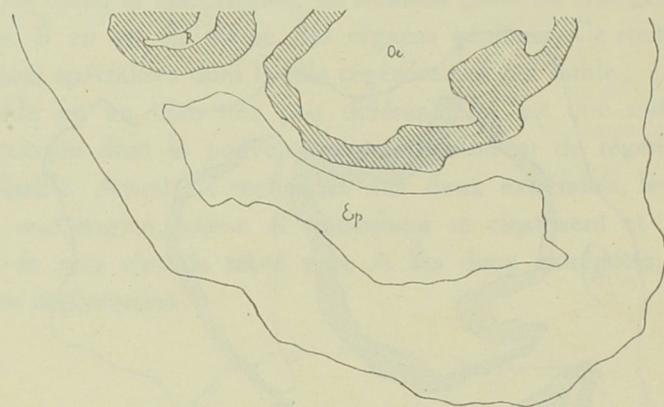


Fig. 42. — Coupe transversale de la région moyenne du fragment œsophagien ; l'épicarde est normal. (24 heures).

voit l'épicarde revenir à son état normal tel qu'il existe dans une Claveline adulte (fig. 41 et 42). On constate aussi les phases progressives de l'activité épicardique (fig. 41 et 43). C'est *la paroi ventrale qui prend*

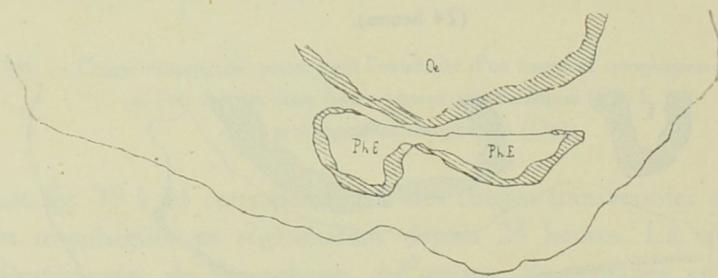


Fig. 43. — Dédoublement de l'épicarde dans la région postérieure du fragment œsophagien (24 heures).

*le plus d'activité* ; ses cellules s'épaissent, se multiplient, deviennent basophiles alors que la face dorsale reste inactive et mince. C'est la paroi ventrale dont les cellules sont en prolifération excessive qui se plisse en deux lobes lesquels seront désormais les ébauches organogénétiques de la régénération que nous venons de signaler.

Dans le bourgeonnement des *Aploousobranchiata*, il en est exactement de même.

Si le fragment œsophagien ne subit pas de grands changements histologiques, signalons cependant que déjà à ce moment, 24 heures après la section, il émet une petite évagination s'avançant vers l'un des deux

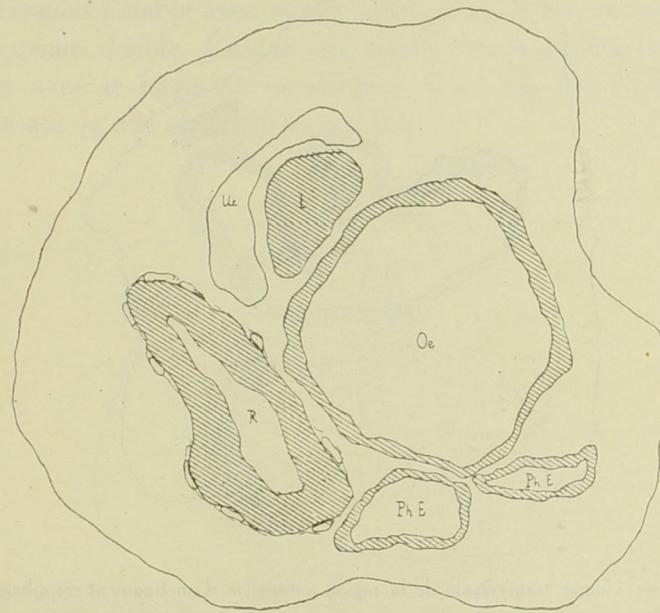


Fig. 44. — Coupe transversale postérieure à la coupe 43 et passant par les deux lobes pharyngoépicardiques postérieurs (24 heures).

lobes pharyngoépicardiques pour constituer, partiellement du moins, l'œsophage de néoformation du nouveau thorax (fig. 39). Au stade que nous venons d'étudier, la régénération n'est pas visible extérieurement à l'examen *in toto*.

\* \* \*

Les fig. 45 à 47 correspondent à des coupes transversales faites dans des fragments en régénération depuis trois jours.

Antérieurement, les deux lobes pharyngoépicardiques sont réunis en une cavité, la future cavité pharyngienne (fig. 45).

Cette cavité se prolonge maintenant nettement au-delà des segments rectal et œsophagien, et vue dans son ensemble, elle a l'aspect que représente la figure 34 d'après une préparation *in toto*.

On constate sur cette coupe (fig. 45) que le pharynx communique déjà avec le fragment œsophagien par un œsophage de néoformation dont nous avons vu le début au stade précédent sous forme d'une évagination du fragment œsophagien. Mais à sa constitution collabore sans

doute le tissu épicardique, la communication étant probablement par la rencontre d'un diverticule œsophagien et d'un diverticule pharyngéopéricardique.

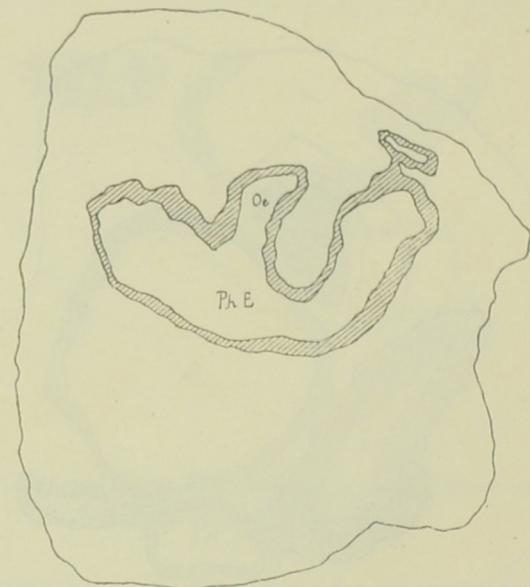


Fig. 45. — Coupe transversale de la région antérieure d'un fragment œsophagien après 3 jours de régénération, montrant la fusion des deux lobes épicardiques en une cavité pharyngienne (Ph. E.) dans laquelle s'ouvre l'œsophage (Oe.) de néoformation.

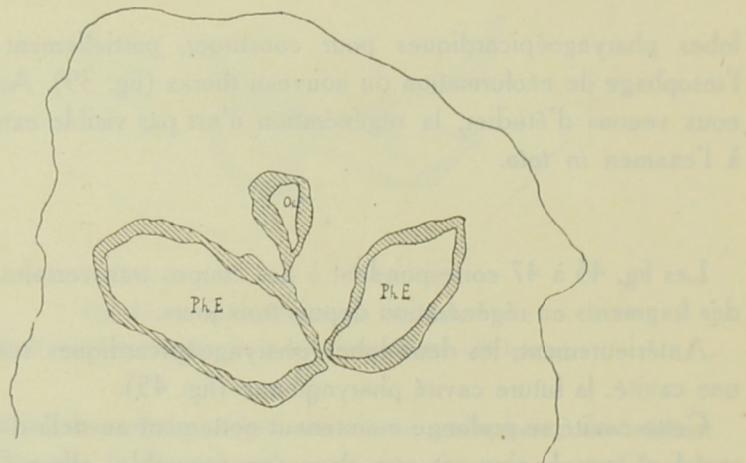


Fig. 46. — Coupe transversale postérieure à fig. 45, montrant les deux lobes pharyngéopéricardiques (Ph. E.) indépendants.

Immédiatement derrière la coupe précédente (fig. 45), on retrouve les deux lobes pharyngéopéricardiques indépendants (fig. 46). Postérieurement, les lobes pharyngéopéricardiques se sont aussi développés, mais

moins qu'à la région antérieure (fig. 47). Ils sont à peu près au point où en étaient les lobes pharyngoépicardiques au stade précédent. Ils sont encore indépendants ; cependant ils présentent déjà la communication avec le fragment œsophagien. C'est donc à ce stade que cette communication s'établit avec un des lobes. Dans le cas qui nous occupe, elle est même double. Chacun des lobes pharyngoépicardiques communique avec le fragment œsophagien. C'est une disposition exceptionnelle que je n'ai observée qu'une fois.

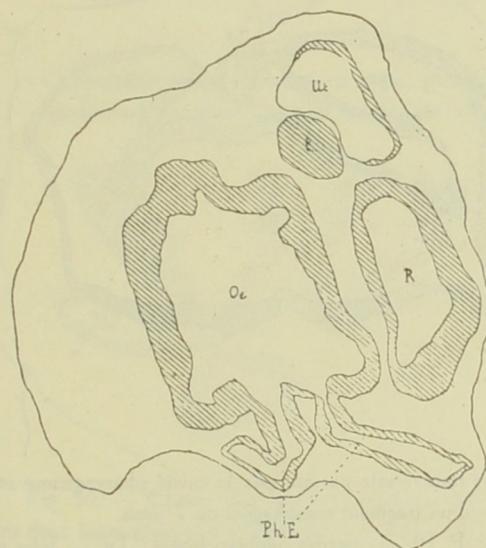


Fig. 47. — Coupe transversale passant par la région postérieure du même fragment œsophagien (45, 46) et montrant les deux lobes pharyngoépicardiques postérieurs, non encore fusionnés et communiquant chacun avec l'œsophage.

Il ne subsistera toutefois qu'une seule communication, dès que les deux lobes auront conflué en une cavité pharyngienne. Il en résulte que les deux thorax qui vont se constituer antérieurement et postérieurement seront tous les deux en communication avec le fragment œsophagien. Des deux branches du tube digestif, c'est le *segment œsophagien qui réagit à la régénération de l'épicarde*. *Les corrélations sont donc chimiquement et physiquement sélectives*. Vers la région centrale du fragment en régénération, l'épicarde reprend progressivement l'aspect normal que nous avons signalé précédemment.

\* \* \*

Les fig. 48 à 50 correspondent à un fragment œsophagien, sept jours après la section.

La régénération est considérablement plus avancée.

*Région antérieure.* Le pharynx, formé au stade précédent, par confluence des deux lobes pharyngépicardiques, se régularise ; l'endostyle s'ébauche en un épaississement de la paroi ventrale du pharynx.

Latéralement le pharynx émet deux lobes, les deux lobes péribranchiaux, se prolongeant dorsalement, enveloppant complètement le pharynx, mais ne confluant pas encore en un cloaque médian. L'extré-

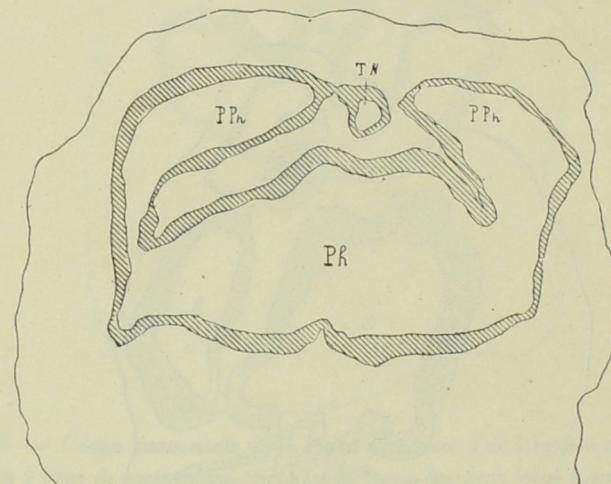


Fig. 48. — Coupe transversale passant par la cavité pharyngienne antérieure d'un fragment œsophagien de 7 jours.

Ph. = pharynx ; P. Ph. = cavités péribranchiales ; Tn. = tube neural.

mité distale du lobe péribranchial droit, s'étrangle, s'isole, constituant un tube dorsal situé dans le plan médian et qui ne peut être que le tube neural.

Le pharynx se prolonge postérieurement par deux tubes épicardiques que nous connaissons depuis le premier stade étudié (fig. 46) et qui forment maintenant les deux tubes épicardiques antérieurs sous-pharyngiens et sous-endostylaires caractéristiques de l'ascidiozoïde adulte.

*Région postérieure.* La régénération de l'épicarde postérieur correspond à ce que nous avons décrit au sujet de la régénération épicardique antérieure au stade précédent (fig. 49).

Les deux lobes sont partiellement confondus en une cavité pharyngienne. Plus distalement ces deux lobes sont encore distincts comme d'ailleurs en avant de la cavité pharyngienne antérieure (fig. 50).

Le fragment œsophagien communique ici aussi avec la cavité pharyngienne postérieure, et cette communication se poursuit plus distalement, avec le lobe droit pharyngépicardique.

Le pharynx postérieur est encore dépourvu de lobes péribranchiaux comme le pharynx l'était au stade précédent. Mais parmi nos préparations nous signalons le cas du pharynx postérieur d'un régénérat au stade

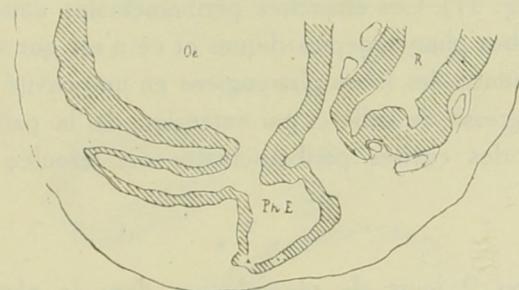


Fig. 49. — Coupe transversale passant par la cavité pharyngienne (Ph. E.) postérieure du même fragment œsophagien (48).

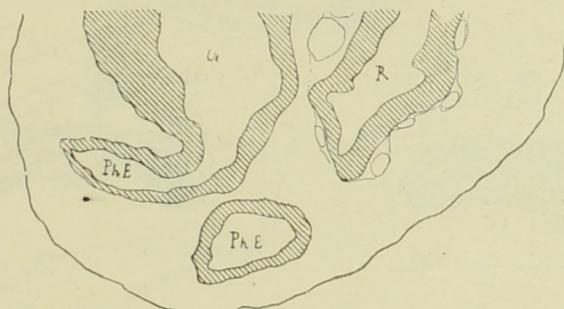


Fig. 50. — Coupe transversale postérieure à fig. 49, montrant les deux lobes pharyngoépicardiques postérieurs non encore fusionnés.

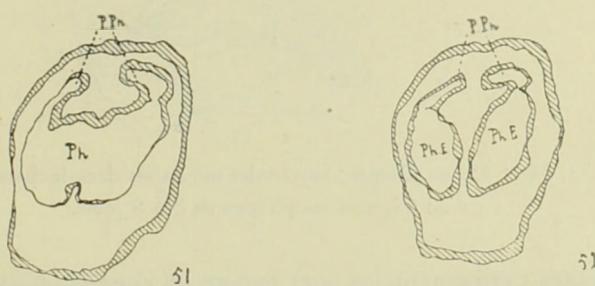


Fig. 51 et 52. — Coupes transversales de la région postérieure d'un fragment œsophagien de 7 jours, montrant le début de la formation des cavités péripharyngiennes aux dépens des lobes pharyngoépicardiques.

envisagé ici (fig. 51 et 52) et où le pharynx postérieur présente cependant deux petits diverticules latérodorsaux, les premières ébauches des cavités péribranchiales.

Celles-ci apparaissent donc au moment où les lobes pharyngéoépicardiques vont confluer ; plus distalement, en effet, les deux lobes pharyngiens sont encore isolés et déjà pourvus cependant des ébauches péribranchiales (fig. 51). Ces ébauches péribranchiales naissent sur la face dorsale des lobes pharyngéoépicardiques et ce n'est que secondairement, après la confluence des lobes pharyngiens en une cavité unique, l'élargissement progressif de celle-ci par extension de la paroi dorsale, que l'embouchure des cavités péribranchiales est refoulée latéralement et ventralement.

\* \* \*

Après 8 ou 9 jours de régénération, dans le *pharynx antérieur*, l'ébauche endostylique s'incurve et prend la forme de l'endostyle typique (fig. 53, 54, 55).

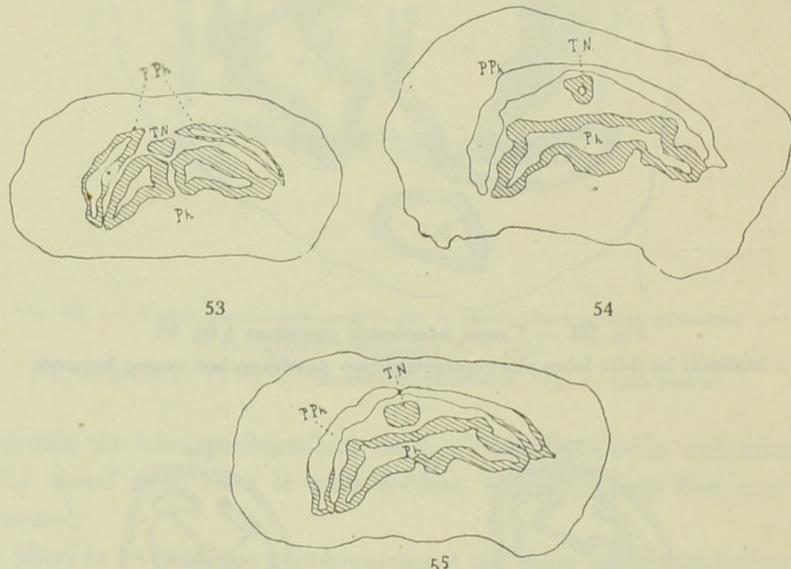
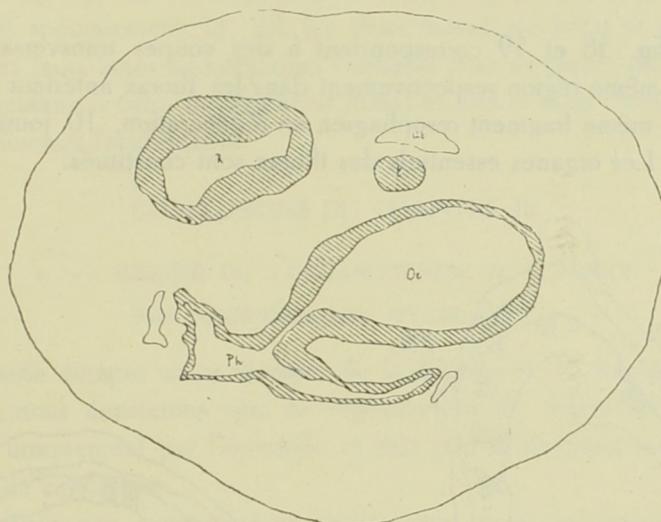


Fig. 53, 54 et 55. — Coupes transversales successives dans le thorax antérieur d'un fragment œsophagien de 8 à 9 jours.

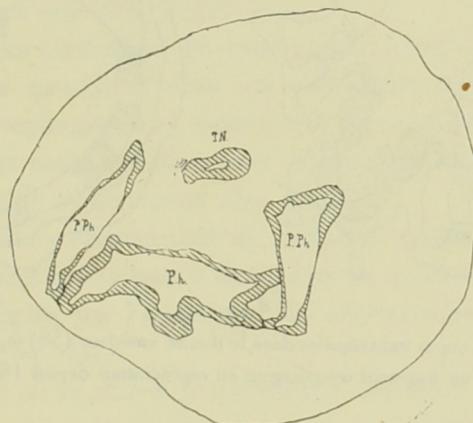
Les cavités péribranchiales sont encore en connexion avec le pharynx mais ne communiquent pas avec lui. Par contre, les cavités péribranchiales confluent dorsalement, par dessus le tube neural définitivement isolé. Un cloaque est donc constitué mais il n'y a pas encore de siphon anal, pas plus d'ailleurs que de siphon buccal. Le tube neural se prolonge antérieurement et vient en contact avec le pharynx au point où se formera l'organe vibratile.

Les stigmates ne sont pas encore formés.

Dans le *thorax postérieur*, les cavités péribranchiales sont apparues mais elles ne sont pas encore réunies dorsalement. Le système nerveux est encore en connexion avec un des lobes péribranchiaux. Les rapports



56



57

Fig. 56 et 57. — Coupes transversales successives dans le thorax postérieur du même fragment œsophagien (53-55, 7 jours).

du pharynx et de l'œsophage sont définitivement établis dans les deux thorax, et ont pris la disposition typique de l'ascidiozoïde adulte (fig. 56 et 57).

\* \* \*

A partir de ce moment les différences de développement entre le thorax antérieur et le thorax postérieur s'effacent progressivement.

Ainsi que le montrent les dessins *in toto*, la taille seule les différencie, le thorax antérieur étant légèrement plus grand que le thorax postérieur.

Les fig. 58 et 59 correspondent à des coupes transversales faites dans la même région respectivement dans les thorax antérieur et postérieur du même fragment œsophagien en régénération, 10 jours après la section. Les organes essentiels des thorax sont constitués.

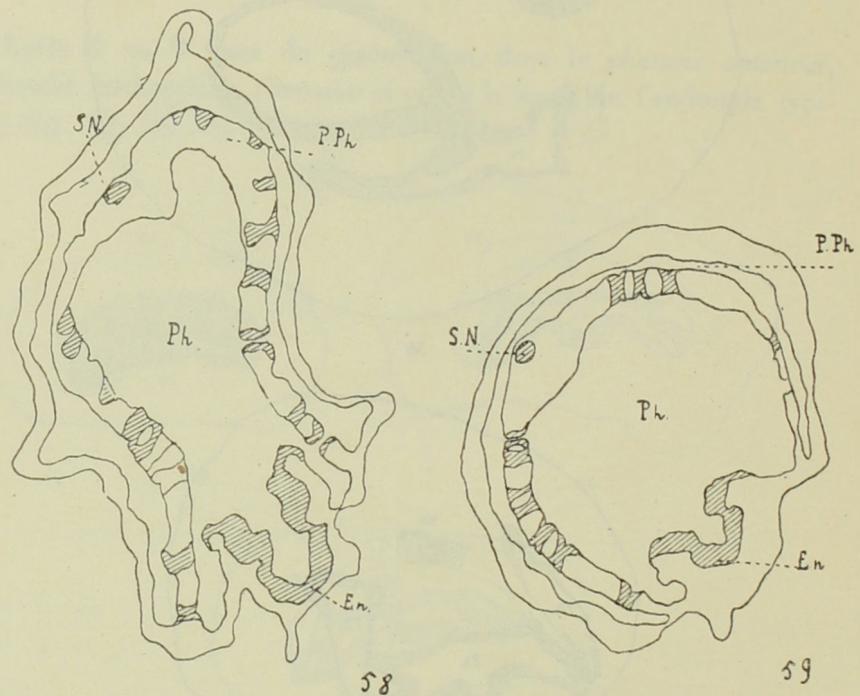


Fig. 58 et 59. — Coupes transversales dans le thorax antérieur (58) et le thorax postérieur (59) d'un fragment œsophagien en régénération depuis 10 jours.

Les stigmates se sont formés entre les cavités péribranchiales et le pharynx ; les deux cavités péribranchiales confluent en un cloaque dorsal, l'endostyle a pris la structure normale, le système nerveux s'ouvre dans la région antérieure du pharynx par l'organe vibratile.

Les deux thorax sont donc presque complètement constitués, mais à ce stade les siphons sont encore fermés.

Mes observations ne s'étendent pas au-delà de ce stade. Il ne m'est donc pas possible de dire ce qu'il serait advenu de ces régénérats bithoraciques.

Le rectum est resté libre, clos et inchangé. Les deux thorax communiquent d'une part par l'épicarde, d'autre part par le fragment œsophagien, s'ouvrant à ses deux extrémités dans chacun des deux pharynx par un œsophage de néoformation. Si l'on en juge d'après les figures *in toto* et spécialement fig. 38, les deux thorax semblent se redresser, rapprocher leurs faces endostylaires ventrales pour se placer dans un axe perpendiculaire à celui du régénéré initial et former ainsi deux ascidiozoïdes jumeaux fonctionnels.

### CONCLUSIONS DU CHAPITRE III

#### 1. — RÉSUMÉ DE L'ORGANOGÉNÈSE DU THORAX PAR RÉGÉNÉRATION ÉPICARDIQUE

Sans tenir compte en ce moment de la bipolarité du fragment œsophagien, nous constatons que la régénération du thorax est réalisée presque uniquement par l'épicarde et tout particulièrement par la paroi ventrale de ce dernier.

La régénération commence immédiatement après la cicatrisation, et dans l'espace de 24 heures après la section, les ébauches organogénétiques épicardiques sont déjà visibles :

1. L'épicarde au bout distal de cicatrisation, forme deux lobes pharyngépicardiques gauche et droit qui s'allongent distalement au-delà des extrémités œsophagiennes et rectale. Un de ces lobes, les deux parfois, se mettent en communication avec le fragment œsophagien initial, par un œsophage de néoformation (fig. 39, 47).

2. Les deux lobes s'accroissent et confluent antérieurement en une cavité pharyngienne qui se trouve donc être en communication avec le fragment œsophagien par l'œsophage de néoformation dont nous parlions au stade 1 (fig. 45).

3. Au moment où se réalise la confluence des deux lobes pharyngépicardiques en une cavité pharyngienne, ces deux lobes initiaux émettent chacun un diverticule latérodorsal. Ces deux diverticules, gauche et droit, seront les cavités péribranchiales du pharynx nouvellement constitué. Ils s'accroissent dorsalement. L'extrémité distale de l'un d'eux (le droit), s'étangle pour former le tube neural médiobasal (fig. 48, 51, 56).

4. Les deux diverticules péribranchiaux confluent dorsalement au-dessus du tube neural. Celui-ci se rapproche de l'extrémité distale du pharynx avec laquelle il entre en contact là où se formera l'organe vibratile. Le pharynx possède l'ébauche d'un endostyle (53).

5. Le thorax est complètement constitué. Les siphons ne sont pas encore ouverts à l'extérieur, mais les stigmates se sont formés (fig. 58, 59).

#### 2. — COMPARAISON AVEC LE BOURGEONNEMENT ÉPICARDIQUE

L'organogénèse de la régénération du thorax aux dépens de l'épicarde d'un fragment œsophagien de *Clavelina lepadiformis* se réalise selon des processus identiques à ceux que nous connaissons dans le bourgeonnement des *Aplousobranchiata* et spécialement chez l'*Apлюдium zostericola*.

Dans l'un et l'autre cas le pharynx est formé par deux lobes épicardiques, les cavités péribranchiales par deux diverticules issus chacun de chaque lobe pharyngé-épicardique.

La formation du tube neural aux dépens d'un des lobes péribranchiaux rappelle ce que HJORT (30, 31) a décrit chez les bourgeons de *Polyclinidae*.

*L'épicarde de Claveline possède donc virtuellement le pouvoir régénératrice qui se manifeste et qui caractérise les Aplousobranchiata dérivés phylogénétiquement des Clavelinidae.* La même conclusion peut être faite au sujet des *Diazonidae*, avec d'autant plus de raison que lorsqu'une *Claveline* (*Clavelina phlegrea*) se trouve dans les conditions éthologiques des *Diazonidae*, elle se comporte comme ces dernières et régénère comme elles (Congrès national des Sciences, Bruxelles, 1930, P. BRIEN : Les potentialités régénératrices chez les Clavelinidae).

#### 3. — COMPARAISON AVEC LE DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

On a souvent opposé les processus organogénétiques de la régénération et du bourgeonnement des Tuniciers, à leur développement embryogénétique, notamment en ce qui concerne le système nerveux et les cavités péribranchiales.

D'après les travaux de KOWALEVSKY (35, 36) et des biologistes qui les ont confirmés, particulièrement ceux de CAULLERY (12), les cavités péribranchiales seraient d'origine ectodermique, alors que dans la régénération naturelle et expérimentale elles sont toujours d'origine endoblastique.

Mais ainsi que N. POURBAIX (40), semble l'avoir bien démontré, dans les embryons de *Polyclinidae*, les cavités péribranchiales seraient également d'origine endoblastique. D'après les constatations de cet auteur, les ébauches péribranchiales décrites par KOWALEVSKY et CAULLERY correspondraient à un stade avancé du développement de ces

cavités. A l'origine, celles-ci apparaissent comme des diverticules pharyngiens formés par un processus qui rappellerait celui de l'entérocoelie.

Or, les stades que N. POURBAIX (40) décrit dans la formation des cavités péribranchiales de l'embryon de Polyclinidae sont fort semblables à ceux que nous venons de suivre dans la régénération des Clavelines, et à ceux que l'on peut suivre dans le bourgeonnement d'Aplousobranchiata, à savoir :

1. Diverticules endoblastiques gauche et droit aux dépens des ébauches pharyngoépicardiques.
2. Accroissement de ces diverticules en deux cavités péribranchiales qui s'isolent complètement.
3. Confluence des deux cavités péribranchiales, dorsalement en un cloaque.
4. Formation des stigmates.
5. Communication des cavités péribranchiales avec l'extérieur par le cloaque commun.

#### 4. — BIPOLARITÉ DES SEGMENTS CŒSOPHAGIENS

1. La régénération d'un fragment cœsophagiens de *Clavelina lepadiformis* dispose d'éléments fort semblables à ceux par lesquels se réalise l'organogénèse d'un bourgeon d'*Aplidium zostericola* ou de *Diazona* : segments épicardique, cœsophagiens, rectal, utérin et testiculaire, enveloppés de mésenchyme haemocœlien et entourés d'ectoderme.

Dans les bourgeons d'*Aplidium zostericola* (7), la portion de la branche descendante digestive est représentée surtout par des fragments d'estomac et non d'œsophage. La différence n'est pas cependant essentielle, d'autant plus que pendant le bourgeonnement d'*Aplidium zostericola*, le tissu stomacal subit une dédifférenciation partielle telle, qu'à un certain moment de l'organogénèse les caractéristiques du tissu stomacal sont estompées.

Expérimentalement, l'épicarde des fragments cœsophagiens de *Clavelina lepadiformis*, se trouve dans les mêmes conditions que les strobiles d'*Aplidium zostericola* et manifeste le même pouvoir organogénétique.

Mais comment expliquer que dans les strobiles d'*Aplidium* la régénération épicardique soit unipolaire, alors qu'elle est bipolaire dans les fragments cœsophagiens de Claveline ?

\* \* \*

Au moment du bourgeonnement, l'*Aplidium zostericola* (7), s'ampute de la région postœsophagienne, c'est-à-dire de l'abdomen stomacal très long et du postabdomen cardiopéricardique extrêmement court.

Cette amputation se réalise d'ailleurs progressivement. C'est d'abord l'épicarde qui se scinde dans la région œsophagienne terminale, pour constituer hâtivement l'ébauche cardiopéricardique nécessaire à l'organisme lorsque celui-ci se sera raccourci définitivement de toute sa portion postœsophagienne.

Conséutivement à cette première scission postœsophagienne, l'épicarde abdominal et postabdominal montre sur toute sa longueur les premières manifestations blastogénétiques. La paroi ventrale s'épaissit, prolifère, se plisse et présente deux replis médians, pharyngépicardiques et deux replis externes péribranchiaux. Ces plissements épocardiques se produisent alors que l'ascidiozoïde est encore en pleine vitalité ; la branchie thoracique est bien étalée, et le cœur postabdominal en fonctionnement, autrement dit la polarité morphologique et physiologique est parfaitement conservée dans l'ascidiozoïde.

Il en résulte que l'épicarde subit lui aussi cette polarité initiale et présente dans sa première manifestation blastogénétique un gradient très net par un développement des replis pharyngiens et péripharyngiens plus accentués à la région antérieure. Si l'amputation postœsophagienne se réalisait seule, il se constituera un nouveau thorax absolument normal aux dépens des lobes pharyngiens et péripharyngiens antérieurs. Mais au moment où l'amputation postœsophagienne s'achève, toute la région abdominale entre elle-même en voie de strobilisation. Celle-ci se fait progressivement, plus accentuée antérieurement que postérieurement.

Cette strobilisation progressive, antéropostérieure, suffit à créer dans chaque strobile un gradient tel que les strobiles ont une polarité métabolique correspondant à celle de la souche.

Le strobile (A), le plus antérieur, s'isolant du reste de l'abdomen, présente des lobes épocardiques plus développés à l'extrémité antérieure. Il est donc polarisé. En même temps l'épicarde qui suit la première zone de scissiparité, subissant la polarité de l'ensemble de l'épicarde postérieur, développe plus fortement les lobes épocardiques antérieurs, c'est-à-dire que quand le deuxième strobile (B) s'isolera à son tour du reste du postabdomen, il présentera une différence dans le développement blastogénétique de ses deux extrémités et sera par conséquent polarisé lui aussi. Il en sera de même pour chaque strobile. L'existence d'une polarité initiale dans tout l'épicarde blastogénétique, le fait que la strobilisation est progressive, antéropostérieure, créent donc dans chaque strobile une polarité identique à celle de la souche, c'est-à-dire un gradient métabolique antéro-postérieur.

Il en est de même pour les autres *Polyclinidae*.

Ainsi que le montrent les dessins de KOWALEVSKY (37) relatifs au bourgeonnement d'*Amaroucium*, et ainsi d'ailleurs qu'on peut l'observer également chez *Circinalium concrescens*, chez les *Polyclinidae* — exception faite pour l'*Aplidium* dont nous venons de parler — c'est le postabdomen qui se strobilise. Cette strobilisation est sans doute corrélative à un engorgement sanguin du postabdomen et à un arrêt dans la circulation. Quoi qu'il en soit, elle est, ici aussi, progressive, mais dans un sens opposé, il est vrai, à celui de l'*Aplidium zostericola*, c'est-à-dire de l'arrière vers l'avant. Pour la polarité des strobiles, l'effet est le même : chaque strobile possède une polarité identique à celle de la souche.

2. Dans la régénération expérimentale des fragments œsophagiens, par contre, la scissiparité n'est pas progressive. Les deux extrémités du fragment œsophagien sont sectionnés presque synchroniquement.

Si l'amputation de l'œsophage se fait à l'extrémité du thorax, la même portion épicardique donne un nouveau thorax à l'extrémité antérieure du segment œsophagien et un appareil cardicpéricardique dans le segment thoracique. Si l'amputation du thorax se fait immédiatement au dessus de l'estomac, c'est-à-dire dans la région postérieure de l'œsophage, la même région épicardique donne un thorax nouveau dans le fragment stomacal et un appareil cardiopéricardique dans le segment thoracique.

Il en serait de même si la section se faisait au milieu de l'œsophage, la même région épicardique régénérerait en avant un appareil cardiopéricardique en rapport avec le segment thoracique et en arrière un nouveau thorax en rapport avec l'abdomen.

*L'épicarde a donc, sur tout son parcours, une potentialité totale. Mais sa potentialité réelle est conditionnée, en chaque point, uniquement par la nature des organes qui sont présents dans le régénéral* ; autrement dit, *la potentialité organogénétique de l'épicarde est guidée, orientée, par les facteurs de corrélation dépendant eux-mêmes de la polarité, de la structure, de la différenciation et de la physiologie des organes présents dans le segment en régénération.*

Or, dans un fragment œsophagien sectionné et défini comme nous l'avons fait dans nos expériences, le segment de l'œsophage a la même structure sur tout son parcours ; il en est de même du segment rectal et des organes génitaux. Non polarisés morphologiquement, ces segments ne peuvent l'être physiologiquement, ou du moins très faiblement et seulement dans l'ascidiozoïde adulte, par suite de la présence du thorax et de l'abdomen fonctionnels.

Dès lors, les sections expérimentales synchrones ne peuvent permettre au fragment œsophagien de prendre un gradient physiologique dans un sens ou dans un autre, du moins un gradient assez net pour établir aux deux extrémités du fragment considéré des potentialités métaboliques suffisamment différentes pour inhiber ou orienter les processus de régénération de l'épicarde.

L'incision étant une excitation du métabolisme, aux deux extrémités du fragment en régénération, après cicatrisation précoce, l'épicarde entre en prolifération et en organogénèse régénératrice, dans le même sens, puisqu'il s'y trouve dans les mêmes conditions de corrélation physiologique, c'est-à-dire en présence de segments œsophagiens et rectals, eux-mêmes sans différenciations spéciales à leurs extrémités. Le même gradient s'établit donc progressivement aux deux extrémités du fragment considéré. Celui-ci devient bipolaire ; la régénération est une hétéromorphe ; un thorax s'édifie aux deux pôles.

La polarité est donc un phénomène actuel, physiologique, non fixé d'une façon rigide ; elle est une résultante des corrélations morphologiques et fonctionnelles, entre les ébauches en présence, et modifiables sans cesse selon les modifications que ces corrélations présentent. Elle correspond aux gradients physiologiques que ces corrélations extériorisent elles-mêmes.

Nous savons cependant que la régénération à l'extrémité antérieure est plus active. Quel que soit le stade que l'on considère, le thorax postérieur est dans l'état où était le thorax antérieur au stade précédent.

Il faut peut-être attribuer cette différence d'intensité dans la régénération des deux thorax à la persistance dans le fragment œsophagien de la polarité initiale de l'ascidiozoïde, trop faible pour imprimer dans le fragment œsophagien un gradient tel que la régénération soit unipolaire, mais suffisante cependant pour que la vitesse de régénération soit plus grande au pôle antérieur qu'au pôle postérieur.

C'est là une observation que l'on a pu faire souvent (MORGAN, CHILD, etc.) dans les cas d'hétéromorphe.

La persistance de la polarité initiale s'explique assez bien si l'on songe que malgré l'absence de polarité structurale dans les fragments œsophagiens, il y a cependant une polarité physiologique dans l'ascidiozoïde adulte, selon laquelle, par exemple, le mouvement péristaltique du rectum se réalise d'arrière en avant, tandis que dans l'œsophage le battement des cils est également coordonné de façon à faire glisser les aliments du thorax vers l'estomac. Après l'incision du fragment œsophagien, ces battements de cils y persistent peut-être un moment,

ce qui signifie qu'une polarité subsiste, faible sans doute, mais suffisante pour expliquer la distinction que nous venons de faire dans la régénération orale et la régénération aborale.

Nous venons de conclure que l'extrémité orale n'exerce aucune induction spécifiquement organogénétique, sur l'extrémité aborale, qui conserve aussi toute sa potentialité. Mais à ses deux extrémités, l'épicarde n'en dispose que pour régénérer un thorax. C'est qu'il se trouve dans les mêmes corrélations organogénétiques conditionnées par la présence des mêmes organes, œsophage et rectum. Il semble toutefois que ce soit entre l'œsophage et l'épicarde que les corrélations s'établissent au plus haut point. En effet, dans la formation des lobes pharyngépicardiques, un œsophage de néoformation fait communiquer aux deux extrémités le fragment œsophagien initial représentant la branche descendante de la future anse digestive, aux ébauches pharyngiennes. Mais cette branche est à droite dans le thorax antérieur, elle est morphologiquement à gauche dans le thorax postérieur, ce qui indique que pour les corrélations organogénétiques qui conditionnent dans l'épicarde la régénération d'un thorax, c'est l'œsophage qui est le plus important.

*Entre les ébauches initiales, entre les tissus en régénération, il existe des affinités, des corrélations sélectives physicochimiques très nettes.*

#### CHAPITRE IV

##### Les cellules vacuolaires de l'haemocœle.

D'après les observations qui précédent, la régénération naturelle ou expérimentale des stolons est mésoblastique lymphocytaire, c'est-à-dire réalisée par des cellules primordiales. Dans les fragments thoraciques coupés sous l'entonnoir œsophagien, dans les fragments œsophagiens et stomachaux, c'est l'épicarde qui est l'élément régénérateur essentiel, spécialement actif à sa face ventrale.

Cependant SPEK (52) a attiré l'attention sur des cellules vacuolaires du mésenchyme, cellules qui auraient une importance très grande dans la morphogénèse grâce à la substance qu'elles contiennent dans leurs vacuoles.

Cette substance a la propriété de se colorer au rouge neutre, ce qui permet à ces cellules vacuolaires d'être mises en évidence d'une façon particulièrement frappante.

Elles sont excessivement abondantes dans la région thoracique où elles ont envahi les lacunes et les sinus sanguins ; mais elles sont souvent fixées à l'épithélium des tissus où elles pénètrent par diapédèse. Elles

se concentrent aussi aux alentours des siphons buccal et anal. Elles passent dans la tunique où elles sont le plus facile à observer.

Beaucoup moins abondantes dans l'abdomen où elles se fixent plus particulièrement le long de l'anse digestive, elles deviennent par contre très nombreuses dans les stolons et plus spécialement aux extrémités distales de ceux-ci.

Ainsi les cellules vacuolaires sont répandues dans tout le mésenchyme haemocœlien. Libres, capables de mouvements amiboides, elles se déplacent. Mais leur répartition même semble indiquer que leur déplacement obéit à un chimiotactisme qu'il n'est pas possible de préciser actuellement. SPEK d'ailleurs l'a reconnu lui aussi.

Selon cet auteur ces cellules joueraient un rôle primordial dans la physiologie des Clavelines et plus particulièrement dans leurs propriétés morphogénétiques. Dans ses conclusions, il dit : " In dieser Hinsicht verdienen sie es, als omnipotent bezeichnet zu werden " (p. 170).

D'après SPEK, ces cellules vacuolaires très abondantes dans les stolons, représenteraient les éléments blastogénétiques essentiels des bourgeons et des chambres bourgeonnantes. " Die Zellen mit dem grossen roten Tropfen treten zu Klumpen zusammen, und ihre Protoplasten verschmelzen miteinander " (p. 137). " Nach kurzer Zeit verschwinden die Tropfen aus der Organanlage " (p. 142). Consécutivement à la formation de ce massif, les vacuoles régressent. L'auteur décrit un stade intermédiaire à la dédifférenciation totale : " Ich hatte das Glück, unter geschnittenen Winterknospen auch eine recht gut mit Flemming fixierte vorzufinden, welche zweifellos das allererste Stadium der Aggregation der Zellpakete zeigt... Erste Phase des Tropfenabbaues in den Zellmassen " (p. 142, 143).

L'ébauche organogénétique serait donc constituée de cellules dédifférenciées ; mais une partie des " Tropfenzellen " subsistent avec leurs vacuoles.

Une fois dédifférenciées les " Tropfenzellen " (ce que nous avons appelé cellules vacuolaires) groupées en un massif blastogénétique, ne pourraient être distinguées des cellules primordiales, ce que nous avons appelé cellules lymphocytaires mésenchymateuses ou lymphoblastes.

C'est ici, je crois, que se trouve l'explication de l'interprétation contradictoire que SPEK et moi tirons d'observations du même matériel.

Dans mes observations, ainsi que je l'ai décrit précédemment, j'ai suivi jour par jour avec la même méthode et au même grossissement les phénomènes de régénération stoloniale. Il est évident que les cellules vacuolaires sont nombreuses, mais bien moins cependant que les

cellules primordiales mésenchymateuses. De plus, on peut observer à la fois sur le matériel vivant et sur le matériel fixé, la concentration de ces cellules primordiales, mésenchymateuses par contraction progressive du septum (voir régénération du stolon, chap. I).

Il apparaît alors que les cellules vacuolaires n'ont pas un rôle direct dans la formation de l'ébauche régénératrice. Elles sont d'ailleurs plus concentrées au pôle opposé à celui de la régénération.

Si au dernier stade de la formation du massif, on trouve dans le cytoplasme opalescent des lymphoblastes, des granulations ou de petites inclusions réfringentes, on ne peut interpréter ces dernières, ainsi que le fait SPEK, comme étant la phase ultime de la dédifférenciation des cellules vacuolaires, mais, au contraire, comme un enrichissement du cytoplasme des cellules primitivement indifférenciées, d'inclusions secondaires et temporaires.

Au cours de la formation du massif, on ne peut constater une diminution des cellules vacuolaires, comme le voudrait l'interprétation de SPEK. Non seulement il subsiste des cellules vacuolaires, mais elles subsistent aussi nombreuses à la formation du massif qu'au moment de la section du stolon.

Enfin, le noyau des cellules vacuolaires n'a pas du tout le même caractère que celui des lymphocytes. Autant que j'ai pu le voir sur le vivant, et d'après les matériaux fixés, le noyau des cellules vacuolaires est petit et granuleux, alors que le noyau lymphocytaire sur le vivant comme sur le matériel fixé est clair avec nucléole central basophile.

Les caractères des noyaux sont un des moyens les plus sûrs de distinguer pendant toute la régénération, les deux genres de cellules, qu'il est d'ailleurs impossible de confondre et qui ont des destinées absolument différentes ainsi qu'il ressort des observations que nous avons faites (chap. I).

\* \* \*

SPEK, considérant ces cellules vacuolaires comme cellules régénératrices, morphogénétiques, omnipotentes, grâce à la substance qu'elles possèdent, a généralisé son interprétation à la régénération par restitution aux dépens des organes préexistants et à l'ovogénèse même. Il les homologue aux cellules folliculeuses et aux cellules du test ; et conclut : "...dass sowohl die früher als Follikel-, als auch die als Testazellen bezeichneten Zellelemente, welche in grossen Mengen an und in die Eizellen eintre en, unsern Tropfenzellen entsprechen" (p. 156).

Ainsi les gonocytes pendant leur grand accroissement bénéficiaient de la substance de ces "Tropferzellen" pour acquérir leurs propriétés organogénétiques embryonnaires.

L'interprétation est ingénue et séduisante. Mais nous ignorons la composition exacte des vacuoles de ces cellules. D'autre part, les cellules folliculeuses et du test n'ont pas le même aspect que les cellules vacuolaires du stolon ou de la branchie. De plus, la coloration au rouge neutre n'est pas suffisante pour établir l'identité chimique de substances également colorées mais incluses dans des cellules différentes. Enfin, ces cellules folliculeuses sont sans doute des cellules nourricières de l'oocyte comme dans tout le règne animal, sans qu'il soit démontré que l'inclusion que ces cellules renferment, ait une autre fonction que d'être simplement trophique. C'est la même objection que l'on peut faire au rôle qu'attribue SPEK aux cellules vacuolaires dans la régénération par restitution.

Celles-ci, en effet, se concentrent autour de la blessure, dans la tunique aussi bien que dans l'haemocœle avoisinant le point de l'incision. L'ectoderme en régénération lui même se remplit de vésicules colorables au rouge neutre. Bref, la morphogénèse de la régénération serait fonction de la présence de cette "Tropfensubstanz" apportée par les cellules vacuolaires.

Mais, ainsi que nous l'avons montré, l'épicarde est le tissu organogénétique essentiel. Or, l'épicarde est un épithélium plat, indifférencié, "Hier ist ein Fall gegeben, wo nun einmal das Entoderm ein ausserordentlich substanziarmes Plattenepithel darstellt, und es ist somit zu erwarten, dass hier auch in dieses erst viele Tropfenzellen einwandern müssen, ehe es zu weiteren formativen Leistungen fähig wird" (p. 161).

Cependant sur le matériel vivant pas plus que sur le matériel fixé, nous n'avons pu observer une migration spécialement grande des cellules vacuolaires.

D'autre part, leur signification morphogénétique ne s'expliquerait pas très clairement si l'on songe que dans l'épicarde même, c'est la face ventrale qui acquiert surtout ce pouvoir organogénétique. Les cellules de l'épicarde accroissent leur cytoplasme, prolifèrent intensément, mais restent longtemps indifférenciées avec le cytoplasme basophile.

Est-ce à dire que les cellules vacuolaires n'ont aucune influence ? Elles doivent, au contraire, avoir une répercussion dans la régénération et c'est le mérite de SPEK d'avoir attiré l'attention sur ces cellules curieuses. Mais définir leur part dans la propriété organogénétique des cellules primitivement indifférenciées est impossible. Ce n'est pas dans

une substance organogénétique apportée par certaines cellules qu'il faut rechercher les facteurs organogénétiques du phénomène complexe de la régénération. S'il en était ainsi, les deux parois de l'épicarde auraient le même rôle, ce qui n'est pas. *La potentialité organogénétique est le résultat d'un état physiologique des cellules au point où elles viennent d'être incisées, dépendant de la qualité du plasma qui les baigne et des corrélations.* Les cellules vacuolaires peuvent évidemment modifier les qualités physico-chimiques et nutriciales du plasma, mais rien ne prouve qu'elles aient une action morphogénétique spécifique à la façon d'une hormone organogénétique ; ce serait reprendre la théorie des hormones organogénétiques que LOEB avait imaginée pour expliquer les phénomènes de polarité dans la régénération et que cet auteur a abandonnée lui-même dans ses dernières recherches.

Il n'en est pas moins justifié d'admettre que ces cellules ont une action nutriciale qu'il conviendrait d'analyser plus profondément.

\* \* \*

Or, quelle est la nature de la substance incluse dans la vacuole ? SPEK en a fait l'analyse microchimique.

"Alles in allem wird man mit der Schlussfolgerung nicht fehlgehen, dass die Hauptmasse der Tropfen unserer Tropfenzellen jedenfalls eine Eiweissubstanz ist" (p. 131).

Mais si l'on fait agir l'iodure de potassium iodé on constate que ces inclusions qui présentent, comme SPEK le montre d'une façon indubitable, les propriétés des substances protéiques, se colorent également en brun acajou, c'est-à-dire offrent une propriété du glycogène.

Cette coloration est facilitée si l'on a eu soin de faire sortir les cellules vacuolaires du stolon pour qu'elles s'étalent entre la lame et la lamelle de la préparation.

Après lavage à l'eau de mer de l'excès de I K I, le cytoplasme des cellules vacuolaires est coloré en jaune paille, tandis que la vacuole ou les vacuoles ressortent en brun-acajou. C'est ce que montre la fig. 60, faite après la coloration.

Il arrive d'ailleurs que la vacuole ne se colore pas uniformément, mais présente une portion centrale de couleur brun-acajou, entourée d'une zone marginale brun clair (fig. 61).

Ainsi, tout en considérant combien ces méthodes microchimiques sont approximatives, on pourrait admettre que la substance de la vacuole est formée de glycoprotéine. Après l'action d'alcool à 35°, les cellules vacuolaires sont conservées, légèrement contractées, la vacuole étant

vide. Dans cet état, le lugol colore le cytoplasme en jaune paille, le rouge neutre le teint en rose, mais la vacuole reste inchangée étant vide (fig. 62).

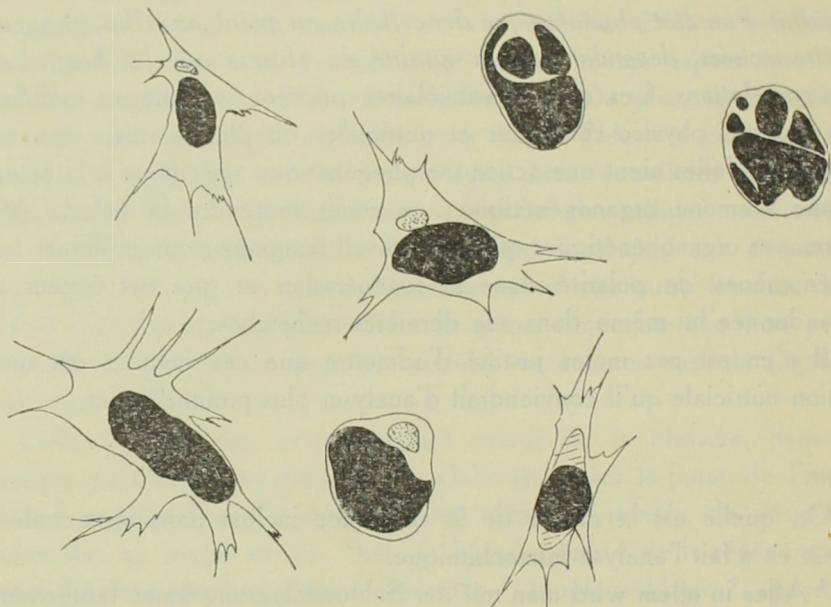


Fig. 60. — Cellules vacuolaires dont la vacuole seule se colore au rouge neutre ou par le lugol.  
Sorties de l'haemocèle, dans l'eau de mer, elles émettent de nombreux pseudopodes.

Les fixateurs ne respectent pas toujours ces cellules vacuolaires ; on peut suivre l'action du fixateur sous le microscope : le Carnoy, par exemple, les fixateurs acétiques en général provoquent la déchirure des cellules, qui s'affaissent, se ratatinent et deviennent méconnaissables, tandis que le contenu des vacuoles s'écoule au dehors en gouttelettes qui peuvent confluer mais finissent par disparaître. L'alcool à 35° est beaucoup moins brutal, ainsi que nous l'avons rappelé plus haut. Il en est de même des fixateurs au formol sans acide acétique ou du formol à 10 %. Ce sont ces fixations sous le microscope qui nous ont permis de retrouver dans les coupes faites dans le matériel fixé au Bouin sans acide acétique, les cellules vacuolaires.

La coloration au rouge neutre ne se maintient pas identique au cours de la régénération. Six ou sept jours après l'incision, la vacuole prend la teinte rouge incarnat et non plus rouge rubis du début. La coloration devient d'ailleurs progressivement plus pâle. D'autre part, ainsi que nous le signalons plus haut au sujet de la réaction du lugol, en ce moment la vacuole ne paraît pas simple à l'examen microscopique, mais formée

d'une portion centrale plus foncée et d'une zone claire et rosée (fig. 61).

On sait l'importance du métabolisme glycogénétique dans les premiers stades du développement ontogénétique. Il en est de même dans la régénération. Les archaeocytes des gemmules d'éponge renferment des inclusions qui semblent bien être elles aussi glycoprotéiques (CASTRO, 11).

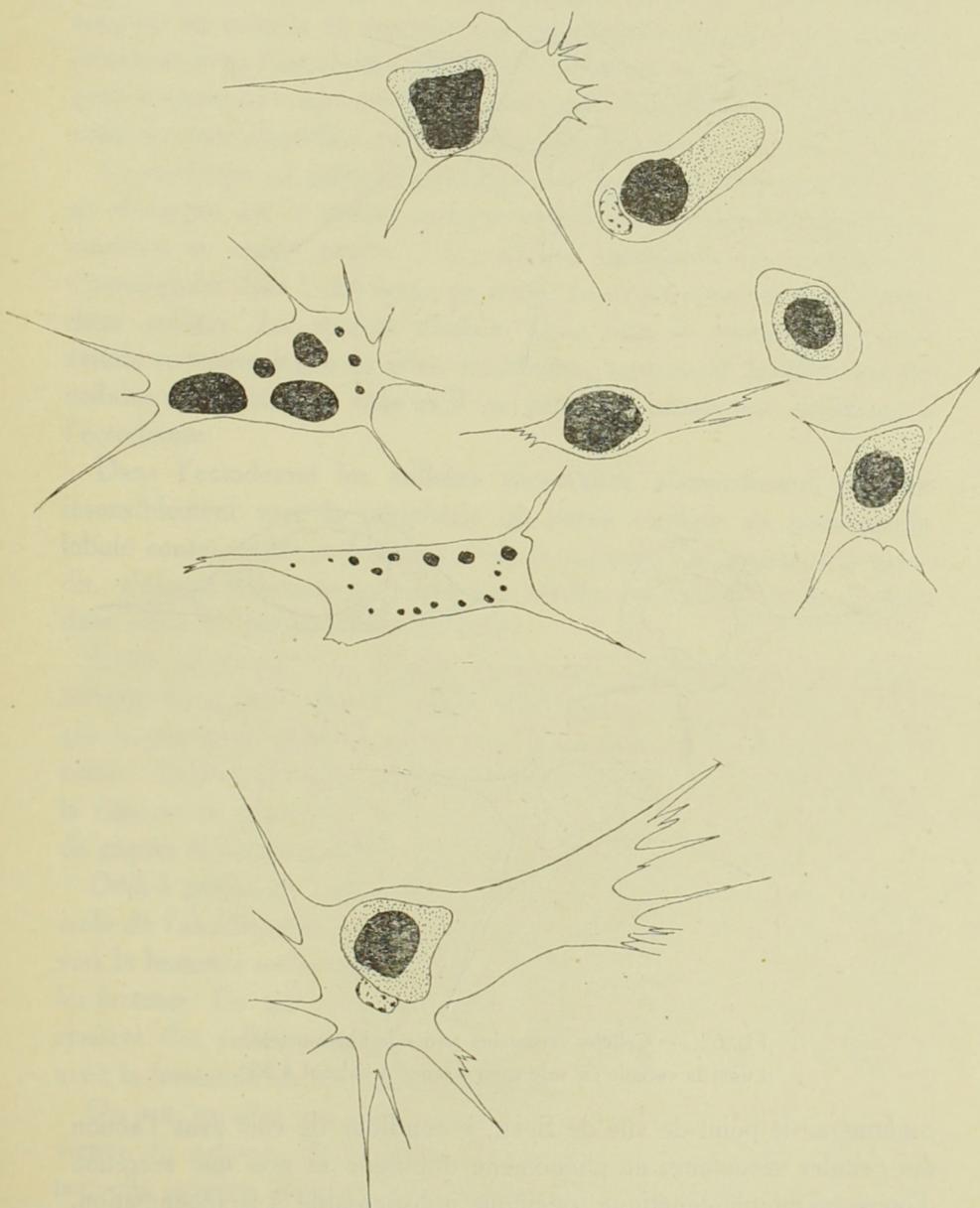


Fig. 61. — Cellules vacuolaires sorties de l'haemocoele stolonial.

Il est donc possible que les cellules vacuolaires des Clavelines aient des réserves alimentaires utilisées au cours de l'organogénèse. Ceci

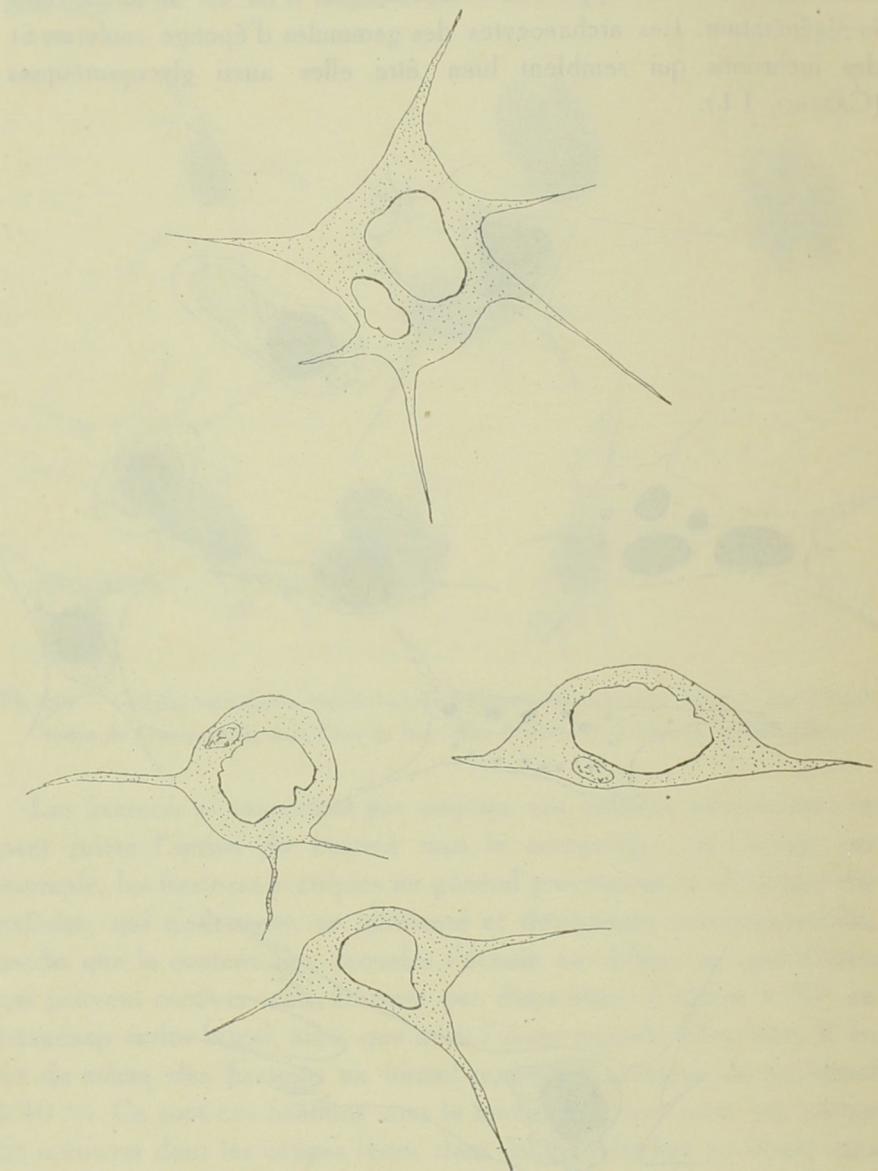


Fig. 62. — Cellules vacuolaires sorties de l'haemocœle, et dont la vacuole est vide après fixation à l'alcool à 35°.

confirmerait le point de vue de SPEK, à condition de voir dans l'action des cellules vacuolaires un phénomène trophique et non une sécrétion d'hormone morphogénétique spécifique indispensable à la régénération.

\* \* \*

Pour l'examen microscopique de la régénération stoloniale, les stolons étaient détuniqués. Or, aussitôt que des stolons sont dépourvus de leur tunique, on assiste sous le microscope à une migration intense des cellules vacuolaires de l'haemocèle vers l'extérieur à travers l'ectoderme. Les fig. 63, 64, 65, nous montrent quelques phases de la diapédèse. Ces cellules obéissent à un tropisme extrêmement net. Elles se déplacent du centre de l'haemocèle vers la base de l'ectoderme, rampent sur celui-ci en émettant des pseudopodes lobulés, puis soudain pénètrent dans l'ectoderme. Grâce à la présence de la vacuole électivement colorée au rouge neutre, on peut suivre les cellules vacuolaires au cours de cette diapédèse qui se réalise dans l'espace de 10 à 30 minutes.

L'ectoderme est généralement formé de cellules cylindriques dont on ne distingue sur le vivant que les limites et les inclusions également colorées au rouge neutre. Les cellules vacuolaires de l'haemocèle s'introduisent dans l'ectoderme en insinuant un pseudopode lobulé entre deux cellules. La vacuole s'écoule alors dans le pseudopode, et la cellule se trouve logée en plein ectoderme, repoussant latéralement les cellules ectodermiques sans qu'il se produise jamais une déchirure à l'ectoderme.

Dans l'ectoderme les cellules vacuolaires s'arrondissent, glissent insensiblement vers la périphérie où perce soudain un pseudopode lobulé contenant un prolongement de la vacuole. Ce pseudopode grandit, s'élargit et bientôt la cellule tout entière est dégagée et se déplace dans l'eau de mer où baigne le stolon.

Cette migration des cellules vacuolaires est massive. Au même endroit, deux, trois cellules tentent de pénétrer dans l'ectoderme ainsi que le montre la fig. 64 jusqu'à ce qu'une d'entre elles l'emporte sur les autres. Ainsi l'ectoderme, quelques moments après avoir été dégagé de la tunique se trouve farci de cellules vacuolaires qui tentent toutes de gagner le milieu extérieur obéissant à un tactisme évident.

Déjà à propos de la répartition des cellules vacuolaires dans l'haemocèle de l'ascidiozoïde, nous avions signalé le tactisme de ces cellules vers la branchie ou les stolons. Jusqu'à présent je n'ai pu en déterminer les facteurs. Ce qui n'est pas moins curieux, c'est que cette migration massive des cellules vacuolaires vers la périphérie est en corrélation avec la formation de la nouvelle tunique.

On sait, en effet, qu'un fragment de tunique de Claveline, qu'il provienne du stolon ou de l'ascidiozoïde même, se recouvre très vite d'une nouvelle tunique. Nous en avons parlé déjà à propos de la régénération des stolons et des fragments œsophagiens (chap. I et II).

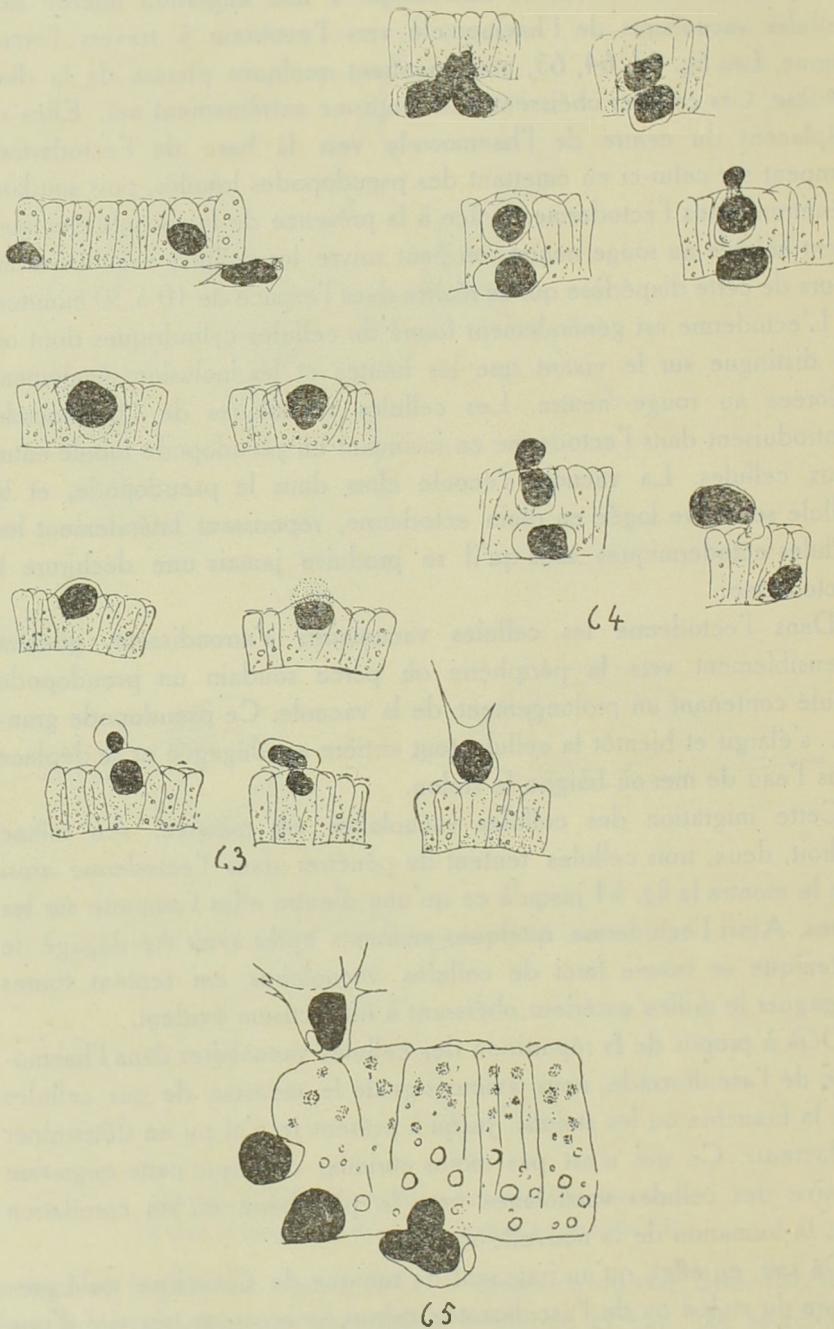


Fig. 63, 64 et 65. — Diapédèse des cellules vacuolaires de l'haemocœle à travers l'ectoderme stolonial vers l'eau de mer ambiante (observation sur le vivant).

Si on maintient un fragment de stolon en chambre humide et en goutte suspendue, on peut suivre sous le microscope la formation de la nouvelle tunique, mais ce qui frappe tout d'abord c'est la migration des cellules vacuolaires.

Après moins de 24 heures, ces cellules vacuolaires forment un revêtement périphérique du fragment stolonial, revêtement perlé de gouttelettes réfringentes qui ne sont autre chose que les vacuoles des cellules vacuolaires.

La fig. 66 représente à un fort grossissement une petite portion de l'ectoderme d'un fragment stolonial, 24 heures après qu'il a été détuniqué.

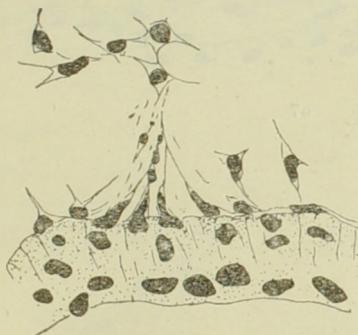


Fig. 66. — Emigration des cellules vacuolaires  
à la périphérie d'un fragment stolonial détuniqué depuis 24 heures.

L'ectoderme est bourré de cellules vacuolaires, beaucoup d'entre elles se sont déjà dégagées. Elles s'étalent alors sur le support, émettant des pseudopodes très fins, ramifiés, prenant des aspects étoilés des plus curieux et dont les fig. 60, 61, 66 donnent quelques aspects caractéristiques dus aux phénomènes d'adhérence avec le support. Elles se déplacent et forment autour du stolon, sur la lame de la préparation, par leurs pseudopodes confluants, un réseau irrégulier où sont incluses les vacuoles (fig. 66).

Par contre, autour de l'ectoderme, une mince couche de tunique se forme, pareille à une légère toile d'araignée, transparente, égalisant les petites aspérités de l'ectoderme, ou s'épaississant au contraire dans le creux séparant les lobes du stolon. Dans cette fine toile sont enrobées des cellules qui ont passé à travers l'ectoderme et dont on distingue surtout la vacuole (fig. 67, 68). En certains points du stolon, au sommet d'un lobe, la nouvelle tunique s'étale en éventail irrégulier, constituant une adhérence avec le support et fixant le stolon (fig. 69).

Dans cet éventail se reconnaissent les vacuoles des cellules migratrices.

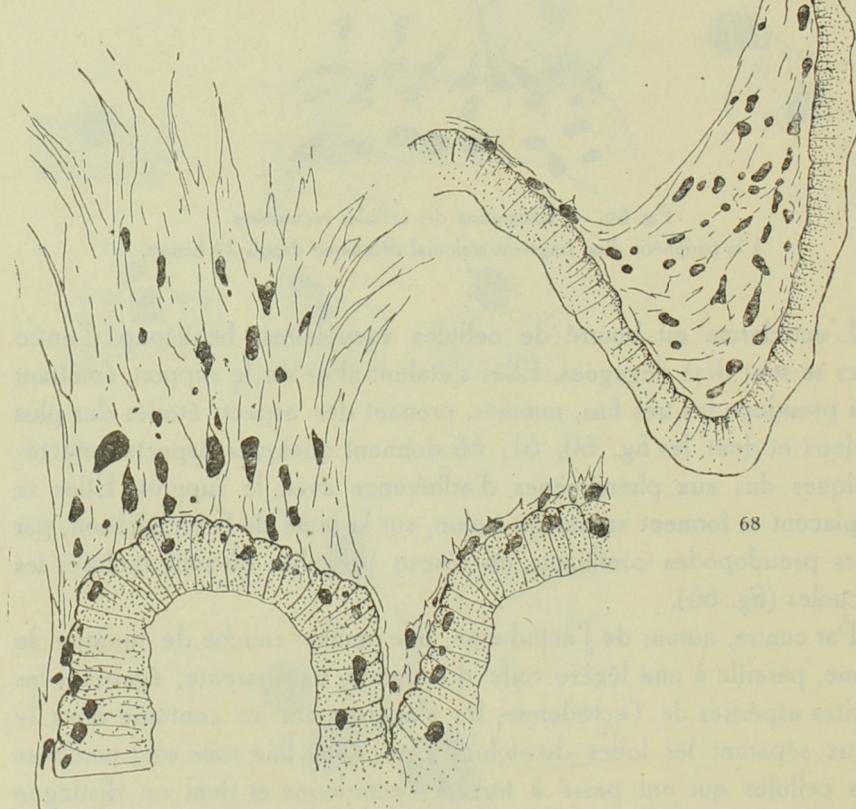
La tunique apparaît ainsi comme un mésenchyme périphérique dont le collagène est représenté par la tunicine et dans lequel sont enrobées des cellules mésenchymateuses vacuolaires.

Les cellules mésenchymateuses vacuolaires et migratrices sont-elles les agents secrétateurs de la tunique ou ne présentent-elles avec celle-ci qu'un phénomène de corrélation, une affinité tropique secondaire dans la formation de la tunique ?

La tunique ne peut être secrétée que là où il y a un ectoderme ; la



67



68

69

Fig. 67, 68 et 69. — Formation d'une nouvelle tunique autour d'un stolon détuniqué depuis 24 heures, en rapport avec l'émigration des cellules vacuolaires.

tunique apparaît immédiatement continue et relativement uniforme sur toute la longueur de l'ectoderme. Ceci semble indiquer que l'ectoderme est indispensable à la sécrétion de la tunique. Mais est-il l'agent initial ou un intermédiaire à travers lequel diffuse la substance destinée à former au contact de l'eau la tunique vraie ? La migration massive des cellules vacuolaires dans un ectoderme de tunique correspondrait peut-être à cette diffusion de substance destinée à former la tunique.

La tunique est une forme de cellulose. Or, les vacuoles des cellules migratrices semblent contenir des combinaisons glycogénétiques. Lorsque l'ectoderme se recouvre de tunique, il est lui-même farci de cellules migratrices et son cytoplasme est rempli de petites inclusions se colorant en rouge par le rouge neutre. Rappelons enfin que la tunique de l'ascidiozoïde adulte est extrêmement riche en cellules vacuolaires et qu'elle meurt et se désagrège sitôt que ces cellules ne peuvent plus l'atteindre.

Il faut en conclure que si l'ectoderme est indispensable à la formation de la tunique, les cellules migratrices, pareilles à des glandes monoceilulaires, ont une action sécrétrice trophique nécessaire pour la constitution et la vitalité de ce mésenchyme périphérique des tuniciers.

### Conclusions générales.

#### A. — LES ÉLÉMENTS ONTOGÉNÉTIQUES DANS LA RÉGÉNÉRATION DES CLAVELINES

La régénération d'un fragment de Claveline peut donc être plus ou moins étendue.

Dans la régénération naturelle ou artificielle d'un fragment stolonial, c'est tout un nouvel organisme qui se constitue complètement. La régénération s'y réalise par autodifférenciation. Il s'agit d'une néoformation, d'une véritable ontogénèse.

Dans la régénération artificielle (ou naturelle) d'un abdomen (*C. phlegrea*), d'un thorax ou d'un fragment œsophagien, un ascidiozoïde normal se reconstitue avec la collaboration des organes existant dans le régénérat. Il s'agit d'un développement partiel, d'une régénération par " complètement " selon l'expression de GUYENOT et PONSE (27), ou régénération par " reconstitution " ou " régulation " comme on a coutume de la dénommer avec DRIESCH.

C'est à ces deux modes de régénération que se rattachent toutes les formes de reproduction asexuée.

Les bourgeons stoloniaux des Spongaires, des Hydroïdes, des Bryo-

zoaires, des Tuniciers, les bourgeons statoblastiques des Tuniciers, les sorites et les gemmules des Spongiaires, les hibernaculas de Bryozoaires se développent par autodifférenciation, subissant ainsi une ontogénèse complète.

La reproduction asexuée par strobilisation, par scissiparité, chez les Protozoaires, les Cœlenterés, les Annélides et chez certaines formes de Tuniciers (*Diazona*, *Aplidium zostericola*) représentent des aspects plus ou moins accentués de la régénération par régulation.

Cependant il faut en distinguer le bourgeonnement par strobilisation présenté par les *Polyclinidae*, les *Polycitoridae*, les *Salpes* et les *Pyrosomes*. Ici, en effet, chaque strobile subit une ontogénèse complète, la régénération est une autodifférenciation. Il s'agit en effet, dans ces derniers cas, des modalités du bourgeonnement épocardique.

Le postabdomen des *Polyclinidae* par exemple, qui, au point de vue bourgeonnement, est physiologiquement analogue au stolon épocardique sous-endostylaïre des *Polycitoridae* (1) et des *Thaliaceae* (9) renferme un prolongement pharyngien, l'épicarde. La strobilisation de ce postabdomen entraîne donc dans chaque strobile, la présence d'une portion de l'épicarde. Par ceci on pourrait penser à une scissiparité comparable à celle des Annélides. Il en est tout autrement cependant.

L'épicarde est un organe énigmatique au point de vue physiologique. Tout au plus pourrait-on supposer que pendant un certain temps du moins, prolongeant le pharynx dans l'abdomen et le postabdomen, il entretient par ces siphons endostylaires, un certain courant d'eau dans les régions viscérales de l'ascidiozoïde et contribue ainsi aux échanges respiratoires de l'abdomen et du postabdomen. Cette hypothèse justifierait peut-être, le grand développement de l'épicarde dans les *Aplousobranchiata* où l'abdomen et le postabdomen sont très longs et où la vie coloniale dans une tunique commune est un obstacle aux échanges avec le milieu. La disparition de cet épicode se comprendrait également dans la plupart des *Phlebobranchiata* et *Stolidobranchiata* où le postabdomen a disparu, où l'abdomen est ramassé sur le flanc de l'organisme et où la vie solitaire s'est accentuée.

Mais quelle que soit la signification physiologique de l'épicarde, celui-ci est limité par un épithélium plat, sans aucune différenciation histologique spéciale. Il apparaît plutôt comme un tissu embryonnaire, une véritable réserve ontogénétique. Lors de la strobilisation, l'épicarde

(1) P. BRIEN (1929). Notes sur le développement de l'épicarde des *Polyclinidae* et considérations phylogénétiques au sujet des *Aplousobranchiata* (*Ann. Soc. R. Zoologique*, t. LX, 1929).

forme dans chaque strobile une vésicule endoblastique à pouvoir organogénétique très grand. Que la scissiparité soit architomique ou paratomique, c'est cette vésicule épicardique qui édifie tous les organes du blastozoïde, réalisant ainsi une ontogénèse complète.

Chez les *Thaliacae*, à cette ontogénèse épicardique, collaborent les éléments mésenchymateux eux-mêmes indifférenciés, c'est-à-dire mésoblastiques.

Dans le bourgeonnement des *Botryllidae* ou des *Polystylinae*, c'est aussi la vésicule endoblastique qui édifie tous les tissus. Cette vésicule provient de l'épithélium de la cavité péribranchiale ou palléale, mais elle aussi, est constituée de cellules peu différenciées, embryonnaires.

En résumé, dans les cas de bourgeonnement palléal ou épicardique, la régénération se faisant aux dépens de la vésicule endoblastique d'origine palléale ou épicardique, n'est pas une régulation, ni une restitution, mais une véritable ontogénèse. Elle ne diffère de l'ontogénèse d'un bourgeonnement statoblastique de *Clavelina* que par une sorte d'accélération embryonnaire selon laquelle la vésicule endoblastique dans le premier cas est immédiatement formée dans le bourgeon, tandis qu'elle s'édifie progressivement à partir d'un massif cellulaire dans le bourgeon de *Clavelina*.

*Le massif ontogénétique du bourgeon de Clavelina est formé d'éléments indifférenciés du mésenchyme.* Ce sont les cellules aplatis du septum stolonial, les lymphocytes, c'est-à-dire des cellules à cytoplasme peu abondant, légèrement basophile entourant un noyau clair avec nucléole central et grains de chromatine, bref, des cellules lymphoblastiques ou mésoblastiques. C'est pourquoi j'avais dénommé le bourgeonnement des Clavelines "bourgeonnement mésoblastique" (5, 6). L'analyse histologique que nous avons faite de la régénération artificielle du fragment stolonial sur du matériel vivant ou fixé, démontre à l'évidence le rôle des cellules du mésenchyme (septal et lymphocytaire) dans l'ontogénèse de l'ascidiozoïde nouveau.

Ces cellules du mésenchyme indifférencié, constituent, comme je l'ai appelé dans un travail précédent (8), une réserve embryonnaire.

BRACHET (1), dans la seconde édition de son livre : *L'œuf et les facteurs de l'ontogénèse*, émet cependant l'idée que dans le bourgeonnement, les cellules ontogénétiques sont des cellules spéciales comparables à celles que SPEK a décrites chez les Clavelines. Or, les "Tropfenzellen" ne sont pas ontogénétiques, ce sont des cellules trophiques.

Si l'on envisage la formation des bourgeons dans les autres groupes

zoologiques, on constate au contraire, que toujours les éléments ontogénétiques essentiels sont des cellules indifférenciées, appartenant à cette réserve embryonnaire qui existe d'ailleurs chez tous les animaux.

D'après les observations d'EVANS (26), les gemmules des *Spongillidae*, sont formées par les *archaeocytes*, cellules indifférenciées omnipotentes du mésenchyme des Spongilles.

Les sortes des *Thetia* d'après MAAS (38), de *Lophocalyx*, de *Hexactinellidae* selon SCHULTZ (47 et 48) ont pour origine des cellules indifférenciées du mésenchyme, et de toute évidence, des *archaeocytes*.

Les hibernacula des Bryozoaires sont formés (BRAEM, 2, 3, BRUDENBROCK, 10) par des *cystigènes*, cellules indifférenciées incluses entre deux feuillets mésentériques du funicule et qui seraient émigrées de l'ectoderme embryonnaire. Ce sont les *cellules interstitielles* embryonnaires de l'ectoderme des *Hydroïdes* qui jouent un rôle important dans la régénération (28, 49).

STEVENS (51), CURTIS (19, 20) et d'autres, ont attiré l'attention sur la signification des cellules du mésenchyme indifférencié des Planaires, HAMMERLING (29) sur les *néoblastes* chez les Oligochètes, dans la régénération chez ces organismes.

C'est une notion que l'on peut généraliser. *Il existe des réserves embryonnaires, des polyblastes, chez tous les animaux.* Elles sont plus ou moins abondantes, selon les espèces. Parfois elles sont remarquablement représentées, chez les insectes par exemple, sous forme de *disques imaginaires*.

Ce sont elles qui remplacent les cellules déficientes au cours de la vie normale des organismes, assurent essentiellement la reproduction asexuée par voie de bourgeonnement. La polyembryonie des Bryozoaires n'est-elle pas elle-même une strobilisation de tout le massif embryonnaire issu de l'œuf ?

\* \* \*

Quand nous disons cellules indifférenciées, nous nous plaçons au simple point de vue morphologique. Ces cellules ne présentent aucune structure histologique spéciale. Mais lorsqu'elles entrent en action blastogénétique, elles montrent des changements très nets. C'est ainsi que dans le bourgeonnement des *Clavelinidae*, les cellules septales aplatis, se contractent en cellules arrondies, leur cytoplasme s'accentue, devient très basophile et légèrement granuleux. Il en est de même des cellules épicardiques. Elles aussi sont étirées, mais au moment de l'ontogénèse,

elles deviennent cubiques, elles prolifèrent intensément, leur cytoplasme est plus abondant, également basophile et granuleux. Le noyau, par contre, reste identique aussi bien dans le mésoblaste que dans l'épicerche, il est clair avec en son centre, un caryosome bien marqué.

De plus, si l'ontogénèse du blastozoïde est assurée par la réserve embryonnaire dont nous venons de parler, elle ne se poursuit sans doute que grâce à des réserves trophiques jouant le rôle de vitellus et que M. DE SELYS-LONGCHAMPS (22) a appelées *pseudovitellus*. Elles existent dans tous les bourgeons. Dans les hibernaculas de Bryozoaires, elles proviennent du mésenchyme. Ce sont des cellules formant un massif adjoint au massif ontogénétique des cystigènes. Elles accumulent en leur cytoplasme des gouttelettes deutoplasmiques abondantes. Dans les bourgeons de Tuniciers, les réserves sont représentées par des éléments sanguins, extrêmement abondants et variés : leucocytes à plaquettes vitellines, leucocytes à granules, à vacuoles, et des cellules phagocytées. C'est à ces cellules qu'il faut rattacher les cellules vacuolaires décrites par SPEK. Elles apparaissent en effet comme des éléments trophiques, abondants dans le stolon, se concentrant au point de cicatrisation. *Elles n'interviennent pas elles-mêmes dans l'édification des tissus, mais leur vacuole semble renfermer des glycoprotéines, c'est-à-dire que ces cellules participeraient au métabolisme glycogénétique propre à toute ontogénèse* (voir chap. III, cellules vacuolaires).

Dans les gemmules d'éponges, les réserves glycoprotéiques se forment dans les archaeocytes eux-mêmes. Mais cette réserve se fait après leur agrégation en massif ontogénétique et pendant que ces archaeocytes se transforment en petites apocytes aux dépens desquelles les histoblastes indifférenciés se constitueront juste au moment de l'histogénèse. *Il n'est donc pas possible d'assimiler les archaeocytes des gemmules aux cellules décrites par SPEK ainsi que le fait BRACHET.*

\* \* \*

#### B. — ISOLEMENT PHYSIOLOGIQUE

La récupération des potentialités embryonnaires par certains éléments somatiques s'explique selon la théorie de l'isolement physiologique de CHILD (15, 16). Il existe une échelle axiale du métabolisme superposée à l'axe morphologique d'un organisme. Le sommet de cette échelle est le point de haut métabolisme et est un centre organisateur dont l'influence sur les autres régions du corps coordonne leur activité, la canalise, c'est-à-dire réduit l'intensité de leur

métabolisme. Pour que ces cellules, susceptibles de le faire, puissent reprendre un taux de métabolisme plus élevé, une potentialité plus grande, il faut qu'elles échappent à l'influence coercitive émanée du centre organisateur. Si l'on représente par une courbe le taux du métabolisme d'une planaire en voie de scissiparité, c'est-à-dire de bourgeonnement, on constate que la courbe descend au fur et à mesure que l'on s'écarte de la région céphalique, centre de haut métabolisme et d'organisation. Mais à chaque point de scissiparité, là où commence précisément la régénération du bourgeon, la courbe manifeste des sommets qui correspondent à l'élévation du métabolisme. Les points de bourgeonnement sont donc des zones qui échappent à la limitation de l'intensité métabolique, à la canalisation des potentialités. Elles se trouvent dans l'isolement physiologique. Cette notion d'isolement physiologique est à la base de la reproduction asexuée. L'hydre ne bourgeonne que lorsqu'elle a atteint une taille déterminée dans une zone qui se trouve entre le pédoncule et la cavité gastrique. C'est là que les cellules indifférenciées, interstitielles sont les plus nombreuses. C'est là qu'elles sont dans l'isolement physiologique et concourent à la constitution des bourgeons.

Chez les Vers, les zones de scissiparité, c'est-à-dire de régénération sont des zones qui, par suite de l'allongement constant du Ver, sortent de l'influence organisatrice de l'extrémité antérieure.

On réalise expérimentalement l'isolement physiologique en sectionnant des Vers, des stolons, etc. On brise la force coercitive de l'ensemble. On libère les potentialités latentes. N'est-ce pas pendant la crise de métamorphose au cours de laquelle une bonne partie des tissus entre en désagrégation que se manifeste, chez les insectes, l'activité des disques imaginaires. L'isolement physiologique va donc permettre aux cellules ontogénétiques de reprendre toute leur potentialité organogénétique. Cet isolement n'entraîne pas nécessairement la fragmentation du corps de l'organisme bourgeonnant. Une zone de celui-ci peut se trouver dans un isolement physiologique relatif tel que cette zone prolifère entre en organogénèse (*Perophora* [6]). Mais très souvent, l'isolement n'est pas simplement physiologique, il devient aussi physique. C'est précisément le cas chez les *Clavelinidae* et les *Polyclinidae*, les *Polycitoridae*, etc. Il est difficile d'établir les causes de cette fragmentation, extériorisation d'un isolement physiologique initial. Le phénomène me paraît trop complexe pour être envisagé actuellement dans son ensemble.

Chaque cas devrait être examiné séparément.

Pour ce qui concerne la fragmentation du stolon des *Clavelinidae*, certains faits sont de nature à en préciser le processus.

L'extrémité distale du stolon qui va bourgeonner devient opaque, généralement même cette extrémité présente une dilatation variqueuse. Tout indique un engorgement sanguin facile à comprendre en cet endroit.

Au fur et à mesure que le stolon s'allonge, la circulation du sang y devient de plus en plus difficile, les pulsations du cœur de plus en plus faibles ; les éléments sanguins sont arrêtés entre les tractus mésenchymateux des sinus stoloniaux, surtout abondants à l'extrémité distale. Bientôt l'accumulation des leucocytes, des lymphocytes aux endroits variqueux y bloque la circulation. C'est à ce moment que le stolon engorgé s'isole. Or, on peut, dans un ascidiozoïde, accélérer la fragmentation du stolon, en ligaturant l'ascidiozoïde sous l'anse digestive, ou plus simplement encore, en le sectionnant en cet endroit. Alors, ainsi que nous l'avons relaté antérieurement (chap. II) les stolons s'isolent et deviennent blastogénétiques. D'ailleurs, c'est un phénomène à peu près semblable qui se produit en hiver par destruction des ascidiozoïdes. Par conséquent, il semble bien que *l'arrêt de la circulation est un des facteurs conditionnant la fragmentation, sans qu'il soit possible d'en définir actuellement les processus*. Quoi qu'il en soit, celui-ci isole dans une vésicule close, pleine de plasma et bourrée de leucocytes vitellins, les cellules ontogénétiques qui se trouvent donc dans l'isolement physiologique requis pour entrer en organogénèse.

Il en serait peut-être de même pour les *Polyclinidae*. Quand le postabdomen d'un *Polyclinidae* se strobilise, il est engorgé, dilaté et opaque. La circulation y devient forcément de plus en plus pénible. Or, le cœur est à l'extrémité distale du postabdomen ; son influence dans la circulation du thorax devient de plus en plus faible. Aussi, avant que la strobilisation du postabdomen même n'ait commencé, l'épicarde, dans la région œsophagienne, est déjà en voie d'organogénèse, constituant un nouvel organe cardiopéricardique qui entretiendra la circulation dans la branchie au moment où le cœur initial sera devenu insuffisant. C'est alors que le postabdomen se strobilise.

*La présence dans un organisme d'une réserve embryonnaire capable de devenir organogénétique, par isolement physiologique, est en opposition avec l'idée que, dès le stade œuf, cet organisme serait limité dans son pouvoir organogénétique, limitation extériorisée par l'arrêt de croissance. L'arrêt de croissance est une chose, le pouvoir organogénétique en est une autre. Les deux problèmes sont distincts.*

## C. — POLARITÉ ET CORRÉLATIONS

Le problème de la polarité dans la régénération est double :

1<sup>o</sup> Le sens suivant lequel se fera la condensation des éléments ontogénétiques, par rapport à l'orientation générale de l'ascidiozoïde souche.

2<sup>o</sup> La polarité organogénétique qui oriente l'ontogénèse proprement dite.

Envisageons d'abord le premier aspect de la question. Nous savons par les descriptions de SALFI (45), PAOLO DELLA VALLE (21), que normalement, dans un bourgeonnement hâtif comme celui que peut présenter *C. lepadiformis*, à Naples, les jeunes blastozoïdes naissent à l'extrémité du stolon. Or, dans la régénération artificielle d'un fragment de stolon, c'est toujours à l'extrémité proximale ou orale que se constitue le nouvel ascidiozoïde. DRIESCH (24, 25) l'avait déjà signalé. D'après cet auteur, la régénération obéirait ainsi à la polarité initiale de l'ascidiozoïde souche, polarité persistante et fixée dans le fragment stolonial.

Ainsi que nous l'avons discuté déjà dans le chapitre II, la polarité dans un organisme apparaît comme un phénomène physiologique actuel, conditionné par les corrélations fonctionnelles actuelles et par conséquent non fixée immuablement dans l'organisme.

CHILD à plusieurs reprises (15, 16, 17) a montré chez des Hydroïdes (*Corymorpha*) (17) et des Planaires (18) qu'il est possible de modifier expérimentalement la polarité initiale.

Il est difficile de fixer les facteurs qui conditionnent la polarité. Peut-être que le fragment stolonial présenterait un gradient métabolique lequel concourrait sans doute à l'orientation de la masse ontogénétique. Il y a là un ensemble de recherches que nous comptons poursuivre ultérieurement. Mais nous avons montré qu'un certain nombre de faits dépendant de la structure et de la physiologie du stolon, peuvent expliquer, partiellement du moins, la concentration des éléments ontogénétiques au pôle oral.

Dans un bourgeonnement hâtif, l'engorgement par les éléments sanguins se fait progressivement de la région distale vers des régions de plus en plus proximales, de façon à bloquer la circulation graduellement du pôle aboral au pôle oral. Il en résulte que la concentration des éléments ontogénétiques mésoblastiques se réalise surtout et d'abord à l'extrémité distale, de telle sorte qu'au moment de la fragmentation du stolon, le massif organogénétique est déjà prêt à se développer à l'extrémité distale.

Par contre, dans la régénération artificielle du fragment stolonial, la

section brusque provoque une contraction subite du septum. Celle-ci, corrélativement à la contraction de l'ensemble du fragment stolonial, provoque à l'extrémité orale la formation d'une pelote septale qui attire à elle tout le septum distal beaucoup moins solide et moins dense qu'à l'extrémité proximale.

Il serait donc possible de chercher des raisons anatomiques et mécaniques qui justifieraient d'une façon simple, l'orientation mystérieuse au premier abord de la concentration du massif régénérateur à un pôle ou à un autre selon que la régénération est naturelle ou artificielle.

Or, si nous envisageons la polarité dans un fragment œsophagien qui est cependant beaucoup plus compliqué du point de vue anatomique et physiologique, elle nous apparaît mieux encore comme le résultat actuel des corrélations fonctionnelles. Dans le fragment œsophagien, les différents organes, épicarde, œsophage, rectum, tractus génitaux, ne présentent aucune variation dans leur structure propre, sur toute la longueur du fragment d'ascidiozoïde envisagé. *Si la polarité, manifestée par l'organisme tout entier, était fixée dans le fragment œsophagien, elle apparaîtrait dans ce fragment, même isolé. Or, nous avons montré que dans de telles conditions, aucune polarité réelle ontogénétiquement efficace ne subsiste.* Aux deux extrémités du fragment œsophagien, orale et aborale, l'épicarde édifie un thorax immédiatement après la cicatrisation et dès les premières heures de la régénération (chapitre II).

La polarité physiologique des fragments œsophagiens ne peut se maintenir que pour autant que ce fragment soit en connexion soit avec le thorax, soit avec l'abdomen. Séparé de ces deux portions, le fragment œsophagien n'offre plus qu'une sorte de persistance fonctionnelle, reste fugitif de la polarité initiale capable seulement d'accélérer la régénération au pôle oral par rapport au pôle aboral, mais incapable d'empêcher l'hétéromorphose, c'est-à-dire d'exercer une coordination ontogénétique normale.

\* \* \*

Nous avons vu que l'épicarde est omnipotent sur toute sa longueur. Il est équipotentiel. Il peut reformer un ascidiozoïde complet (strobile de *Polyclinidae*) ou bien constituer simplement un thorax dans la régénération du segment abdominal ou enfin édifier un organe cardiopéricardique dans la régénération du fragment thoracique. Le sens que prendra l'organogénèse de la régénération épicardique dépend uniquement des ébauches en présence desquelles l'épicarde se trouve, et des corrélations qui s'établissent entre elles et lui.

Puisque aux deux extrémités d'un fragment œsophagien, l'épicarde en régénération se trouve dans les mêmes conditions de corrélation, c'est-à-dire en présence d'un segment œsophagien et d'un segment rectal, tous deux identiques à eux-mêmes à leurs deux pôles, cet épicerde ne pourra régénérer à ces bouts incisés que les mêmes organes, c'est-à-dire un thorax.

La polarité qui oriente l'organogénèse est donc elle-même le résultat des corrélations.

*Les cellules mésoblastiques des Clavelines sont elles aussi omnipotentes. Mais dès qu'elles se groupent en un massif, leur potentialité respective diminue. Des corrélations s'établissent entre elles, inhibent leur potentialité, orientent et coordonnent leurs différenciations organogénétiques.*

Le massif blastogénétique du bourgeon de Claveline, ne reçoit aucune induction organogénétique, à la façon de l'épicarde du fragment œsophagien.

Ce sont les phénomènes de contact entre les cellules du massif même qui régissent l'ontogénèse. Celle-ci se réalise donc bien par autodifférenciation.

Le mécanisme de ces connexions intercellulaires, de ces corrélations organogénétiques n'est pas connu. Mais, de toute façon, il aboutit à polariser le massif blastogénétique, ce qui constitue la première manifestation de l'ontogénèse.

Selon la théorie de CHILD, cette polarité elle-même ne peut être que l'extériorisation d'un gradient métabolique qui, progressivement, s'établit dans le massif. Le gradient métabolique dépendrait des conditions des différentes cellules du massif par rapport au milieu. On pourrait admettre, par exemple, que les cellules les plus proximales, c'est-à-dire les plus voisines de la surface de cicatrisation, se trouvent dans des conditions plus favorables pour les échanges nutritifs que les cellules profondes ou distales ; elles en acquerraient, par là, un métabolisme plus actif et constituerait une zone de haut métabolisme. Celle-ci devient une zone dominante, exerçant une action coercitive sur le reste du massif. Automatiquement, le gradient, d'abord faible, s'accentue en se précisant et polarise la masse organogénétique.

*La polarité du massif blastogénétique apparaît donc comme l'expression d'un gradient métabolique ; elle oriente l'ontogénèse. Progressivement, d'induction en induction, se constituent les ébauches organogénétiques chacune pourvue de leur propre polarité, de leurs axes, de leur symétrie et aussi de leur pouvoir inductif vis-à-vis d'ébauches nouvelles*

et latentes. Ainsi, qu'il s'agisse de la régénération par régulation ou de la régénération par autodifférenciation, la polarité, l'organogénèse sont les résultantes de corrélations fonctionnelles entre cellules, entre ébauches, entre organes.

Après la segmentation de l'œuf isotrope, les blastomères équipo-tentiels constituent un massif ontogénétique semblable à celui d'un bourgeon.

Qu'elle soit embryogénétique ou blastogénétique, l'ontogénèse se poursuit selon les processus essentiellement identiques. Les localisations germinales des œufs anisotropes dont l'étude a suscité des recherches aussi brillantes qu'intéressantes, ne sont cependant qu'un cas particulier de l'ontogénèse. Elles ne correspondent pas aux phénomènes généraux, initiaux de l'organogénèse proprement dite.

Il n'est pas douteux que des modifications évolutives des organismes n'atteignent le chimisme cellulaire et par conséquent la structure chromosomiale initiale. Mais on ne peut chercher une explication organogénétique dans cette théorie chromosomiale si féconde par ailleurs.

Ou bien, selon WEISMANN, l'intégrité du patrimoine héréditaire est la propriété absolue du germe. Il faut alors admettre que les cellules somatiques sont capables de récupérer par leur propre métabolisme, l'ensemble des gènes du patrimoine héréditaire nécessaire pour conférer au bourgeon les caractères représentatifs du groupe. La théorie chromosomiale de l'hérédité devient par ce fait, inutile.

Ou bien, toutes les cellules somatiques ont l'ensemble des gènes du patrimoine héréditaire, certains d'entre eux seulement s'extériorisant selon la situation des cellules qui les portent, et les corrélations que ces cellules présentent. Mais alors l'explication organogénétique de l'hypothèse chromosomiale des gènes n'est pas autre que celle du principe de DRIESCH: "*La différenciation des cellules est fonction de leur position*", et tout le langage génétique n'ajoute rien de plus.

L'organogénèse est conditionnée par des facteurs physiologiques profonds, elle est fonction des corrélations cellulaires, des excitations fonctionnelles et tout particulièrement des inductions morphogénétiques que l'embryologie expérimentale révèle de plus en plus.

## Liste des auteurs cités

1. BRACHET A., 1930. — L'œuf et les facteurs de l'ontogénèse, 2<sup>e</sup> édition., E. S. Doin, Paris, 1930.
2. BRAEM F. 1890. — Untersuchungen über die Bryozoen des süssen Wassers (*Bibl. Zool. Cassel*, 6 Heft).
3. — 1892. — Die Kleimblätter der Bryozoenknospe. *Zool. Anz.*, 15 Bd., 1892.
4. BRIEN-GAVAGE, 1926. — Bourgeonnement chez *Clavelina lepadiformis*. *C. R. Association des Anatomistes*, mars 1926, Liège.
5. — 1927. — Contribution à l'étude de la blastogénèse des Tuniciers *Clavelina lepadiformis*. *Rec. Inst. Zool. Torley-Rousseau*, tome I, fasc. I.
6. — Recherches sur le bourgeonnement de *Perophora* (origine mésoblastique du septum stolonial). *Rec. Inst. Zool. Torley-Rousseau*, tome I, fasc. 2.
7. BRIEN P., 1925. — Contribution à l'étude de la Blastogénèse des Tuniciers (*Aplidium zostericola*). *Arch. de Biologie*, tome XXXV.
8. — 1927. — L'organogénèse dans la reproduction sexuée. *Bull. et Ann. de la Soc. R. Sc. Médicales et Naturelles*, n° 1.
9. — 1928. — Contribution à l'étude de l'embryogénèse et de la blastogénèse des Salpes. *Rec. de l'Inst. Zool. Torley-Rousseau*, tome II, fasc. I.
10. BUDDENBROCK W. — Beiträge zur Entwicklung der Statoblasten der Bryozoen. *Zool. Anz.*, 25 Bd., 1910.
11. CASTRO et POURBAIX, 1930. — Sur la présence du glycogène dans la régénération. *Congrès national des Sciences*, Bruxelles, 1930.
12. CAULLERY M., 1895. — Contribution à l'étude des Ascidiées composées. *Bull. Sc. France et Belgique*, XXVII.
13. — 1909. — Recherches sur les Synascidiées du genre *Colella*. *Bull. Sc. France et Belgique*, XLII.
14. — 1914. — Bourgeonnement de *Diazona*. *Bull. Soc. Zool. France*.
15. CHILD Ch. M., 1924. — Individuality in organisms. *The University of Chicago press*.
16. — 1925. — Physiological Foundations of Behavior. *New-York*, Henry Holt and Company.
17. — 1927. — Modification of polarity and symmetry in *Corymorpha palma* by means of inhibiting conditions and differential exposure. *Journ. Exper. Zool.*, v. 48, n° 1 et 3.
18. CHILD C. M. et BEYER K. M., 1930. — Reconstitution of lateral pieces of *Planaria dorotocephala* and *Planaria maculata*. *Physiological Zoology*, vol. III (juillet).

19. CURTIS W. C., 1902. — The life history, the normal fission and the reproduction organs of *Planaria maculata*. *Bull. Mus. Comp. Zool. Harv. Coll.*, vol. 30.
20. — 1928. — Old problems and new technique. *Science*, February 10.
21. DELLA VALLE P., 1914 et 1915. — Studi sui rapporti fra differenziazione e rigenerazione. *Boll. Soc. Nat. Napoli*, vol. 27-28.
22. DE SELYS-LONGCHAMPS M., 1917. — Sur le bourgeonnement des Polystyelines. *Bull. Sc. France-Belgique*, L.
23. — 1913. — Résultats du voyage du S. Y. Belgica. *Zoologie, Tuniciers*. (*Ed. van Beneden et M. de Selys*).
24. DRIESCH H., 1902. — a) Ueber ein neues harmonisch-äquipotentielles System und über solche Systeme überhaupt. *Archiv. f. Entw.-Mech.*, Bd. 14.
25. — b) Studien über Regulationsvermögen der Organismen. *Archiv. fur Entw.-Mech.*, Bd. 14.
26. EVANS R., 1901. — A description of *Ephydatia blebbingia*, with an account of the formation and structure of the Gemmule. *Quart. Journ. Micr. Sc.*, vol. 44.
27. GUYENOT E. et PONSE K. — Territoires de régénération et transplantations. *Bull. Biol. France-Belg.*, fasc. 3, vol. LXIV.
28. HADZI J., 1909. — Die Entstehung der Knospen bei *Hydra*. *Arb. Zool. Inst.*, Wien, 18 Bd.
29. HAMMERLING, 1924. — Ungeschl. Fortpflanzung und Regeneration bei *Aeolosoma*. *Zool. Jahrb. Allg. Zool.*, 41 Bd.
30. HJORT J., 1893. — Ueber den Entwicklungscyclus der zusammengesetzten Ascidien. *Mitth. Zool. Stat.*, Neapel, X.
31. — 1895. — Beitrag zur Keimblattlehre und Entwicklungsmechanik der Ascidien Knospung. *Anat. Anz.*, X.
32. HJORT J. et BONNEVIE Ch., 1895. — Ueber die Knospung von *Distaplia magnilarva*. *Anat. Anz.*, X.
33. JULIN Ch., 1896. — Recherches sur la blastogénèse de *Distaplia magnilarva* et *D. rosea*. *Compte-Rendu congrès intern. Zool.* III, Leyde, p. 507-524, 13 fig.
34. KORSCHELT E. u. HEIDER K., 1902-10. — Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Thiere.
35. KOWALEVSKY A. 1867. — Entwicklungsgeschichte der einfachen Ascidien. *Mem. Acad. Sci. Saint-Pétersbourg*, 15.
36. — 1871. — Weitere Studien ueber die Entwicklungsgeschichte der einfachen Ascidien. *Arch. Mikr. Anat.*, VII.
37. — 1874. — Ueber die Knospung bei den Ascidien. *Arch. f. Mikr. Anat.*, Bd. 10.

38. MAAS O., 1901. — Die Knospenentwicklung der *Tethya* and ihr Vergleich mit der geschlechtlichen Fortpflanzung der Schwämme. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, 70 Bd.
39. PIZON A., 1893. — Histoire de la blastogénèse chez les Botrylides. *Ann. Sci. Nat. Zool.*, XIV.
40. POURBAIX N., 1930. — Sur l'origine endodermique des cavités péribranchiales chez les *Polyclinidae*. *Congrès Nation. des Sciences*, Bruxelles.
41. SALFI M., 1925. — Le Sinascidie del Gen. *Sycozoa* della "Vettor Pisani". *Ann. del Museo Zool.*, della R. Uni. Napoli, vol. 5.
42. — 1926. — Ulteriori osservazioni sulle sinascidie del gen. *Sycozoa* della "Vettor Pisani". *Ann. del Museo Zool.* della R. Uni. Napoli, vol. 5.
43. — 1926. — Ricerche sul ringiovanimento e sulla blastogenesi in *Diazona violacea* Sav. *Publicationi della Staz. Zool. Napoli*, vol. VII, fasc. II.
44. — 1926. — Le "gemme estivanti" e la biologia dei cespugli di *C. lepadiformis*. *Rend. R. Accademia Naz. dei Lincei*, vol. IV, fasc. 1.
45. — 1927. — Ricerche sulla Biologia delle Ascidie del Golfo di Napoli. *Ricerche di Morfologia e Biologia Animale*, vol. 1, n° 2.
46. — 1929. — Sulla blastogenesi in *Clavelina* e su una nuova specie del genere. *Publi. della Staz. Zool. di Napoli*, vol. IX, fasc. 2.
47. SCHULZE F. E., 1887. — *Hexactinellidae*. *Challenger Report. Zool.*, vol. 21.
48. — 1904. — *Hexactinellidae*. *Wiss. Erg. Deutsche Tiefsee-Exp.*, 4 Bd.
49. SCHULZE P., 1919. — Die Bedeutung der interstitiellen Zellen für die Lebensvorgänge bei *Hydra*. *Sitz-Ber. Ges. nat. Fr. Jahrg.*, 1918.
50. SEELIGER, O., 1900-1906. — Bronn's Thier Reich. Tunicata.
51. STEVENS N. M., 1907. — A histological study of regeneration in *Planaria simplicissima*. *Arch. f. Entw. Mech.*, 24 Bd.
52. SPEK Jos., 1927. — Ueber die Winterknospenentwicklung Regeneration und Reduction bei *Clavelina lepadiformis* und die Bedeutung besonderer "Omnipotenter" Zellelemente für diese Vorgänge. *Wilhelm Roux. Archiv. für Entw.-mech.*, III Band.
53. VAN BENEDEEN et JULIN Ch. 1886. — Recherches sur la morphologie des Tuniciers. *Arch. Biologie*, VI.