

# ÉTUDE MORPHOLOGIQUE COMPARÉE DU DÉVELOPPEMENT DES ÉPONGES A PARTIR DE CELLULES DISSOCIÉES

par

G.P. Korotkova

Laboratoire d'Embryologie (Professeur B.P. Tokine), Université de Leningrad.

## Résumé

Des observations comparatives et l'analyse histologique de l'une des formes d'embryogenèse somatique (développement après dissociation des tissus) ont été réalisées chez des Eponges Calcaires (*Leucosolenia complicata* Montagu, *Sycon lingua* Haeckel) et une Cornéo-siliceuse (*Halichondria panicea* Pallas). L'auteur établit les particularités spécifiques de comportement des cellules isolées, de la formation des agrégats et de l'épithélium des conglomérats ainsi que du développement du système de canaux. Ces particularités sont en rapport avec la nature de l'organisation tissulaire des Eponges étudiées. Les plus profondes diversités de différenciation cellulaire ont été trouvées dans le développement des Eponges Calcaires. Les phénomènes de morphallaxis sont, au contraire, plus fortement prononcés chez *Halichondria panicea*.

L'auteur élabore une hypothèse générale sur la régulation de la morphogenèse au cours du développement des Eponges après dissociation (reconstitution). Cette régulation est liée à la succession d'étapes déterminées dont la réalisation concrète n'est pas identique chez des Eponges se distinguant par la structure du système de canaux et par d'autres particularités d'organisation.

Un grand nombre de travaux ont été consacrés au développement des Eponges à partir d'un amas de cellules somatiques (reconstitution). Depuis Wilson (1907, 1911) — pionnier dans l'étude de ces phénomènes — on a envisagé le développement des Eponges après dissociation, sous le double aspect des particularités d'une morphogenèse de ce type et de la nature et de la spécificité des rapports cellulaires.

La plupart des travaux touchant au problème de la dissociation ont été effectués sur les Eponges cornéo-siliceuses de type leuconoïde. C'est encore Wilson qui avait remarqué que le processus d'agrégation des cellules dissociées n'est pas également intense chez toutes les espèces et ne se termine pas toujours par la formation de conglomérats stables, viables et à développement progressif. Les causes de cette différence de comportement des cellules dissociées d'espèces variées restent obscures.

La morphologie de ce processus de développement a été étudiée par les auteurs suivants : Wilson (1907, 1911, 1925), Müller (1911), Huxley (1911, 1921), Galtsoff (1923, 1925), Wilson et Penney (1930), Fauré-Fremiet (1925, 1932), Laubenfels (1927, 1928, 1932, 1950), Bronsted (1936, 1937), Brien (1937), Sivaramkrishnan (1951), Agrell (1951),

Ganguly (1960), Sará (1956, 1965), Sará, Liaci et Melone (1966), Tuzet et Connes (1962), Borojevic et Lévi (1964, 1965). Borojevic (1966), Efrémova (1967, 1968), Sindler, Burnett (1967), Connes (1968).

Ces différents auteurs ont défini le processus de développement de diverses manières. En particulier, ils jugent différemment du degré de dédifférenciation de divers groupes de cellules et de l'inégalité de leur participation dans la morphogénèse. Ainsi, Brien (1937) et Bronsted (1936, 1937) considèrent que, chez les Eponges d'eau douce, toutes les cellules gardent, après dissociation, leur potentialité histotypique originelle et occupent, dans le conglomerat, une place conforme à leur origine : par exemple, des choanocytes forment de nouvelles chambres choanocytaires, etc.

De leur point de vue, le développement de l'Eponge après dissociation est une véritable morphallaxis — regroupement de cellules déjà différenciées de manière déterminée.

D'autres auteurs (Wilson, Müller, Ganguly et autres) admettent la possibilité, chez les différentes espèces, de modifications dans la différenciation des divers types cellulaires et, en conséquence, attribuent à ces types particuliers de cellules, un rôle plus grand dans la morphogénèse.

Efrémova (1967, 1968), utilisant outre l'histologie la cinématographie et l'autoradiographie, a démontré, d'une façon convaincante, sur une Eponge d'eau douce, que le processus de développement, à partir de conglomerats de cellules somatiques, se distingue précisément par des traits propres au développement et ne se présente pas comme un simple tri de cellules différenciées. Au cours du processus, plusieurs cellules périssent, celles qui survivent peuvent subir un changement de différenciation suivant leur position dans la masse du conglomerat. D'après les données d'Efrémova, le rôle morphogénétique principal est joué par les amœbocytes nucléolaires granuleux qui, cependant, passent aussi par un stade de dédifférenciation et se diversifient ensuite en choanocytes, pinacocytes et autres types cellulaires.

Les divergences ainsi rencontrées, et d'autres encore concernant l'interprétation du comportement des cellules dissociées et de leur rôle dans la morphogénèse, sont dues, à notre point de vue, autant à des défauts de méthode qu'à des raisons objectives. Comme nous le verrons ci-après, les mêmes types cellulaires, isolés des tissus d'Eponges différant par l'organisation de leur système de canaux et par leur mésoglée, se comportent de façon distincte. Leur participation à telle ou telle étape de la morphogénèse est également différente.

Un grand nombre de travaux ont été consacrés à l'étude des rapports entre cellules isolées, à la formation des agrégats et à la détermination des conditions extérieures qui influent sur l'agrégation de ces cellules : (Galstoff, 1925 ; Bradway, 1936 ; Liu, 1948 ; Spiegel, 1954, 1955 ; Curtis, 1962 ; Pyyre, 1962 ; Moscona, 1963 ; Humphreys, 1963 ; Margoliash, Schenk, Hargie, Borokas, Richter, Barlow et Moscona, 1965 ; Gasic et Galanti, 1966 ; Galanty, Gasic, 1967 ; Mac Lennan, 1963 ; Mac Lennan et Dodd, 1967 ; Simons, 1963 ; Yazykov, 1965-1967 ; Mokerjee, Ganguly et Gouri, 1965 ; Loewenstein, 1967).

On trouve, dans les mémoires de ces chercheurs, de nouveaux faits caractéristiques intéressant les premiers stades du développement, liés

au moment où apparaissent les propriétés adhésives des cellules dissociées ou des substances assurant la corrélation entre les actions cellulaires dans une même espèce, etc.

Cependant, ces travaux comportent également des affirmations contradictoires concernant les mécanismes des rapports entre cellules. Ces contradictions sont provoquées aussi bien, semble-t-il, par les différences dans les méthodes employées que par le comportement spécifique des cellules appartenant à des espèces différentes.

L'étude d'autres morphogenèses de régulation nous a montré également de grandes variations dans leurs mécanismes concrets, en rapport avec les particularités d'organisation de différentes espèces d'Eponges (Korotkova, 1962 ; Korotkova, Efrémova et Kadantséva, 1965 ; Korotkova et Nikitine, 1969 a et b et all.). D'après nos données, le processus de formation de l'épithélium et du développement des nouvelles sections du système de canaux chez les Asconoïdes, les Syconoïdes et les Leuconoïdes est de nature différente.

Il était intéressant de comparer le développement à partir de conglomerats de cellules somatiques, après dissociation des Eponges, avec les différents arrangements des systèmes de canaux et, par conséquent, avec l'organisation différente des tissus. Les expériences de dissociation ont été réalisées sur les espèces d'Eponges qui nous avaient permis d'étudier antérieurement les divers types de régénération et d'embryogenèse somatique (*Leucosolenia complicata*, *Sycon lingua* et *Halichondria panicea*).

Huxley (1911) et Sará (1956) avaient étudié avant nous le comportement des cellules dissociées chez *Leucosolenia*. Ils n'avaient observé que la formation de petits agrégats cellulaires qui, après 24 heures, se couvraient d'un épithélium plat, dégénéraient et périssaient au bout de deux ou trois jours.

Le développement des Eponges Calcaires hétérocoeliques avait été étudié par Huxley (1911, 1921 a et b) sur *Sycon ciliatum* et par Tuzet et Connes (1962) sur *Sycon raphanus*. Huxley avait noté la grande diversité d'organisation des conglomerats et de leur potentialité morphogénétique. Il avait observé le développement d'agrégats compacts et d'agrégats portant sur leur surface des vésicules choanocytaires. D'après lui, le processus de développement de *Sycon ciliatum*, à partir des conglomerats, est une morphallaxis. Les agrégats, contenant tous les types cellulaires, ont de plus grandes potentialités morphogénétiques que ceux qui comportent essentiellement un seul type de cellules.

Tuzet et Connes ont analysé histologiquement certains stades de développement de *Sycon raphanus* après dissociation. Ils ont noté que la plupart des cellules isolées acquièrent une activité amoeboïde, y compris les choanocytes qui perdent bientôt leur collerette et leur flagelle. D'après eux, les cellules des agrégats précoces ont une organisation assez homogène, ne se distinguant que par leurs dimensions, la nature de leurs enclaves cytoplasmiques et la grande taille de leur noyau. Certains choanocytes superficiels conservent leur collerette et leur flagelle tournés vers l'extérieur. Ces auteurs pensent que les phénomènes de différenciation ne sont pas très profonds et, qu'après dix à quinze jours, commence une différenciation des cellules, conforme à leur origine. Vers cette époque, les conglomerats se couvrent de

pinacoderme, tandis que des ébauches de chambres et de canaux flagellés apparaissent dans la masse interne. Ils n'ont pas examiné les étapes postérieures du développement.

Des expériences de dissociation chez *Halichondria panicea* sont dues à Agrell (1951), Ruughet (1962), Curtis (1962), Yazykov (1965 a et b) et Mac Lennan et Dodd (1967). Ces auteurs ont surtout étudié les premières étapes de l'agrégation. En outre, Jazykov (1965 a) a noté la faible viabilité des agrégats dans cette espèce. Le comportement des cellules, aux stades tardifs du développement, les particularités de formation de l'épithélium et de naissance du système de canaux n'ont pas été abordés.

### Matériel et méthode

Les expériences ont été faites à l'Institut de Biologie marine de Mourmansk (Académie des Sciences de l'U.R.S.S.), au cours des mois de juin et juillet 1967. J'exprime ma reconnaissance sincère au Directeur de l'Institut, I.I. Galkine et au Chef de laboratoire d'Embryologie, I.G. Mikhailova, qui m'ont donné la possibilité de réaliser ce travail.

Nous avons utilisé trois espèces d'Eponges littorales : *Leucosolenia complicata* Montagu, *Sycon lingua* Haeckel et *Halichondria panicea* Pallas.

Les tissus étaient broyés dans un filet à plancton N 61 aux mailles de 0,12 mm environ de diamètre. Les cellules dissociées étaient placées dans de petites boîtes plates de 40 ml de volume environ, recouvertes d'un filet planctonique à mailles serrées et immergées avec précaution, une ou deux heures après la dissociation, dans un aquarium à eau de mer ( $t = 6$  à  $8^{\circ}\text{C}$ ). Le nombre de cellules dans chaque boîte de culture variait entre  $1,0 \cdot 10^6$  et  $1,5 \cdot 10^7$ . Après qu'on avait placé les boîtes dans l'aquarium, une partie des cellules et des petits congglomérats étaient entraînés par l'eau. Nous avons étudié le matériel *in vivo*, mais également après fixation des congglomérats dans le mélange de Bouin, de quelques heures jusqu'à 30 jours. Les premiers stades de la formation des congglomérats étaient filmés à vitesse variable. J'exprime ici ma reconnaissance à l'opérateur A.S. Drozdov qui a participé à ce travail. Le matériel était inclus à la celloïdine-paraffine, coupé à 5 ou 6  $\mu$  et coloré à l'hématoxyline à l'alun de Caracci ou à l'hématoxyline ferrique de Heidenhain.

### DÉVELOPPEMENT DE *LEUCOSOLENIA COMPLICATA*

Trois à cinq minutes après la dissociation, la plupart des cellules isolées sont précipitées au fond des boîtes de culture. On y distingue parfaitement des choanocytes qui gardent pendant 20 à 30 minutes leur collerette et leur flagelle, mais ne manifestent pas leur activité amoéboïde propre. Quelquefois apparaissent, à leur surface, des prolongements digitiformes. Ils restent en rapport avec différentes cellules demeurées au voisinage. Sur préparations fixées, les choanocytes sont

un peu déformés (Fig. I, 1 c) mais leur noyau et leur cytoplasme semblent normaux. On trouve aussi de petits choanocytes, contenant de deux à quatre cellules.

Les amoebocytes, isolés quelques minutes après la dissociation, sont déjà capables de mouvement, grâce à leurs courts pseudopodes arrondis. Les amoebocytes nucléolaires (Fig. I, 1 an) se distinguent par leurs grandes dimensions. Leur cytoplasme est coloré intensément à l'hématoxyline et on y voit des inclusions arrondies de taille variée. De petits amoebocytes nucléolaires, ainsi que des amoebocytes anu-

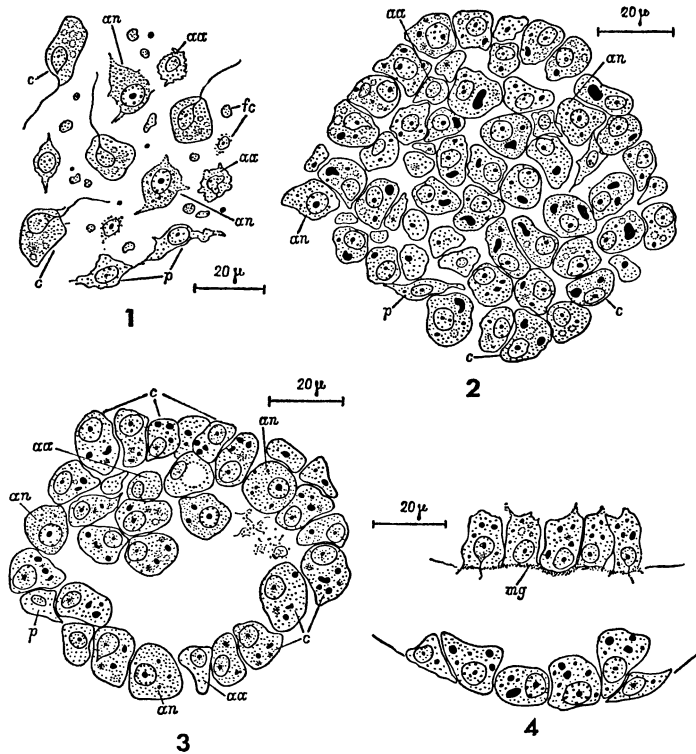


FIG. I

*Leucosolenia complicata*

1. Cellules immédiatement après dissociation : c : choanocyte ; an : amoebocyte nucléolaire ; aa : amoebocyte anucléolaire ; p : pinacocyte ; fc : fragments de cytoplasme ou noyaux isolés.
  2. Coupe d'un conglomérat de douze heures.
  - 3 et 4. Conglomérat de 24 heures. 3 : coupe ; 4 : cellules situées à la surface ; mg : membrane granuleuse.
- oc. 10x, obj. 90x à immersion.

cléolaires (Fig. I, 1 aa), apparaissent sous forme de petites cellules arrondies à noyau clair, parfois un peu déformé.

Des pinacocytes (Fig. I, 1 p), solitaires ou accouplés pendant les premières minutes après la dissociation, gardent leur forme un peu aplatie ; leur cytoplasme est finement granuleux et ils n'ont aucune activité amoéboïde.

Parmi les cellules dissociées se trouvent, en grande quantité, des

fragments arrondis de cytoplasme et des noyaux isolés portant en surface des traces de cytoplasme (Fig. I, 1 fc).

Plusieurs de ces amoebocytes et pinacocytes forment à leur surface, une heure à une heure et demie après le début de l'expérience, des prolongements radiciformes, atteignant deux à trois fois le diamètre cellulaire. Les conglomerats se forment très lentement ; une heure et demie à deux heures après la dissociation, apparaissent des agrégats lâches, pouvant réunir quinze cellules. Les conglomerats de six heures renferment de 50 à 200 cellules ; ils ont, le plus souvent, une forme aplatie à surface irrégulière et portent des traces de confluence de conglomerats plus petits.

L'observation microcinématographique des premières étapes de l'agrégation montre l'absence de rapports sélectifs entre cellules de spécialisation analogue. On voit s'unir les amoebocytes de dimensions différentes, aussi bien aux amoebocytes qu'aux choanocytes ou aux pinacocytes. Pendant cette première période apparaissent, parfois, des chaînes de cellules qui se transforment ensuite en conglomerats plus compacts.

Sur des coupes de conglomerats âgés de **douze heures**, on peut toujours discerner les choanocytes (Fig. I, 2 c) qui gardent encore leur noyau en position polaire. L'orientation des choanocytes prédominant dans plusieurs conglomerats précoces est des plus variées : leurs extrémités apicales peuvent être dirigées vers l'intérieur, la face externe ou dans n'importe quelle autre direction. Quelques choanocytes superficiels gardent leur flagelle. Pendant cette période du développement, le cytoplasme des choanocytes est très riche en inclusions de toutes dimensions.

Le cytoplasme des amoebocytes nucléolaires (Fig. I, 2 an) est plus homogène que celui des choanocytes et leur noyau est situé plus près du centre. Parmi les cellules, on trouve des amoebocytes anucléolaires mais peu distinguables, à cette période, des pinacocytes (Fig. I, 2 aa, p).

Les conglomerats de **24 heures** de *Leucosolenia* ne dépassent pas 0,04 à 0,05 mm de diamètre. A l'intérieur, apparaissent de petites cavités (Fig. I, 3). Pour certains conglomerats, les cellules superficielles s'aplatissent et forment des files de cellules orientées dans la même direction (Fig. I, 4). Au-dessus des surfaces apicales des choanocytes, on peut voir, en certains endroits, une membrane granuleuse (mg), formée évidemment par transformation des parties apicales du cytoplasme des choanocytes et par réduction du flagelle et de la collerette. En plus des choanocytes, on découvre, parmi les cellules superficielles, des amoebocytes anucléolaires et des pinacocytes (Fig. I, 3 aa, p).

Les conglomerats de **deux jours**, comme les précédents, sont de dimensions et de forme variées (au maximum 0,08 mm de diamètre). Les cellules des petits conglomerats compacts sont disposées en rangs serrés (Fig. II, 1). Les cellules superficielles sont arrondies ou légèrement allongées (Fig. II, 2). La plupart des cellules de ces conglomerats sont d'origine choanocytaire ; leur cytoplasme est bourré d'inclusions de taille variée. On y découvre beaucoup plus rarement des amoebocytes à prolongements, avec un petit nucléole et un cytoplasme beaucoup plus clair que celui des choanocytes [Fig. II, 2 aa]).

Le troisième et le quatrième jours du développement, les conglomérats peuvent atteindre 0,1 mm de diamètre. Leur surface n'est pas encore recouverte d'un épithélium, mais les cellules superficielles ont une apparence plus régulière que celles de l'intérieur. Dans certains conglomérats existent de vastes cavités voisines de la surface (Planche I, 1). L'organisation des conglomérats et l'état de leurs cellules diffèrent peu de ceux de deux jours.

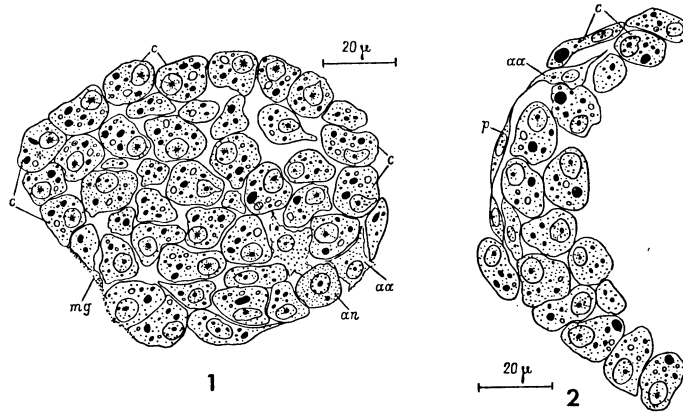


FIG. II

*Leucosolenia complicata*  
Conglomérat de deux jours.

1 : coupe du conglomérat ; 2 : une partie de la surface du conglomérat.  
oc. 10x, obj. 90x à immersion.

Les conglomérats en dégénérescence apparaissent entre le cinquième et le sixième jour du développement. Ils ont l'apparence d'agglomérats cellulaires compacts. Les limites des cellules y sont peu distinctes. Les noyaux ont une forme vésiculaire, avec un gros nucléole homogène net et de fins filaments de chromatine, divergeant principalement en direction radiale du nucléole (Fig. III, 1 n). La surface de semblables conglomérats est lâche et consiste en des formations granuleuses de dimensions variées, restes des cellules en dégénérescence (Fig. III, 1 sg).

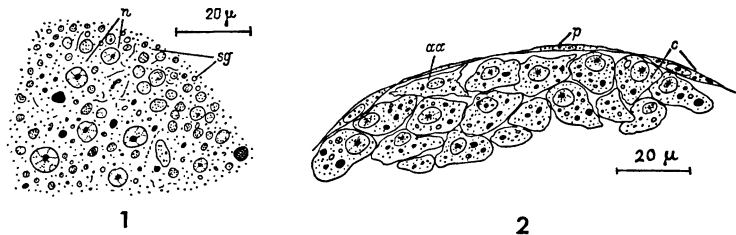


FIG. III

*Leucosolenia complicata*

1. Une partie d'un conglomérat de 5 jours.  
n : noyau ; sg : surface granuleuse.  
2. Une partie d'un conglomérat de 6 jours.  
p : pinacocyte ; c : choanocyte ; aa : amœbocyte anucléolaire.  
oc. 10x ; obj. 90x à immersion.

La surface des autres conglomérats viables est, en partie ou entièrement, recouverte d'un épithélium (Fig. III, 2). La plupart des cellules superficielles aplaties ont une apparence typique de pinacocytes, mais on peut y voir des cellules présentant des traces d'une origine choanocytaire (Fig. III, 2 c).

La masse interne du conglomérat est bourrée de cellules. Leurs noyaux sont disposés de manière variée, mais, le plus souvent, plus près du centre. Certains conglomérats présentent de petites cavités voisines de la surface qui contiennent une sécrétion intensément colorable. Les cellules qui limitent les cavités, côté surface, ont, le plus souvent, des caractères d'une origine choanocytaire.

Dans les conglomérats de **huit jours**, on voit apparaître, à la surface et dans la masse interne, de vastes cavités renfermant parfois des restes de cellules en dégénérescence. L'épithélium de leur surface est formé de cellules plates.

Les conglomérats de **dix à douze jours**, outre les indices d'organisation visibles le huitième jour, laissent apparaître des couches intermédiaires de substance fondamentale, délimitant de petits complexes cellulaires (Planche I 2, ch). Dans les couches internes de cette substance se voient, en certains endroits, de jeunes spicules à trois rayons.

**Après quatorze à dix-sept jours** de développement, des conglomérats isolés se fixent au substrat et de jeunes spicules apparaissent en surface. Cependant, on voit également, chez des conglomérats libres, des changements progressifs, y compris la formation des spicules, ce qui prouve que l'instant de la fixation au substrat n'est pas, chez *Leucosolenia complicata*, une condition obligatoire pour l'accomplissement des étapes ultimes de la morphogenèse. Le développement progressif se produit aussi bien dans des conglomérats à cavités superficielles que dans des conglomérats compacts. Les cavités internes, pendant cette période, sont tapissées de choanocytes différenciés ou de cellules aplaties dont on n'avait pas pu, jusque-là, élucider l'origine. Dans certaines de ces cavités, se voient des restes de cellules en dégénérescence et, parfois, des cellules isolées vivantes, semblables aux amœbocytes. La position et le volume des cavités internes sont variés ; dans des conglomérats de petite taille dont le diamètre ne dépasse pas 0,1 mm environ, le nombre des cavités atteint 5 à 8. Nous avons vu des cavités de grande taille sur 5 à 6 coupes, les petites occupant seulement une ou deux coupes.

**Au bout de trois semaines** on trouve, dans chaque boîte de culture, trois à quatre Eponges de type fermé, aux spicules bien développés en surface et à cavité interne nettement délimitée. La plus grande partie de la surface de cette cavité est tapissée de choanoblastes (Planche I, 3, ch). De petites aires, cependant, restent nues ou sont tapissées de pinacocytes. Dans la lumière de la cavité, on voit toujours de nombreux restes de cellules en dégénérescence (Planche I, 3, cd). La couche intermédiaire de la substance fondamentale et les spicules sont bien développés à la surface de l'Eponge. Parmi les choanoblastes tapissant la cavité d'une jeune Eponge, on trouve souvent des cellules en division. Ainsi, l'atrium d'une nouvelle Eponge



apparaît par réorganisation et fusion de cavités d'abord petites et isolées. Ce processus provoque la destruction de masses cellulaires dont on voit toujours les débris à l'intérieur de la cavité unique résultante.

Nos premiers résultats, quoique fort incomplets, sur le développement de *Leucosolenia complicata*, à partir de cellules dissociées, permettent d'indiquer quelques particularités de ce type d'embryogenèse somatique.

1. Les cellules dissociées d'origine différente se transforment de façon divergente et sont caractérisées par les particularités de leur mouvement pendant les premières heures de l'expérience. Les amœbocytes acquièrent leur mobilité amiboïde ; les choanocytes s'arrondissent, deviennent peu mobiles ; jusqu'aux derniers stades du développement, leur noyau se maintient en position apicale et ils conservent leur flagelle deux jours après la dissociation. L'évolution des pinacocytes et des porocytes n'a pas pu être observée avec netteté, mais il est probable que les pinacocytes arrondis périssent ou, passant par un stade de différenciation peu profonde, réacquièrent les caractères de pinacocytes.

2. Les choanocytes et les amœbocytes jouent un rôle important dans le développement des agrégats cellulaires. Ces cellules accumulent, dans leur cytoplasme, une grande quantité d'inclusions prises au milieu ambiant (restes de cellules en dégénérescence). Les choanocytes, surtout, qui entrent dans la formation des conglomérats, se montrent très plastiques et capables, selon leur position, soit de se différencier en pinacocytes ou en amœbocytes, soit de se retransformer en choanocytes.

3. Au cours de l'étude de cette embryogenèse somatique, on voit la destruction régulière des cellules et l'utilisation de leurs restes, ce qui est évidemment un moment important de la morphogenèse. Les cellules périssent d'abord, en partie, pendant les premières heures après la dissociation des tissus puis, en grande quantité, pendant les derniers stades du développement, au moment de la formation de l'atrium.

4. La formation de l'épithélium de revêtement, du 6<sup>e</sup> au 8<sup>e</sup> jour, est un moment obligatoire du développement progressif des conglomérats. A sa constitution participent, non seulement les pinacocytes, mais aussi les choanocytes, dont les différents stades d'aplatissement peuvent s'observer à la surface de nombreux conglomérats.

5. En corrélation avec la formation de l'épithélium de revêtement apparaissent les couches de la substance fondamentale, près de la surface et parmi les cellules internes ; en même temps, on voit les premières étapes de la formation des spicules.

6. L'atrium se développe par fusion de petites cavités se formant dans la partie médiane du conglomérat et en liaison avec la perte d'une grande quantité de cellules.

## DÉVELOPPEMENT DE *SYCON LINGUA*

Trois à cinq minutes après la dissociation, des cellules isolées de *Sycon lingua* sont précipitées au fond des boîtes de culture. Parmi les cellules, on peut voir des fragments de choanoderme (Fig. IV, 1, gc), des débris de spicules et des fragments cellulaires sous l'aspect de formations cytoplasmiques sphéruleuses (Fig. IV, 1, fc). Dans la suspension, on distingue nettement quatre types de cellules. Les plus

fréquentes sont les choanocytes (Fig. IV, 1, c) qu'on reconnaît facilement à leur flagelle et à leur collerette. Contrairement aux choanocytes normaux tapissant les canaux des chambres flagellées, les choanocytes isolés ou faisant partie de petits fragments de choanoderme ont une forme plus arrondie. En outre, leur noyau s'arrondit également et ne présente pas à sa partie supérieure de formation conique, à pointe tournée vers l'extrémité apicale de la cellule. Le cytoplasme des choanocytes isolés se colore intensément, il est uniformément

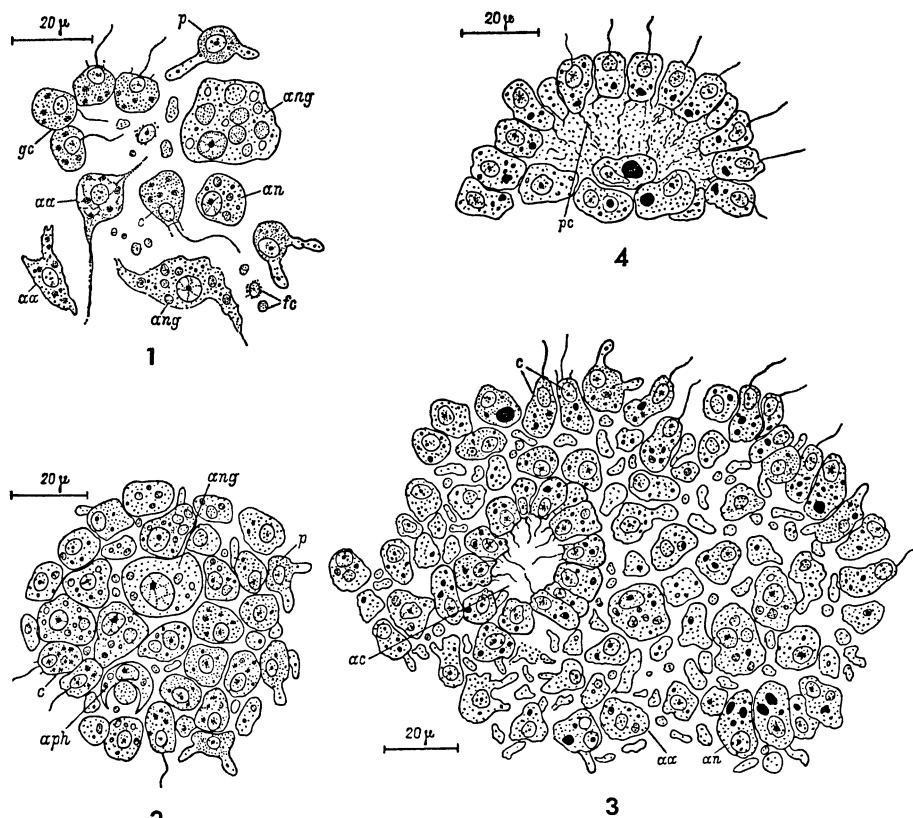


FIG. IV  
*Sycon lingua*

1. Cellules immédiatement après dissociation. c : choanocyte ; gc : groupe de choanocytes ; p : pinacocyte ; ang : amoebocyte nucléolaire granuleux ; an : amoebocyte nucléolaire ; aa : amoebocyte anucléolaire ; fc : fragments du cytoplasme ou noyaux isolés.
  2. Coupe d'un conglomérat âgé de 6 heures. aph : amoebocyte phagocytant un fragment de cytoplasme.
  3. Coupe d'un conglomérat de 24 heures. ac : accumulation de choanocytes.
- oc. 10x, obj. 90x à immersion.

granuleux et renferme un petit nombre d'enclaves homogènes. Beaucoup de choanocytes portent des prolongements digitiformes à leur surface.

Parmi les cellules dissociées, on trouve aussi une grande quantité de pinacocytes. Peu de temps après la dissociation, ils s'arrondissent

et on y distingue mal le noyau. Après précipitation sur le substrat, ils s'aplatissent un peu et on peut y distinguer un noyau clair. A leur surface, apparaissent des prolongements digitiformes (Fig. IV, 1, p). Sur les pinacocytes vivants on voit, dans ces prolongements, de petits granules se déplaçant activement à l'intérieur du cytoplasme. Ces granules se conservent après fixation.

Beaucoup plus rarement que les choanocytes et les pinacocytes, apparaissent des amoebocytes de toutes dimensions. Les amoebocytes nucléolaires (Fig. IV, 1, ang, an) sont arrondis et parfois à pseudopodes. Peu de temps après la dissociation, ces cellules sont déjà amoéboïdes. Dans leur cytoplasme, on voit toujours des enclaves sphériques de toutes tailles, faiblement colorées par les colorants nucléaires. Les amoebocytes anucléolaires sont les plus rares. Ils conservent leurs prolongements filiformes pendant un certain temps après la dissociation (Fig. IV, 1, aa). Ainsi que les pinacocytes et les choanocytes, ils forment, quelques minutes après la dissociation, des prolongements digitiformes et ne se distinguent alors plus des pinacocytes. Le mécanisme du déplacement des pinacocytes et des amoebocytes anucléolaires reste pour nous un point obscur. Les prolongements digitiformes surgissant à la surface de ces cellules, ont une forme fixe pendant plusieurs dizaines de minutes et se tournent toujours dans la même direction ; ainsi, ne peuvent-ils donc pas être des agents de la locomotion. Quant aux choanocytes, ils se déplacent grâce aux battements intenses de leurs flagelles.

**Deux à trois heures** après dissociation, on voit se former des conglomerats lâches et aplatis, de 20 à 30 cellules (Planche I, 4). A leur surface apparaissent les prolongements digitiformes des choanocytes, des pinacocytes et des amoebocytes (pd) aussi bien que les collerettes et les flagelles des choanocytes. Pendant cette période, les contacts entre cellules sont très instables et, à la plus légère agitation des boîtes, les agrégats se dispersent en cellules isolées.

**Six heures** après dissociation, les conglomerats comprennent plusieurs centaines de cellules, mais gardent leur forme aplatie et leur surface à contours irréguliers. Il s'y incorpore des débris d'anciens spicules et des particules étrangères (restes de tests de Diatomées, hydrothèques de Polypes, etc.). Comme au stade précédent, parmi les cellules superficielles, on distingue des choanocytes à flagelle très actif, des cellules à prolongements digitiformes et des amoebocytes nucléolaires (Fig. IV, 2). Pendant cette période, l'extrémité apicale de plusieurs choanocytes superficiels est déjà orientée vers l'extérieur (Fig. IV, 2, c). Au centre du conglomerat représenté sur la figure, on voit un amoebocyte phagocytant un des fragments de cytoplasme (aph) qui se trouvent encore parmi les cellules.

**Douze à vingt-quatre heures** après dissociation, les conglomerats deviennent plus compacts et sphéruleux. Quelques-uns portent, à leur surface, des traces de fusion d'agrégats plus petits. Sur des coupes de conglomerats de 0,05 à 0,1 mm de diamètre, on voit des cellules nucléolaires et anucléolaires de taille différente, ainsi que des choanocytes dont le côté apical est le plus souvent tourné vers l'extérieur (Fig. IV, 3). Contrairement aux cellules isolées et à celles des agrégats

plus précoces, les cellules des agrégats de 24 heures contiennent des inclusions très colorables. Elles proviennent évidemment de la phagocytose et de la pinocytose des débris cellulaires. La surface des conglo-mérats de 12 heures et de 24 heures est composée de cellules d'origine variée (choanocytes, pinacocytes et divers amoebocytes) qui se retrouvent à l'intérieur de l'agrégat. L'accumulation interne des choa-nocytes donne des structures vésiculaires vers l'intérieur desquelles s'orientent les extrémités flagellées (Fig. IV, 3, ac).

Ils peut se produire des agrégats de types différents : les uns sont compacts, sphériques, recouverts de cellules plates et les autres sont plus lâches, irréguliers et portent, à leur surface, des choanocytes formant des boursouffures vésiculaires. Contrairement aux observa-tions de Huxley (1911, 1921), nous avons constaté que le développe-ment peut avoir lieu dans les deux sortes de conglo-mérats, mais que les seconds sont les plus viables. Les processus de la morphogenèse dans ces deux types sont aussi un peu différents, comme nous le ver-rons ci-dessous.

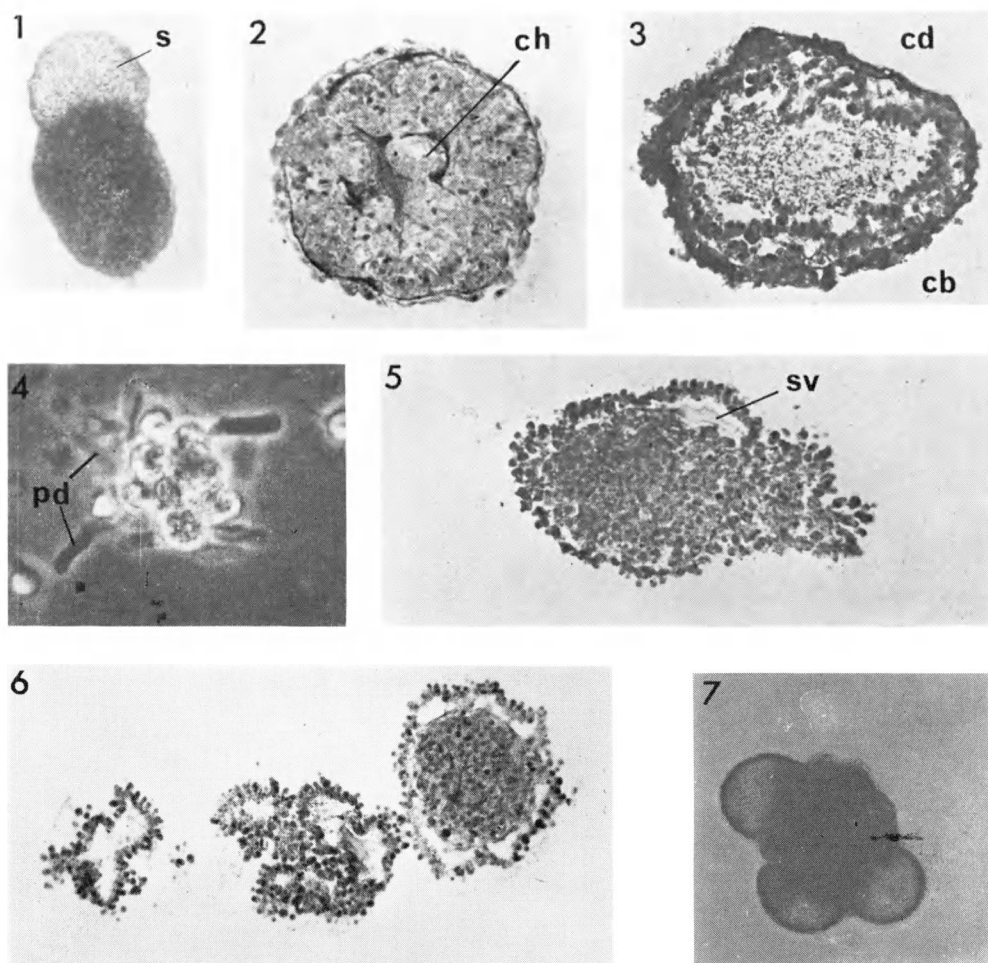
Dans plusieurs conglo-mérats, le deuxième ou le troisième jour après la dissociation, s'ébauchent, en surface, de vastes aires de choano-derme. En certains endroits, cet épithélium se décolle, donnant des « vésicules » de volume encore réduit. Sur coupes, on voit que les cavités sont remplies d'une sécrétion homogène, intensément colorée par les colorants nucléaires (Planche I, 5, sv). Plusieurs prolonge-ments se détachent de la surface basale des choanocytes, orientée vers la cavité. Ils se perdent dans la sécrétion et atteignent parfois la masse cellulaire interne (Fig. IV, 4, pc).

Si les conglo-mérats fusionnent, à ce moment ou plus tard, des fragments du choanoderme, aussi bien que du pinacoderme, entrent en contact et se trouvent alors à l'intérieur d'un conglo-mérat plus gros.

Chez certains conglo-mérats, on peut observer un choanoderme sur toute la surface. Dans ce cas, il est séparé de la masse interne par une seule cavité commune (Planche I, 6). Les cellules des conglo-mérats de 2<sup>e</sup> ou de 3<sup>e</sup> jour sont très riches en inclusions diverses, leur noyau est de taille variable, on y découvre des cellules nucléolaires et anucléolaires. Le noyau peut être excentrique, ce qui témoigne de l'origine choanocytaire des cellules. On ne trouve pas de mitoses à ce stade du développement.

A la surface des conglo-mérats compacts, des cellules nucléolaires arrondies prédominent, plus rares sont les choanocytes, au flagelle orienté vers l'extérieur et les cellules anucléolaires.

Vers le quatrième jour du développement, le volume des cavités superficielles dans les conglo-mérats à vésicules augmente (Planche I, 7) avec la quantité de sécrétion les remplissant. Une partie du choa-nderme se tasse contre les cellules plus profondes, parmi lesquelles étaient apparues des courbes minces de substance fondamentale (Plan- che II, 1). Ces couches divisent toute la masse interne en amas rela-tivement isolés, de 20 à 30 cellules. La substance fondamentale est sécrétée par des amoebocytes qui s'aplatissent un peu et prennent l'aspect de spiculoblastes. En certains points du centre du conglo-



G.P. KOROTKOVA

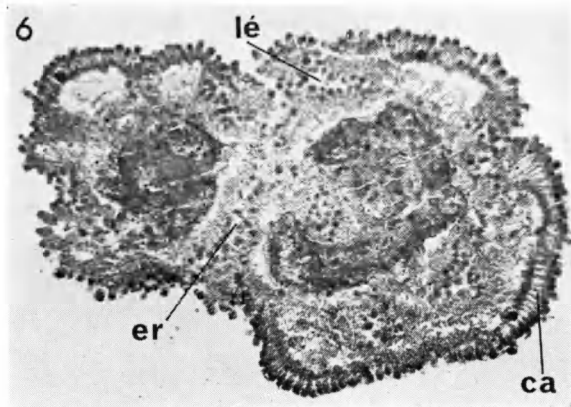
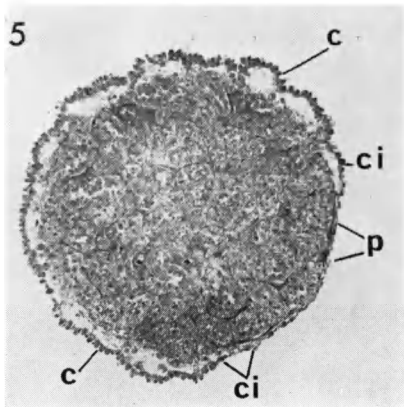
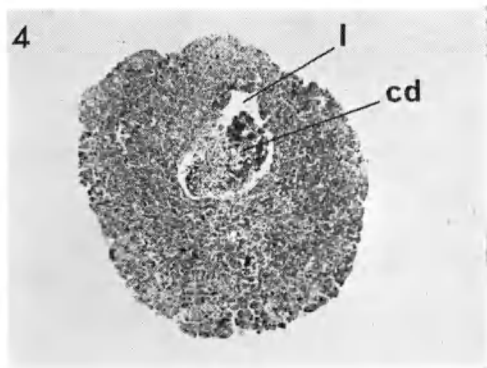
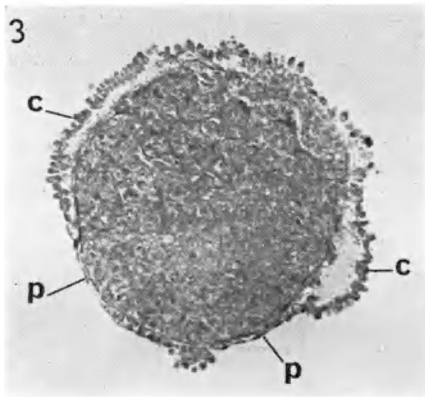
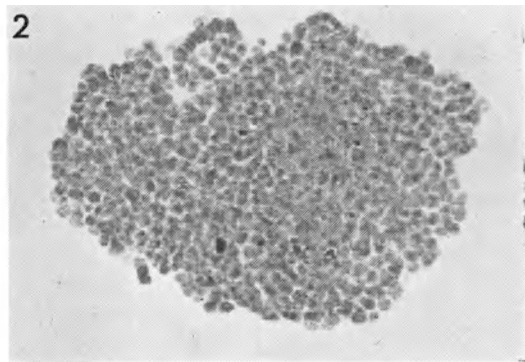
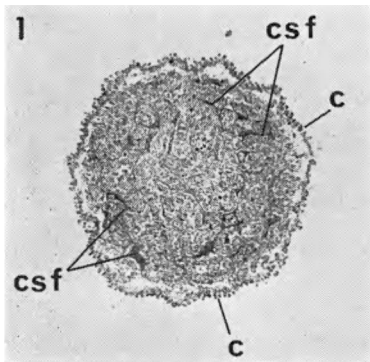
# PLANCHE I

## *Leucosolenia complicata*

1. Conglomérat de cellules somatiques âgées de quatre jours. sc : cavité située près de la surface.
2. Coupe d'un conglomérat de cellules somatiques 12 jours après le début de l'expérience. On voit les couches intermédiaires de la substance fondamentale sous l'épithélium superficiel et dans la masse interne. ch : chambre limitée par des couches de la substance fondamentale. oc. 7x, obj. 40x.
3. Coupe d'une Eponge se développant à partir du conglomérat, au 21<sup>e</sup> jour. cd : cellules en dégénérescence ; cb : choanoblastes. Microphotographie d'un conglomérat vivant. oc. 7x, obj. 40x.

## *Sycon lingua*

4. Conglomérat de cellules deux heures après la dissociation. pd : prolongement digitiforme. Microphotographie filmée.
5. Coupe d'un conglomérat de trois jours. On voit une cavité superficielle, limitée par des choanocytes et remplie de sécrétions (sv). pc : prolongements partant de la partie basale des choanocytes. Microphotographie oc. 10x, obj. 40x.
6. Coupes d'un groupe de conglomérats de trois jours, recouverts de choanoderme. Microphotographie oc. 7x, obj. 40x.
7. Conglomérat au quatrième jour. On voit trois vésicules choanocytaires. Microphotographie d'un conglomérat vivant. oc. 5x, obj. 20x.



G.P. KOROTKOVA

PLANCHE II  
*Sycon lingua*.

1. Coupe d'un conglomérat de quatre jours. c : choanocyte ; csf : couches de substance fondamentale. oc. 7x, obj. 20x.
2. Coupe d'un conglomérat compact de quatre jours. oc. 10x, obj. 20x.
3. Coupe d'un conglomérat de huit jours. La surface est recouverte de choanoderme (c) et de pinacoderme (p). oc. 7x, obj. 20x.
4. Coupe d'un conglomérat de dix jours : l : lacune ; cd : cellules en dégénérescence. oc. 7x, obj. 20x.
5. Coupe d'un conglomérat de même âge. Entre le choanoderme (c) et le pinacoderme (p) sont situées les cellules du type intermédiaire (ci). oc. 7x, obj. 20x.
6. Coupe d'un conglomérat de même âge à « vésicules ». ca : choanocytes allongés ; lé : lacunes tapissées d'épithélium ; er : lieu de réunion de plus petits conglomérats. oc. 7x, obj. 40x.

mérat, on peut voir les premiers signes de dégénérescence (affaiblissement de la coloration du cytoplasme et du noyau, vacuolisation du cytoplasme, etc.).

Dans les conglomérats compacts arrondis, également, apparaissent, à cette époque, des foyers de désintégration. En outre, on y voit de petites cavités tapissées de choanoderme. Leur apparition est probablement liée à la réunion des choanodermes des conglomérats plus petits, pendant les stades plus précoces du développement. La surface des conglomérats compacts était surtout couverte d'amœbocytes, d'apparence plus ordonnée cependant que pendant les périodes précédentes. À l'inverse des conglomérats à vésicules, la masse interne des cellules dans les conglomérats compacts n'a pas de couches de substance fondamentale (Planche II, 2).

Les conglomérats des deux types montrent des mitoses, mais elles sont moins nombreuses dans les conglomérats compacts (une mitose par 700 à 800 cellules contre 1 à 2 mitoses par 500 à 600 cellules ne se divisant pas).

Les cinquième et sixième jours du développement, les conglomérats continuent à grossir par confluence d'agrégats plus petits. L'organisation interne des deux types de conglomérats reste à peu près la même que précédemment. Cependant, on peut noter qu'à l'intérieur de certaines vésicules choanocytaires apparaît une couche d'amœbocytes aplatis. Le choanoderme est moins régulier, surtout aux endroits où il se colle aux cellules internes. Une partie des choanocytes a plongé, évidemment, à l'intérieur, en perdant flagelle et collerette. Le cytoplasme des choanocytes superficiels, vacuolisé, contient des enclaves moins colorables.

À partir de ce moment, les cellules de l'extérieur et celles de l'intérieur se colorent différemment. À l'hématoxyline d'alun, par exemple, les deux ou trois rangs superficiels sont rose violacé, tandis que les cellules internes sont bleu pâle et beaucoup moins colorables. Le nombre de cellules en mitose augmente jusqu'à 4 à 5 par 500.

Dans les conglomérats compacts, la couche externe s'aplatit et, à l'intérieur de l'agrégat, apparaissent de minces couches de substance fondamentale.

Parmi les conglomérats de huit jours, on en trouve toujours des deux types, mais le volume des cavités superficielles, diminue au profit de parties de la surface recouvertes de cellules aplaties ou de choanoderme (Planche II, 3). La masse interne reste divisée en chambres par des couches minces de substance fondamentale, ces couches s'épaississant. Les cellules de l'épithélium superficiel flagellé conservent le plus souvent, à ce stade, la disposition polaire du noyau et possèdent des pseudopodes orientés dans la cavité et atteignant les amœbocytes plus profonds.

Parmi les conglomérats de huit jours, certains sont recouverts entièrement de cellules flagellées, serrées contre les cellules plus profondes. À l'intérieur, apparaît la substance fondamentale.

Dans les conglomérats compacts, sans choanoderme, les cellules de revêtement sont, en général, très aplaties, sauf sur certaines aires

de cellules arrondies de disposition plus lâche. Les strates de substance fondamentale sont moins développées parmi les cellules internes que dans les conglomérats à vésicules. A la place des cellules en dégénérescence, se forment des lacunes contenant encore des débris de cellules détruites. Ces lacunes, elles-mêmes, ne sont pas tapissées. Les conglomérats compacts se composent principalement d'amœbo-cytes nucléolaires de toutes dimensions. Les mitoses y sont très rares (1 pour 1000), les conglomérats recouverts de choanoderme en présentent de 4 à 5 pour 500 à 600.

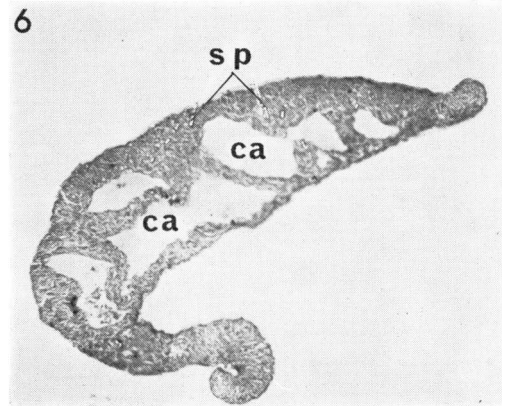
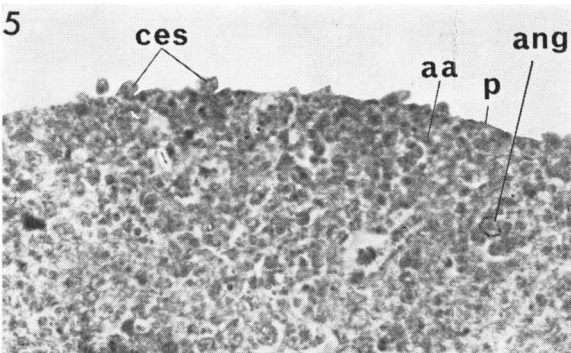
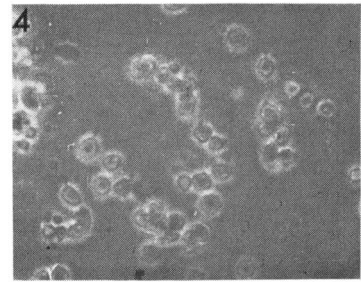
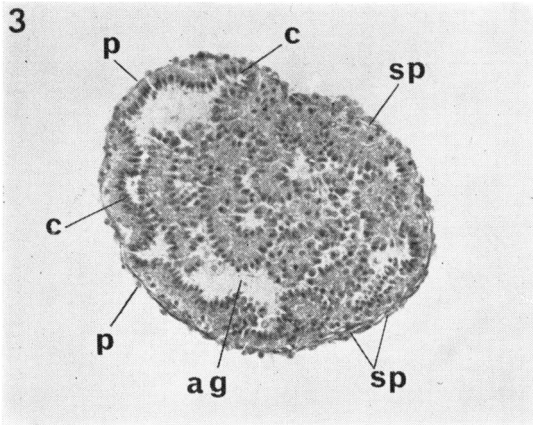
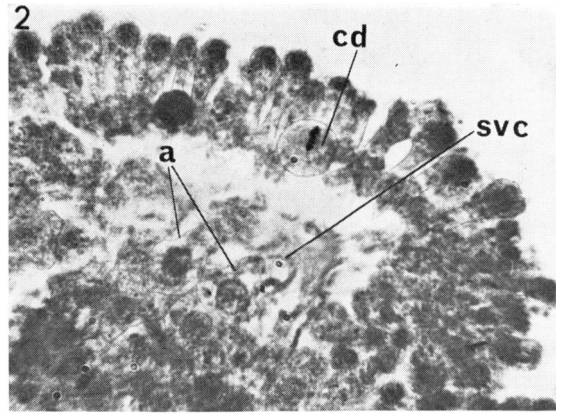
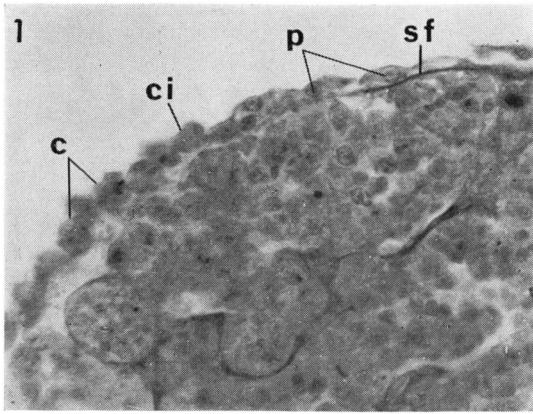
Parmi les conglomérats de dix jours, on discerne deux types de conglomérats compacts et un type de conglomérats à vésicules. Certains conglomérats compacts, sans cellules flagellées, ont une surface irrégulière (Planche II, 4). La couche externe est désordonnée et on aperçoit, à l'intérieur, des couches minces, très peu développées, de substance fondamentale. Les conglomérats compacts, de forme arrondie et plus régulière, ont un épithélium de surface composé, en partie, de pinacocytes et, en partie, de choanocytes, avec des cellules de type intermédiaire (Planche III, 3). Les mitoses y sont très rares (1 pour 1.000 à 2.000). Les conglomérats à vésicules n'ont plus la même organisation qu'aux stades antérieurs. Les cellules superficielles de certaines vésicules choanocytaires s'allongent beaucoup. Leurs noyaux sont apicaux (Planche III, 4, ca). Elles rappellent beaucoup, alors, les choanocytes vespiformes décrits par Dendy (1891, 1893), Duboscq et Tuzet (1939) et par nous-mêmes (Korotkova, Efrémova, Kadantséva, 1965). Ces choanocytes allongés ne se forment pas dans les chambres flagellées mais en surface, on ne peut donc pas relier ce phénomène à une asphyxie comme l'avaient supposé les auteurs précités.

Les conglomérats à vésicules contiennent des cavités arrondies, tapissées d'un épithélium cylindrique, ordonné (Planche II, 5, lé) qu'on pourrait interpréter comme des ébauches de chambres choanocytaires. Cependant, comme nous le verrons ci-dessous, nous ne le faisons que sous réserves, car les véritables chambres choanocytaires apparaissent, en réalité beaucoup plus tard, par réorganisation d'une seule cavité choanocytaire centrale, au bout d'un mois de développement.

Après huit à dix jours, on peut observer la différenciation d'ensembles cellulaires séparés par des couches intermédiaires de substance fondamentale. Les uns se transforment en cavités pinacocytaires, d'autres en chambres choanocytaires, d'autres enfin se résorbent complètement. Les couches de substance fondamentale s'épaississent et on y voit apparaître des ébauches de spicules triactines. Le nombre de mitoses, dans les conglomérats à vésicules, atteint 4 à 5 pour 500 à 600 cellules.

Le douzième jour on trouve, parmi les conglomérats compacts, de volumineuses formations irrégulières, sans couche ordonnée de cellules aplaties. Ordinairement, on y voit une forte dégénérescence cellulaire. Comme aux stades antérieurs, ces conglomérats compacts se développant progressivement, présentent un pinacoderme bien développé, parfois moucheté de choanocytes (Planche III, 1, p, c). La couche de substance fondamentale est bien développée sous l'épithélium de revê-





G.P. KOROTKOVA

PLANCHE III  
*Sycon lingua*.

1. Cellules du type intermédiaire entre les cellules flagellées et les cellules pinacocytaires à la surface d'un conglomérat âgé de douze jours. p : pinacocyte ; c : choanocyte ; ci : cellules du type intermédiaire ; sf : substance fondamentale. oc 7x, obj. 90x à immersion.
2. Choanocyte en division (cd) dans le choanoderme du conglomérat de cellules âgé de douze jours. svc : sécrétion remplissant la cavité de la « vésicule » choanocytaire ; a : amoebocyte. oc. 10x, obj. 90x à immersion.
3. Coupe d'un conglomérat de seize jours. p : pinacocyte ; c : choanocyte ; sp : spicule ; ag : amoebocyte nucléolaire géant. oc. 7x, obj. 40x.

*Halichondria panicea*.

4. Agrégat précoce, 30 minutes après le début de l'expérience. Microphotographie filmée.
5. Fragment de surface de la coupe d'un conglomérat âgé d'un jour. ces : cellules en saillie à la surface du conglomérat ; p : pinacocyte ; ang : amoebocyte nucléolaire granuleux ; aa : amoebocyte anucléolaire. oc. 7x, obj. 90x à immersion.
6. Coupe d'un conglomérat au trentième jour du développement. ca : canal ; sp : spicule. oc. 7x, obj. 20x.

tement (Planche II, 6, sf). Dans la masse interne, se trouvent de petites lacunes contenant des traces de débris cellulaires.

Dans les conglomérats à vésicules choanocytaires, la plupart des cellules flagellées superficielles sont très allongées. On y trouve de fréquentes mitoses (5 à 6 pour 500 cellules). Il faut noter que les choanocytes en division s'arrondissent, ce qui est normal, mais qu'ils restent partie intégrante de l'épithélium à la base des cellules (Planche III, 2, cd). Dans les tissus de l'Eponge normale, les choanocytes en division se déplacent au niveau des extrémités apicales des cellules.

Parmi les conglomérats de quatorze à seize jours, on en voit, de forme irrégulière, qui se désagrègent encore, mais on assiste également au développement progressif des Eponges. Pendant cette période se produit une prolifération intense de la couche superficielle de substance fondamentale où apparaissent des spicules. A l'intérieur des conglomérats en développement, on voit souvent de vastes lacunes non tapissées d'épithélium ; le plus souvent, elles se déplacent vers l'un des pôles de l'Eponge en formation.

Les Eponges fixées au substrat ont une couche superficielle bien développée, à spicules. A l'intérieur, existe une cavité vaste ou un système de grandes cavités tapissées de choanoderme et de pinacoderme (Planche III, 3). Quelques cavités plus petites sont occupées par des amœbocytes nucléolaires géants (an), fortement vacuolisés.

Du vingt-quatrième au vingt-huitième jour de développement, les conglomérats continuent à se modifier. Une partie présente une texture semblable à celle que nous venons de décrire (Planche III, 3). Nous n'avons pas découvert de conglomérats à vésicules car, aux stades antérieurs déjà, le volume des vésicules superficielles avait diminué graduellement et les choanocytes s'étaient transformés en cellules aplaties, étroitement serrées contre les cellules internes. Un mois après la dissociation, les Eponges les plus avancées présentent une couche superficielle bien développée, munie de spicules et une vaste cavité presque entièrement tapissée de choanoderme. Cette dernière s'est évidemment constituée par réorganisation du système de chambres flagellées et de cavités pinacocytaires dont on observe la formation aux stades antérieurs. Dans la lumière de la cavité centrale, on voit une grande quantité de débris cellulaires en dégénérescence. Ainsi le *Sycon*, se développant après la dissociation, possède, à un stade défini de la morphogenèse, une organisation homocoele.

On peut prévoir que le développement ultérieur se fera par complexité croissante du système de canaux, naissance de canaux pinacocytaires intermédiaires et d'un espace osculaire. L'ébauche de ce dernier se trouve sans doute dans cette région de la paroi du corps de l'Eponge âgée d'un mois, dont la cavité interne est tapissée de pinacocytes. Nous n'avons pas observé ces processus et ne pouvons que supposer qu'ils se poursuivront d'une façon analogue à la transformation du système de canaux de l'*olyntus* pendant la reproduction sexuée ou comme la transformatoin des régions homocoeles de la paroi du corps en régions hétérocœles pendant le bourgeonnement de *Sycon raphanus* (Connes, 1964).

Nos expériences sur l'embryogenèse somatique de *Sycon lingua* nous permettent, en tous cas, de faire les remarques suivantes.

1. Des cellules isolées de *Sycon lingua* se reconstruisent différemment suivant leur position dans le conglomérat en formation. Ainsi, des choanocytes qui se sont trouvés sur la surface du conglomérat, gardent longtemps les caractères morphologiques de l'organisation qui leur est propre dans une Eponge normale. Un peu plus tard, au 5<sup>e</sup> ou 6<sup>e</sup> jour de développement, les choanocytes superficiels perdent leur collerette. Quelques jours après, ils prennent une forme allongée, puis se raccourcissent. Une partie d'entre eux, après 7 à 10 jours, se transforment en cellules aplaties de type pinacocytaire. Une autre partie dégénère, tandis que certains, se déplaçant sous l'épithélium, se confondent avec des amœbocytes.

Tout différents sont le sort et le comportement des choanocytes à l'intérieur des conglomérats, pendant leur formation ou leur réunion. Pendant deux ou trois jours, ils gardent leurs caractères propres oïgïnels, puis ils se confondent avec d'autres amœbocytes : leur corps s'arrondit, le flagelle et la collerette disparaissent et le noyau se déplace graduellement vers le centre cellulaire.

Les premiers jours, tandis que les amœbocytes nucléolaires ne subissent que des changements négligeables, les amœbocytes anucléolaires et les pinacocytes se modifient beaucoup plus sensiblement. Quelques dizaines de minutes après la dissociation, ils s'arrondissent, puis apparaissent, à leur surface, des prolongements digitiformes qui disparaissent, semble-t-il, un ou deux jours après le début de l'expérience. Il est très difficile de suivre avec exactitude l'évolution de toutes ces cellules car, au bout d'un ou deux jours, la masse interne, tout entière, acquiert un aspect homogène où les cellules ne se distinguent plus que par leurs dimensions et par la quantité d'inclusions cytoplasmiques. La plupart d'entre elles acquièrent, apparemment, à cette époque, des propriétés phagocytaires et pinacocytaires.

2. Les cellules isolées, différemment spécialisées, sont capables de relations réciproques ; c'est pourquoi, dans des conglomérats précoces, des types variés de cellules se trouvent-ils réunis en diverses proportions. Il n'est pas raisonnable d'admettre un tri possible de cellules à l'intérieur d'un même conglomérat.

3. Les potentialités morphogénétiques des conglomérats dépendent de leurs dimensions et de la composition en cellules :

— des conglomérats ne dépassant pas 0,01 mm à 0,1 mm de diamètre se développent très lentement et, le plus souvent, dégénèrent entre le 14<sup>e</sup> et le 20<sup>e</sup> jour ;

— de gros conglomérats, atteignant 1 mm de diamètre, sans choanoderme en surface, ne sont pas viables non plus et, au bout de deux à trois semaines, ils se fragmentent et périssent ;

— ce sont les conglomérats couverts d'un choanoderme et d'au moins 0,1 mm de diamètre qui possèdent les plus grandes potentialités de développement.

Dans plusieurs conglomérats, le choanoderme forme, par endroits, des boursouflures dont les vides sont remplis de sécrétion choanocytaire.

4. Dans tous les conglomérats en développement progressif, se produit un fractionnement de toute la masse interne par le développement de cloisons intermédiaires de substance fondamentale. Dans une même chambre, le sort des cellules est, le plus souvent, identique : elles se différencient en choanoblastes ou en pinacocytes, à moins qu'elles ne dégénèrent complètement. On voit apparaître respectivement, des chambres choanocytaires, des cavités pinacocytaires ou des lacunes qui ne sont pas tapissées de leur propre assise de cellules. Par la confluence des petites cavités, il s'en forme d'abord de plus grandes puis, enfin, une cavité centrale commune, tapissée de choanoderme sur la plus grande partie de sa surface. La naissance d'une organisation homocoele au cours de l'embryogenèse somatique de *Sycon lingua* peut être considérée comme une régulation générale propre à la morphogenèse par reproduction sexuée (stade *olynthus*) et au bourgeonnement externe.

5. Le développement est accompagné de la destruction de nombreuses cellules. Les produits de désagrégation, surtout aux premiers stades de développement, sont ingérés par des cellules viables. On observe seulement des mitoses dans les conglomérats à développement progressif.

Des recherches semblables sur d'autres espèces de *Sycon* permettront seules de montrer si les particularités du développement indiquées ci-dessus, sont caractéristiques de *Sycon lingua*.

### LE DÉVELOPPEMENT D'*HALICHONDRIA PANICEA*

Pendant les premières minutes après la dissociation, la plupart des cellules isolées d'*Halichondria panicea* s'arrondissent. Les noyaux, d'abord très peu distincts dans la cellule vivante, deviennent nettement visibles après que les cellules se sont tassées sur le substrat, surtout ceux des amoebocytes nucléolaires (Fig. V, 1, ang, asg). Les choanocytes, pendant les vingt ou trente premières minutes, gardent leurs flagelles qui ne sont visibles que dans des cas rares, sur préparations fixées (Fig. V, 1, c). Des pinacocytes isolés, semblables aux choanocytes mais un peu plus grands, présentent un noyau plus clair (Fig. V, 1, p). Parmi les cellules isolées, comme chez les autres Éponges, se trouve une grande quantité de fragments cytoplasmiques et des noyaux (Fig. V, 1, fc). Nous n'avons pas élucidé l'origine de certaines cellules nucléolaires à grosse « sphérule » transparente cytoplasmique (Fig. V, 1, cs). Ce sont vraisemblablement des porocytes.

L'agrégation des cellules d'*Halichondria panicea* se produit assez vite et, à la fin des premières trente à quarante minutes après dissociation, apparaissent de petits agrégats lâches, formés de 4 à 10 cellules. Trente à quarante minutes après, les agrégats comportent 10 à 20 cellules (Planche III, 4). Sur des coupes d'agrégats de **trois heures**, on discerne nettement des amoebocytes nucléolaires et anucléolaires (Fig. V, 2, ang, asg), ainsi que de petites cellules — pinacocytes et choanocytes — si peu différentes d'aspect qu'il nous a été impossible de les distinguer. Par la suite, nous les considérons comme de petites cellules anucléolaires (pca).

Des conglomérats de **six heures**, sont des amas lâches de cellules de forme arrondie ou irrégulière. Certaines cellules superficielles présentent des pseudopodes arrondis transparents qui changent rapidement de forme et de position. Les conglomérats comportent souvent des fragments de spicules ou des spicules entiers, ainsi que des particules étrangères (squelettes de Diatomées, lambeaux d'hydrothèques de Polypes, etc). Des cellules anucléolaires et nucléolaires de diverses dimensions se disposent uniformément et sans ordre, dans les conglomérats (Fig. VI, 1) et il apparaît également des amoebocytes superficiels à prolongements gros et courts, rappelant ceux des amoebocytes de *Sycon lingua*.

Les conglomérats de **24 heures** sont le plus souvent de forme arrondie. Leurs dimensions ne dépassent pas 0,1 mm de diamètre. Une partie des cellules superficielles s'aplatissent ; elles peuvent être nucléolaires ou anucléolaires. Les cellules de la masse fondamentale du conglomérat ont arrondies, ce qui témoigne de leur disposition assez libre les unes par rapport aux autres.

A la surface des conglomérats de un ou deux jours, on peut constater la formation de gros pseudopodes transparents et l'expulsion provisoire de cellules isolées, en surface. Ces observations sont la preuve des migrations actives de cellules et, probablement, de l'échange entre cellules des régions superficielles et cellules profondes. Sur préparations fixées, on peut voir également des cellules séparées et de gros pseudopodes faisant saillie au-dessus des cellules superficielles aplaties (Planche III, 6). Le cytoplasme cellulaire, pendant cette



2

FIG. V

*Halichondria panicea*

1. Cellules immédiatement après dissociation. p : pinacocyte ; c : choanocyte ; aa : amoebocyte anucléolaire ; ang : amoebocyte nucléolaire granuleux ; cs : cellule à sphérule ; asg : amoebocyte nucléolaire sans granulation ; fc : fragments du cytoplasme ou noyaux isolés.

2. Coupe d'un conglomérat de trois heures.  
oc. 10x, obj. 90x à immersion.

période du développement, devient plus riche en inclusions qui camouflent même, en certains endroits, les limites des cellules et des noyaux. Le second jour, certains conglomérats se collent déjà faiblement au substrat, mais ce contact est encore très peu solide.

Trois jours après la dissociation, les dimensions des conglomerats varient de 0,1 à 1 mm. Ce sont, le plus souvent, des formations sphériques portant parfois des traces de fusion récente de plusieurs agrégats plus petits. Leur surface est recouverte d'un épithélium, dans la composition duquel entrent des cellules nucléolaires et anucléolaires (Fig. VI, 3 ang, aa). Les limites cellulaires, sous l'épithélium, ne sont visibles qu'en certains points de la coupe, sous l'aspect de minces cordons discontinus, camouflés le plus souvent par de nombreuses

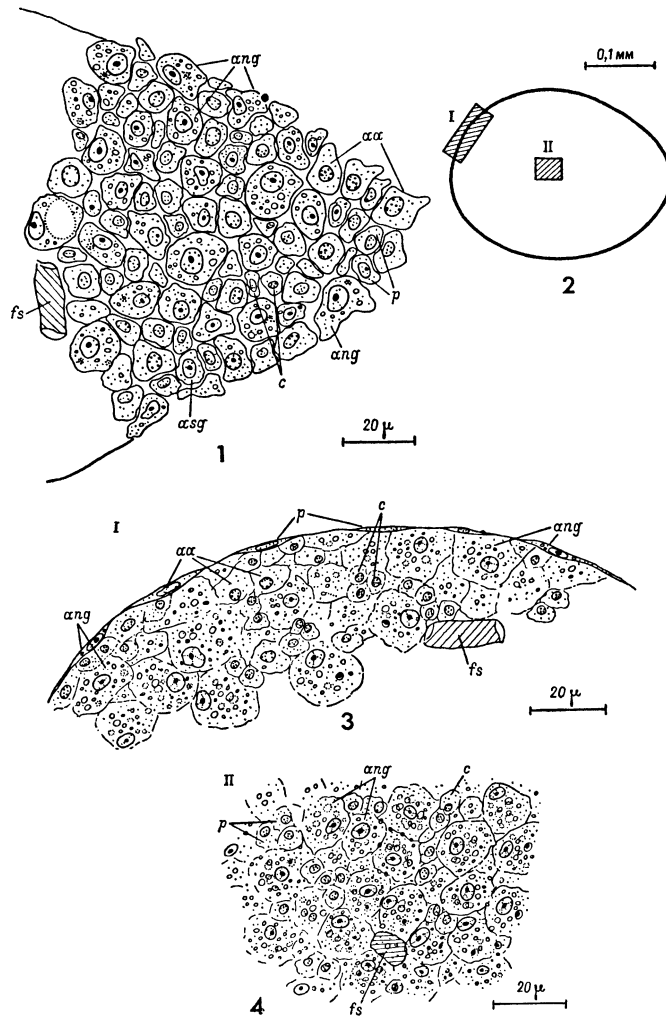


FIG. VI  
*Halichondria panicea*

1. Une partie de la coupe d'un conglomerat de six heures.  
oc. 10x, obj. 90x à immersion.

2. Contours de la coupe d'un conglomerat de trois jours, coupe entière.

3. Une partie des aires superficielles.

4. Une partie de la région médiane.

2 : dessins à la chambre claire, oc. 10x, obj. 10x ; 3 et 4 : oc. 10x, obj. 90x à immersion. p : pinacocyte ; c : choanocyte ; aa : amœbocyte anucléolaire ; ang : amœbocyte anucléolaire granuleux ; fs : fragment de spicule.

enclaves et les vacuoles des cellules voisines (Fig. VI, 3 et 4). Pendant cette période, les cellules semblent se tasser étroitement et perdent leur mobilité.

L'organisation des conglomérats de **cinq jours** est très voisine de la précédente. L'adhérence au substrat est réalisée dans 50 à 60 p. 100 des cas, entre le cinquième et le sixième jour. Elle est toujours précédée de la formation d'un épithélium superficiel stable de cellules aplaties d'origines diverses. A la base des conglomérats fixés apparaît une bordure transparente assez étroite, sous forme d'une mince couche de tissu de l'Eponge en développement qui s'étale sur le substrat. Cette bordure se forme, soit sur un côté, soit sur tout le pourtour du conglomérat. A ce moment, les agrégats ont l'apparence d'un hémisphère.

**Une semaine après la fixation**, les Eponges continuent à s'étaler sur le substrat. Du 15<sup>e</sup> au 17<sup>e</sup> jour, elles prennent l'apparence de minces galettes aux bords irréguliers. On peut toujours y discerner un à trois amas de cellules sur un fond de couches intermédiaires transparentes, situées au bord ou au milieu. Au microscope et sur films on voit, dans ces régions transparentes, le mouvement actif des cellules nucléolaires et anucléolaires, sous l'épithélium superficiel. L'activité des amoebocytes produit en quelques heures la densité et la configuration des amas cellulaires. Certaines Eponges voisines s'unissent en un seul ensemble. Ainsi, la confluence des conglomérats a lieu, non seulement pendant qu'ils se développent librement en suspension, mais aussi après fixation au substrat.

L'organisation des conglomérats de **6 à 8 jours** montre l'indice d'un groupement de petites cellules anucléolaires, sous forme de cordons ou d'amas plus compacts (Fig. VII, 4, pca). Il apparaît aussi des foyers de désintégration cellulaire se concentrant surtout aux endroits où sont accumulés des fragments de spicules ou d'autres particules étrangères. Tout à côté, se trouvent de petites lacunes en forme de fentes, qui sont les ébauches de canaux (Fig. VII, 3). Une partie des lacunes, surtout le 8<sup>e</sup> jour, sont tapissées de leur propre assise de cellules anucléolaires plates (Fig. VII, 3, p.) A l'intérieur des conglomérats, se trouvent des amoebocytes géants, au cytoplasme homogène à grains fins et à gros noyau vésiculeux contenant plusieurs nucléoles (Fig. VII, 4). Ces cellules ne seront plus visibles aux stades ultérieurs ; elles dégénèrent évidemment et, à leur place, apparaît aussi une lacune. Les cellules de l'épithélium superficiel sont de nature variée, comme aux stades antérieurs : on peut y discerner des cellules nucléolaires et anucléolaires (Fig. VII, 2).

Dans les conglomérats de **10 à 12 jours**, se produit une régulation manifeste de la distribution et de l'orientation des différents types cellulaires. Il en résulte l'apparition des caractères propres à l'organisation des Eponges normales, notamment l'indice d'une régulation apico-basale tissulaire, typique des colonies adultes.

Nous avons déjà parlé des traits caractéristiques des couches superficielles, du choanosome et de la couche basale (Korotkova et Nikitine, 1969 a, b) ; c'est pourquoi nous n'y reviendrons pas.

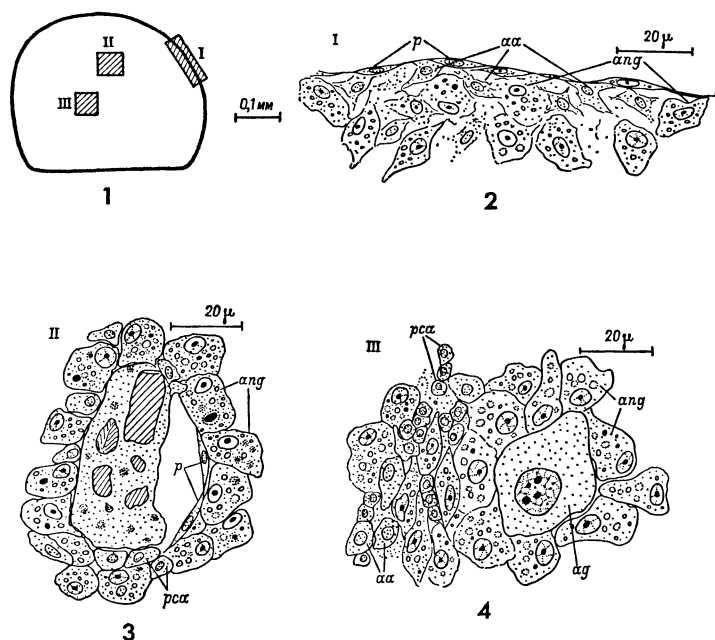


FIG. VII

*Halichondria panicea*

Coupe d'un conglomérat de six jours

1. Vue générale.
- 2, 3, 4, différents endroits de la même coupe à fort grossissement (voir Fig. VI, 2, 3, 4). pca : petites cellules anucléolaires ; ag : amœbocyte géant.

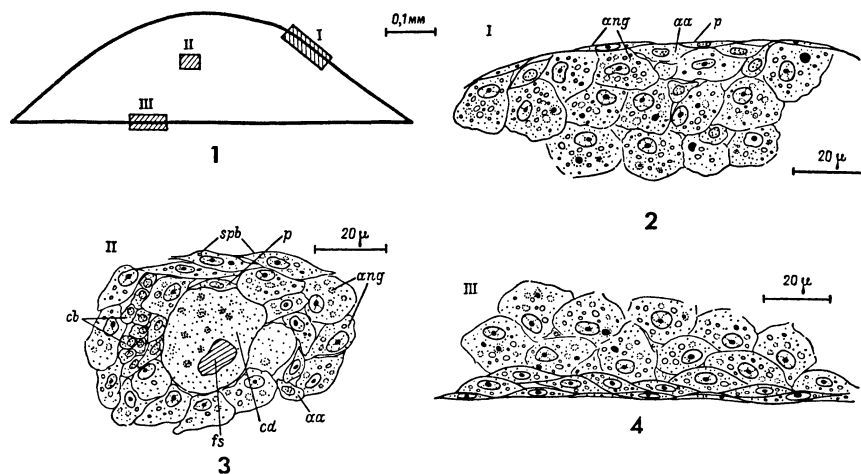


FIG. VIII

*Halichondria panicea*

Coupe d'un conglomérat de 10 jours.

1. Vue générale.
- 2, 3 et 4, différents endroits de la même coupe à fort grossissement (voir Fig. VI, 2, 3, 4). spb : spiculoblaste ; cd : cellules en dégénérescence ; cb : choanoblaste.



Dans la partie basale des Eponges de 10 à 12 jours, s'accumulent des amœbocytes nucléolaires granuleux (Fig. VIII, 4) qui se distinguent des amœbocytes internes par la forme légèrement aplatie de leur corps. Dans certaines régions du conglomerat, on trouve une ou deux lacunes avec des débris de cellules en dégénérescence (Fig. VIII, 3, cd). Des cellules anucléolaires, des choanoblastes et des amœbocytes nucléolaires granuleux se concentrent autour de ces lacunes. Dans les couches superficielles, on rencontre des amœbocytes nucléolaires et anucléolaires (Fig. VIII, 1). Il est évident qu'une pareille diversité de cellules est liée à leur déplacement rapide. Ce processus ne nous semble pas accompagné de changement dans la différenciation cellulaire qui paraît, le plus souvent, corrélative de la division mitotique intense. Contrairement à ce qui se passe chez les Eponges calcaires, nous n'avons vu aucune mitose aux différents stades de développement des conglomerats d'*Halichondria panicea*.

Ainsi, après 10 jours, s'ébauche l'organisation caractéristique de l'Eponge adulte. Par la suite, le phénomène s'accroît ; par exemple, chez des Eponges de 17 jours, le volume des cavités augmente, des lacunes superficielles, apparaissent et, sous l'épithélium de revêtement, la couche des cellules anucléolaires s'accroît davantage. A la différence des lacunes internes, la formation des cavités superficielles n'est pas due à la destruction cellulaire, mais à leur dispersion.

Chez les Eponges de 25 jours, on distingue bien les canaux superficiels et plus profonds. Ces derniers sont tapissés, sur une large surface, de leur propre assise cellulaire. Leurs cavités, situées plus profondément, gardent encore des débris de cellules dégénérées (Fig. IX, dcd). Les parois des canaux sont, soit choanoblastiques, soit pinacocytaires (Fig. IX, c. p). On trouve des chambres choanocytaires complètement développées (chf) dans lesquelles les choanocytes ont une organisation normale. Entre les ébauches de canaux, les tissus renferment des spiculoblastes et des spicules aux différents stades de formation, ainsi que des amœbocytes granuleux et des cellules anucléolaires (Fig. IX, sp, ang, aa).

L'organisation des Eponges de 30 jours se rapproche encore davantage de celle des Eponges normales. Le nombre de chambres choanocytaires et d'éléments squelettiques entre les canaux, augmente. Mais le système de canaux ne communique pas encore avec l'extérieur et le canal osculaire, avec son élévation, n'existe pas encore (Planche III, 6). Nous n'avons pas suivi le développement de ces structures.

Des conglomerats à développement tardif se rencontrent aux divers stades de la différenciation. On les discerne surtout bien quand les Eponges commencent à se fixer au substrat. Celles qui ne sont pas encore fixées gardent toujours leur forme arrondie. Leur organisation interne ne présente aucun tri de cellules amenant une régulation apico-basale du tissu. Cependant, ce ne sont pas des agrégats en dégénérescence mais tout à fait viables qui, après fixation, subissent tous les changements typiques pour les Eponges normales que nous avons décrits. En outre, si on détache une Eponge déjà fixée et étalée sur le substrat et si on la laisse se développer un certain temps en

suspension, elle perdra provisoirement ses caractères d'organisation plus avancée, s'arrondira et de nouveaux changements n'apparaîtront qu'après une seconde fixation. Ces faits montrent que le début des derniers processus de formation dépendent étroitement du contact intime de l'Eponge et du substrat. Nous avons fait des observations analogues sur un autre type d'embryogenèse somatique d'*Halichondria panicea*, à partir de petits fragments du corps (Korotkova et Nikitine, 1969 b).

Bien que certains détails du comportement des cellules de différents types d'*Halichondria panicea* après dissociation ne soient pas encore clairs et que de nouvelles recherches morphologiques et cytologiques nous soient encore nécessaires, les faits dont nous disposons

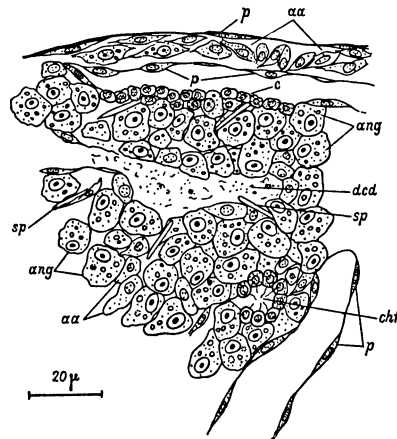


FIG. IX  
*Halichondria panicea*

Portion de la coupe d'une Eponge en développement le 25<sup>e</sup> jour après le début de l'expérience. dcd : débris des cellules dégénérées ; sp : spicule ; chf : chambre flagellée.  
oc. 10x, obj. 90x à immersion.

nous permettent de noter les particularités suivantes de ce type d'embryogenèse.

1. Des cellules dissociées, malgré le changement de leur forme et de leur comportement aux différentes étapes — ce qui les distingue des cellules d'Éponges normales non endommagées — gardent certainement, au cours du développement, leurs potentialités histotypiques originelles. Nous avons pu suivre le développement de presque tous les types cellulaires, à toutes les étapes, depuis le moment de la dissociation jusqu'à la formation des ébauches de nouvelles structures. La conservation, par les cellules, de leurs potentialités histotypiques, se manifeste aussi dans leur comportement après la fixation. Elles sont capables d'entrer en contact avec des cellules semblables et de former des agglomérats.

2. Les cellules d'*Halichondria panicea* sont capables de se déplacer très vite après la dissociation, mais aussi dans les conglomérats à tous les stades de leur développement. On observe une variabilité régulière du caractère et de l'intensité des mouvements des cellules, depuis le moment de leur séparation jusqu'à la formation des tissus de la nouvelle Eponge. La période de migration cellulaire intense (un à deux jours du développement) est suivie d'une période de « repos » pendant laquelle les cellules se tassent étroitement à l'intérieur des conglomérats, on peut à peine dis-

tinguer leurs limites (trois à six jours de développement). Après la fixation, la mobilité des cellules s'intensifie de nouveau, un tri se fait et on voit apparaître des agglomérats de cellules homogènes (8 à 17 jours de développement). Aux derniers stades de la morphogenèse, les amœbocytes, surtout les amœbocytes nucléolaires, gardent leur mobilité, alors que les pinacocytes, les choanocytes, les amœbocytes anucléolaires et les spiculoblastes deviennent, semble-t-il, plus « sédentaires ».

3. Les amœbocytes nucléolaires, aussi bien qu'anucloolaires, participent à la formation de l'épithélium de revêtement. Les canaux internes sont tapissés de petites cellules anucléolaires ; les choanoblastes forment de nouvelles chambres choanocytaires et les amœbocytes nucléolaires donnent naissance aux spiculoblastes. Les modifications dans la différenciation, comme nous l'avons déjà dit, se bornent, évidemment, au développement de certains pinacocytes, à partir des amœbocytes nucléolaires et anucléolaires.

4. La plupart des canaux, sauf les plus superficiels, se développent au lieu de dégénérescence des cellules, en particulier des amœbocytes granuleux dont les différents stades de destruction sont visibles sur les préparations. Le processus commence peu de temps après la fixation et on ne l'observe pas dans les agrégats sphériques libres. Au moment de la fixation et de la stabilisation de position des Eponges dans l'espace est lié le processus de tri de tous les types cellulaires, amenant la formation de la couche superficielle, du choanosome et de la couche basale de la nouvelle Eponge.

## DISCUSSION DES RÉSULTATS

L'étude comparée, chez les Eponges, de l'embryogenèse somatique (développement à partir de congglomérats de cellules somatiques, après dissociation) qui diffère avec l'organisation des tissus et la structure du système de canaux, a permis de mettre en évidence des caractéristiques générales du processus, les particularités spécifiques dépendant de l'organisation des différents types d'Eponges. Chez les espèces étudiées, des particularités morphogénétiques, telles que la stabilité de la différenciation des cellules de divers types, la nature des relations réciproques des cellules dissociées, le mode de formation de l'épithélium des congglomérats, la naissance du système de canaux et d'autres encore, ne se présentent pas sous le même aspect. L'étude des choanocytes, par exemple, peut montrer d'une façon frappante, la différence de comportement et de potentialités morphogénétiques de cellules homologues chez différentes espèces d'Eponges. Chez les Calcaires *Leucosolenia complicata* et *Sycon lingua*, ces cellules, après dissociation, gardent longtemps leurs caractères spéciaux originels, elles sont peu mobiles mais peuvent, plus tard, se différencier en pinacocytes de revêtement et en amœbocytes. Pendant le développement d'*Hali-chondria panicea*, les mêmes cellules perdent rapidement leurs caractères spécifiques, elles deviennent capables de migrations à l'intérieur du congglomérat mais redeviennent, plus tard, aptes à former de nouvelles chambres choanocytaires, c'est-à-dire que, perdant provisoirement leurs particularités spécifiques, elles conservent pourtant leurs potentialités de développement.

Ces faits s'accordent avec les résultats de nos études comparatives d'autres types de morphogenèse de régulation. Ainsi, par exemple, la cicatrisation de petites plaies chez *Leucosolenia complicata*, chez

laquelle prédominent les tissus de type épithélial, se fait par l'accroissement des pinacodermes et des choanodermes, suivi de la prolifération des cellules de ces épithéliums (Korotkova, 1962). Chez les Syconoïdes, l'épithélium de la plaie se forme, non seulement aux dépens des pinacodermes, mais aussi aux dépens des choanodermes capables de se réorganiser graduellement en cellules aplaties (Korotkova, 1969). En outre, à l'endroit de la plaie, chez *Sycon lingua*, peuvent s'accumuler des choanocytes différenciés qui donneront naissance aux nouvelles chambres choanocytaires.

Chez l'Eponge leuconoïde, *Halichondria panicea*, dans laquelle prédominent les tissus de type parenchymateux, le processus de régénération s'accompagne de migrations actives des amœbocytes nucléolaires granuleux dont une partie participe à la formation de l'épithélium de la plaie. Les systèmes de canaux se réorganisent dans la région de la plaie (Korotkova et Nikitine, 1969 a).

La morphogenèse présente des caractères particuliers aux différentes espèces, entre autres, des différences de durée des phases du processus. On sait que la vitesse du développement après dissociation est variable suivant l'espèce. C'est ainsi que, chez les Eponges d'eau douce, par exemple (*Spongilla lacustris* et *Ephydatia mülleri*), le processus dure une semaine (Müller, 1911 ; Brien, 1938), chez *Callispongia diffusa* (Tetraxonidae), près d'un mois (Sivaramkrishnan, 1951). Les vitesses d'agrégation des cellules dissociées sont également variables (Curtis, 1962).

Tous ces faits mettent en évidence la grande diversité des processus morphogénétiques homologues chez des Eponges différant par leur organisation et, naturellement, leur écologie. On est amené à penser que, pour établir les lois générales de la morphogenèse à partir de cellules somatiques isolées, on doit faire abstraction de plusieurs phénomènes concrets : comportement des cellules isolées, importance de la différenciation, degré de participation aux différentes phases de la morphogenèse, etc. L'embryogenèse somatique passe successivement par des stades ou des étapes homologues de ceux de l'embryogenèse sexuelle : transition de la segmentation à la gastrulation, organogenèse, par exemple. Mais les voies concrètes de réalisation des étapes de l'embryogenèse somatique doivent être différentes car l'organisation tissulaire originelle des animaux n'est pas la même et, par conséquent, la stabilité de différenciation de divers groupes de cellules varie aussi, ainsi que le comportement et la viabilité des cellules après leur séparation.

Nos connaissances des lois de la morphogenèse pour divers types d'embryogenèse somatique, sont loin d'être complètes. Nous ne sommes qu'au début de l'étude de la diversité de ces lois chez les Eponges et chez d'autres animaux, d'ailleurs.

On peut cependant, à l'heure actuelle, établir déjà certaines règles générales, propres aux modes les plus étudiés de développement, à partir d'ensembles de cellules somatiques. Ainsi, le développement des Eponges après dissociation (reconstitution) comprend les phases suivantes :

1. agrégation des cellules dissociées, création des conglomerats stables de cellules de dimensions déterminées ;

2. formation de l'épithélium des conglomérats et des embryons à symétrie radiaire ;

3. organogenèse et apparition, chez l'Eponge, des caractères de l'organisation définitive. Ce processus est souvent accompagné de la réorganisation de la symétrie de l'organisme en développement.

Chacune de ces étapes de la morphogenèse a ses propres particularités et leur réalisation concrète varie suivant l'organisation.

La part, dans cette morphogenèse, des processus de morphallaxis (regroupement de cellules différenciées d'une manière définie, sans profonde dédifférenciation ultérieure) dépend, à notre point de vue, d'une plus ou moins grande stabilité de la différenciation des cellules des épithéliums et de la couche mésenchymateuse du corps. Plus la place occupée dans l'organisation de l'animal par les tissus parenchymateux est grande et plus faible est la part des épithéliums de revêtement, moins les cellules des Eponges sont susceptibles de réorganisation après dissociation et mieux et plus vite elles forment des ensembles viables et y créent des systèmes cellulaires conformes à leur origine. Tel est justement le comportement cellulaire chez plusieurs Eponges leuconoïdes à mésoglée fortement développée et à détermination faible et instable des pinacodermes. Les cellules de ces épithéliums, pour une activité vitale normale et dans les conditions de régénération, révèlent une faible potentialité de croissance en couches, abandonnent facilement l'épithélium et sont facilement remplacées par des amœbocytes.

Chez les Eponges Calcaires, surtout du type asconoïde, les épithéliums sont plus intégrés et leurs cellules sont en rapports stables, elles croissent en couches et, pendant la régénération, se reconstituent aux dépens d'éléments cellulaires homologues. Après dissociation des tissus dans l'eau de mer normale, leurs cellules forment des ensembles moins viables et, dans le cas d'un développement progressif, elles sont susceptibles d'une dédifférenciation plus profonde. C'est pourquoi les caractères de morphallaxis se révèlent beaucoup moins dans le développement des Eponges Calcaires.

## CONCLUSIONS

1. Le développement des Eponges calcaires *Leucosolenia complicata* et *Sycon lingua* et de l'Eponge cornéo-siliceuse *Halichondria panicea*, à partir des conglomérats de cellules somatiques après dissociation, ne s'accomplit pas de la même manière.

2. Les choanocytes et les amœbocytes jouent un rôle important dans le développement des agrégats cellulaires de *Leucosolenia complicata*. Ils accumulent dans leur cytoplasme, aux stades précoces de leur évolution, une grande quantité d'inclusions organiques, par phagocytose des fragments cellulaires. Ces cellules, surtout les choanocytes, sont très plastiques et capables, suivant leur position dans le conglomérat, de modifier leur différenciation en amœbocytes

ou en pinacocytes, ou de se retransformer en choanoblastes. L'atrium résulte de la confluence de petites cavités apparaissant dans la région médiane du conglomerat, suivie de la destruction de masses de cellules. Au cours du processus évolutif, les cellules se divisent par mitose.

3. Les potentialités morphogénétiques des conglomerats de *Sycon lingua* dépendent de leur dimension et de leur constitution cellulaire. Ce sont les conglomerats de 0,1 mm de diamètre au moins et dont la surface est couverte de choanoderme qui possèdent les plus grandes potentialités de développement. Les pinacocytes et les choanocytes participent à la formation de l'épithélium de revêtement. Au cours du développement des conglomerats, il se fait une délimitation de la masse interne en ensembles isolés, par des cloisons intermédiaires de la substance fondamentale. Les cellules d'une même chambre ont le même sort : elles se différencient toujours en choanocytes ou en pinacocytes, ou dégèrent complètement. Aux stades tardifs, chez *Sycon lingua*, une cavité centrale unique tapissée de choanocytes, apparaît ; il naît ainsi une Eponge avec son organisation homocoèle du système de canaux. Les cellules des conglomerats en développement subissent des mitoses.

4. Chez *Halichondria panicea*, on observe une variabilité régulière de la nature et de l'intensité des mouvements cellulaires. Les migrations actives se produisent aux stades précoces (avant le troisième jour après la dissociation) et tardifs (à partir du septième jour). Dans l'intervalle, les cellules sont peu mobiles, se tassent les unes contre les autres et leurs limites propres sont peu visibles. Les cellules nucléolaires et anucléolaires de toutes tailles prennent part à la formation de l'épithélium de revêtement. Dans la partie médiane du corps, les cavités des canaux se forment par dégénérescence des cellules et près de la surface, à cause de leur dispersion. Les petites cellules anucléolaires tapissent les canaux avec les pinacocytes et participent à la formation des chambres choanocytaires. Le système de canaux se développe après la fixation des Eponges au substrat. Les cellules qui constituent les conglomerats d'*Halichondria panicea* ne se divisent que très rarement.

5. Le processus présente une série d'étapes : agrégation des cellules, formation de l'épithélium des conglomerats, développement d'un nouveau système de canaux dont la réalisation est sous la dépendance de l'organisation tissulaire de l'Eponge.

### Summary

Comparative vital observations and histological analysis has been carried out of one of the forms of somatic embryogenesis (development after dissociation of tissues) in the calcareous sponges *Leucosolenia complicata* Montagu and *Sycon lingua* Haeckel and the corneo-siliceous sponge *Halichondria panicea* Pallas. Specific features of the behaviour of isolated cells, of aggregate formation, of epithelialization of conglomerates and the development of the canal system are registered. These depend on the peculiarities of tissue organisation of the sponges under investigation. The most profound changes in organisation and behaviour were observed in calcareous sponges. The phenomena of morphallaxis were seen in the development of conglomerates of *Halichondria panicea*.

We may speak of some general regularities of morphogenesis during the development of sponges after dissociation (reconstitution). These regularities are

connected with the development at certain stages of morphogenesis, and their realisation in each separate case can be different in sponges with different organisation of the canal system, of the skeleton and with other peculiarities of the organisation.

### Р е з ю м е

Проводились прижизненные наблюдения и гистологический анализ одного из видов соматического эмбриогенеза (развитие после диссоциации тканей) у известковых *Leucosolenia complicata* (Montagu), *Sycon lingua* (Haeckel) и кремнегоровой *Halichondria panicea* (Pallas) губок.

Установлены специфические особенности поведения изолированных клеток, образования агрегатов, эпителизации конгломератов клеток и развития канальной системы, обусловленные характером тканевой организации исследованных губок. Наиболее глубокие передифференцировки клеток были обнаружены в развитии известковых губок. Явления морфаллаксии сильнее выражены у *Halichondria panicea*.

Развивается представление об общих закономерностях формообразовательного процесса при развитии губок после диссоциации тканей (реконструкции), связанных с прохождением определенных этапов, конкретная реализация которых не однотипна у губок, различающихся по строению канальной системы и другим особенностям их организации.

### INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- AGRELL, I., 1951. — Observations on cell differentiation in sponges. *Halichondria panicea* cell differentiation under normal and starvation conditions. *Ark. Zool.*, 2 (4), pp. 519-523.
- BOROJEVIC, R., 1966. — Etude expérimentale de la différenciation des cellules de l'éponge au cours de son développement. *Developm. Biol.*, 14, pp. 130-153.
- BOROJEVIC, R. et LÉVI, C., 1964. — Métamorphose artificielle de larves d'Eponges après dissociation et réaggrégation des cellules larvaires. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 259, pp. 4364-4366.
- BOROJEVIC, R. et LÉVI C., 1965. — Morphogenèse expérimentale d'une éponge à partir de cellules de la larve nageante dissociée. *Zeits. Zellforsch.*, 68, pp. 57-69.
- BRADWAY, W.E., 1936. — A comparison of the inhibitory actions of cations on the dispersion of the cell agregation of the sponge *Haliclona. Protoplasma*, 25, pp. 546-549.
- BRIEN, P., 1937. — La réorganisation d'éponges après dissociation par filtration et phénomènes d'involution chez *Ephydatia fluviatilis*. *Arch. Biol. Liège*, 48, pp. 185-268.
- BRONSTED, H.V., 1936. — Entwicklungphysiologische Studien über *Spongilla lacustris*. *Acta Zool.*, 17, pp. 75-172.
- BRONSTED, H.V., 1937. — Über zelluläre Entwicklungen in den Restitutions processen beim Süßwasserschwamm *Spongilla lacustris* (L.). *Arch. exp. Zellforsch.*, 19, pp. 281-283.
- CONNES, R., 1964. — Contribution à l'étude de la prolifération par voie asexuée chez les *Sycon*. *Bull. Soc. Zool., France*, 89, pp. 188-195.
- CONNES, R., 1968. — Etude histologique et expérimentale de la régénération et de la reproduction asexuée chez *Tethya lyncurium* Lamarck (= *T. aurantium* Pallas) (Démospouges). *Thèse Univ. Montpellier*.
- CURTIS, A.S.G., 1962. — Pattern and mechanism in the reaggregation of sponges. *Nature* (Engl.), 196, pp. 245-248.
- DENDY, A., 1891. — Studies on the comparative anatomy of sponges. III. On the anatomy of *Grantia labyrinthica* Carter, and the so-called family Teichonidae. *Quart. J. Micr. Sc.*, 32, (75 NS), pp. 1-40.
- DENDY, A., 1893. — Studies on the comparative anatomy of sponges. V. Observation on the classification of the Calcarea Heterocoela. *Quart. J. Micr. Sc.*, 35, pp. 159-257.
- DUBOSCQ, O. et TUZET, O., 1939. — Les diverses formes des choanocytes des Eponges calcaires hétérocoeles et leur signification. *Arch. Zool. exp. gén.*, 80, pp. 353-388.

- EFREMOVA, S.M., 1967. — The cell behaviour of the fresh-water sponge *Ephydatia fluviatilis* a time-lapse microcinematography study. *Acta Biol. Ac. Sc. Hung.*, 18 (1), pp. 37-46.
- EFREMOVA, S.M., 1968. — Caractères de l'activité de prolifération des cellules de type différent de l'éponge *Ephydatia fluviatilis* au cours du développement après la dissociation (en russe). *Arch. Anat., Hist. et Embryol.*, 65, 3, pp. 96-100.
- FAURÉ-FREMIET, E., 1925. — Le mécanisme de la formation des complexes à partir de cellules d'Éponges dissociées. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*, 93, pp. 618.
- FAURÉ-FREMIET, E., 1932. — Morphogenèse expérimentale (Reconstitution) chez *Ficulina ficus* L. *Arch. Anat. Micr.*, 28, pp. 1-80.
- GALANTY, N., GASIC, G., 1967. — Sobre la naturaleza del factor agregante de celulas de esponja (*Haliclona variabilis*). *Biologica (Chile)*, 40, pp. 28-38.
- GALTSOFF, P.S., 1923. — The ameboid movement of dissociated sponges cells. *Biol. Bull. Woods Hole*, 45, pp. 153-161.
- GALTSOFF, P.S., 1925 a. — Regeneration after dissociation (an experimental study on sponges). I. Behaviour of dissociated cells of *Microciona prolifera* under normal and altered conditions. *J. Exp. Zool.*, 42, pp. 183-222.
- GALTSOFF, P.S., 1925 b. — Regeneration after dissociation (an experimental study of sponges). II. Histogenesis of *Microciona prolifera* Verr. *J. Exp. Zool.*, 42, pp. 223-256.
- GANGULY, B., 1960. — The differentiating capacity of dissociated sponge cells. *Arch. Entwick.*, 152, pp. 22-34.
- GASIC, G.J. et GALANTY, N.L., 1966. — Proteins and disulfide groups in the aggregation of dissociated cells of sea sponges. *Science*, 151, pp. 203-205.
- HUMPHREYS, T., 1963. — Chemical dissolution in vitro reconstruction of sponge cells adhesions. I. Isolation and functional demonstration of the components involved. *Developm. Biol.*, 8, pp. 27-47.
- HUXLEY, J.S., 1911. — Some phenomena of regeneration in *Sycon*, with a note on the structure of its collar-cells. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, ser. B, 202, pp. 165-202.
- HUXLEY, J.S., 1921 a. — Differences in viability in different types of regenerate from dissociated sponges with a note on the entry of somatic cells by spermatozoa. *Biol. Bull.*, 40, pp. 127-129.
- HUXLEY, J.S., 1921 b. — Further studies on restitution-bodies and free tissue-culture in *Sycon*. *Quart. J. Micr. Sc.*, 45, pp. 293-322.
- JAZIKOV, A.A., 1965 a. — L'agrégation des cellules dissociées chez les Éponges *Reniera cenerea* (Grant), *Halichondria panicea* (Pallas) et *Ephydatia fluviatilis* (Lamarck) ; capacité des complexes multicellulaires formés à restituer un organisme entier. (en russe). *J. Biol. Gén.*, 26, 6, pp. 690-693.
- JAZIKOV, A.A., 1965 b. — Mécanisme de l'action cellulaire de l'éponge *Halichondria panicea* (Pallas). (en russe). *J. Biol. Gén.*, 26, 6, pp. 694-699.
- JAZIKOV, A.A., 1965 c. — Les antigènes superficiels pendant l'agrégation des cellules des Éponges *Halichondria panicea* (Pallas) et *Reniera cenerea* (Grant) (en russe). *J. Biol. Gén.*, 26, 1, pp. 96-101.
- JAZIKOV, A.A., 1966. — Substances de type précipitines normales dans les antigènes des éponges. (en russe). *Bull. Biol. exp. et Med. exp.*, 6, pp. 75-77.
- JAZIKOV, A.A., 1967. — L'influence des anticorps polyvalents et monovalents aux actions réciproques parmi des cellules pendant l'agrégation des cellules des éponges. (en russe). *J. Biol. Gén.*, 28, 2, pp. 231-236.
- KOROTKOVA, G.P., 1962. — Behaviour of the calcareous sponge *Leucosolenia complicata* Mont. during regeneration. *Acta Biol. Ac., Sc. Hung.*, 13, 1, pp. 1-30.
- KOROTKOVA, G.P., 1969. — La régénération des parties du corps chez l'Éponge calcaire *Sycon lingua*. (en russe). La reproduction asexuée, la régénération et l'embryogenèse somatique. Éd. L'Univers Leningrad (sous presse).
- KOROTKOVA, G.P., EFREMOVA, S.M., KADANCEVA, A.G., 1965. — Les particularités de la morphogenèse au cours du développement de *Sycon lingua* à partir de petits fragments du corps. (en russe). *Bull. Univ. Leningrad*, sér. Biol., 21, 4, pp. 14-30.
- KOROTKOVA, G.P., et NIKITINE, N.S., 1969 a. — Les particularités de la morphogenèse au cours du développement de l'Éponge cornéo-siliceuse *Halichondria panicea*, à partir des petits fragments du corps. (en russe). Les processus de régénération et les réactions immunologiques. *Travaux Sc. Inst. Biol. Mourmansk*, 16 (20), pp. 17-26.
- KOROTKOVA, G.P. et NIKITINE, N.S., 1969 b. — Analyse comparative morphologique de la régénération et de l'embryogenèse somatique chez l'Éponge cornéo-siliceuse *Halichondria panicea*. (en russe). Les processus de régénération et les réactions immunologiques. *Trav. Sc. Inst. Biol. Mourmansk*, 16 (20), pp. 9-16.
- LAUBENFELS, M.W. DE, 1927. — Bispecific conglomerates of sponges. *Carnegie Inst. Year Book*. Washington, 26, pp. 219-222.



- LAUBENFELS, M.W. DE, 1928. — Interspecific grafting using sponge cell. *J. Elisha Mitch. Sc.*, 44 (1), pp. 82-86.
- LAUBENFELS, M.W. DE, 1932. — Physiology of Porifera exemplified by *Iotrochota birotulata* Higgin. *Papers Tortugas Lab.*, 28, pp. 37-66.
- LAUBENFELS, M.W. DE, 1950. — An ecological discussion of the Sponges of Bermuda. *Trans. Zool. Soc. London*, 27, pp. 155-201.
- MAC LENNAN, A.P., 1963. — The sponge cell surface in relation to aggregation specificity. *Biochem. J.*, 89, p. 99.
- MAC LENNAN, A.P. et DODD, R.J., 1967. — Promoting activity of extracellular materials on sponge cell reaggregation. *J. Embryol. exp. Morph.*, 17, pp. 473-480.
- LIU, C.K., 1948. — X-radiation effects on the restitution of dissociated *Microciona* (Abstract). *Biol. Bull.*, 95, p. 259.
- LOEVENSTEIN, W.R., 1967. — On the genesis of cellular communication. *Develop. Biol.*, 15, pp. 503-520.
- MARGOLIASH, E., SCHENK, T.R., HARGIE, M.P., BOROKAS, S., RICHTER, W.R., BARLOW, G.H., et MOSCONA, A.A., 1965. — Characterization of specific cell aggregating materials from sponge cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 20, pp. 383-388.
- MOKERJEE, S., GANGULY, B. et GOURY C.V., 1965. — Action of penicillin on cell aggregation of sponges. *Ind. J. Exp. Biol.*, 3, pp. 1-4.
- MOSCONA, A.A., 1963. — Studies of cell aggregation: demonstration of materials with selective cell binding activity. *Proc. Nat. Acad. Sc., U.S.*, 49, pp. 742-747.
- MÜLLER, K., 1911. — Das regenerationsvermögen der Süßwasserschwämme. *Arch. Entwickl.*, 32, pp. 397-446.
- ROUGÉ, E.K., 1962. — Changement de la vitesse de réaggrégation des éponges macérées en rapport avec la proportion de D<sub>2</sub>O dans l'eau de mer. (en russe). *Biophys.*, 7, pp. 632-633.
- SARA, M., 1956. — Esperienze di aggregazione cellulare mista dopo dissociazione nelle calcispongie. *Boll. Zool. Ital.*, 23, pp. 113-119.
- SARA, M., 1965, a. — Mitotic activity during cell reaggregation of sponges. *Naturw.*, 52, pp. 503-504.
- SARA, M., 1965, b. — Aggregazione cellulare interspecifica fra specie diverse di Poriferi e fra Poriferi ed *Anemonia sulcata*. *Boll. Zool. Ital.*, 32, pp. 1067-1077.
- SARA, M., LIACI, L., et MELONE, N., 1966. — Bispecific cell aggregation in sponges. *Nature*, 210, pp. 1167-1168.
- SIMONS, J.K., 1963. — The adhesion and coalescence of sponge cells after dissociation. *Proc. Linn. Soc. New. South. Wales*, 88, pp. 28-32.
- SINDLER, W.F., BURNETT, A.L., 1967. — A time-lapse photographic analysis of sponge cell reaggregation. *J. gen. Physiol.*, 50, pp. 1089-1090.
- SIVARAMKRISHNAN, V.R., 1951. — Studies on early development and regeneration in some indian marine sponge. *Proc. Ind. Ac. Sc.*, 34, pp. 273-310.
- SPIEGEL, M., 1954. — The role of specific surface antigens in cell adhesion. Part, I. The reaggregation of sponge cells. *Biol. Bull.*, 107, pp. 130-148.
- SPIEGEL, M., 1955. — The reaggregation of dissociated sponge cells. *Ann. N.Y. Acad. Sc.*, 60, pp. 1056-1078.
- TUZET, O., et CONNES, R., 1962. — Recherches histologiques sur la reconstitution de *Sycon raphanus* O.S. à partir des cellules dissociées. *Vie et Milieu*, 13, pp. 703-710.
- WILSON, H.V., 1907. — On some phenomena of coalescence and regeneration in sponges. *J. exp. Zool.*, 5, pp. 245-258.
- WILSON, H.V., 1911. — Development of sponges from dissociated tissue cells. *Bull. Bureau Fish.*, 30, pp. 1-30.
- WILSON, H.V., 1925. — Studies on dissociated sponge cells. *Carnegie Inst. Washington Year Book*, 24, pp. 242-246.
- WILSON, H.V., et PENNEY, J.T., 1930. — The regeneration of sponges (*Microciona*) from dissociated cells. *P. exp. Zool. Philadelphia*, 56, pp. 73-134.