

ANNALES
DES
SCIENCES NATURELLES

ZOOLOGIE
ET BIOLOGIE ANIMALE

EXTRAIT

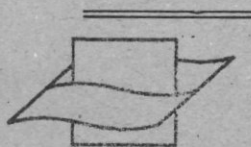
12626

Instituut voor Zeewetenschappelijk onderzoek
Institute for Marine Scientific Research
Prinses Elisabethlaan 69
8401 Bredene - Belgium - Tel. 059/80 37 15

ÉTUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE
DE L'ENDOSTYLE
D'UNE ASCIDIE STOLIDOBRANCHE
MOLGULA MANHATTENSIS KAY.

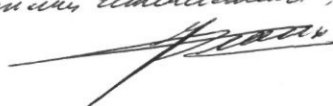
Par J. GODEAUX et H. FIRKET

12^e Série — Tome X — Fascicule 2 — 1968



Vlaams Instituut voor de Zee
Flanders Marine Institute

MASSON & C^{ie}, ÉDITEURS
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS (VI^e)

*A Monsieur le Dr. Eug. Leloup
hommage respectueux de ses collègues
avec leurs sincères remerciements.*


ÉTUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE DE L'ENDOSTYLE D'UNE ASCIDIE STOLIDOBRANCHE MOLGULA MANHATTENSIS KAY.

Par J. GODEAUX et H. FIRKET

SOMMAIRE

I. — INTRODUCTION	163
II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	164
III. — OBSERVATIONS	165
IV. — DISCUSSION	181
V. — RÉSUMÉ	184

I. — INTRODUCTION

L'endostyle est une gouttière longitudinale profonde, fermée aux deux extrémités, à parois ciliées et glandulaires, qui occupe le plancher de la cavité pharyngienne des Tuniciers et de l'Amphioxus. Chez la larve microphage des Lamproies, l'Ammocoete, se retrouve une structure homologue, secondairement transformée en un organe clos (déversant sa sécrétion dans le pharynx par un canal) et évoluant en glande thyroïde au cours de la métamorphose. L'endostyle est un organe important comme glande muqueuse complexe annexée au tube digestif (glande dont les produits de sécrétion imprègnent les particules ali-

mentaires) et comme ébauche d'une glande à sécrétion interne au rôle particulièrement important chez les Vertébrés.

L'endostyle des Tuniciers a fait l'objet de nombreuses observations et recherches histologiques (Bibliographie dans HUUS, 1937 et BRIEN, 1948), notamment de SOKÓLSKA (1931) et de RAIMBAULT (1945), études qui ont fait croire à l'uniformité de la structure de cet organe chez les Ascidies les plus diverses.

En principe, de part et d'autre d'une bande médiane de cellules flagellées occupant le fond du sillon sont disposés alternativement trois bourrelets de cellules glandulaires (inférieur, moyen et supérieur) et trois bandes de cellules « ciliées » (inférieure, moyenne et marginale). Les bandes « ciliées » marginales occupent les bords de la gouttière et sont séparées des bourrelets glandulaires supérieurs par une zone épithéliale d'apparence banale.

Cependant, on observe une grande variabilité, non seulement dans la forme de l'organe, mais aussi du nombre et de l'importance relative des différentes bandes, de leur disposition et de leur nature.

SOKÓLSKA (1931) avait souligné la complexité des sécrétions. Plus récemment, BARRINGTON sur *Ciona intestinalis* L. (1957) et *Branchiostoma lanceolatum* Pall. (1958) et OLSSON (1963) sur *Corella parallelogramma* Müller ont, par des réactions histochimiques variées, mis en évidence les affinités tinctoriales différentes des trois zones glandulaires et apporté des précisions sur la nature des produits de sécrétion.

L'endostyle des Tuniciers n'a, au point de vue ultrastructure, fait l'objet que d'une courte note de OLSSON (1962) sur *Corella parallelogramma* et d'un travail de LÉVY et PORTE (1964) sur *Microcosmus claudicans* Say. L'endostyle de cette dernière espèce apparaît différent de celui de *Molgula manhattensis*. Nos propres résultats ont fait l'objet d'une note préliminaire (GODEAUX et FIRKET, 1966).

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les spécimens de *Molgula manhattensis* Kay. ont été récoltés sur la côte belge grâce à la collaboration de M. le Docteur E. LELOUP à l'amabilité duquel nous rendons hommage. Les fixations ont suivi de peu les récoltes.

Pour les examens histologiques courants, les spécimens ont été fixés au Bouin acétique et au formol à 10 %. Les colorations utilisées sont les combinaisons hématoxyline-éosine selon Heidenhain, hématoxyline-phloxine-vert lumière, bleu alcian-phloxine-hémalum, et azan selon Heidenhain.

Pour l'étude au microscope électronique, les gouttières endostylaires ont été isolées sur plus d'un centimètre par dissection fine et fixées *in toto*. Après préfixation à la glutaraldéhyde à 6 % dans un tampon phosphate (pH 7,4), suivie d'un lavage au tampon pur, les pièces sont fixées à l'acide osmique à 1 %. L'inclusion est faite dans l'épon, les pièces étant suspendues suivant leur grand axe dans les capsules de gélatine. On obtient ainsi automatiquement, au fond de celles-ci, des coupes transversales de l'organe. Chaque fois des coupes semi-fines d'orientation ont permis de choisir de façon précise, au microscope optique, la zone de l'endostyle à examiner au microscope électronique. Coupes à l'ultratome LKB, colorations à l'uranium et au plomb selon KARNOWSKY, examen à l'Elmiskop I de Siemens.

III. — OBSERVATIONS

L'examen au microscope ordinaire des coupes d'endostyle de *Molgula manhattensis* révèle qu'il s'écarte quelque peu du schéma classiquement admis. C'est pourquoi, dans cette étude, nous adoptons un mode d'identification des bandes qui ne préjuge en rien de leurs fonctions et de leur morphologie, mais qui diffère de celui proposé par BARRINGTON (1957) et LÉVY et PORTE (1964). Depuis le fond de la gouttière médiane, nous avons identifié 9 aspects successifs de l'épithélium, aspects que nous avons désignés par les lettres A à I. Nous avons cependant cherché à établir la correspondance de ces désignations avec celles utilisées par les auteurs précédents.

Chez *Molgula manhattensis*, la zone médiane occupant le fond de la gouttière est constituée par une bandelette flagellée (bande A) très étroite et moins distincte que chez la plupart des Tuniciers. De part et d'autre de cette bande A se rencontrent successivement le bourrelet glandulaire inférieur (bande B), la bande vibratile inférieure (bande C), le bourrelet glandulaire moyen (bande D), la bande vibratile moyenne, le bourrelet glandulaire supérieur (bande G), séparé par une zone épithéliale d'apparence banale (bande H) de la bande vibratile marginale (bande I). La bande vibratile moyenne est, chez *Molgula*, scindée en deux bandes secondaires, l'une d'apparence flagellée (bande E), l'autre ciliée (bande F). L'aspect général de la coupe d'endostyle est représenté figure 1.

Les cellules endostylaires sont particulièrement volumineuses par rapport aux cellules des autres tissus des Ascidiaécés.

La *bande A*, très discrète, est constituée d'un petit nombre de cellules hautes et étroites, se chevauchant sur deux files placées symétriquement par rapport à une rainure longitudinale marquant le plan médian de l'organe. Elles sont serrées entre les cellules glandulaires des bandes B voisines. Le cytoplasme est peu chromophile, clair et relativement vide. Les noyaux, étagés, siègent dans la région apicale.

Au microscope électronique, le cytoplasme des cellules A est très peu dense. A côté de quelques mitochondries, de quelques vésicules du réticulum endoplasmique et de rares ribosomes, il contient plusieurs structures caractéristiques (fig. 2). On y observe de gros grains, très denses et à contours irréguliers, d'environ 700 à 800 Å de diamètre, souvent rassemblés en amas et qui présentent l'aspect morphologique du glycogène α ; d'autres grains, plus petits, pourraient être du glycogène β . Des microtubules, longs et nombreux, de 250 à 300 Å de diamètre, parcourent les cellules sur toute leur hauteur; ils sont à peu près parallèles les uns aux autres, mais leur parcours est légèrement sinueux. Ils renferment un matériau homogène de densité supérieure à celle du cytoplasme voisin. Presque partout, ces tubules semblent

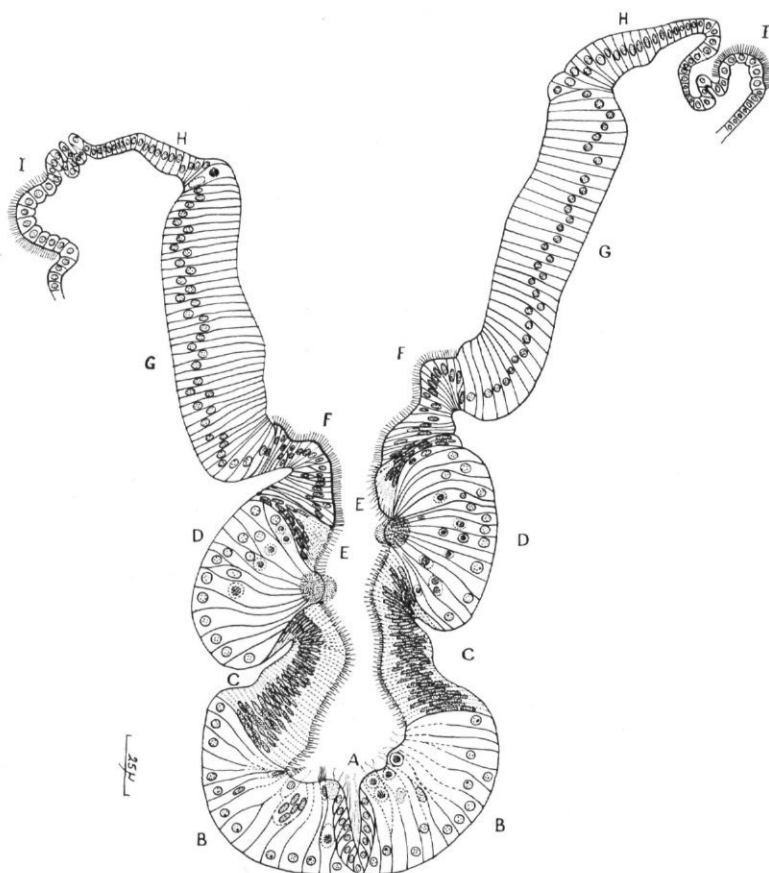


FIG. 1. — Schéma montrant la distribution des 9 types différents d'épithéliums (A à I) constituant l'endostyle de la Molgule.

entourés d'un précipité fin en nuages irréguliers. La partie basale des cellules est occupée par un feutrage serré de filaments minces à l'aspect de tonofibrilles; leur direction et leur diamètre (inférieur à 100 Å) sont plus réguliers que ceux des microtubules.

Au-dessus du noyau, dans une région où se trouvent deux ou trois mitochondries, se voit un kinétosome avec la racine ciliaire typique d'un flagelle. Celui-ci remonte dans la rainure médiane, entouré de microvillosités allongées, et ne dépasse pas la surface de l'épithélium. Il est possible, mais nos clichés n'en apportent pas la preuve décisive, que chaque cellule porte en réalité trois éléments vibratiles placés côte à côte (fig. 3). Dans la rainure médiane, ces flagelles, serrés les uns contre les autres par les microvillosités digitiformes, ne paraissent disposer que d'un espace fort restreint pour se mouvoir.

Ces cellules ne renferment aucun produit de sécrétion.

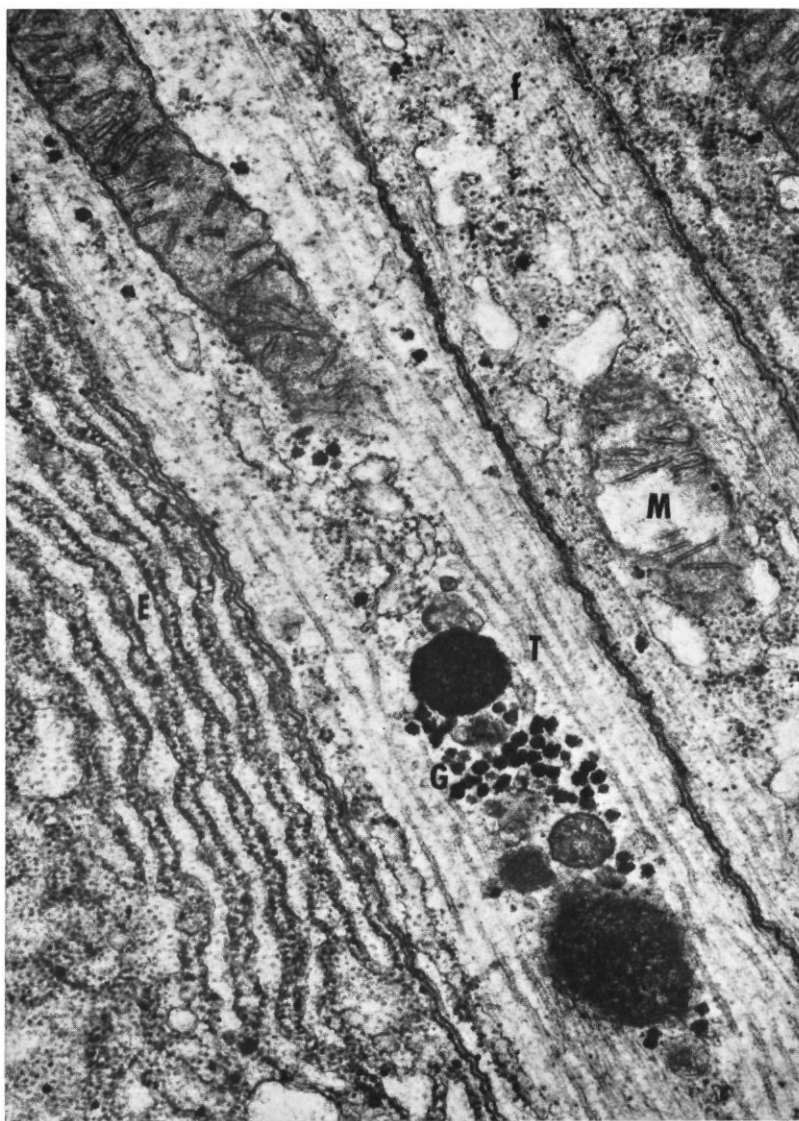


FIG. 2. — Coupe longitudinale dans deux cellules de la bande A montrant des mitochondries (*M*), des microfilaments (*f*), des microtubules (*T*), des ribosomes (*r*) et des grains de glycogène α (*G*). A gauche, apparaît l'ergastoplasme (*E*) très régulièrement disposé d'une cellule de la bande B. (Gr. $\times 30\,000$.)

La *bande B* (glandulaire inférieure) apparaît constituée au microscope optique d'un petit nombre (au maximum 20 cellules sur une coupe transversale) d'énormes cellules en tronc de cône, disposées en éventail et à limites souvent peu distinctes. Cette zone est ciliée. Elle est largement ouverte sur la cavité endostylaire.

Le protoplasme, nettement basophile, apparaît plus dense dans sa partie profonde. Le noyau, arrondi, est toujours rejeté vers la base de la cellule. Des inclusions volumineuses, plus ou moins denses, à contenu d'apparence homogène ou granulaire selon la technique de coloration, logées dans des vacuoles claires à limite nette, s'observent dans la partie supérieure des cellules.



FIG. 3. — Vue de la rainure médiane de la zone A avec les groupes de 3 flagelles entourés de microvillosités digitiformes (V). De chaque côté de la rainure se trouve une rangée de cellules A à cytoplasme chargé de glycogène (G). (Gr. $\times 29\ 000$.)

Le microscope électronique met en évidence dans les cellules un ergastoplasme très étendu, à disposition particulièrement régulière rappelant celle du pancréas exocrine des Mammifères. Les membranes sont parallèles aux parois cellulaires (fig. 2). Les citernes renferment un précipité floconneux. Vers le sommet des cellules, l'ergastoplasme se transforme en réticulum endoplasmique à parois lisses, à contours

complicqués, s'ouvrant parfois à l'extérieur entre les microvillosités de la surface cellulaire (fig. 4). Ces vésicules sont optiquement vides ou remplies d'un précipité analogue à celui des citernes ergastoplasmiques. Dans la même zone, siègent de nombreuses microvésicules arrondies. Le cytoplasme contient quelques mitochondries allongées,



FIG. 4. — Vue de la zone subapicale d'une cellule du bourrelet glandulaire B, avec l'ergastoplasme (E) très régulier faisant place à de nombreuses vésicules (ves) à parois lisses. L'appareil de Golgi (AG) est visible. (Gr. $\times 36\ 000$.)

éparpillées sur toute la hauteur de la cellule. Les volumineuses inclusions chromophiles intravacuolaires, observées au microscope optique dans la moitié supérieure de la cellule, sont en fait des cytolysomes, à membrane double, contenant des structures en lyse plus ou moins avancée. Certaines cellules de cette zone sont ciliées. La base des cellules montre des replis internes sinueux et profonds de la membrane cellulaire (fig. 5); dans ces parties du cytoplasme délimitées par les

replis, l'ergastoplasme est présent. La membrane cellulaire basale ne porte ni villosité, ni évagination.

La région apicale de la bande B porte une série de petits noyaux disposés assez régulièrement et répondant à un second type de cellules (B'), extrêmement étroites, insérées entre les cellules du type B. Ces



FIG. 5. — Vue de la base d'une cellule du bourrelet glandulaire B montrant les profonds replis de la membrane cellulaire. En dessous de celle-ci se voient la membrane basale (*mb*) et le tissu conjonctif (*TC*). (Gr. $\times 36\ 000$.)

cellules, outre la taille, se distinguent des autres par la rareté de l'ergastoplasme et l'accumulation de produits de sécrétion granuleux, relativement peu denses, disposés en file dans la région supérieure, qui repoussent et déforment la paroi cellulaire au moment de leur expulsion (fig. 6). Ces cellules sont fortement liées les unes aux autres par des épaisissements subapicaux apparemment rigides de la mem-

brane plasmatique et portent une collerette irrégulière de microvillosités.

Au bord externe de la zone glandulaire inférieure, ces cellules B' sont en contact avec les cellules de la bande C.

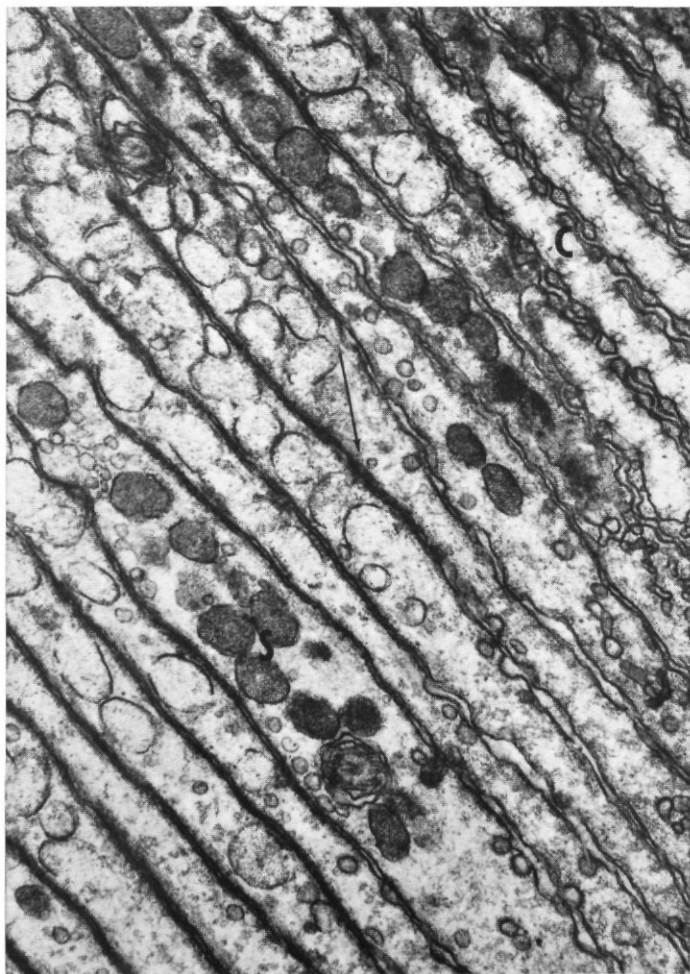


FIG. 6. — Coupe longitudinale de la partie apicale d'un groupe de cellules B'. Ces cellules, très étroites, renferment de nombreux grains de sécrétion (S) et portent des collerettes en dentelle (C) sous lesquelles s'observent les renforcements des membranes (→). (Gr. $\times 27\,000$.)

La *bande C*, relativement très large, est, comme le montre le microscope électronique, improprement appelée zone ciliée inférieure : elle est, chez la *Molgule*, constituée d'un nombre élevé de cellules *flagellées* très hautes et très étroites, pressées les unes contre les autres; les limites cellulaires sont peu ou pas visibles en microscopie optique.

Les noyaux, petits, allongés, denses, fortement colorés par l'azocarmin, sont disposés sur plusieurs rangées, ce qui confère un aspect pseudostratifié à l'épithélium (fig. 7). Le cytoplasme est clair et peu chromophile. Le sommet de la cellule, souligné par le bleu alcian ou le vert lumière, porte une collerette au centre de laquelle est planté un flagelle.

Au microscope électronique, le cytoplasme se montre dépourvu de grains d'excrétion; il renferme un appareil de Golgi logé près du noyau, quelques vésicules à paroi lisse et quelques grains de pigment ou de

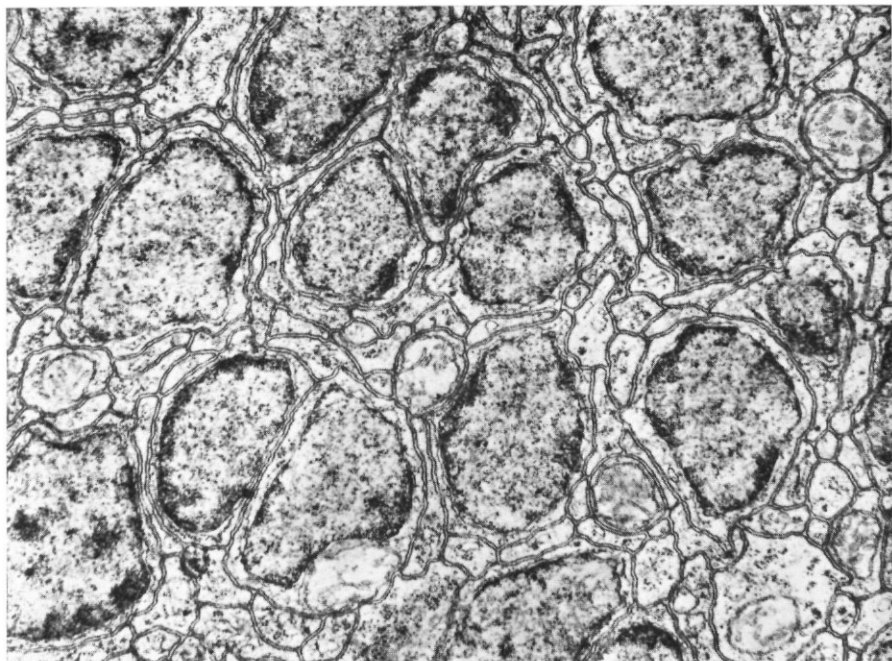


FIG. 7. — Coupe transversale de la zone C pratiquée à hauteur des noyaux et montrant l'étroitesse de ces cellules, dilatées localement par leur noyau. (Gr. $\times 12\,500$.)

glycogène; l'ergastoplasme est très peu développé. Les mitochondries, quoique présentes à tous les niveaux, se rencontrent surtout dans la région apicale; en raison de l'étroitesse des cellules, chaque mitochondrie, de taille normale, occupe presque toute la largeur du cytoplasme. Les cellules sont fortement liées les unes aux autres près du sommet par des épaissements de la membrane plasmatique formant cadres unissants et des tonofibrilles très développées (fig. 8). A ce niveau, le cytoplasme ne renferme que quelques petites vésicules à contenu de faible densité; s'y observent aussi le corpuscule basal et la racine du flagelle, légèrement oblique. A la surface, la paroi cellulaire se continue dans la collerette de microvillosités, rappelant celle des choanocytes de Spongiaires (RASMONT, 1959).

La *bande D* ou glandulaire moyenne est composée d'un petit nombre de grosses cellules (15 environ sur coupe transversale) disposées en éventail. La base de la cellule est élargie, alors que le sommet est fort rétréci et coincé entre les zones C et E. Les cellules sont coniques, portent à leur extrémité apicale un nuage de produit de sécrétion qui

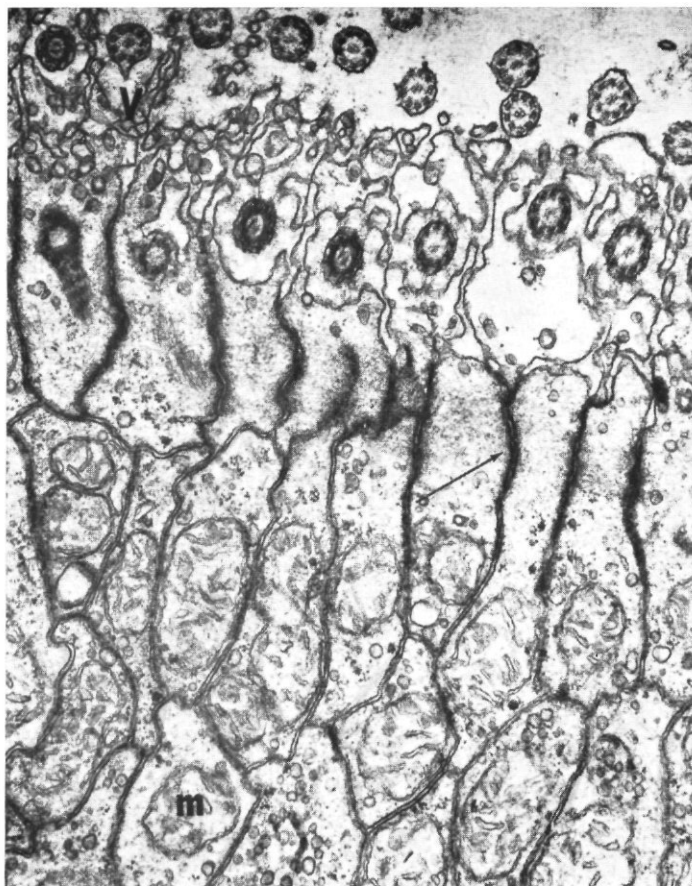


FIG. 8. — Coupe oblique dans la zone C près de la surface, montrant, de bas en haut, le cytoplasme chargé de mitochondries (*m*), la zone des cadres unissants (\rightarrow), bien marquée dans cet épithélium, et deux rangées de flagelles, dont l'inférieure est coupée au niveau des microvillosités (*V*). (Gr. $\times 18\,000$.)

déborde dans la cavité de l'organe. Ce produit se colore par le vert lumière et le bleu alcian, ce qui traduit sa nature muqueuse. Le cytoplasme renferme des concrétions, colorées par le vert lumière et l'hématoxyline ferrique, arrondies et incluses dans des vacuoles à limites nettes : leur aspect rappelle celui des cytolysomes de la bande B. Le cytoplasme est plus dense dans la moitié profonde des cellules. Les noyaux arrondis sont basiliaires; ils se colorent, comme ceux des cel-

lules B, nettement moins fort par l'azocarmin que les noyaux de la bande C.

Le microscope électronique révèle la présence d'un ergastoplasme très abondant dans toute la hauteur de la cellule, mais moins régulièrement disposé que dans les cellules B, sauf le long des parois cellulaires. Les citernes ergastoplasmiques renferment un précipité, parfois très dense (fig. 9). Dans la région apicale à protoplasme plus clair, se concentrent de grosses granulations de sécrétion opaques aux électrons et enfermées dans des vacuoles à parois lisses ou granulaires (fig. 10); elles se déversent en surface entre les microvilli peu élevés

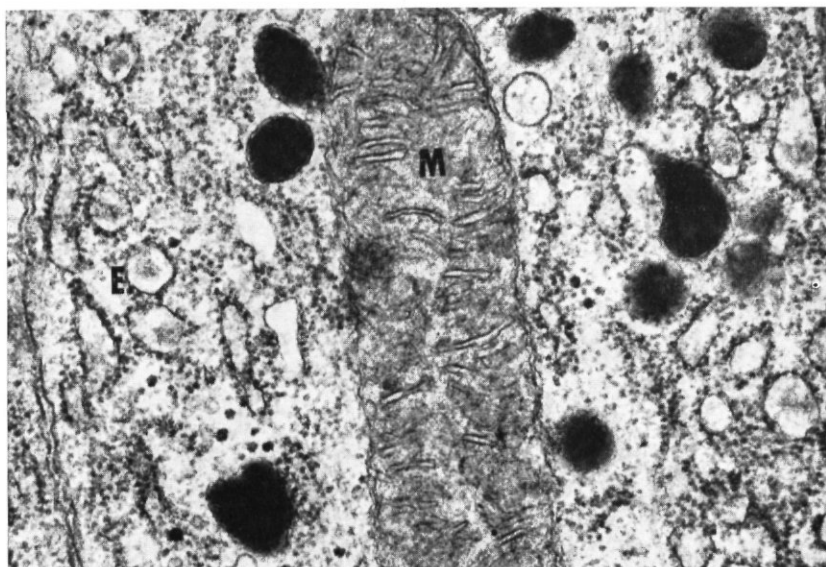


FIG. 9. — Coupe dans la partie subapicale d'une cellule du bourrelet glandulaire D montrant l'ergastoplasme (E), les grains de sécrétion, très denses et entourés d'une membrane, et une mitochondrie (M) dont l'axe n'a pas de crêtes. (Gr. $\times 40\,000$.)

parsemant le sommet des cellules, dont certaines apparaissent dans les coupes pourvues d'un flagelle. Il est probable que toutes en possèdent. Les épaissements latéraux des membranes plasmiques sont bien développés (fig. 10). Les mitochondries sont parfois très longues et sont remarquables par l'existence d'une zone axiale claire, dépourvue de crêtes (fig. 11). Entre les vésicules ergastoplasmiques, on décèle parfois des microtubules remontant jusqu'au sommet de la cellule. Le cytoplasme renferme d'énormes cytolysomes intravacuolaires à structure complexe ou des vacuoles vides. Le noyau est logé dans le fond de la cellule et porte un énorme nucléole. A la base, la membrane cellulaire s'applique contre le mésenchyme hémocoelien et ne montre qu'un petit nombre de replis internes d'ailleurs peu accusés.

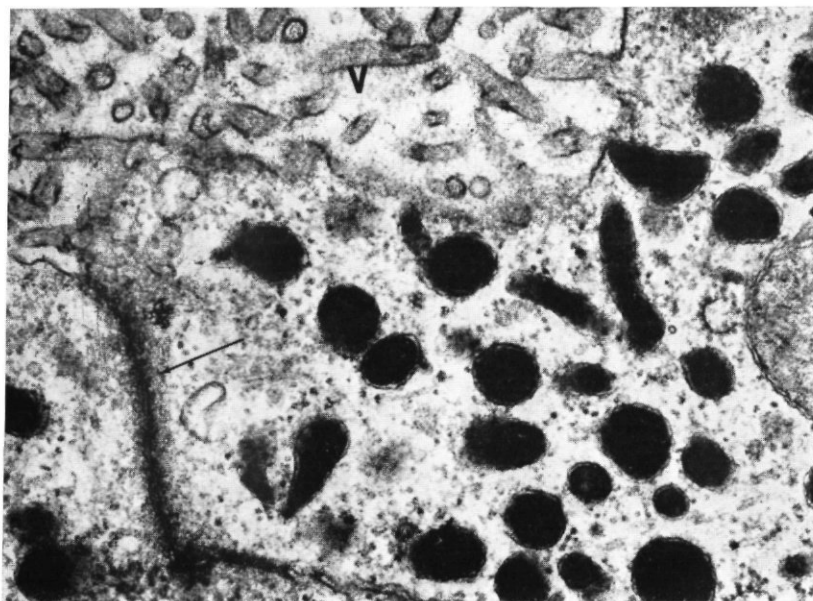


FIG. 10. — Coupe dans la partie apicale d'une cellule du bourrelet glandulaire D montrant de nombreux grains de sécrétion entourés d'une membrane, les cadres unissants (→) et les microvillosités superficielles (V). (Gr. $\times 40\ 000$.)

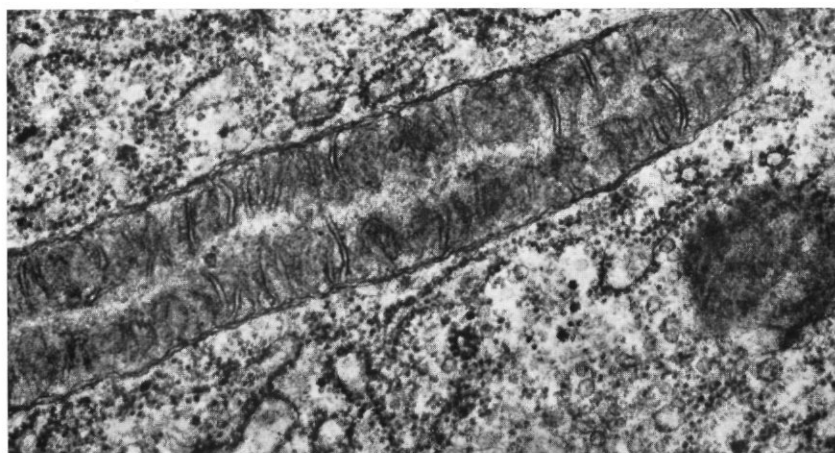


FIG. 11. — Longue mitochondrie, à axe dépourvu de crêtes, d'une cellule de la zone D. (Gr. $\times 36\ 000$.)

La **bande E** est une zone triangulaire étroite, coincée entre le massif glandulaire moyen D et la bande ciliée F, de loin plus étendue. Cette bande E est constituée de cellules prismatiques à cytoplasme relativement pauvre en microstructures caractéristiques. Le sommet de chaque cellule fait saillie dans la cavité de l'endostyle en un petit

massif séparé par une fente relativement étroite et profonde de la partie correspondante des cellules voisines; dans le fond du sillon, l'épaississement des membranes plasmatiques joignantes est bien marqué. D'autre part, la base des cellules s'ancre dans la membrane basale par des sortes d'évaginations cytoplasmiques renflées à leur extrémité; en outre, dans la région située sous les noyaux, les cellules s'engrènent latéralement les unes dans les autres par des replis parallèles de leurs membranes (fig. 12). Le cytoplasme est pauvre en ergastoplasme, mais porte un certain nombre de mitochondries et de grandes

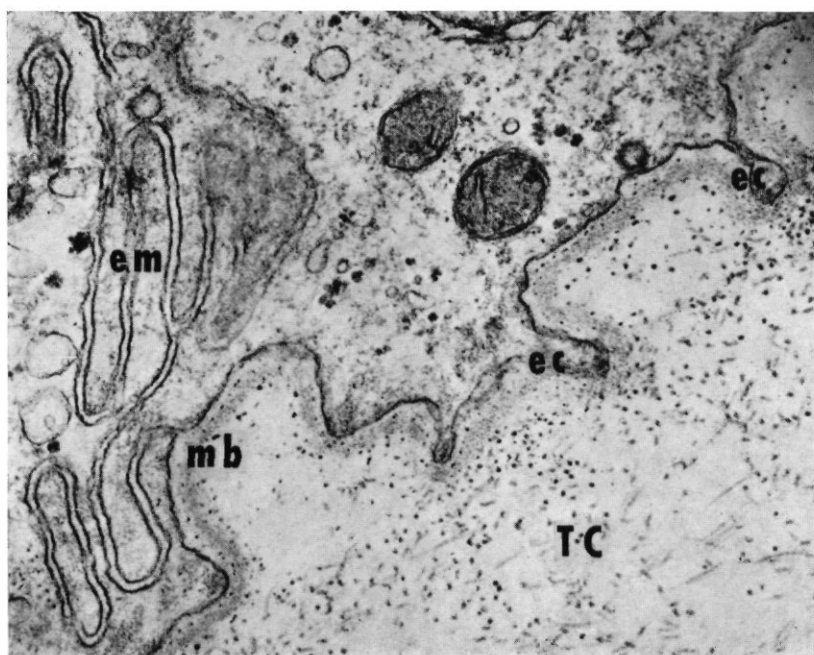


FIG. 12. — Partie inférieure de cellules de la bande E montrant les replis parallèles (*em*) affectant les membranes latérales et les évaginations (*ec*) s'enfonçant dans la membrane basale (*mb*) et le tissu conjonctif (*TC*). (Gr. $\times 38\,000$.)

vésicules de réticulum endothélial dilaté, renfermant parfois elles-mêmes des microvésicules d'environ 70 à 100 m μ de diamètre. L'appareil de Golgi est apical et proche des centrioles. On observe également des tonofilaments dispersés et des grains de glycogène. De plus, il semble que certaines de ces cellules soient ciliées (1), assurant au tissu l'aspect vibratile observé en microscopie optique.

La *bande F* a une forme variable : selon les préparations, elle est plane ou plissée en une gouttière transversale profonde et étroite. Les

(1) Contrairement à nos premières observations, cette bande n'est pas flagellée et est différente de la bande C.

cellules sont tantôt cylindriques, tantôt cubiques, à noyau allongé et arrondi, la hauteur variant du simple au double. Le sommet de la cellule est couvert de cils vibratiles; au contraire des bandes déjà examinées, la bande F est très régulièrement ciliée. La base des cils est couverte par un liséré continu coloré par le bleu alcian. Entre le

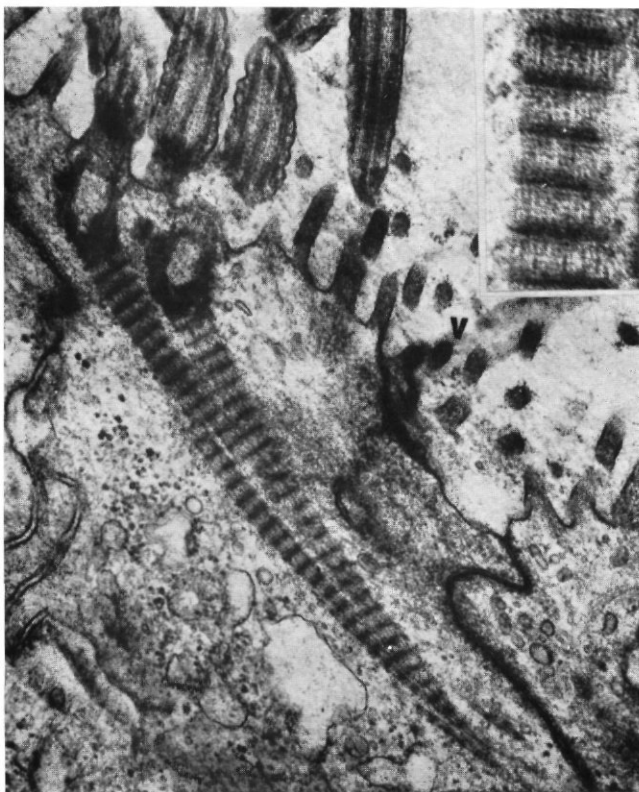


FIG. 13. — Vue d'une cellule de la bande F. Les racines ciliaires, très obliques, convergent en s'effilant vers la paroi cellulaire latérale, sous le renforcement de celle-ci. L'amas de cils est entouré de microvillosités (V). (Gr. $\times 30\,000$.)

Détail : striations longitudinales et transversales des racines ciliaires. (Gr. $\times 84\,000$.)

noyau et la plaque ciliée, se trouvent des granulations (colorées par le vert lumière) de sécrétion plus ou moins abondantes selon les cellules.

Le microscope électronique montre que la face apicale de chaque cellule, en sa partie centrale, est couverte de rangées régulières de cils (voir GODEAUX et FIRKET, 1966, fig. 4). Une collerette périphérique de microvilli entoure la touffe de cils. Les racines ciliaires, à raison d'une par corpuscule basal, courent très obliquement, se rejoignent, s'effilent et s'insèrent sur la paroi cellulaire latérale, un peu en dessous des

renforcements de la membrane (fig. 13). La striation transversale de ces racines est très nette : sa périodicité est d'environ 800 Å. De plus, selon l'importance variable du précipité contrastant et de l'épaisseur des coupes, des détails supplémentaires différents apparaissent. On peut observer soit des filaments longitudinaux parallèles (d'environ 60 Å de diamètre) et régulièrement espacés, soit une striation transversale de second ordre, visible entre les stries de premier ordre. Des mitochondries allongées, à crêtes de longueur et d'orientation irrégulières,

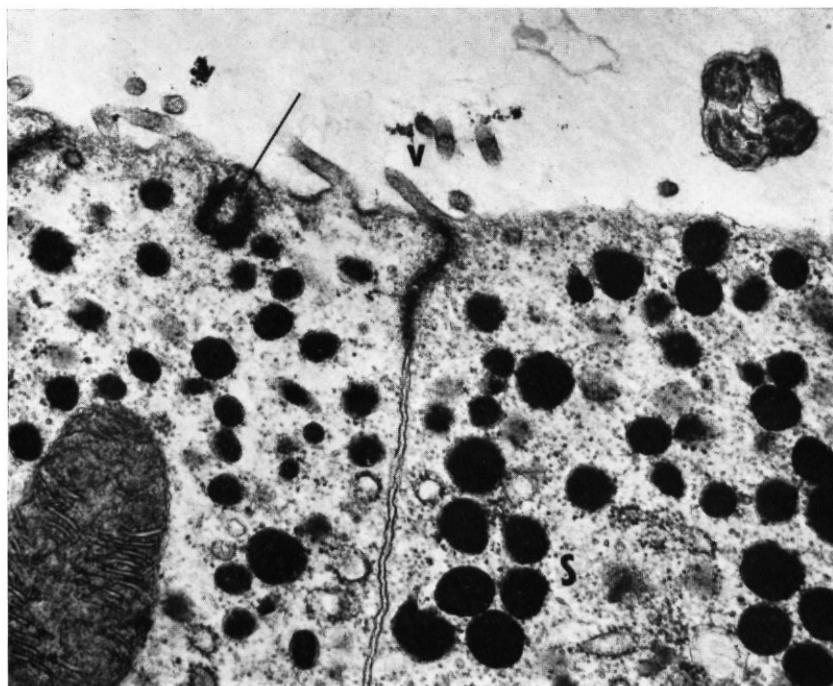


FIG. 14. — Vue de la partie apicale de deux cellules de l'épithélium G montrant des grains de sécrétion (S) très denses, quelques microvillosités (V), des flagelles et un corpuscule basal (→). (Gr. $\times 25\,000$.)

sont très nombreuses aux environs des racines sans qu'il paraisse exister des relations aussi proches que celles décrites par OLSSON chez l'*Amphioxus* entre les unes et les autres.

Dans le cytoplasme sont logées des vésicules, vides ou remplies de grains. Il n'y a pas d'ergastoplasme, mais l'appareil de Golgi est présent, parfois à côté d'énormes vacuoles d'apparence vide; l'activité sécrétoire paraît réduite. Des grains de glycogène, quelques microtubules et microfilaments sont visibles dans certaines cellules. Le noyau dense et volumineux occupe une notable partie du volume cellulaire. L'aspect général du cytoplasme des cellules F rappelle celui des cel-

lules de la bande E. Les différences portent sur la forme générale, sur le système d'ancrage entre cellules et entre cellules et tissu conjonctif sous-jacent et surtout sur l'appareil vibratile.

La *bande G* (bande glandulaire supérieure) s'étend sur $250\ \mu$ et est constituée de cellules polyédriques élevées (30 à $45\ \mu$), à disposition palissadique. Les noyaux, très volumineux, sont étagés dans la partie profonde du tissu. Certaines cellules apparaissent ciliées. Le cyto-

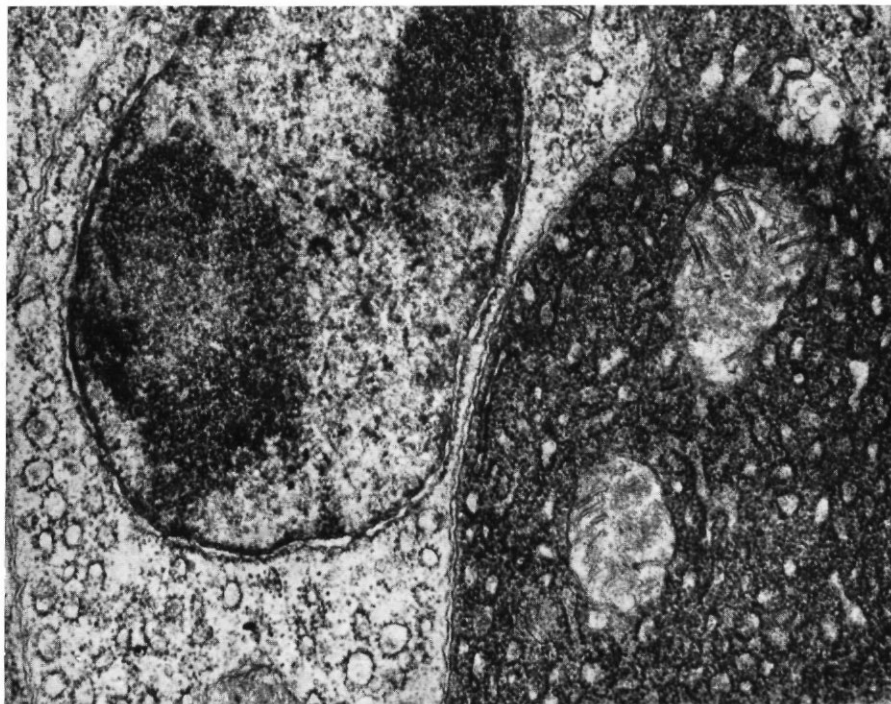


FIG. 15. — Vue de cellules de la zone G, à cytoplasme dense et à cytoplasme clair. Dans la cellule « claire », le noyau avec deux gros nucléoles. (Gr. $\times 25\ 000$.)

plasme est bien colorable (orange G), finement granuleux sur toute sa hauteur; cependant, le seul signe d'activité sécrétoire décelable en microscopie optique est un mince liséré apical coloré par le bleu alcian.

Le tableau, en microscopie électronique, est très différent. Certaines cellules sont effectivement flagellées, mais elles sont principalement sécrétrices et leur cytoplasme, surtout vers le sommet, est chargé de grosses granulations très denses, intravacuolaires, qui se déversent à la surface et qui sont parfois en relation les unes avec les autres (fig. 14). Le cytoplasme se présente sous deux aspects, soit dense (accumulation de ribosomes au voisinage des citernes), soit plus transparent aux électrons (ribosomes plus dispersés) (fig. 15). L'ergastoplasme est

très développé, bien qu'il n'offre pas la belle ordonnance observée dans les cellules B. En profondeur, les citernes du réticulum, allongées, sont vides ou remplies d'un matériel peu dense. Le noyau porte un ou plusieurs nucléoles volumineux. Les mitochondries, allongées, sont éparpillées sur toute la hauteur de la cellule et la disposition des crêtes est parfois peu régulière. Certaines cellules, comme celles des bandes B et D, renferment des cytolysomes à structures complexes. Les épaissements latéraux de la membrane cellulaire existent comme dans les autres régions de l'endostyle.

La *bande H* est une zone d'épithélium cubique prolongeant la bande G. Les cellules sont petites et possèdent un volumineux noyau

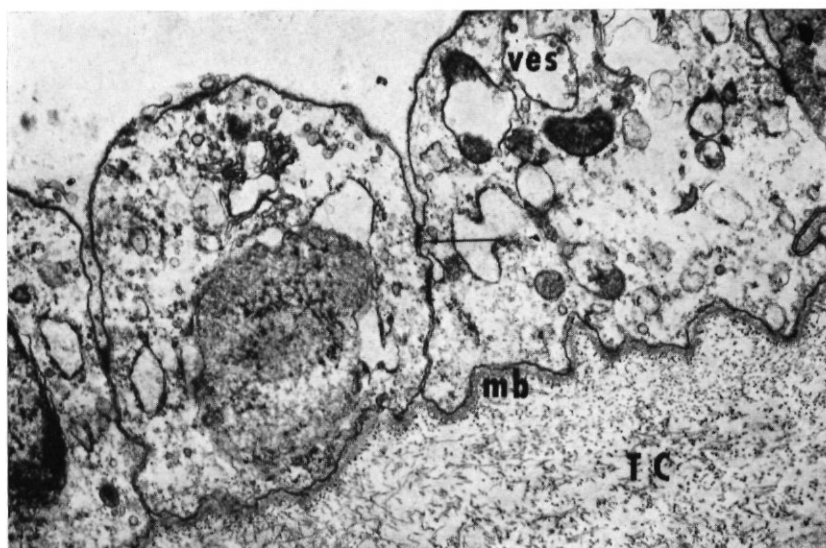


FIG. 16. — Vue générale de l'épithélium H, montrant la forme des cellules, les cadres unissants (→) au fond des gorges et les grandes vésicules (*ves*) cytoplasmiques. En dessous, la membrane basale (*mb*) et le tissu conjonctif (*TC*). (Gr. $\times 14\,000$.)

arrondi. Le cytoplasme ne montre pas d'inclusions. La paroi supérieure, nue, proémine dans la cavité de l'endostyle.

Le microscope électronique confirme ces observations. Le cytoplasme, spumeux, renferme quelques rares mitochondries, parfois des microtubules et des vésicules grandes et petites, le plus souvent vides. Les plus volumineuses pourraient répondre à de petits cytolysomes. Il n'y a pas d'ergastoplasme, mais l'appareil de Golgi est présent. La surface cellulaire ne porte ni cils, ni villosités. Cet épithélium ne paraît guère avoir de fonctions particulières (fig. 16).

La *bande I* est la zone ciliée marquant le bord de la gouttière endostyale. Nos préparations n'ont pas permis son étude.

Remarque. — Toutes les bandes reposent sur une même membrane basale amorphe, très colorable par le bleu de méthyle (méthode à l'azan) et présentant peu de structure au microscope électronique. Le conjonctif sous-jacent est formé d'un feutrage irrégulier de filaments très minces (ayant de 120 à 140 Å de diamètre), ne présentant pas la périodicité caractéristique que montre le collagène de l'*Amphioxus* (OLSSON, 1961) et des Vertébrés dans des préparations analogues. Ces filaments n'offrent en outre qu'une faible tendance à s'associer en faisceaux parallèles.

IV. — DISCUSSION

Dans nos recherches sur l'ultrastructure de l'endostyle de *Molgula manhattensis*, nous avons distingué, de part et d'autre de la zone flagellée médiane A, huit structures différentes. Certaines d'entre elles avaient d'ailleurs échappé aux observations de nos prédécesseurs sur le même matériel.

La bande A est beaucoup moins importante et ses flagelles plus courts que chez la plupart des Tuniciers (par ex. : *Clavelina*, SEELIGER, E. et B. WERNER; *Ciona*, BARRINGTON; *Corella*, OLSSON; *Microcosmus*, LÉVY et PORTE; *Pyrosoma*, NEUMANN) où ils sont remarquables par leur longueur. Dans leurs recherches sur les Molgules, SOKÓLSKA (1931) et RAIMBAULT (1946) en avaient ignoré l'existence : SOKÓLSKA a notamment représenté les deux bourrelets glandulaires inférieurs par un épithélium continu constituant le plancher de l'endostyle.

Si les cellules A de la Molgule renferment des micro-organites variés (microtubules, tonofilaments, plaques de glycogène), elles ne montrent aucun signe de l'activité sécrétrice observée à ce niveau par BARRINGTON (*Ciona*) et LÉVY et PORTE (*Microcosmus*) : chez *Molgula manhattensis* comme chez *Corella* (OLSSON), les cellules A ne sont notamment pas mucipares.

La bande B, ou bourrelet glandulaire inférieur, est largement ouverte sur la cavité endostylaire, au contraire de ce qui se voit chez d'autres Tuniciers; cette particularité est liée à la réduction de la bande flagellée A. Les cellules B se caractérisent par l'abondance et la disposition très régulière des membranes ergastoplasmiques : l'activité sécrétrice est intense et ses produits se rassemblent dans la région apicale; les profonds replis de la membrane basale des cellules témoignent de plus de l'intensité des échanges avec l'hémocoèle. Ces observations recoupent celles de BARRINGTON et OLSSON signalant la richesse en A.R.N. du cytoplasme et la présence de substances P.A.S. et aldéhyde-fuchsine positives dans ces cellules. L'ergastoplasme montre un développement analogue chez *Microcosmus* (LÉVY et PORTE) et chez *Ciona* (observations inédites). Selon OLSSON (1963), ces cellules élaborent en outre des protéines, ce qui est en accord avec l'extraordi-

naire développement du réticulum endoplasmique; il est possible en outre que ces protéines soient des ferments digestifs qui se mélangent aux particules alimentaires arrêtées par le mucus. Une activité protéasique a d'ailleurs été mise en évidence dans les extraits d'endostyle de la larve de *Petromyzon marinus* (CLEMENTS et GORBMANN, 1955).

Aux cellules B se mêlent des cellules d'aspect différent, représentées sous forme d'un épithélium cubique continu par SOKÓLSKA chez la Molgule, cellules que d'autres auteurs ne semblent pas avoir observées sur leur matériel (*Ascidella*, RAIMBAULT; *Corella*, OLSSON) ou qu'ils ont assimilées à des cellules spécialisées de la zone flagellée médiane (*Ciona*, BARRINGTON; *Microcosmus*, LÉVY et PORTE).

Chez *Molgula manhattensis*, ces cellules B' ne forment pas un épithélium continu; elles sont très étroites, non flagellées et élaborent un produit de sécrétion peu dense. Leur ultrastructure, différente de celles des cellules A et des cellules B, nous les fait tenir pour un type cellulaire particulier.

Les cellules de la bande C sont flagellées, très longues et très étroites; elles n'ont d'autre fonction que d'être vibratiles et le détail le plus remarquable de leur ultrastructure est le développement des cadres unissant et des tonofibrilles. Rien ne rappelle l'activité glandulaire décrite à ce niveau chez *Ciona* par BARRINGTON.

La bande D (bourrelet glandulaire moyen) fabrique du mucus, détecté histochimiquement, qui se répand sur les zones vibratiles voisines: c'est la zone où l'activité mucipare est la plus évidente. Ses cellules possèdent un réticulum endoplasmique abondant (quoique moins régulièrement disposé que celui des cellules B) dont l'activité se traduit par l'accumulation de produits de sécrétion au sommet des cellules, produits beaucoup plus opaques que ceux des cellules B. La surface d'échange avec l'hémocoel est aussi moins importante, les replis de la membrane cellulaire restant peu accusés. Ces différences ne permettent pas d'homologuer les bandes B et D comme LÉVY et PORTE ont pu le proposer pour *Microcosmus*. En outre, les affinités tinctoriales différentes des deux bourrelets glandulaires chez *Ciona* (BARRINGTON) et chez *Pyrosoma* (GODEAUX, inédit) plaident contre cette homologie. L'ultrastructure des cellules de la bande D, que l'histochemie décrit comme muqueuses, ne ressemble pas à celle des cellules muqueuses des Vertébrés. Elle suggère plutôt une sécrétion protéique importante. D'ailleurs pour OLSSON, cette zone élabore aussi des protéines; l'hypothèse d'une sécrétion de nature enzymatique, déjà formulée pour les cellules B, peut à nouveau être avancée.

Les cellules de la bande E, qui paraissent identiques aux cellules de la bande C au microscope ordinaire, sont au contraire très dissimilaires. L'existence de ces cellules n'a pas été signalée par SOKÓLSKA et RAIMBAULT chez les Molgules qu'elles ont examinées, ni chez d'autres Ascidies. Ces cellules n'ont de remarquable que le développement des appareils de fixation: elles adhèrent les unes aux autres par des épaississements de leur membrane du côté apical, par des replis des

parois latérales dans la zone profonde et elles s'engrènent dans la membrane basale par des sortes de boutons renflés. Tout paraît indiquer que ces cellules peuvent être sollicitées par de fortes tractions.

La *bande F* voisine a un aspect variable : elle peut être unie, faire une légère saillie dans la cavité endostyloire ou s'évaginer en une gouttière étroite et profonde. La bande F paraît plastique et susceptible de changer de forme et peut-être prend-elle appui sur la zone E plus rigide et mieux ancrée. Semblable variabilité de forme ne paraît pas se retrouver chez d'autres Ascidies. La face supérieure est couverte de cils dont les racines sont implantées très obliquement, disposition observée par OLSSON (1962) et LÉVY et PORTE (1964). Ces cellules n'ont qu'une activité sécrétrice réduite.

La *bande G* (bourrelet glandulaire supérieur) est composée de cellules glandulaires palissadiques, parfois flagellées. L'ergastoplasme est très développé, en relation avec l'élaboration de produits de sécrétion très denses qui s'accumulent au sommet de la cellule. Chez *Corella* (OLSSON), cette zone renferme des lipides (correspondant aux cytolysomes observés par LÉVY et PORTE et nous-mêmes), synthétise des protéines et n'est pas mucipare. Nous n'avons également pas observé d'activité de ce type dans nos cellules. Les différences de densité, parfois tranchées, observées entre les cellules et explicables par des différences de concentration en ribosomes, reflètent sans doute les fluctuations dans leur activité.

La *bande H* est une zone épithéliale dans laquelle le microscope électronique ne révèle aucune trace d'activité particulière. L'ultrastructure de ces cellules est plus simple que celle des cellules homologues de *Microcosmus* (zone 7) et on n'y trouve pas les granules observés chez *Ciona* par BARRINGTON. Or, l'historadiographie a montré que, chez *Ciona*, *Dendrodoa* et *Botryllus*, cette zone est capable d'incorporer l'iode radio-actif minéral du milieu ambiant à des composés thyroïdiens granulaires, synthèse inhibée par le thiouracil (BARRINGTON, 1957). La présence de composés thyroïdiens (T_3 et T_4) a été prouvée dans les extraits d'endostyle de *Ciona* et dans les extraits totaux de *Clavelina lepadiformis* et de *Salpa maxima* (ROCHE et coll., 1959, 1960, 1962; SALVATORE et coll., 1960). Rien ne permet d'admettre que les cellules de la bande H de *Molgula manhattensis* soient capables d'opérer pareille synthèse : la Molgule, espèce évoluée, peut avoir perdu cette propriété ou la posséder au niveau d'une autre bande endostyloire, telle que l'un des trois bourrelets glandulaires si riches en ergastoplasme. En effet, la même propriété a été retrouvée par divers auteurs chez l'*Amphioxus* (THOMAS, BARRINGTON et FRANCHI, COVELLI et coll.) et chez l'Ammocoete (bibliographie dans BARRINGTON, 1963), mais à des niveaux différents de celui actif chez *Ciona*. Chez l'*Amphioxus*, la zone active est une portion limitée d'épithélium au-dessus du bourrelet glandulaire moyen, portion qui correspond topographiquement à la bande E, bande qui n'offre guère de caractères sécrétoires chez la Molgule. Chez l'Ammocoete, l'iode marqué se retrouve dans les cellules

désignées par 2c, 3, 4 et 5 (BARRINGTON et FRANCHI), mais la microscopie électronique ne permet pas de distinguer avec certitude les cellules où s'opère la synthèse de l'hormone de celles où cette hormone est simplement stockée (EGEBERG).

Il n'est donc pas possible d'établir des homologues sûres entre les trois organes et de nouvelles recherches sur un matériel plus varié de Tuniciers seront nécessaires.

Les cellules épithéliales constituant certaines bandes de l'endostyle sont certainement soumises à des efforts mécaniques (battements des cils et des flagelles, invagination et évagination de la bande F, etc.) qui tendent à les séparer. Des tonofibrilles et des épaissements de la membrane cellulaire des cellules se faisant face, ainsi que des replis réciproques et des évaginations de forme particulière dans le conjonctif sous-jacent sont les facteurs d'ancrage qui assurent la solidité de l'ensemble. Nous n'avons vu aucun desmosome complet tel que ODLAND (1958) les a décrits chez les Vertébrés supérieurs et tel qu'on les retrouve chez les Amphibiens (FARQUHART et PALADE, 1965) et même les Cyclostomes (DAMAS et FIRKET, 1966). D'ailleurs, l'épiderme de l'Amphioxus ne présente pas de desmosomes, mais des structures analogues à celles que nous décrivons (OLSSON, 1961). On peut supposer que le desmosome vrai est une structure qui n'apparaît que chez les Vertébrés, alors que les Prochordés n'en ont développé qu'une partie : l'épaississement localisé de la membrane de deux cellules se faisant face. Il n'existe pas non plus ici de « bobines » d'ancrage sur la membrane basale — qui sont des sortes de demi-desmosomes — que l'on aperçoit chez les Amphibiens et chez les Cyclostomes (WEISS, 1958; DAMAS et FIRKET, 1966).

V. — RÉSUMÉ

L'endostyle de *Molgula manhattensis* Kay. comprend neuf zones épithéliales successives, d'aspect et d'ultrastructure différents, zones désignées par les lettres A à I; la zone A, impaire, occupe le plan sagittal de l'organe.

La *bande A* est constituée d'un petit nombre de cellules flagellées sans activité mucipare. Les flagelles sont emprisonnés par les microvillosités comblant la gouttière médiane de la bande. Le cytoplasme de ces cellules, peu dense, renferme d'abondants microtubules et microfilaments.

La *bande B* renferme de grosses cellules, à activité sécrétoire intense, parfois flagellées, à ergastoplasme abondant et à disposition très régulière. De petites cellules étroites et glandulaires (B') sont dispersées parmi les premières; leur sécrétion est peu dense.

La *bande C* est formée d'un grand nombre de cellules flagellées, très étroites, non sécrétrices.

La *bande D* est composée de grosses cellules glandulaires, parfois flagellées, à ergastoplasme abondant et à produits de sécrétion denses. L'activité mucipare est également nette.

La *bande E* comprend un petit nombre de cellules, parfois ciliées, remarquables par leurs dispositifs d'accrochage latéral réciproque et d'ancrage dans le tissu conjonctif sous-jacent.

La *bande F* est constituée de cellules ciliées; les racines ciliaires sont bien développées et implantées très obliquement.

La *bande G* est un bourrelet glandulaire formé de cellules palissadiques à cytoplasme riche en ergastoplasme et chargé de produits de sécrétion.

La *bande H* comprend des cellules sans fonction apparente : leur cytoplasme porte des vacuoles assez grandes.

La *bande I* est ciliée.

Les cellules adhèrent les unes aux autres par des tonofilaments et des épaissements de leurs membranes siégeant non loin du sommet. Ces renforcements diffèrent des desmosomes que l'on trouve chez les Chordés à partir des Cyclostomes.

Le tissu conjonctif est différent du collagène et ses filaments ne s'associent guère en faisceaux.

Ces structures sont comparées avec celles d'autres espèces citées dans la littérature et des hypothèses sont présentées sur la nature des sécrétions des différents bourrelets glandulaires de l'endostyle.

L'un des auteurs (J. G.) exprime sa vive gratitude à M. le Professeur BETZ, Directeur du Laboratoire d'Anatomie pathologique de l'Université de Liège, pour son aimable hospitalité. Les auteurs remercient vivement M^{lle} N. CRESPIN pour sa collaboration dévouée.

*(Laboratoire de Morphologie, Systématique et Ecologie animales,
et Laboratoire d'Anatomie pathologique,
Université de Liège [Belgique].)*

BIBLIOGRAPHIE

- BARRINGTON (E. J. W.), 1957. — The distribution and significance of organically bound iodine in the Ascidian *Ciona intestinalis*. *J. mar. biol. Assoc. U. K.*, **36**, p. 1-16. — 1958. The localization of organically bound iodine in the endostyle of *Amphioxus*. *J. mar. biol. Assoc. U. K.*, **37**, p. 117-126. — 1963. *An introduction to general and comparative endocrinology*. 1 vol., 387 p. Oxford, Clarendon Press (bibliogr.).
- BARRINGTON (E. J. W.) et FRANCHI (L. L.), 1956. — Some cytological characteristics of thyroidal function in the endostyle of the ammocoete larva. *Quart. J. microsc. Sci.*, **97**, p. 393-409.
- BRIEN (P.), 1948. — Embranchement des Tuniciers, in *Traité de Zoologie*, P. P. GRASSÉ, édit., **11**, p. 553-894 (bibliogr.).
- CLEMENTS (M.) et GORSMAN (A.), 1955. — Protease in Ammocoete endostyle. *Biol. Bull.*, **108**, p. 258-263.

- COVELLI (I.), SALVATORE (G.), STENA (L.) et ROCHE (J.), 1960. — Sur la formation d'hormones thyroïdiennes et de leurs précurseurs par *Branchiostoma lanceolatum* Pallas (Amphioxus). *C. R. Soc. Biol. Paris*, **154**, p. 1165-1169.
- DAMAS (H.) et FIRKET (H.), 1966. — Contribution à l'étude de l'ultrastructure de l'épiderme de Lamproie. *Ann. Soc. Roy. Zoologique Belg.*, **96**, p. 49-59.
- EGEBERG (J.), 1965. — Iodine-concentrating cells in the endostyle of *Ammocoete*. *Ztschr. f. Zellforschung*, **68**, p. 102-115.
- FARQUHART (M. G.) et PALADE (G. E.), 1965. — Cell function in amphibian skin. *J. cell. Biol.*, **26**, p. 263-292.
- GODEAUX (J.) et FIRKET (H.), 1966. — Ultrastructure de l'endostyle de *Molgula manhattensis* Kay. (Ascidie stolidobranche). *C. R. Acad. Sci. Paris*, sér. D., **262**, p. 488-490.
- HUUS (J.), 1937. — Tunicata, in *Handbuch der Zoologie*. Kükenthal et Krumbach, édit., **5**, p. 545-672.
- LÉVY (CL.) et PORTE (A.), 1964. — Ultrastructure de l'endostyle de l'Ascidie *Microcosmus claudicans* Sav. *Ztschr. f. Zellforschung*, **62**, p. 293-309.
- NEUMANN (G.), 1934. — Tunicata, sous-classe des Thaliacés, ordre des Pyrosomida. in *Handbuch der Zoologie*. Kükenthal et Krumbach, édit., **5**, p. 226-323.
- ODLAND (G. F.), 1958. — The fine structure of the interrelationship of cells in the human epidermis. *J. biophys. biochem. Cytol.*, **4**, p. 529-539.
- OLSSON (R.), 1961. — The skin of *Amphioxus*. *Ztschr. f. Zellforschung*, **54**, p. 90-104. — 1962. The relationship between ciliary rootlets and other cell structures. *J. cell. Biol.*, **15**, p. 596-599. — 1963. Endostyles and endostylar secretions : a comparative histochemical study. *Acta Zool.*, **44**, p. 299-328.
- RAIMBAULT (S.), 1946-1947. — Histologie et cytologie de l'endostyle chez quelques Ascidies. *Arch. Anat. micr. Morphol. expériment.*, **36**, p. 334-341.
- RASMONT (R.), 1959. — L'ultrastructure des choanocytes d'Eponges. *Ann. Sci. Naturelles, Zool.*, 12^e sér., **1**, p. 334-341.
- ROCHE (J.), 1960. — Sur la biochimie comparée de l'iode et des hormones thyroïdiennes dans les organismes animaux. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **42**, p. 1115-1164.
- ROCHE (J.), RAMETTA (G.) et VARRONE (S.), 1962. — Sur la présence d'hormones thyroïdiennes chez un Tunicien pélagique, *Salpa maxima* Forskål. *C. R. Soc. Biol. Paris*, **156**, p. 1964-1968.
- ROCHE (J.), SALVATORE (G.), RAMETTA (G.) et VARRONE (S.), 1959. — Sur la présence d'hormones thyroïdiennes (3:5:3' triiodothyronine et thyroxine) chez un Tunicien (*Ciona intestinalis*). *C. R. Soc. Biol. Paris*, **153**, p. 1751-1757.
- SALVATORE (G.), VECCHIO (G.) et MACCHIA (V.), 1960. — Sur la présence d'hormones thyroïdiennes chez un Tunicien, *Clavelina lepadiformis* (M. Edw.) var. *rissoana*. *C. R. Soc. Biol. Paris*, **154**, p. 1380-1384.
- SEELIGER (O.), 1893-1911. — Die Ascidien, Thetyodea, Ascidiacea. *Bronn's Klass. d. Tierreich.*, **3**, suppl. Tunicata, p. 84-154, 4 pl. h. t.
- SOKÓLSKA (J.), 1931. — Contribution à l'histologie de l'endostyle des Ascidies. *Folia morphologica*, **3**, p. 34 (cité par Huus, 1937).
- THOMAS (I. M.), 1956. — The accumulation of radioactive iodine by *Amphioxus*. *J. mar. biol. Assoc. U. K.*, **35**, p. 203-210.
- WEISS (P.), 1958. — Cell contact. *Internat. Rev. Cytology*, **7**, p. 391-424.
- WERNER (E.) et WERNER (B.), 1954. — Ueber den Mechanismus des Nahrungserwerbs der Tunicaten, speziell der Ascidien. *Helgoländer Wissensch. Meeresuntersuch.*, **5**, 1, p. 57-92.



PRINTED IN FRANCE