

REPRODUCTION ASEXUÉE ET CYCLE ÉVOLUTIF DE L'ASCIDIE *DISTAPLIA UNIGERMIS*

par

O.M. Ivanova-Kazas

Laboratoire d'Embryologie de l'Université de Leningrad.

Résumé

1. Chez *Distaplia unigermis* et d'autres Ascidies du même genre, le bourgeon primordial s'individualise à la fin du développement larvaire, comme une évagination de l'ectoderme ventral dans laquelle pénètre l'extrémité distale de l'épicarde gauche et un groupe de cellules mésenchymateuses. L'organogenèse commence : le tube dorsal s'isole à partir de la vésicule épithéliale interne, la vésicule elle-même se différencie en rudiments de sac branchial, d'intestin et de deux épicarides. Les terminaisons antérieures et postérieures, les faces dorsale et ventrale sont bien visibles à ce stade. Le bourgeon primordial est interprété comme la première génération de blastozoïdes qui n'atteint pas son complet développement.

2. Le bourgeon primordial s'allonge et se divise en trois parties. Les deux fragments antérieurs renferment les parties de l'épiderme externe, la vésicule interne, le tube dorsal et le mésenchyme. De plus, le fragment postérieur comprend les rudiments du tube digestif et des épicarides. Pendant les stades suivants de l'embryogenèse, les deux fragments antérieurs ne montrent aucune complication visible, mais le fragment postérieur poursuit son ontogenèse et forme les rudiments du blastozoïde. Au stade de larve nageuse, les ébauches des cavités péribranchiales, de l'appareil digestif, du cœur et des épicarides, se distinguent déjà.

3. L'oozoïde vit de sept à onze jours. Pendant cette période, le nombre de bourgeons peut atteindre de 15 à 20 ; ils résultent de la fragmentation des deux parties antérieures du bourgeon primordial. Certains commencent à se transformer en blastozoïdes. On voit des structures placentaires, formées par les vaisseaux de l'oozoïde et des blastozoïdes, qui nourrissent les blastozoïdes. Un à trois des blastozoïdes secondaires atteignent leur plein développement et deviennent fonctionnels pendant que l'oozoïde est encore vivant. La phagocytose joue un rôle actif dans la résorption de l'oozoïde en dégénérescence.

4. La colonie s'ébauche. Les blastozoïdes fonctionnels ne peuvent que se reproduire sexuellement sous le contrôle de facteurs saisonniers. La croissance de la colonie continue par division de bourgeons indifférenciés.

5. Le cycle de *Distaplia* est essentiel à la compréhension de l'évolution de la métagenèse chez les Tunicata :

a - chez les Ascidies primitives, pas de différences entre oozoïde et blastozoïdes, toutes les générations étant capables de reproductions sexuée et asexuée ;

b - chez les Ascidies plus évoluées et chez les Pyrosomida, l'oozoïde et les premières générations des blastozoïdes (blastozoïde I) ne se reproduisent qu'asexuellement ; mais les générations suivantes (blastozoïde II) utilisent les deux modes de reproduction ;

c - chez *Distaplia*, les blastozoïdes de seconde génération divergent, les uns restent semblables aux blastozoïdes primaires (bourgeons primaires) et gardent le mode de reproduction asexuée par fragmentation, les autres donnent des zoïdes incapables de reproduction asexuée ;

d - le cycle de *Doliolida* se complique : les blastozoïdes primaires se différencient en gastérozoïdes et phorozoïdes totalement incapables de reproduction

et en protogonozoïdes issus des blastozoïdes secondaires (gonozoïdes) qui arrivent à maturité sexuelle. Le cycle de *Distaplia* et de *Doliolida* dérive sans doute de celui d'Ascidies plus primitives ;

e - le cycle des Salpes dérive sans doute de celui de *Doliolida* par une nette simplification : elles ne possèdent plus de générations de blastozoïdes I.

INTRODUCTION

La reproduction asexuée joue un rôle important dans la vie de nombreux groupes animaux, rivalisant avec la reproduction sexuée et même, dominant cette dernière. Le phénomène présente un intérêt biologique général et son étude, comme l'a montré Brien (1956), peut aider à comprendre les mécanismes physiologiques du développement, les processus de la sénescence et de la régénération des tissus, de l'hérédité somatique, etc. La possibilité de reproduction asexuée est surtout caractéristique des animaux inférieurs et disparaît au cours de l'évolution. Cependant, certaines conditions écologiques (mode de vie fixée, par exemple) peuvent faire réapparaître et s'épanouir cette faculté, ce qui s'est produit, notamment, chez les Ascidies et les autres Tuniciers et a amené l'apparition de cycles évolutifs complexes.

Dans le présent travail, sont exposés les résultats des recherches du cycle évolutif d'une Ascidie coloniale et une tentative est faite pour établir les rapports phylogénétiques entre les cycles évolutifs pour les différents groupes de Tunicata.

Le matériel a été recueilli en été, de 1963 à 1965, dans la mer du Japon, près des côtes de l'île Poutiatine. Sur les Sargasses, dans la zone littorale, on trouve en grande quantité, des colonies de *Distaplia* (Ordre des Aplousobranchia, Polycitoridae) qui, pendant les mois de juillet et d'août, produisent des larves en abondance. En les examinant de plus près, j'ai constaté que c'était précisément la nouvelle espèce que j'avais déjà décrite sous le nom de *Distaplia unigermis* (Ivanova-Kazas, 1965). Ces Ascidies forment des colonies plates mais assez charnues, qui atteignent 3 à 4 centimètres. Les zoïdes ont une longueur de 1,4 à 1,7 mm et 6 à 14 individus s'associent en systèmes à cloaque commun. Chaque zoïde possède un siphon buccal à 6 lobes, 12 tentacules buccaux de longueur différente, 4 rangs de stigmas de chaque côté (chaque rang ne présentant pas plus de 12 stigmas) et 3 languettes dorsales. Le siphon cloacal du zoïde a la forme d'une fente transversale ; son extrémité supérieure est allongée en forme de languette cloacale, présentant souvent trois lobes. L'estomac a peu de plis. L'anus et l'ouverture du spermiducte sont situés au niveau du troisième rang de stigmas. Les organes génitaux se trouvent d'abord à droite de l'intestin, puis ils se déplacent vers l'arrière. Les testicules possèdent jusqu'à 10 follicules. Pendant la période de reproduction, existe une poche incubatrice, reliée au zoïde par une longue tigelle qui s'atrophie assez vite. Dans chaque poche, ne se trouve qu'un seul embryon. Les larves sortent par la déchirure de la paroi de la poche incubatrice et de la tunique.

Les observations ont été faites sur les jeunes Ascidies qui s'étaient métamorphosées au laboratoire. On changeait l'eau des

aquariums deux fois par jour. Les Ascidies ne recevaient pas de nourriture spéciale supplémentaire. Dans ces conditions, les animaux croissaient et se développaient assez bien ; plusieurs exemplaires étaient sous contrôle depuis plus de vingt jours. Mais, parfois, s'est produite une dégénérescence massive des animaux, ce qui peut s'expliquer vraisemblablement par un pourrissement de l'eau.

HISTORIQUE DE L'ÉTUDE DU BOURGEONNEMENT CHEZ DISTAPLIA.

De nombreux auteurs avaient étudié la reproduction asexuée chez *Distaplia*. Kowalevsky (1874) avait décrit le développement de bourgeons dans les colonies de *Distaplia (Didemnum) stylifera*. Della Valle (1881) fut le premier à observer la formation de bourgeons chez les larves de *Distaplia magnilarva*. Ulianine (1885), Lahille (1890), Solensky (1893), Julin (1896) et Bonnevie (1896) poursuivirent ces observations et, vers la fin du siècle dernier, se dessina un tableau complet du cycle évolutif de *Distaplia*. Au vingtième siècle, les travaux de Salfi (1933), Brien (1939) et Berrill (1935, 1948) sont consacrés au bourgeonnement de *Distaplia (D. magnilarva, D. rosea, D. garstangi, D. bermudensis et D. clavata)*. Cependant, malgré tant de recherches, certains problèmes essentiels, comme le mode de formation des colonies chez *Distaplia*, la capacité de bourgeonnement des zoïdes adultes, etc., restent encore à élucider. Pour éviter les redites, nous allons citer les données et les hypothèses des chercheurs précédents, en même temps que nous exposerons et examinerons nos propres observations.

STADES INITIAUX DU BOURGEONNEMENT PENDANT LE DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE.

Comme l'ont montré Della Valle (1881) et d'autres, la reproduction asexuée de toutes les espèces de *Distaplia* commence déjà au cours de l'embryogenèse. *D. unigermis* n'est pas une exception sous ce rapport. Le premier bourgeon est formé chez l'embryon au stade d'organogenèse avancée (Fig. 1), possédant déjà les ébauches de tous les principaux organes larvaires : ébauches de la queue, de l'appareil adhésif, de la vésicule cérébrale, de l'intestin, etc. La tunique de l'embryon atteint, vers cette période, une épaisseur considérable et elle possède un aspect écumeux caractéristique, dû à la présence de nombreuses cellules vésiculeuses. Le pharynx a déjà la structure d'un sac assez volumineux à parois minces, avec une ébauche d'endostyle ; les cavités péribranchiales lui sont adjacentes et il y a déjà quatre rangs de stigmates branchiaux de chaque côté, chaque rang possédant de 10 à 11 stigmates.

Du fond du pharynx, des deux côtés de l'œsophage, pendent deux sacs à parois minces, les épicarques, qui communiquent largement avec le pharynx (Fig. 2). Le sac qui se trouve à droite est assez court, celui de gauche est plus développé et, comme nous le verrons plus loin, il joue un rôle important dans la formation du bourgeon. Au-dessous de l'épicarce droit, se trouve un petit sac à parois minces dont une

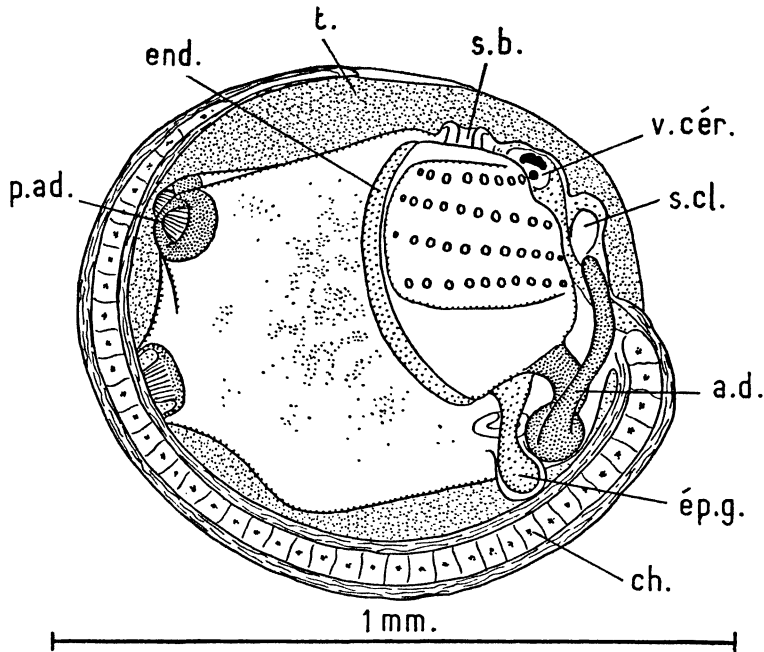


FIG. 1

Distaplia unigermis.

L'embryon au moment de la séparation du bourgeon primordial.

Abréviations

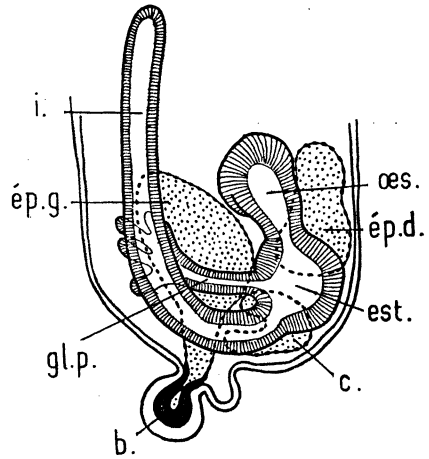
abd. : abdomen - a.d. : anse digestive - a.v. : ampoule vasculaire - b. : bourgeon - bl. : blastozoïde - c. : cœur - c.b. : cavité branchiale - ch. : corde - c.p. : cavité péribranchiale - end. : endostyle - ent.p. : entoderme prégastral - épi. : épiderme - ép.d. : épicarce droit - é.int. : épithélium interne - ép.g. : épicarce gauche - est. : estomac - é.ext. : épithélium externe - gg.d. : ganglion définitif - égén. : ébauche génitale - gl.p. : glande pylorique - i. : intestin - int. : ébauche intestinale - l.d. : languette dorsale - més. : mésenchyme - œs. : œsophage - ooz. : oozoïde - ooz.r. : oozoïde en régression - p.ad. : papille adhésive - p.ad.r. : papille en régression - pig. : pigment larvaire - q. : queue - q.r. : queue en régression - rés. : réservoir de la glande pylorique - s.b. : siphon buccal - s.cl. : siphon cloacal - st. : stigmates branchiaux - t. : tunique - t.b. : tentacules buccaux - t.d. : tube dorsal - th. : thorax - v.bl. : vaisseaux du blastozoïde - v.cér. : vésicule cérébrale - v.d. : vaisseau droit de la tunique - v.g. : vaisseau gauche de la tunique - v.ooz. : vaisseau de l'oozoïde - v.par. : vaisseau parastigmatique.

paroi s'enfonçe vers l'intérieur : c'est l'ébauche du cœur et du péri-carde.

Le développement des épicarques et du cœur a été étudié par Julin (1896) chez *D. magnilarva*. D'après cet auteur, l'évagination de la paroi pharyngienne forme deux tubes procardiques. Celui de droite, par un étranglement transversal, se divise en deux parties, la partie

distale se transformant en péricarde et la partie proximale devenant l'épicarde droit. Le tube procordique gauche tout entier se transforme en épicarde gauche.

FIG. 2
Reconstitution d'après des coupes de l'extrémité postérieure de l'embryon au moment de sa séparation du bourgeon primordial.



Une opinion qui ne manque pas de fondement, est que les épicardes des Ascidies sont les homologues des cavités coelomiques des autres Deuterostomia (Berrill, 1950).

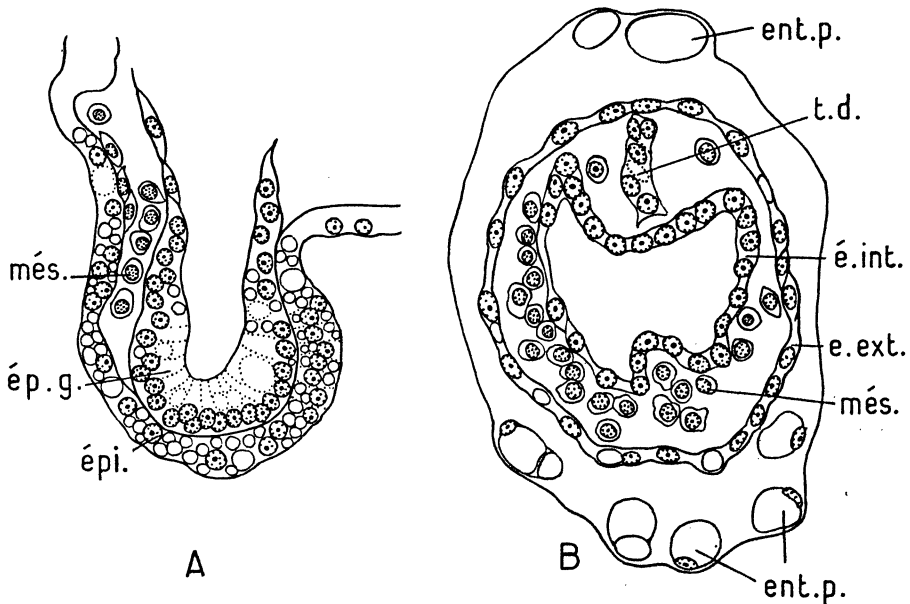


FIG. 3

Deux stades de développement du bourgeon primordial.
A. : bourgeon non encore séparé. - B. : bourgeon peu de temps après la séparation.

Dans la partie ventrale postérieure de l'embryon, un peu à gauche de la ligne médiane, apparaît une petite évagination de l'ectoderme dans laquelle pénètrent l'extrémité distale de l'épicarde gauche et

plusieurs cellules mésenchymateuses (Fig. 1, 2 et 3, A). Cette évagination se détache et se transforme en bourgeon dit primaire ou primordial, qui reste libre dans la tunique.

Au moment de la libération du bourgeon, l'embryon renferme encore beaucoup de vitellus dans l'ectoderme et dans l'ébauche de l'intestin. Les parois pharyngiennes du péricarde et des épocardes, en général, présentent une membrane très mince aux noyaux aplatis mais qui devient plus épaisse dans la partie qui constitue le bourgeon, sa texture étant alors celle d'un épithélium cylindrique qui contient une certaine quantité de vitellus (Fig. 3, A).

La plupart des éléments mésenchymateux ne renferment pas de vitellus, mais on peut voir, parmi eux, des cellules ayant un ou deux

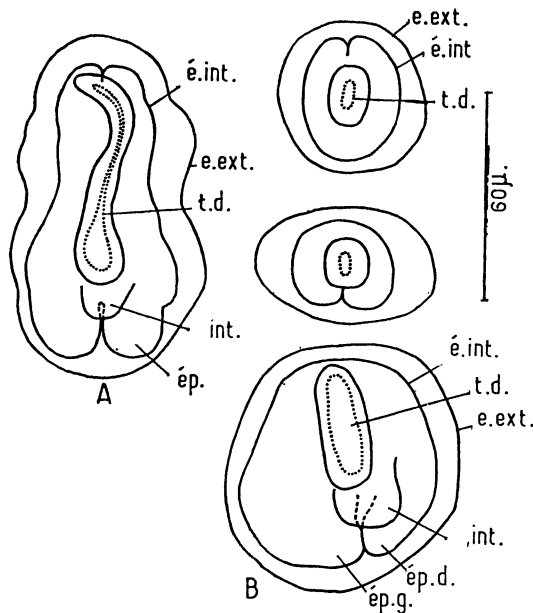


FIG. 4

Bourgeon primordial avant la fragmentation (A) et après cette fragmentation (B).
Reconstitution d'après des coupes histologiques.

très gros granules vitellins qui repoussent le noyau cellulaire vers la périphérie. Ce sont, semble-t-il, les cellules décrites par Dawydoff (1889, 1890), sous le nom d' « entoderme prégastral ».

De tous les éléments qui constituent le bourgeon, seul l'ectoderme est riche en vitellus. Les cellules de l' « entoderme prégastral » pénètrent très rarement à l'intérieur du bourgeon, mais s'insinuent très souvent entre le bourgeon et la tunique qui l'enveloppe (Fig. 3, B). Si l'on admet que leur fonction est la digestion du vitellus, on peut supposer que les produits résultants peuvent être utilisés par le bourgeon en développement.

Après sa séparation du corps de l'embryon, le bourgeon primaire commence à croître en s'allongeant. Sa structure se complique. Bientôt, on peut y reconnaître déjà les ébauches futures (Fig. 4, A). La

vésicule épithéliale interne aux extrémités antérieures et postérieures, est découpée en deux parties par un sillon médian. D'après Salensky (1893), ces parties de la vésicule représentent les ébauches des cavités péribranchiales, mais cette hypothèse n'est pas prouvée, puisque cette fraction du bourgeon primordial n'achève pas son développement.

Les deux diverticules postérieurs de la vésicule interne sont les ébauches des épicarques. Il apparaît également une évagination impaire de la vésicule interne, entre ces diverticules. C'est l'ébauche de la partie digestive de l'intestin, tandis que le reste de la vésicule interne devient l'ébauche de la cavité branchiale.

En même temps apparaît, entre les couches externe et interne du bourgeon, un cordon dorsal avec une lumière qui donne ensuite nais-

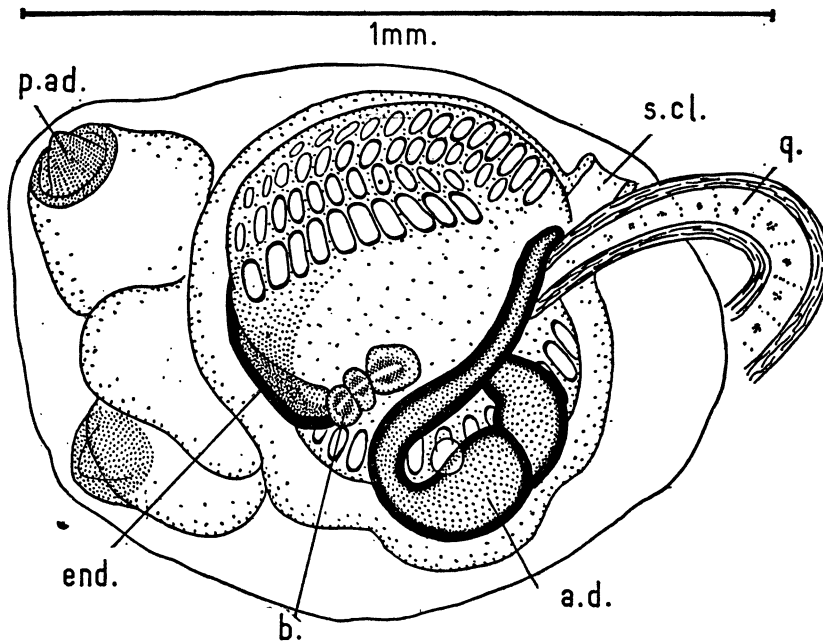


FIG. 5

Embryon au moment de la division du bourgeon primordial.

sance au système nerveux du bourgeon et, comme l'a démontré Brien (1939), dont la partie postérieure sert à former aussi les organes génitaux. Salensky avait décrit l'apparition très précoce du cordon dorsal (au moment où le bourgeon se détache de l'organisme maternel), aux dépens de l'ectoderme. Julin (1896) s'était aussi prononcé pour l'origine ectodermique du système nerveux du bourgeon. Mais Bonnevie et plusieurs autres chercheurs ont démontré que le cordon dorsal apparaît beaucoup plus tard que ne l'avait pensé Salensky et qu'il se forme à partir de la vésicule interne (d'après Brien, par évagination de sa partie antérieure gauche). Bonnevie a également montré la présence de l'ébauche des gonades dans le bourgeon primordial.

On voit ainsi qu'au stade observé de son développement, le bourgeon primordial possède déjà une structure assez complexe et que

l'on peut y distinguer les extrémités antérieure et postérieure ainsi que les faces ventrale et dorsale.

Cependant, le développement progressif du bourgeon commencé tel que nous l'avons décrit, s'interrompt bientôt, le bourgeon primordial procédant à une reproduction asexuée par fragmentation. Sur le corps du bourgeon apparaissent deux étranglements transversaux le découpant en trois parties (Fig. 4, B et 5). Chacun des fragments ainsi formés constitue la couche épithéliale externe, la vésicule interne, le cordon dorsal et le mésenchyme. Le fragment postérieur, le plus gros, contient, en outre, les ébauches des épocardes et de l'intestin.

Les fragments résultant de la division du bourgeon primordial se distinguent, non seulement par les ébauches qui les constituent, mais aussi par leur destinée. Les fragments antérieur et médian ne présentent pas de grande complication de structure ; peu de temps après, ils recommencent leur division. Le fragment postérieur, au contraire, continue à se développer.

Nous voyons ainsi que la reproduction asexuée chez *Distaplia unigermis* commence très tôt et que la larve possède déjà plusieurs bourgeons résultant de la fragmentation du bourgeon primaire ou primordial. Chez les autres représentants du genre, la reproduction asexuée commence d'une manière analogue. Il est vrai que Ulianin (1885) écrivait que les bourgeons larvaires de *D. magnilarva* et *D. rosea*, qui peuvent être au nombre de six, s'isolent l'un après l'autre du stolon prolifère de la larve, mais ces observations ne furent pas confirmées plus tard. Cependant, selon Berrill (1948), chez *D. bermudensis*, de l'embryon se détachent deux bourgeons primordiaux dont l'un se développe de la façon décrite ci-dessus et dont l'autre reste rudimentaire. Enfin, est découvert chez *Hypsistozoa fasmeriana*, autre Ascidie de la même famille des *Polycitoridae* (Brewin, 1959), un véritable stolon prolifère se découpant en une chaîne de bourgeons.

LA LARVE DE *DISTAPLIA UNIGERMIS*

La larve de *D. unigermis* a la forme du têtard des Ascidies et consiste en un corps assez massif et en une queue. Vers l'extérieur, le corps est enveloppé d'une tunique assez épaisse qui contient une grande quantité de cellules vésiculeuses. Ces dernières ne sont absentes que dans la partie de la tunique recouvrant la queue et formant une bordure ressemblant à une nageoire.

Le corps de la larve est ellipsoïdal et mesure de 1 à 1,3 mm. La longueur de la larve munie de sa queue mais sans nageoire, est de 2,2 à 2,45 mm et, avec la nageoire, 2,93 à 3,20 mm. La larve porte à son extrémité antérieure, un appareil adhésif (Fig. 6) qui se compose de trois papilles disposées en triangle, l'une sur la face ventrale et les deux autres sur la face dorsale. Les bases des papilles sont quelque peu invaginées de sorte qu'on ne voit que leurs bouts qui dépassent et s'approchent de la surface même de la tunique. Les

papilles sont formées de cellules très hautes qui émettent une sécrétion visqueuse.

Les régions de l'épiderme qui portent les papilles adhésives sont séparées l'une de l'autre et du reste du corps de la larve par de profonds étranglements. Il en résulte trois ampoules épidermiques reliées par des tigelles tubiformes. Deux longs tubes partent du point de jonction des trois tigelles. Ils se réunissent à l'épiderme de l'abdomen (Fig. 6, B). Ces tubes épidermiques se transforment ensuite en vaisseaux de la tunique. Le long de l'axe de la queue de la larve passe la corde, dans laquelle on ne distingue pas de limites cellulaires. La corde se présente sous forme d'une tige compacte de substance homogène, revêtue d'une enveloppe solide dans laquelle sont dispersés

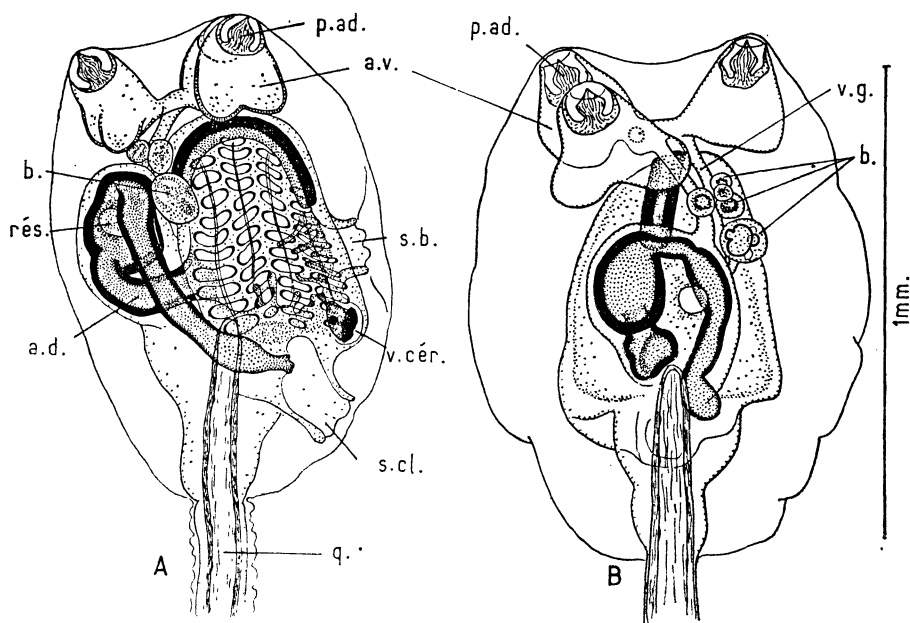


FIG. 6

Larve nageant librement.

A : profil. - B : face ventrale.

de rares noyaux fortement condensés. Sur coupes transversales, cette corde semble vide. Les muscles de la queue forment deux bandes composées d'une très grande quantité de cellules.

Comme la queue de la larve de *Distaplia* forme un angle de 90° avec son axe, les bandes musculaires sont situées, l'une au-dessus de la corde et l'autre au-dessous, tandis que le tube nerveux passe à gauche de la corde. Dans une larve complètement développée, je n'ai pas réussi à découvrir les éléments du tractus endodermique sous-cordal. Le bout intérieur de la corde et des bandes musculaires se prolonge profondément dans le corps. A l'extérieur, la queue est recouverte de couches minces d'épiderme et de tunique ; celle-ci forme la bordure horizontale de la nageoire.

Dans le système nerveux, on peut distinguer les parties larvaires et les parties définitives. Le système nerveux larvaire se compose d'une vésicule cérébrale dans laquelle se trouve un ocelle à trois lentilles, avec un groupe de cellules pigmentaires et un statolithe pigmenté. De la vésicule cérébrale jusqu'à l'extrémité de la queue, descend un ganglion nerveux qui deviendra le tube nerveux de la queue. Un faisceau de fibrilles nerveuses part de l'ocelle, contourne la vésicule cérébrale par l'arrière et entre dans le ganglion larvaire vers l'avant, se dirigeant, apparemment, vers l'appareil adhésif.

Le système nerveux définitif se compose d'un ganglion compact contenant déjà une masse volumineuse de fibres nerveuses. Une glande, dite neurale, est liée à ce ganglion : c'est un court canal dont l'extrémité antérieure est élargie en entonnoir, porte de longs cils et débouche dans le pharynx. Comme la larve possède déjà une musculature bien développée des siphons et du thorax, qui peut se contracter brusquement sous l'action d'une excitation, on peut en déduire que le système nerveux définitif fonctionne déjà et qu'il existe des liens physiologiques entre les organes larvaires et les organes définitifs du système nerveux. A ce point de vue, la larve de *Distaplia* se distingue de celle de *Botrylloides carnosum* dont le système nerveux est aussi bien développé mais situé à grande distance du système larvaire avec lequel on n'a pu trouver aucun lien (Ivanova-Kazas, 1952).

Au milieu de la face dorsale de la larve, se trouve le siphon buccal et, derrière, le siphon cloacal, dirigé obliquement en haut et en arrière (Fig. 6, A). Ces deux siphons sont encore obturés par la substance constituant la tunique. Le pharynx est séparé du siphon buccal par une couronne de tentacules dont le dorsal et le ventral sont plus longs que les autres, comme chez *D. unigermis* adulte.

Dans la partie antérieure du pharynx (future face ventrale de l'oozoïde), se trouve un endostyle bien différencié ; dans sa partie postérieure (future face dorsale), trois languettes dorsales. Quatre rangs de stigmates branchiaux débouchant dans la cavité péribranchiale, se trouvent dans chaque partie latérale du pharynx. Ils ont de longs cils et sont traversés par des vaisseaux parastigmatiques ; leur nombre par rang atteint 10 à 12.

De la partie inférieure du pharynx part l'œsophage qui se replie en arc et entre dans l'estomac suivi d'un long intestin débouchant dans le cloaque. Les parois de l'œsophage, de l'intestin et de l'estomac sont formées d'un épithélium cilié. Dans l'estomac, débouche le canal de la glande pylorique dont les branches enlacent l'intestin. Ce canal possède un réservoir sphérique à parois minces qu'on distingue très bien sur les préparations *in toto* (Fig. 6).

Entre le pharynx et l'anse intestinale, l'épiderme forme un pli s'enfonçant en arrière, qui marque la limite du thorax et de l'abdomen. Ces régions ne sont pas différenciées dans la partie postérieure de la larve. A ce niveau, entre les organes internes et l'épiderme, il reste un espace libre, assez grand, de forme conique, se rétrécissant vers l'arrière. Au cours de la métamorphose, la queue se rétracte dans cet espace.

Le cœur est situé dans l'abdomen, à gauche de l'estomac ; il a

la forme d'une gouttière à deux couches dont les bords se rejoignent vers le bas. Les deux épocardes ne communiquent déjà plus avec la cavité branchiale et ne lui sont qu'adjacents. D'après la description de Julin (1896), à la fin du développement embryonnaire de *Distaplia magnilarva*, le reste de l'épicaarde droit se fond avec l'épicaarde gauche. Dans la larve de *D. unigermis*, les épocardes sont différenciés, mais un canal étroit, partant du petit épicaarde droit, s'étend du côté ventral de l'œsophage, vers l'épicaarde gauche. La fusion des épocardes a lieu, probablement, plus tard. L'épicaarde gauche est très développé. Il descend dans l'abdomen où il forme un renflement recouvrant en partie l'orifice du cœur, dirigé vers l'arrière.

Les éléments mésenchymateux de la larve sont déjà différenciés en plusieurs catégories de cellules. On y distingue :

- 1) des amibocytes basophiles au noyau assez gros et à bordure étroite de cytoplasme basophile ;
- 2) des amibocytes caractérisés par un noyau plus petit et compact et par un cytoplasme clair, assez abondant ;
- 3) des cellules dont le cytoplasme contient des granules acido-philés réfringents. Elles abondent surtout entre l'épiderme et la tunique, à l'extrémité antérieure de la larve, dans la région de l'appareil adhésif ;
- 4) des cellules dont le cytoplasme, de couleur verdâtre, possède une structure granuleuse. Ces cellules, qui rappellent des vanadocytes, sont encore peu nombreuses et on les trouve surtout dans la tunique ;
- 5) parmi les cellules mésenchymateuses, on voit encore les cellules de « l'entoderme prégastral », surchargées de vitellus, tandis que dans les autres tissus, il n'en reste plus du tout.

Autres dérivés du mésenchyme, les desmocytes, cellules ramifiées, se relient par des prolongements fins entre elles et avec les différents organes internes et les muscles lisses des siphons et du thorax. Ces différents types de cellules sanguines et de cellules du tissu conjonctif se rencontrent aussi dans les larves de *Dendrodoa grossularia* (Ivanova-Kazas, 1948) à l'exclusion des cellules de « l'entoderme prégastral » qui semblent être une particularité de *Distaplia*. Chez *Dendrodoa*, la rapidité de digestion du vitellus par les tissus dépend de la rapidité des processus de différenciation histologique. Ce sont donc les dérivés du mésenchyme et les organes larvaires — muscles de la queue, système nerveux, organes adhésifs — qui perdent les premiers leur vitellus. La corde, seule, conserve beaucoup de vitellus qui joue, semble-t-il, le rôle de réserve de substance nutritive. En même temps, les ébauches des organes définitifs sont encore à l'état embryonnaire et renferment une grande quantité de vitellus (Ivanova-Kazas, 1949).

Les cellules de « l'entoderme prégastral » des *Distaplia* ne donnent pas l'impression d'être des cellules embryonnaires, conservant leur vitellus à cause de leur faible différenciation. On peut plutôt admettre que cette conservation du vitellus et son assimilation, lorsque les autres tissus l'ont perdu, est une fonction propre à ces cellules. Et comme en cas d'excès de vitellus, cette fonction est généralement remplie par l'entoderme, leur appellation est ainsi justifiée. Pourtant,

par leur comportement, ces cellules rappellent plutôt des éléments de tissu conjonctif : elles sont dispersées librement dans la cavité du corps et, au cours de la métamorphose, elles deviennent des phagocytes actifs.

Ainsi, chez la larve nageante de *D. unigermis*, tous les organes de la future Ascidie sont si bien différenciés qu'ils semblent prêts à fonctionner à tout moment. De même, la larve possède déjà les embryons des générations suivantes, sous forme de trois ou même cinq bourgeons secondaires, libres dans la tunique de la face ventrale, un peu à gauche de la ligne médiane. Parfois, ces bourgeons gardent leur position alignée, mais, souvent, ils se déplacent plus ou moins par rapport à leur position initiale. Deux bourgeons antérieurs, de

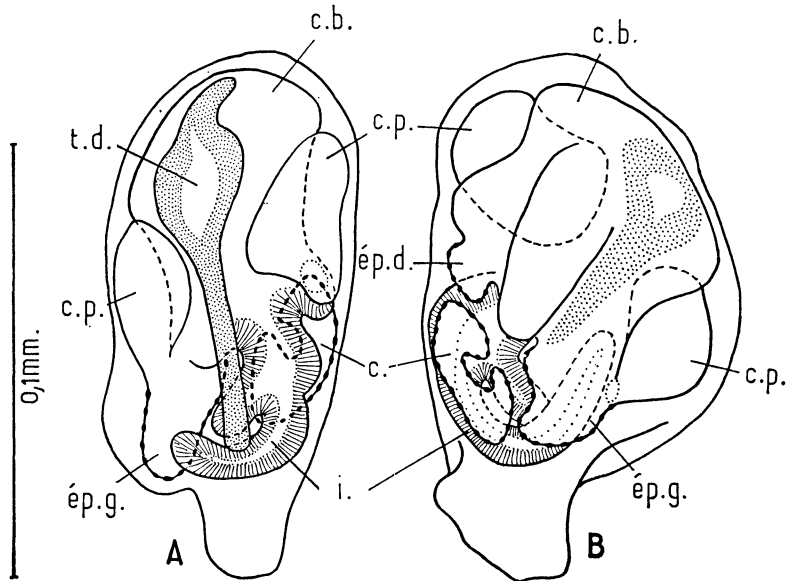


FIG. 7

Structure du blastozoïde le plus développé au stade larvaire.
A : du côté dorsal. - B : du côté ventral.

plus petite taille, se modifient très peu et le bourgeon postérieur acquiert la structure illustrée par la figure 7, A. Le tube dorsal s'élargit dans la partie antérieure, tandis que sa lumière disparaît dans la partie postérieure. A un stade plus avancé, le tube dorsal commence à se raccourcir (Fig. 7, B). D'après les observations de Brien (1939), les ébauches de gonades se développent à partir de la partie postérieure du tube dorsal. Cependant, chez *D. unigermis*, on n'observe aucun indice d'ébauche des organes génitaux, non seulement chez les premiers blastozoïdes, mais chez les zoïdes des jeunes colonies. Deux évaginations latérales du pharynx forment les cavités péribranchiales qui, dans leur partie postérieure, communiquent avec le pharynx. L'ébauche de la section digestive de l'intestin prend la forme d'un tube recourbé. Dans sa partie descendante, on voit un petit renflement : c'est l'ébauche de l'estomac d'où part un court

diverticule, l'ébauche de la glande pylorique. Les épicanthes du bourgeon se joignent par leurs extrémités distales et forment un tube en fer à cheval. Ensuite, ce tube se partage en trois morceaux : le petit épicanthe droit, l'épicanthe gauche, plus long et la vésicule du péricarde. Toutes ces ébauches sont très visibles sur la figure 7, B. Une des parois du péricarde est déjà un peu invaginée. Les deux épicanthes communiquent encore avec le pharynx et l'épicanthe gauche, en outre, avec la cavité péribranchiale gauche. L'épiderme du bourgeon présente une petite évagination à son extrémité postérieure : c'est l'ébauche du stolon vasculaire. Chez *D. unigermis*, le développement du blastozoïde se poursuit exactement de la même manière que le décrit Brien (1939) pour *D. magnilarva*. Ainsi, au moment de la naissance de la larve, son bourgeon le plus développé atteint déjà une structure assez compliquée.

Il faut également dire quelques mots de la participation des feuilletts germinatifs dans la formation et le développement ultérieur des bourgeons. Au moment où il s'isole, le bourgeon primordial se compose de deux couches épithéliales et des cellules mésenchymateuses situées entre elles. Au premier coup d'œil, ces couches rappellent les feuilletts germinatifs, mais elles ne correspondent pas, en réalité, aux couches du corps de l'embryon pendant son développement. Bien que la couche externe du bourgeon provienne de l'ectoderme et donne ensuite l'épiderme, elle n'est pas tout à fait identique à un ectoderme, car ses potentialités réelles sont beaucoup plus étroites et les organes ectodermiques typiques, tels que le système nerveux et les cavités péribranchiales, naissent au cours du développement d'une autre manière. On ne doit pas non plus identifier la couche interne du bourgeon à un endoderme, tout d'abord parce qu'elle se développe chez *Distaplia* à partir de l'épicanthe qu'on doit considérer comme un homologue du coelome, c'est-à-dire un mésoderme (chez les autres Ascidies, cette couche peut, au contraire, provenir de n'importe quel autre feuillet germinatif) et ensuite, parce que ses potentialités réelles sont beaucoup plus larges que celles de l'endoderme. Seules, les cellules mésenchymateuses restent inchangées et fournissent leurs dérivés habituels : les éléments du sang et du tissu conjonctif du blastozoïde. Ainsi, l'exemple de *Distaplia unigermis* nous montre encore une fois que, dans la reproduction asexuée, les propriétés des feuilletts germinatifs peuvent varier considérablement.

MÉTAMORPHOSE.

Les larves de *Distaplia* sont très actives et nagent avec rapidité. La période de nage libre dure de quelques minutes à un ou deux jours. Les larves se fixent volontiers aux parois de l'aquarium ou aux plantes aquatiques. La fixation s'effectue d'abord par une sécrétion des papilles adhésives, puis à l'aide de la tunique. Les papilles elles-mêmes dégénèrent bientôt. Chaque ampoule épidermique qui porte les papilles forme deux diverticules digitiformes, de sorte qu'il prend naissance de cette manière six ampoules qui, avec la couche de la tunique qui

les enveloppe, s'étendent sur le substrat et contribuent à la fixation. Quelques-unes de ces ampoules restent libres ou même croissent en hauteur. Elles sont reliées par des tigelles étroites ; deux tubes épidermiques partent du point de jonction vers l'abdomen de l'oozoïde : ce sont les vaisseaux de la tunique (ou le stolon vasculaire).

La rétraction de la queue est très rapide — 10 à 15 minutes. L'ensemble des organes de la queue ne se désagrège pas et pénètre en entier dans la partie postérieure du corps, s'enroulant en spirale ou

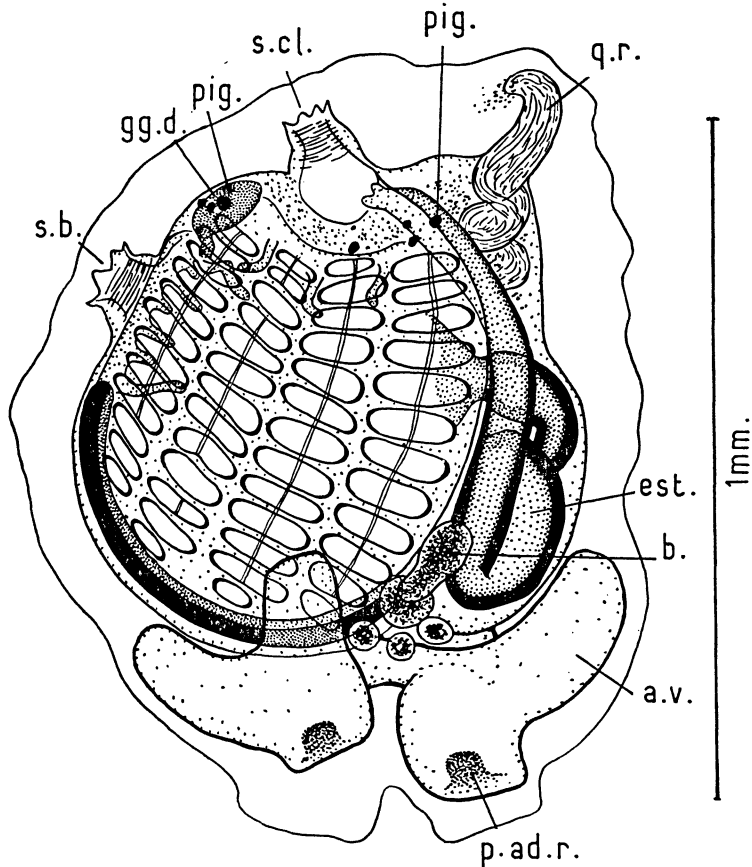


FIG. 8

Début de la métamorphose.

formant des courbes irrégulières (Fig. 8). La tunique qui enveloppe la queue se plisse à sa base et est rejetée.

La désagrégation du complexe axial rétracté des organes de la queue, commence à l'extrémité proximale et est accompagnée d'une phagocytose. Les images de phagocytose sont surtout visibles sur coupes colorées au Mallory. Dans les muscles où la destruction n'a pas encore commencé, se voient bien les myofibrilles, mais là où apparaissent déjà des indices de dégénérescence, les muscles se désagrègent sous forme de grumeaux de couleur rouge foncé qui sont

ensuite engloutis par les phagocytes. Souvent, le cytoplasme de ces derniers contient également des inclusions bleues du vitellus, ce qui nous permet d'identifier les éléments de « l'entoderme prégastral ». C'est là aussi que sont dispersés les restes de la corde, du système nerveux larvaire et les cellules pigmentaires isolées pendant la désagrégation de la vésicule cérébrale, tous éléments de couleur moins

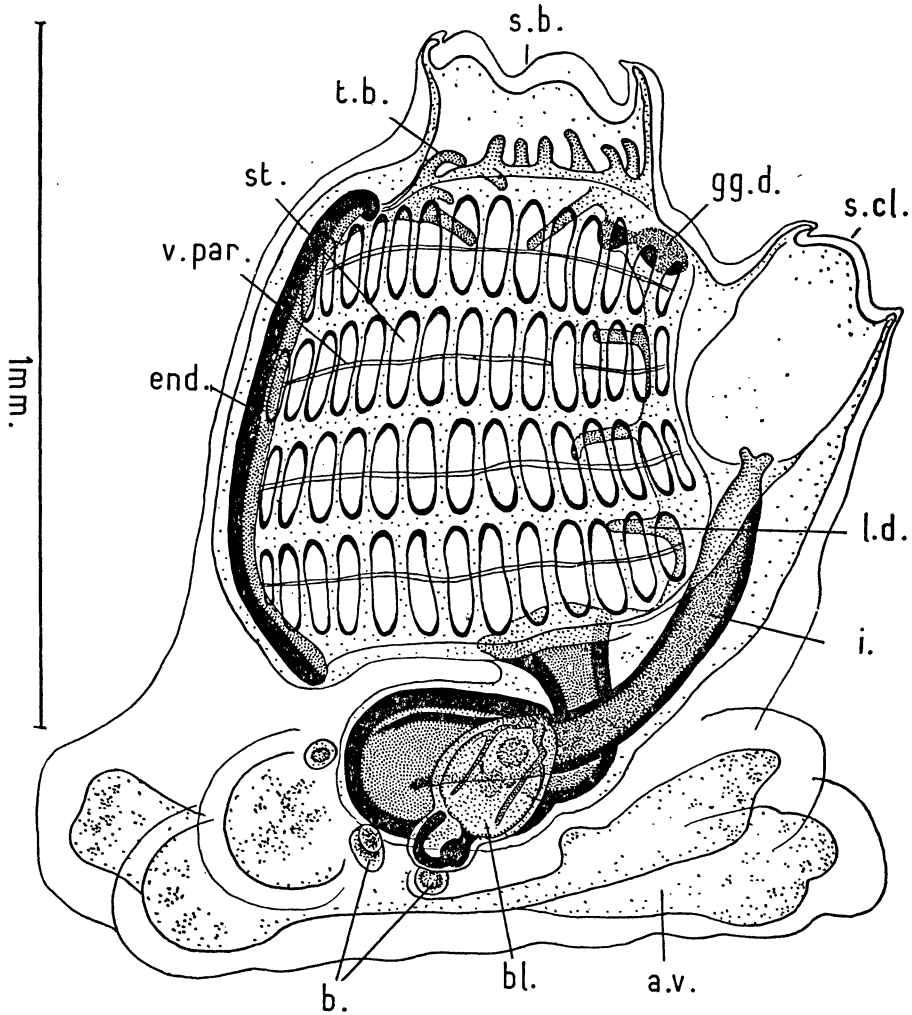


FIG. 9

Oozoïde au quatrième jour du développement post-embryonnaire.

vive. Au bout de trois jours, il ne reste des organes larvaires que de petits grumeaux de pigment qu'on trouve au voisinage du ganglion définitif, dans le sinus sanguin entre le pharynx et la cavité cloacale ou dans l'abdomen, ou, plus rarement, dans les ampoules extrêmes des vaisseaux de la tunique.

Déjà, pendant les premières heures après la fixation de la larve, la tunique bouche les siphons, s'ouvre et l'appareil pharyngo-intestinal

commence à fonctionner. Le corps de l'oozoïde qui se forme subit une rotation de 90° par rapport aux organes adhésifs, de sorte que le siphon buccal se dresse tout droit vers le haut. Il en résulte une petite Ascidie, souvent assez trapue (Fig. 9 et 10). Au cinquième jour de

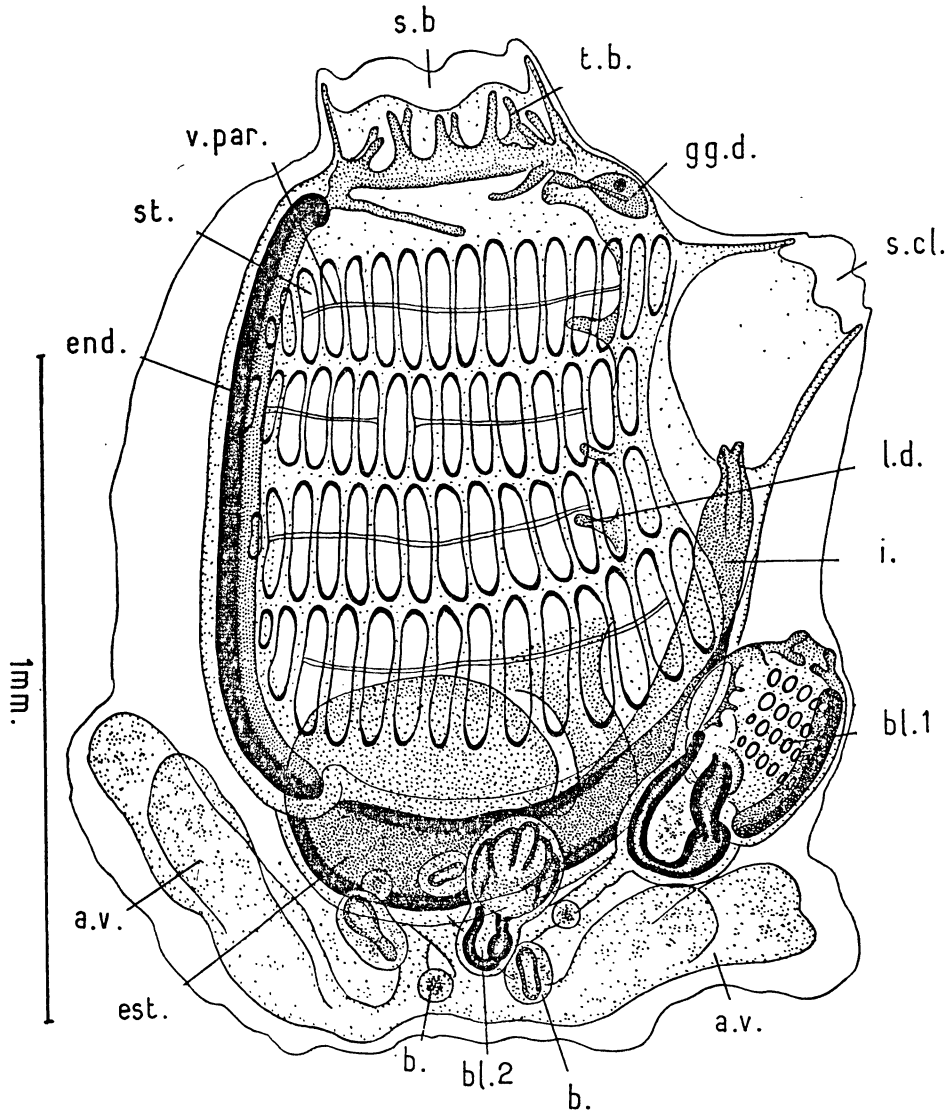


FIG. 10

Oozoïde au sixième jour du développement post-embryonnaire.

la métamorphose, l'oozoïde atteint la longueur de 1,4 mm (sans compter la partie du stolon qui peut être allongée ou très raccourcie), le thorax occupant 1,1 mm de la longueur. Le siphon cloacal est pourvu de six lobes. Le nombre des stigmates branchiaux atteint 14 à 16 pour chaque rang.

Les rapports entre l'organe cardio-péricardique et l'épicarde, déjà ébauchés chez la larve, acquièrent maintenant un sens physiologique précis. A ce stade, on ne peut pas distinguer l'épicarde droit, tandis que l'épicarde gauche est bien développé et forme un long sac qui s'étend de haut en bas. Son extrémité supérieure touche le fond de la cavité branchiale. Dans sa partie médiane, l'épicarde se dilate et couvre presque complètement un des orifices du cœur, enserrant ses bords et ne laissant libre qu'un petit passage qui conduit dans un espace étroit entre le cœur et l'épicarde (Fig. 11). L'extrémité inférieure de l'épicarde est fixée à l'épiderme, à l'endroit où le vaisseau gauche de la tunique débouche dans l'abdomen, de sorte que la cavité de ce vaisseau devient un prolongement direct de l'espace ménagé entre le cœur et l'épicarde et que nous avons décrit ci-dessus. Il en

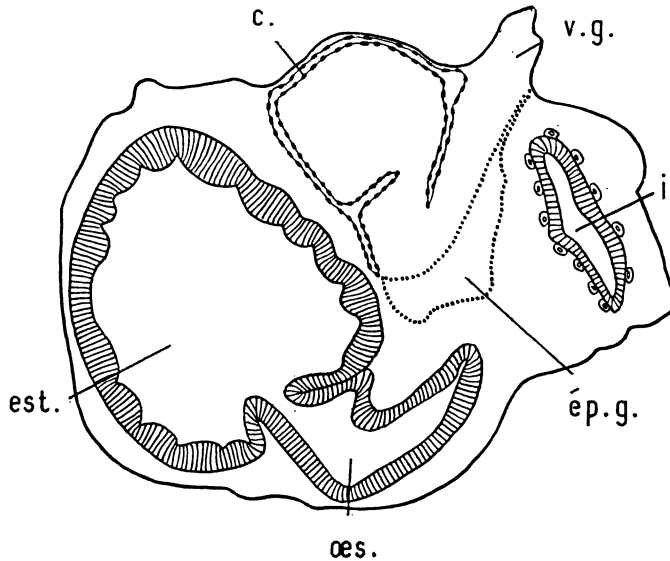


FIG. 11

Coupe transversale du post-abdomen de l'oozoïde (très schématisé).

résulte que, la direction du courant sanguin s'inversant périodiquement chez les Ascidies, le vaisseau gauche de la tunique joue alternativement le rôle d'artère principale ou de veine principale. Le vaisseau droit, pour sa part, débouche beaucoup plus bas dans l'abdomen et ne communique absolument pas avec le cœur. Il est vraisemblable que le sang, passant par le vaisseau gauche vers les ampoules, en revient par le vaisseau droit et inversement.

Parallèlement à la croissance de l'oozoïde, se poursuit le développement des bourgeons. Leur nombre augmente par des divisions ultérieures ; on peut souvent voir sur ces bourgeons un ou deux étranglements. Ceux qui se transforment en blastozoïdes se multiplient aussi. Les blastozoïdes se présentent à des stades différents de l'organogenèse suivant le moment du début de leur développement.

Au sixième jour de la métamorphose, le blastozoïde le plus développé atteint déjà un stade avancé. Ses siphons sont encore bouchés par la tunique mais le pharynx et la cavité péribranchiale communiquent déjà par quatre rangs de stigmates branchiaux. Le canal intestinal est déjà différencié en œsophage, estomac et intestin. La glande pylorique qui part de l'estomac, enlace l'intestin avec ses ramifications et son canal réservoir. L'endostyle, l'œsophage et les stigmates sont déjà munis de cils. Le neuropile est déjà visible dans le ganglion nerveux du blastozoïde le plus développé. L'ébauche de la glande neurale qui débouche dans le pharynx, est reliée au ganglion. Les siphons et le thorax possèdent des muscles lisses. Parmi les éléments sanguins, on peut distinguer des lymphocytes de deux types différents et des cellules vertes. Dans l'anse intestinale se trouve

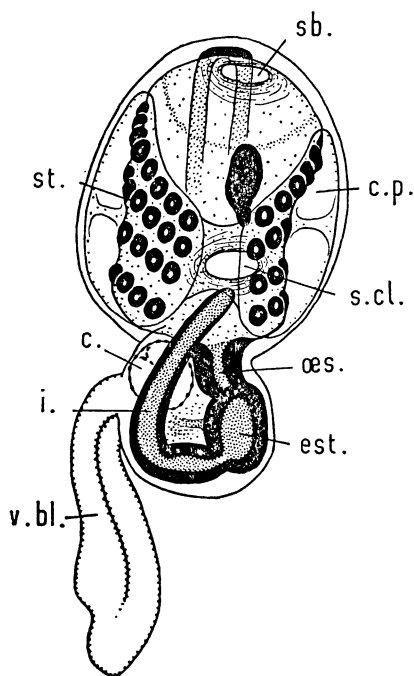


FIG. 12

Blastozoïde le plus développé au cinquième jour de la métamorphose.

le cœur et — des deux côtés de l'œsophage — les épocardes qui ne communiquent plus avec la cavité branchiale. L'épicarde droit est très petit et sa partie inférieure est reliée à l'épicarde gauche par un pont transversal, ventral par rapport à l'œsophage.

Le thorax et l'abdomen sont séparés par un étranglement. De l'abdomen part une longue tigelle tubulaire dont l'ébauche était déjà indiquée dans le bourgeon le plus développé de la larve. Chez les blastozoïdes les mieux différenciés, cette tigelle se divise en deux tubes parallèles communiquant à l'extrémité distale. Cette division se fait par aplatissement et soudure des parois opposées et la double tigelle correspond aux vaisseaux de la tunique (Fig. 12). Les rapports entre le cœur, l'épicarde et un des vaisseaux du blastozoïde sont les mêmes que chez l'oozoïde.

L'extrémité distale des vaisseaux du blastozoïde s'approche du vaisseau gauche de l'oozoïde et forme un renflement qui s'étend le long du vaisseau, vers le haut et vers le bas et l'enveloppe latéralement, de sorte que, sur coupe transversale, il a la forme d'un fer à cheval (Fig. 14). Les parois des vaisseaux sont un épithélium très mince aux noyaux compacts aplatis. Mais, à l'endroit où ils se rapprochent, leurs parois s'épaississent, les noyaux des cellules s'arrondissent, grandissent et deviennent moins compacts. Dans les noyaux du blastozoïde se distinguent aussi des nucléoles. Les deux couches épithéliales ne sont pas en contact direct et laissent entre elles une couche intermédiaire de la tunique transformée qui ressemble au tissu conjonctif fibreux et dans laquelle ne se trouvent plus les cellules vésiculeuses typiques des autres parties de la tunique (Pl. I, A).

Ces particularités histologiques de l'épithélium des vaisseaux au niveau où ils se rapprochent et au niveau de la tunique qui les sépare,

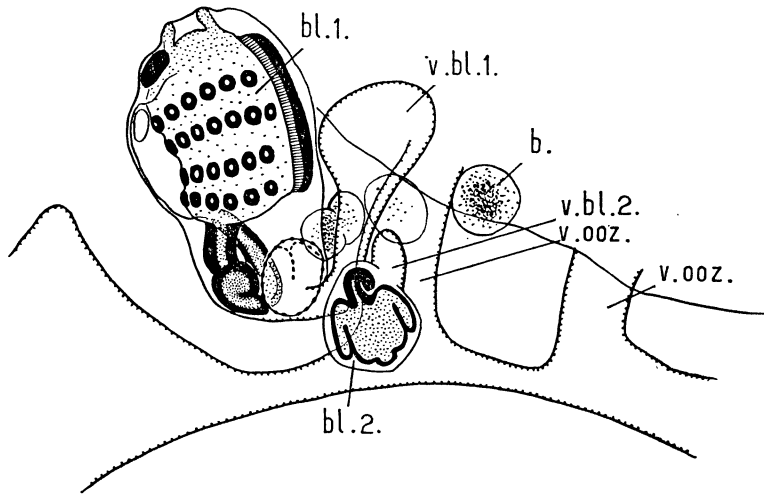


FIG. 13

Rapports entre les vaisseaux de la tunique, de l'oozoïde et des blastozoïdes.
D'après une préparation *in toto*.

montrent qu'ils ont, à cet endroit, des fonctions particulières. On peut penser que le contact encore établi entre l'oozoïde et les blastozoïdes assure leur approvisionnement en matières nutritives et en oxygène et le rejet des déchets nuisibles du métabolisme, comme le fait le placenta des Mammifères avant qu'ils ne puissent accomplir ces fonctions directement.

Normalement, un tel « contact placentaire » s'établit entre le blastozoïde le plus développé et le vaisseau gauche de l'oozoïde et, en général, la plupart des bourgeons se groupent autour de ce vaisseau gauche. Le fait s'explique facilement si l'on considère la liaison du vaisseau gauche avec le cœur, indiquée ci-dessus, qui y garantit une circulation énergique de sang. Mais, il peut arriver que le « pédicule placentaire » du blastozoïde se fixe au vaisseau droit ou même, directement, à l'abdomen de l'oozoïde (Fig. 13).

L'existence d'une liaison physiologique étroite entre les vaisseaux de l'oozoïde et ceux du blastozoïde est une des plus intéressantes particularités du bourgeonnement de *Distaplia*, qui a échappé à l'attention de tous les chercheurs sauf Salensky (1893). Mais, ce dernier a admis par erreur l'existence d'une communication directe entre les vaisseaux et la possibilité du passage des cellules sanguines de l'oozoïde vers le blastozoïde, spécialement intense à son avis, pendant la dégénérescence de l'oozoïde. Conformément à cette hypothèse, Salensky nommait stolon nourricier les vaisseaux de la tunique.

En ce qui concerne la nature morphologique des vaisseaux du blastozoïde, Brien (1939), admettant évidemment leur homologie avec la section correspondante du corps, les appelle post-abdomen, tandis que Berrill (1935) pense que ces vaisseaux partent du stolon impair dans lequel pénètre l'épicarde et décrit même la formation des bour-

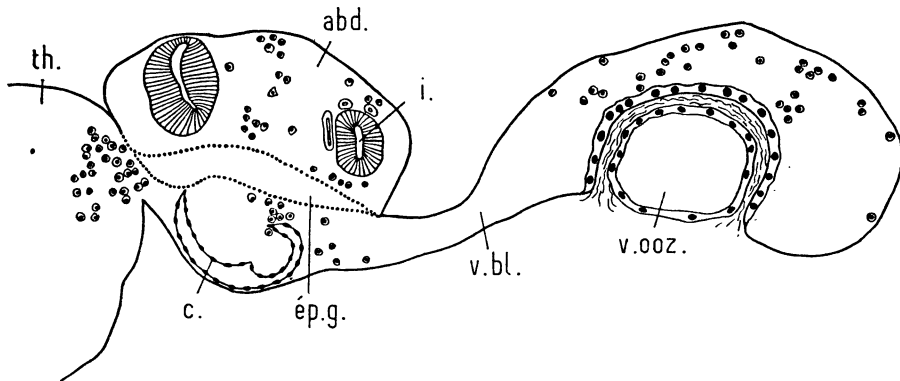


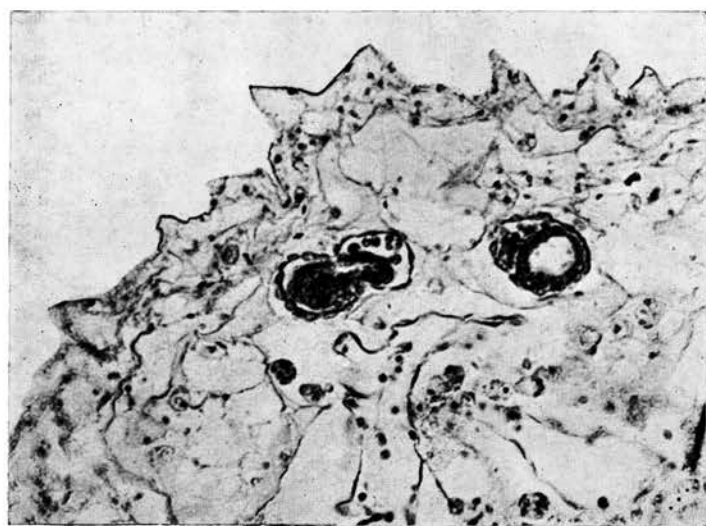
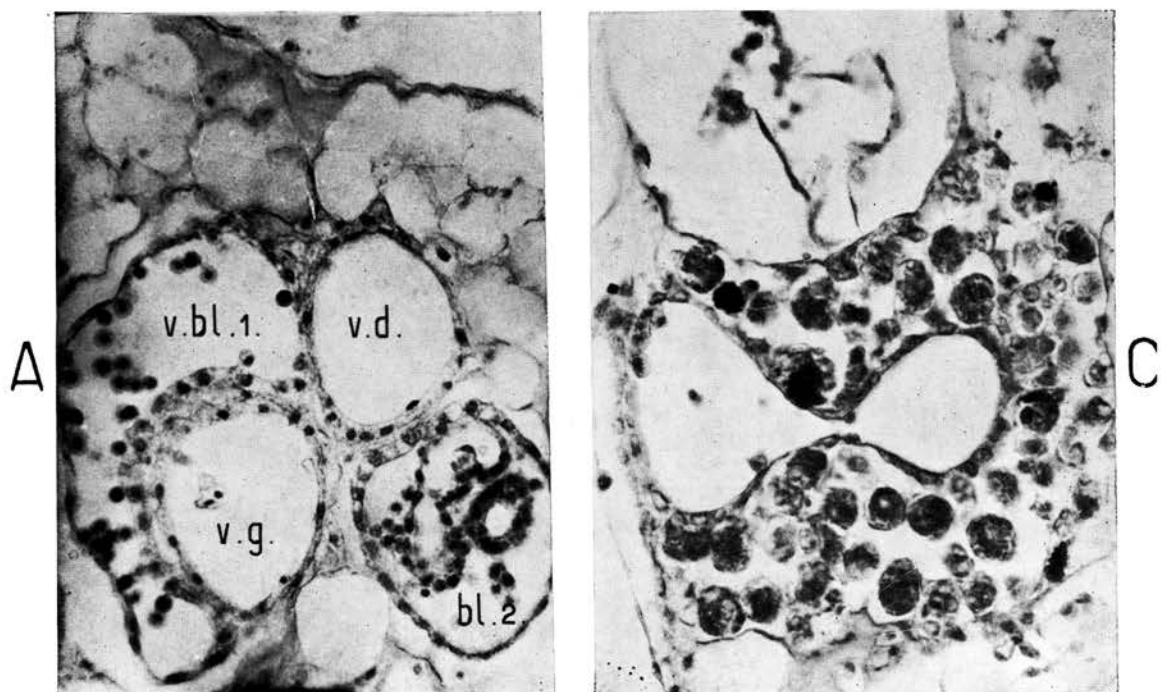
FIG. 14

Coupe longitudinale de l'abdomen et de la « tigelle placentaire » du blastozoïde. Représentation schématique.

geons de ce stolon comme d'un stolon prolifère. Cependant, nous avons montré plus haut que l'épicarde n'entre pas dans les vaisseaux et ne fait que diriger le courant sanguin du cœur dans l'un d'eux (ou vice versa).

Des structures semblables à celles du placenta dans la reproduction asexuée sont un phénomène très rare.

Doliolida représente le seul exemple d'une semblable fixation secondaire du bourgeon à l'organisme maternel. Comme l'ont montré Uljanin (1884) et d'autres après lui, l'oozoïde de *Doliolum* possède, sur la face ventrale, un stolon prolifère d'où se libèrent de nombreux bourgeons. Ceux-ci sont saisis par des cellules amiboïdes qui les transportent sur un stolon dit dorsal. Les bourgeons s'y fixent et donnent des blastozoïdes de structure et de fonctions variées. L'épithélium de la tigelle par laquelle le blastozoïde se fixe au stolon et l'épithélium du stolon lui-même s'épaississent ; c'est pourquoi Brien (1948) a pu nommer le siège de la fixation « placenta épithélial ».



O.M. IVANOVA-KAZAS

B

PLANCHE I
Distaplia unigermis.

- A. - Contact placentaire des vaisseaux de l'oozoïde et des blastozoïdes ($\times 600$).
 B. - Bourgeon au moment de la division dans la tunique d'une jeune colonie au dixième jour du développement post-embryonnaire ($\times 240$).
 C. - Entassement de phagocytes au voisinage des vaisseaux de la tunique (600) (*Microphotographies*).

FORMATION DE LA COLONIE
ET SUCCESSION DES GÉNÉRATIONS DE ZOÏDES.

L'oozoïde de *D. unigermis* ne maintient son activité que pendant 7 à 11 jours, après quoi il dégénère. A ce moment, le nombre total des bourgeons atteint 15 à 20. Sur coupes, les jeunes Ascidiés présentent assez souvent des bourgeons en état de division, ce qui montre que le processus de reproduction asexuée se poursuit (Pl. I, B). Nous avons observé un cas où, au dixième jour de la métamorphose, il y avait 23 bourgeons dont 12 se trouvaient aux différents stades du développement progressif.

Le début de fonctionnement du premier blastozoïde se produit entre la sixième et la neuvième journée du développement post-embryonnaire ; un à trois blastozoïdes ont ainsi encore le temps d'achever leur développement pendant la vie de l'oozoïde. Il apparaît alors une petite colonie de deux à quatre individus fonctionnels et de nombreux bourgeons. La figure 15 montre une telle colonie au dixième jour de sa métamorphose. Elle se compose de deux zoïdes fonctionnels (oozoïde et blastozoïde) ; on y distingue, en outre, quatre bourgeons, aux différents stades de l'organogenèse et sept bourgeons « indifférents », c'est-à-dire dont l'aspect ne permet pas d'affirmer s'ils vont progresser ou se fragmenter.

Les premiers blastozoïdes diffèrent peu de l'oozoïde ; on peut reconnaître ce dernier à la présence, dans l'abdomen, de petits grumeaux de pigment noir, restes des organes des sens larvaires.

Lorsque l'oozoïde commence à disparaître, son corps se contracte, les siphons se bouchent et se rétractent, la circulation d'eau cesse et l'oozoïde ne réagit plus à l'attouchement. Puis, il descend vers la base de la colonie et se désagrège. Ce processus ne modifie pas sensiblement l'aspect de la colonie car il évolue très vite et peut même passer inaperçu si l'observation *in vivo* n'est pas très poussée. Cependant, sur préparations *in toto* et sur coupes, les restes de l'oozoïde en dégénérescence sont très visibles. La figure 16 représente une jeune colonie où ne fonctionne qu'un blastozoïde, tandis que l'oozoïde a déjà dégénéré.

On peut voir, sur les coupes, que pendant la dégénérescence de l'oozoïde, son thorax se désagrège d'abord en cellules séparées arrondies qui deviennent ensuite la proie des phagocytes. Ceux-ci s'amassent entre les vaisseaux et la tunique (Pl. I, C) et on peut penser que les matériaux nutritifs, libérés à la suite de la digestion intracellulaire, sont utilisés par les bourgeons en développement. Puis, les phagocytes se dispersent dans la tunique et leur nombre diminue peu à peu. L'abdomen de l'oozoïde s'isole du thorax et devient un corps ellipsoïdal clos, du fond duquel apparaissent par transparence les restes jaunâtres de l'intestin et les grumeaux du pigment larvaire. Les parois des organes qui le composent s'amincissent et se colorent mal. L'abdomen peut rester assez longtemps dans cet état dans la tunique où il se

résorbe peu à peu. Il est, enfin, rejeté dehors. Il est intéressant de noter que, si l'on introduit dans une jeune colonie du carmin additionné d'eau de mer, les petites particules du colorant sont phagocytées

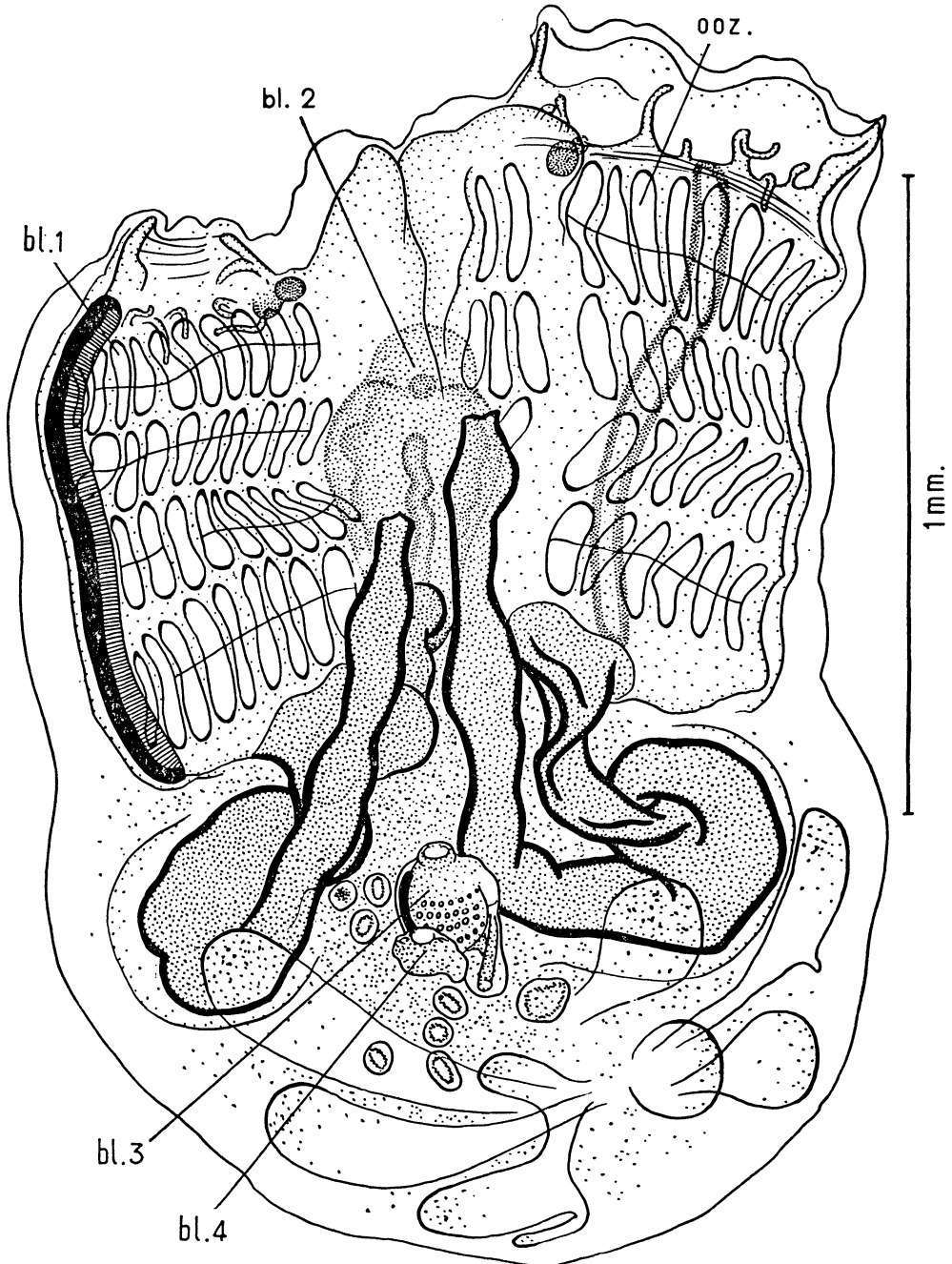


FIG. 15

Une jeune colonie au dixième jour de la métamorphose.

et les phagocytes, contenant le carmin, sont surtout visibles au voisinage des vaisseaux de la tunique et dans la tunique elle-même, comme au cours de la résorption du thorax. Des capsules, formées de plusieurs couches de cellules, enveloppent les amas plus considérables de carmin,

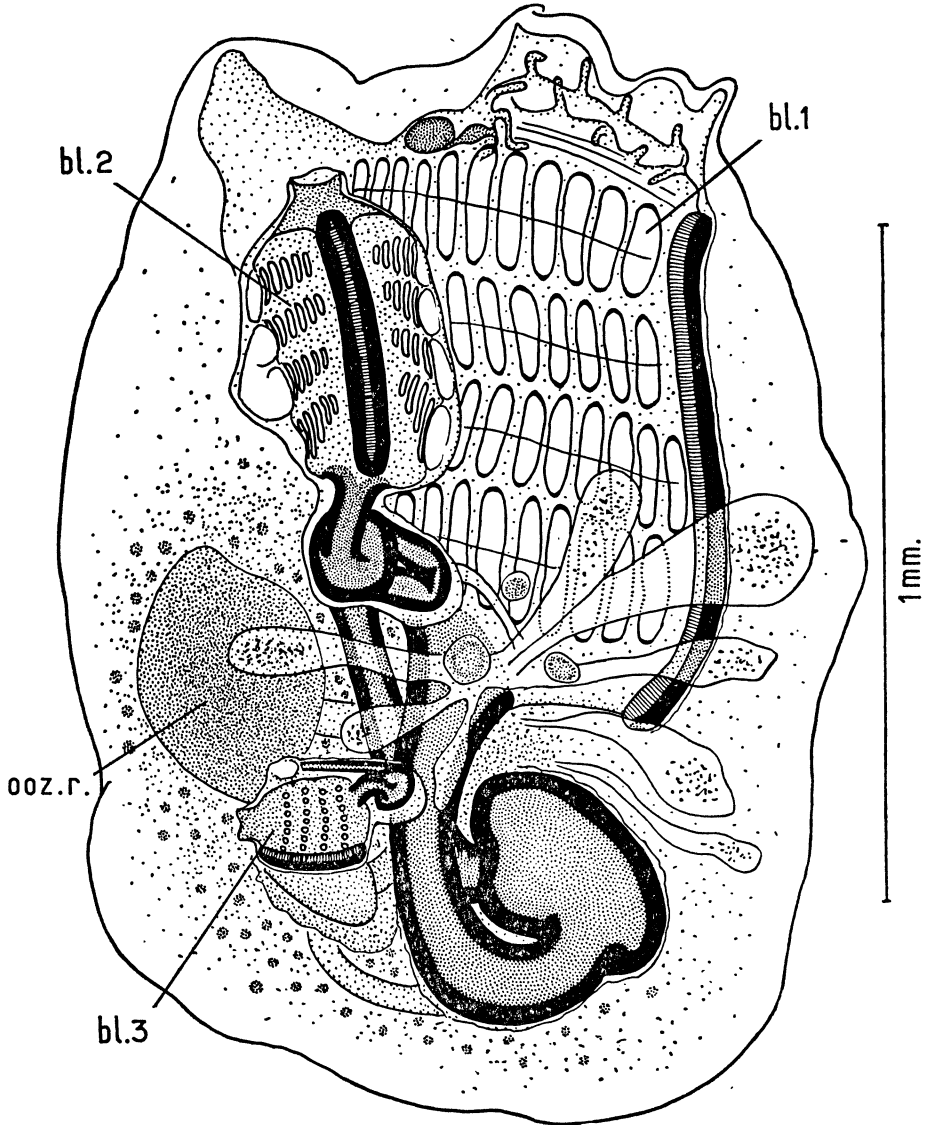


FIG. 16

Dégénérescence de l'oozoïde (dixième jour de la métamorphose).

après quoi ces amas capsulés sont rejetés par la tunique, comme cela se passait avec l'abdomen en dégénérescence.

Les vaisseaux de l'oozoïde et des blastozoïdes forment, à la base de la jeune colonie, un plexus compliqué, dans lequel il est assez

difficile de s'orienter. Apparemment, la plupart des vaisseaux de l'oozoïde sont détruits ; mais il m'a semblé que les ampoules terminales se conservent et se joignent aux vaisseaux des blastozoïdes. On n'observe jamais d'anastomoses entre les vaisseaux des zoïdes vivants. Au cours de la destruction des vaisseaux, il est naturel que le « placenta » disparaisse aussi. Il est possible qu'à ce moment les blastozoïdes se mettent à utiliser, pour leur nutrition, les produits phagocytés. Aussi voit-on parfois s'établir des liaisons « placentaires » entre les blastozoïdes déjà développés et les blastozoïdes plus jeunes. Ces liaisons « placentaires » sont assez rares dans les colonies mûres et il semble que ces rapports entre zoïdes des différentes générations ne soient caractéristiques que des premiers stades de la formation de la colonie.

De tous les auteurs qui ont étudié le développement de *Distaplia magnilarva*, seul Salensky (1893) a donné une description de la dégénérescence de l'oozoïde. D'après cet auteur, la destruction de la larve commence immédiatement après la fixation. Pendant la métamorphose, se produisent deux processus parallèles : la désagrégation du corps de la larve (oozoïde) et le développement de l'un des bourgeons, de sorte que, lorsque la larve disparaît entièrement (ce qui nécessite près de trois semaines), le blastozoïde prend sa place. Salensky, semble-t-il, n'a pas observé la nutrition et la respiration actives de l'oozoïde, ce qui est en contradiction avec les données de tous les auteurs ultérieurs. Il a décrit la désagrégation des organes larvaires en cellules isolées dont quelques-unes (par exemple, celles de l'épiderme) deviennent amiboïdes. La plupart de ces cellules se transforment en mésenchyme, d'autres (par exemple, les cellules musculaires) dégèrent et sont phagocytées. Salensky a observé également la sortie des phagocytes, des cellules amiboïdes ectodermiques et d'autres éléments cellulaires, dans la tunique. L'appareil adhésif de la larve se transforme, d'après le même auteur, en un « système de stolons nourriciers » auquel se soude le stolon du bourgeon développé. Au travers de ces vaisseaux, les éléments cellulaires de la larve passent dans le bourgeon. Cette description montre que Salensky admettait le maintien à l'état vivant de la plupart des cellules de l'oozoïde et leur passage direct au blastozoïde. Cependant, nous ne pouvons pas partager cette opinion : nous avons déjà vu que les cellules du thorax de *D. unigermis* deviennent la proie des phagocytes qui s'amassent autour des vaisseaux, mais n'y pénètrent jamais et que l'abdomen en dégénérescence s'élimine complètement. Il est possible que les ampoules terminales, contenant des hémocytes seules, puissent passer directement de l'oozoïde au blastozoïde, mais cela reste à prouver.

Nous citons ci-dessous des données chronologiques du développement d'une des colonies de *D. unigermis* observées par nous :

24 juillet 1964	sortie de la larve de la colonie maternelle, fixation et commencement de fonctionnement de l'oozoïde.
31 juillet 1964	début de fonctionnement du premier blastozoïde.
3 août 1964	début de fonctionnement du second et du troisième blastozoïdes.
4 août 1964	dégénérescence de l'oozoïde.

6 août 1964	début de fonctionnement du quatrième blastozoïde.
9 août 1964	début de fonctionnement du cinquième blastozoïde.
12 août 1964	début de fonctionnement du sixième et du septième blastozoïdes.
13 août 1964	dégénérescence du premier blastozoïde.

Il résulte de ces observations que la vie des blastozoïdes ne dure jamais moins de 12 jours.

Les premiers stades de développement de la colonie de *Distaplia* ont été décrits par les auteurs de façons différentes. D'après Uljanin (1885), Salensky (1893) et Berrill (1935, 1948), l'oozoïde dégénère avant que le premier blastozoïde n'ait atteint sa maturité et, par conséquent, il a l'existence d'une Ascidie isolée, ne s'associant jamais à la colonie. Pour *D. rosea*, Berrill (1948) définit par les termes suivants les différentes phases du développement post-embryonnaire : période de nage active de la larve (deux heures), période s'étendant du moment de la fixation de la larve au commencement du fonctionnement de l'oozoïde (5 jours), période de vie active de l'oozoïde (16 à 24 jours), période de dégénérescence de l'oozoïde (12 à 24 heures), période du développement ultérieur du blastozoïde (10 à 15 jours), durée de la vie du premier blastozoïde (8 à 10 jours).

Par contre, Della Valle (1881), Julin (1896) et Salfi (1933) considèrent que la vie de l'oozoïde est plus longue et qu'il devient le premier membre de la colonie. D'après Julin, l'oozoïde de *Distaplia* recommence même à bourgeonner une seconde fois. Julin donne le nom de stolon panblastique au bourgeon primordial et il le considère comme l'homologue du stolon prolifère du cyathozoïde de *Pyrosomida*, du stolon ventral de *Doliolida* et de *Salpa*. Il prétend qu'après la métamorphose commence l'action du stolon méroblastique d'où se détachent successivement un ou plusieurs bourgeons ; ces bourgeons ne se fragmentent pas et donnent directement des blastozoïdes de seconde génération. Cette hypothèse d'un deuxième bourgeonnement de l'oozoïde n'a pas été confirmée et ne présente maintenant qu'un intérêt purement historique.

Nos observations sur la durée de la vie de l'oozoïde et de *D. unigermis* et sur sa coexistence, bien que courte, avec les blastozoïdes fonctionnels, s'accordent avec celles de Della Valle, Julin et Salfi et sont en contradiction avec celles de Uljanin, Salensky et Berrill. Il m'est arrivé également de voir parfois une dégénérescence précoce de l'oozoïde (voir ci-dessous), mais le fait coïncidait généralement avec un retard dans le développement des bourgeons et dans la croissance de toute la colonie, amenant souvent sa destruction ; si bien qu'on ne peut considérer ce type de développement comme normal. Peut-être Uljanin, Salensky et Berrill ont-ils observé des colonies se formant dans des conditions défavorables.

DÉGÉNÉRESCENCE PRÉCOCE DE L'OOZOÏDE.

Comme nous l'avons déjà montré, se produit quelquefois une dégénérescence précoce de l'oozoïde, à un stade où aucun des blastozoïdes n'est encore arrivé à un état fonctionnel. Il semble que ce fait soit en rapport avec des conditions de milieu défavorables. Bien entendu, la dégénérescence des colonies peut également avoir lieu, aux stades plus avancés, sous l'influence de facteurs externes. En cas de dégénérescence prématurée de l'oozoïde, l'aspect externe de la jeune colonie change beaucoup ; comme les siphons de l'oozoïde et les prolongements munis d'ampoules de la tunique, qui servent

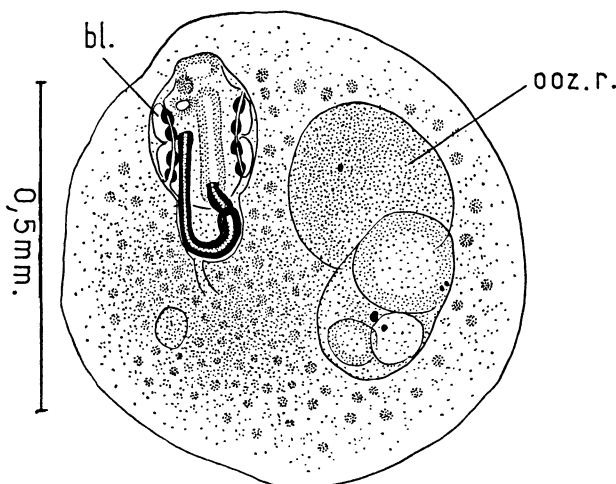


FIG. 17

Dégénérescence précoce de l'oozoïde

à la fixation du substrat, se rétractent, la colonie devient un corps sphérique opaque. Sur de telles colonies vivantes, on ne peut rien discerner. Sur préparations *in toto*, on peut voir les restes de l'oozoïde, un grand nombre de phagocytes dispersés dans la tunique et un à deux bourgeons (Fig. 17). Si le processus de dégénérescence atteint les bourgeons, tout s'achève par la destruction de la jeune colonie.

Nous avons constaté une seule fois pareille dégénérescence prématurée au sixième-septième jour de la métamorphose pour un grand groupe d'Ascidiés. Une partie a péri, mais certaines ont commencé une « régénération » au quatorzième-dix-septième jour de la métamorphose ; un blastozoïde a achevé son développement et a commencé à fonctionner. La figure 18 représente une colonie qui « régénère » et on y voit le blastozoïde à un stade avancé de son organogenèse. En comparant les figures 15 et 16, on peut en conclure que les facteurs défavorables causent, non seulement la destruction précoce de

l'oozoïde, mais retardent également le développement des blastozoïdes et la croissance de toute la colonie. Il est à noter que les bourgeons possèdent une plus grande résistance aux facteurs défavorables.

Des observations analogues sur *D. magnilarva* ont été faites par Brien (1939) qui note que, dans le cas d'une régression prématurée de l'oozoïde, toute la colonie commence à se détruire, après quoi le blastozoïde le plus vieux remplace l'oozoïde.

Plusieurs auteurs ont insisté dans leurs travaux, sur les phénomènes de dégénérescence provoqués par des influences défavorables ou par une intervention chirurgicale. Nous n'examinerons que les données de Huxley (1921, 1925) et Spek (1927) qui donnent, sur plusieurs points, des résultats analogues à ce qu'on peut observer chez

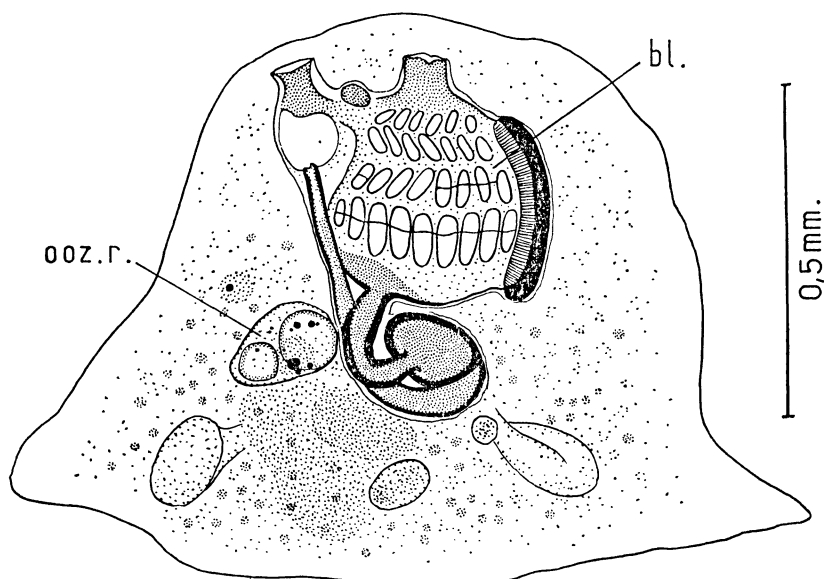


FIG. 18

« Renaissance » après la dégénérescence précoce de l'oozoïde.

Distaplia, mais qui traitent leurs données d'un point de vue totalement opposé.

Huxley a observé chez *Perophora viridis* (1921) puis chez *Clavelina lepadiformis* (1925), les phénomènes de dégénérescence provoqués par l'accumulation, dans les aquariums, des produits toxiques du métabolisme. Chez *Perophora*, les zoïdes sont plus sensibles aux agents toxiques que le stolon, ce que l'auteur explique par leur plus grande activité physiologique. Chez *Clavelina*, dans des conditions défavorables, les zoïdes adultes et ceux de la nouvelle génération périssent, mais les plus jeunes individus se différencient et peuvent régénérer si les conditions s'améliorent. Ces observations s'accordent bien avec la plus grande résistance des bourgeons de *Distaplia* par rapport aux oozoïdes adultes, ce qui a été noté ci-dessus. Huxley suppose que les influences altérantes causent d'abord la différenciation (réduction) qui se manifeste par la simplification de la forme de l'animal et

son raccourcissement, par la disjonction des diverses parties et la dédifférenciation histologique. Les cellules s'arrondissent alors ou affectent une forme cubique. L'animal se transforme enfin en une masse sphérique. Chez *Perophora*, ces « sphéroïdes » ne peuvent plus se retransformer, il s'ensuit une véritable dégénérescence suivie de la mort ; c'est ainsi que se produit la disparition naturelle des zoïdes. *Clavelina* est plus viable : tant qu'il subsiste dans la masse sphérique un certain nombre de cellules mésenchymateuses vivantes, il reste une possibilité de formation de nouveaux individus à partir de ces cellules. La dédifférenciation est souvent accompagnée d'une résorption : la masse des cellules est alors expulsée des tissus et des organes et passe dans le courant sanguin. Ces cellules pourront être utilisées lorsque les nouveaux zoïdes se développeront.

Ces descriptions de Huxley rappellent celles de Salensky. En ce qui concerne Huxley, il est remarquable qu'il attache une grande importance aux phénomènes de dédifférenciation et de redifférenciation, en admettant que presque tous les tissus des Ascidies sont capables de remaniements profonds. Mais, en même temps, il ne prend pas en considération l'activité des phagocytes et ne mentionne la phagocytose que comme un phénomène secondaire, propre surtout aux animaux supérieurs.

Spek (1927) décrit tout autrement les processus de la « réduction » et de la « régénération » de *Clavelina*. Il attribue le rôle principal aux cellules amiboïdes spéciales, caractérisées par la présence dans leur cytoplasme, d'une ou plusieurs gouttes de substance protéique, fortement colorable par le rouge neutre. Il considère ces « Tropfenzellen » comme des éléments omnipotents, tout à fait nécessaires au bourgeonnement, la régénération et les autres processus de développement. Au moment de la « réduction », le corps de la *Clavelina* se transforme en un sac épithélial rempli de « Tropfenzellen ». Les organes en dégénérescence sont complètement lysés sans la participation de phagocytes et les « Tropfenzellen » restent intacts. Les « corps réduits » qui en résultent sont capables, comme des bourgeons d'hiver, de donner naissance à un nouvel individu. C'est le phénomène désigné par Tokin (1959) sous le nom d'« embryogenèse somatique ».

Nous avons donc mis en évidence deux opinions diamétralement opposées concernant les mêmes phénomènes dans une même espèce. Il semble que ces deux opinions représentent des vues extrêmes assez mal fondées. Un seul fait reste incontestable, c'est que la *Clavelina*, après une destruction profonde, garde un certain nombre de cellules viables aux dépens desquelles la formation d'un individu nouveau est possible. En ce qui concerne *D. unigermis*, une sorte de « dédifférenciation » du type décrit par Huxley commence au cours de la dégénérescence des zoïdes : le corps se divise en gros fragments correspondant aux segments principaux du corps. Plusieurs tissus se désagrègent et donnent des cellules isolées qui s'arrondissent ; mais, plus tard, tous ces produits de dégénérescence sont phagocytés ou expulsés du corps et ne participent pas à la formation de nouveaux individus. Nous n'avons pas découvert non plus chez *D. unigermis* de cellules de réserve omnipotentes. Les processus de dégénérescence sont encore plus irréversibles chez *Distaplia* que chez *Perophora*. La « régénération », après la période de dépression, ne peut être possible que

grâce à une plus grande résistance des blastozoïdes. Avec les données dont nous disposons actuellement, il nous est difficile de savoir jusqu'à quel point *Distaplia* est capable d'embryogenèse somatique.

DISTRIBUTION DES ZOÏDES
DANS UNE COLONIE DE *DISTAPLIA* EN DÉVELOPPEMENT.

Les colonies animales sont caractérisées, non seulement par le nombre plus ou moins grand d'individus qui les composent, mais

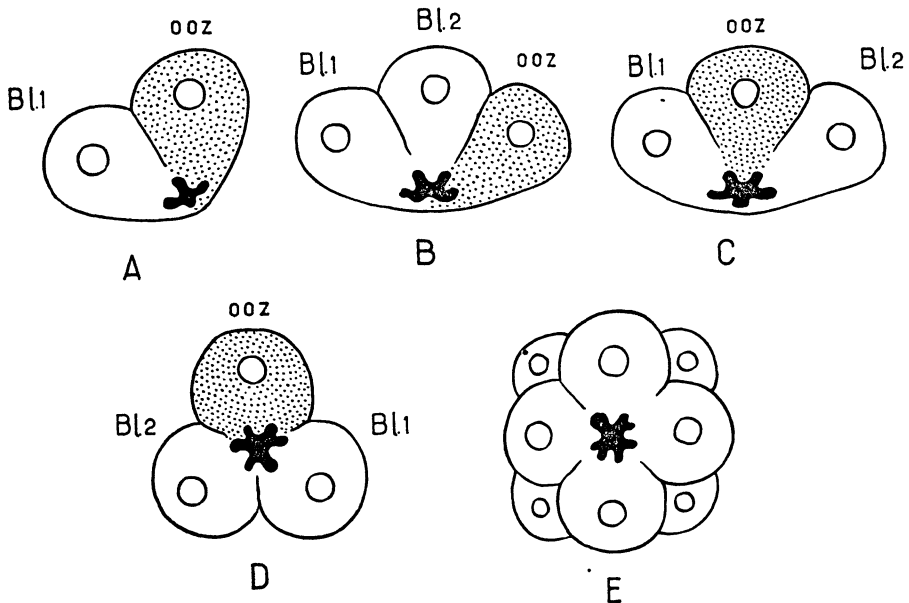


FIG. 19

Schéma montrant la disposition réciproque des zoïdes dans une colonie en formation (l'oozoïde est en pointillé).

aussi par leurs relations dans l'espace et leur physiologie. Dans une colonie de *Distaplia* achevée, on trouve ce qu'on appelle des systèmes, qui sont des groupes annulaires composés de six à quatorze individus dont les siphons cloacaux se réunissent au centre du système, formant un orifice cloacal commun. Lorsqu'un zoïde meurt, un nouveau prend sa place. Les systèmes peuvent croître par adjonction de nouveaux individus, mais d'une manière limitée. A mesure que la colonie grandit, de nouveaux systèmes apparaissent. Tous ces processus sont très intéressants parce qu'ils montrent l'intégration de la colonie et l'interdépendance de ses membres.

Comme nous l'avons dit plus haut, le bourgeon primordial, au moment de sa séparation, se tient dans la tunique de la larve, à gauche de la ligne médioventrale. Trois bourgeons secondaires apparus après la première fragmentation, forment d'abord un groupe linéaire

en gardant leur ancienne position, mais après la fixation de la larve, ils se placent près de la base de l'oozoïde. Leur nombre augmente et la régularité de leur disposition se rompt. Des bourgeons plus avancés, futurs blastozoïdes, se groupent autour des vaisseaux principaux de l'oozoïde, entrant en contact « placentaire » avec eux, mais leur disposition est tout d'abord très désordonnée. Ce n'est qu'à la fin de l'organogenèse qu'ils se disposent verticalement et prennent une place déterminée par rapport aux autres zoïdes, tournant vers eux leurs siphons cloacaux et faisant apparaître leurs endostyles.

Le blastozoïde le plus âgé se formant à partir du fragment postérieur du bourgeon primordial, occupe généralement (mais pas toujours) la place à gauche de l'oozoïde, en conservant sa position primitive. Son siphon cloacal se rapproche de celui de l'oozoïde et ils forment un cloaque commun. Ainsi apparaît le premier système composé seulement de deux zoïdes et, si on l'examine d'en haut, on voit que les trois orifices de la jeune colonie (deux orifices buccaux et un cloacal commun) forment un triangle (Fig. 19, A). Le deuxième blastozoïde apparaît aussi, le plus souvent du côté gauche, devant le premier, plus rarement à droite. Les quatre orifices de la colonie forment alors un groupe rhomboïdal et leur orifice cloacal commun est situé au voisinage d'un des angles obtus (Fig. 19, B et C). Le cloaque se déplace, plus rarement vers le centre et les siphons buccaux forment un triangle (Fig. 19, D). Quand le nombre de zoïdes fonctionnels atteint quatre, l'orifice cloacal commun est situé au centre (Fig. 19, E) ; les nouveaux blastozoïdes en croissance, occupent d'abord la position périphérique puis ils s'enclavent entre les anciens blastozoïdes. Si la dégénérescence de l'oozoïde est précoce, le blastozoïde le plus développé prend sa place et les autres se groupent dans le même ordre, près de ce blastozoïde ; si l'oozoïde dégénère après qu'un blastozoïde au moins a atteint sa maturité, sa place est occupée par le blastozoïde le plus rapproché. La formation de nouveaux systèmes n'a pas été observée directement. On peut supposer que, lorsque le nombre de zoïdes du système primaire atteint une valeur limite, les nouveaux ne peuvent plus s'y enclaver et se réunissent alors par deux ou trois, fondant ainsi de nouveaux systèmes.

Nous voyons donc que les bourgeons de *D. unigermis*, d'abord dispersés en désordre dans la masse de la tunique, s'y déplacent régulièrement, après quoi ils prennent une position déterminée. Il reste à savoir quelles forces extérieures font tourner leur siphon buccal vers le haut et les siphons cloacaux l'un vers l'autre et comment s'accomplissent ces rotations.

RAPPORTS ENTRE LES REPRODUCTIONS SEXUÉE ET ASEXUÉE CHEZ *DISTAPLIA*.

Lorsqu'une espèce animale possède deux modes de reproduction — sexuée et asexuée — leurs rapports peuvent être différents. Chez certaines espèces, les mêmes individus peuvent se reproduire par les deux moyens ; chez d'autres les différents modes caractérisent diffé-

rentes générations. D'après Brien (1939), *Distaplia* doit être placée parmi ces dernières : l'oozoïde ne se multiplie que par voie asexuée et engendre le bourgeon primordial dont, finalement, sont issus tous les blastozoïdes, qui se reproduisent seulement sexuellement.

Berrill (1935, 1948) interprète tout autrement les phénomènes. A son avis, un seul de tous les fragments du bourgeon primordial achève son développement, les autres périssent, restant trop petits. Mais, les blastozoïdes ont aussi la faculté de former les bourgeons qui, en se fragmentant, augmentent le nombre de membres de la colonie. Ils sont beaucoup plus grands que les bourgeons larvaires et c'est pourquoi tous leurs fragments sont capables d'atteindre la maturité. Le bourgeonnement des blastozoïdes fonctionnels a lieu après la fin de la reproduction sexuée et avant leur dégénérescence.

Les observations que nous avons faites dans le présent travail nous ont montré que le nombre de bourgeons secondaires, incontestables descendants du bourgeon primordial, augmente toujours par division pendant les premiers jours de l'existence de la jeune colonie. Sur des coupes de la colonie en formation, on peut voir assez souvent les bourgeons au moment de leur division. Dans les colonies mûres, le processus de division apparaît plus rarement et il est évident que la fragmentation ralentit considérablement sans cesser cependant. Les bourgeons en division dans des colonies mûres ont souvent une organisation beaucoup plus simple que celle du bourgeon primordial. On trouve parfois des bourgeons uniquement formés de deux vésicules s'insinuant l'une dans l'autre et de cellules mésenchymateuses entre elles, tandis que la portion du tube dorsal manque. Il est possible que l'organisation des bourgeons secondaires se simplifie après une suite de divisions. Ces observations sont en contradiction avec l'affirmation de Berrill (1948) selon laquelle, dans les espèces de *Distaplia* étudiées par lui, les bourgeons des colonies mûres sont plus gros et plus riches en matière cellulaire que les bourgeons larvaires, ce qui les rend plus viables. Nous n'avons jamais eu non plus l'occasion d'observer quoi que ce soit qui ressemble à la libération de bourgeons sur des blastozoïdes mûrs, à aucun stade de leur existence.

Nous avons considéré jusqu'à présent les processus de reproduction asexuée. Nous allons voir maintenant à quel moment commence la maturation des produits sexuels.

Personne ne conteste l'absence d'activité sexuelle chez les oozoïdes de *Distaplia*. Cependant, Damas (1904) a décrit, dans la partie postérieure de la larve de *D. magnilarva*, un « cordon génital » d'où proviennent, suppose-t-il, les ébauches des conduits génitaux. La description de Damas est si laconique, ses figures si schématiques, qu'il est difficile de comprendre quelle structure il a décrit sous le nom de « cordon génital ». Aucun autre auteur n'a, plus tard, parlé d'une ébauche génitale chez cette larve. Les travaux de Bonnevie (1896) nous permettent de conclure qu'il existe une ébauche d'organes génitaux dans le bourgeon primordial de *D. magnilarva*. Bonnevie décrit le développement du bourgeon primordial depuis le moment de sa libération jusqu'à un stade très avancé, sans mentionner une fragmentation. Il ne dit rien de l'ébauche de glandes génitales dans son texte mais la montre sur ses figures et en fait mention dans les légendes. On peut ainsi voir que cette ébauche apparaît au début du

développement (en même temps que le tube dorsal) sous forme d'un groupe de grosses cellules, librement dispersées dans la cavité du corps du bourgeon primordial. Berrill (1948) décrit également et représente une ébauche génitale dans le premier blastozoïde (le seul d'après lui) issu du bourgeon primordial de *D. rosea*. Nous n'avons, pour notre part, trouvé d'ébauche génitale chez *D. unigermis* ni dans la larve et le bourgeon primordial, ni dans les jeunes colonies à deux ou trois blastozoïdes fonctionnels, au neuvième ou dixième jour de la métamorphose. De plus, nous avons étudié des coupes de six jeunes colonies fixées immédiatement après avoir été pêchées et renfermant chacune cinq à sept zoïdes fonctionnels. Elles contenaient en tout : 36 zoïdes en fonctionnement, 45 bourgeons aux différents stades de l'organogenèse et 63 bourgeons « indifférents » ; dans aucun il n'y avait d'ébauches visibles d'un système génital. Si l'on admet même qu'à ces stades il existe déjà une ébauche génitale, mais qu'il soit difficile de la distinguer parmi les cellules mésenchymateuses qui l'entourent, il est incontestable que, non seulement l'oozoïde, mais aussi les premières générations de blastozoïdes, n'atteignent pas la maturité sexuelle. Ce sont des « impasses » ontogénétiques. Leur rôle semble être d'assurer la croissance de la colonie ; elles dégagent de nouvelles masses de tunique et fournissent les matériaux nutritifs aux bourgeons se trouvant aux stades les plus précoces de leur développement. Des exceptions sont cependant possibles : nous avons ainsi trouvé une fois une toute petite colonie, composée de deux zoïdes seulement, dont l'un renfermait déjà dans son abdomen un gros ovocyte. Ce fait montre que la maturation des gonades ne dépend pas du nombre d'individus et qu'elle peut arriver dans la saison même du début de l'existence de la colonie. Nos observations sur *D. unigermis* se sont limitées à la période d'été. Nous ne pouvons donc pas répondre aux diverses questions concernant l'hibernage de cette Ascidie, la destruction éventuelle de sa colonie, sa reproduction asexuée, etc. Il est cependant incontestable que la reproduction s'interrompt l'hiver. Les colonies étudiées à la fin de juin ne contiennent pas encore d'embryons en développement et ne produisent pas de larves. Mais, on peut découvrir dans les blastozoïdes, des ébauches d'organes génitaux ou des produits génitaux immatures à tous les stades. On les trouve très facilement dans les bourgeons « indifférents ».

Nous n'avons pas résolu la question de savoir quelle est l'origine de l'ébauche génitale de *D. unigermis*. Pour *D. magnilarva*, Brien (1939, 1948) affirme que l'ébauche des gonades apparaît aux dépens du renflement de l'extrémité postérieure du tube dorsal que Kowalevsky (1874) avait pris pour l'ébauche du ganglion viscéral. Brien remarque que le moment de l'apparition des organes génitaux pendant le bourgeonnement varie et il suppose que leur apparition précoce est favorisée par l'état de maturation des autres zoïdes de la même colonie. D'après Berrill (1948), chez *D. rosea*, peu de temps après la libération du bourgeon primordial (que ce soit à partir de l'oozoïde chez la larve ou du blastozoïde dans la colonie), la vésicule interne épicaudique se divise en deux. L'une des parties se bouche et se transforme en une ébauche compacte d'organes génitaux et de quelques éléments mésodermiques. Chez *D. unigermis*, on n'observe ni division de la vésicule épicaudique (« a segregation of the reproductive

and other mesodermal tissue from the rest » de Berril) ni liaison étroite entre le tube dorsal et l'ébauche génitale, bien que ces formations soient situées à côté l'une de l'autre. Dans certains cas, on trouve même des bourgeons n'ayant plus du tout de tube dorsal, mais possédant une ébauche génitale. Faut-il en déduire que cette partie du tube dorsal s'est entièrement transformée en ébauche génitale ? Il semble plus vraisemblable que l'ébauche des organes génitaux, chez *D. unigermis*, provient des cellules mésenchymateuses, comme l'a décrit Newberry (1962) pour *Distomus variolosus* (Polystyelidae).

Dans les bourgeons les plus jeunes des colonies de juin, l'ébauche génitale se compose d'une ou de plusieurs cellules à gros noyau avec un nucléole, enveloppées d'une couche de cellules plus petites ressemblant à un épithélium (Fig. 20, I et II). Comme cette ébauche, encore indifférenciée, donne naissance également aux ovaires et aux testicules, on l'appelle ovotestis. Dans les blastozoïdes plus développés (au stade d'apparition des stigmates), on distingue déjà les ébauches génitales

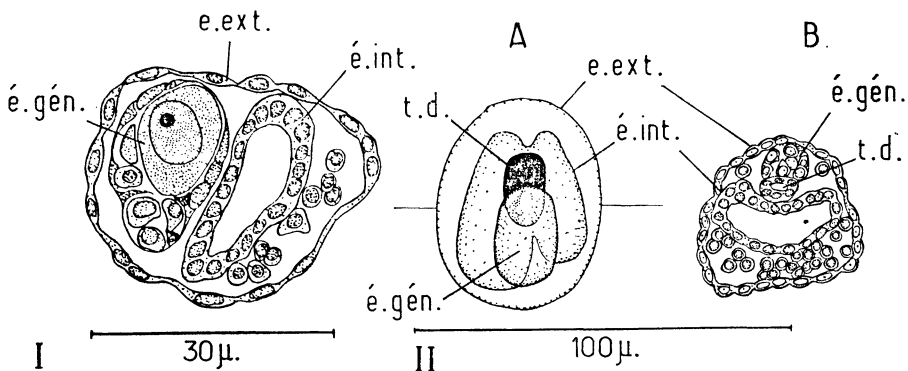


FIG. 20

- I. - Ebauche génitale dans un bourgeon précoce d'une colonie mûre.
 II. - Reconstitution d'après des coupes, montrant la disposition des ébauches à l'intérieur du bourgeon (A). Une des coupes de ce bourgeon (B).

des deux sexes et, dans les zoïdes fonctionnels, des ovocytes aux premiers stades de la croissance. On trouve aussi parfois, des ovocytes n'ayant pas achevé leur croissance dans l'abdomen des zoïdes en dégénérescence. Les différences d'âge dans les gonades sont plus fortement accusées pour les colonies de juillet et d'août. Les bourgeons précoces contiennent comme toujours des ovotestis, les blastozoïdes avancés ont des ovocytes au stade de croissance cytoplasmique et les zoïdes en fonctionnement renferment des œufs mûrs tandis que les poches incubatrices contiennent des embryons à tous les stades.

Ainsi, le moment d'apparition d'une ébauche génitale chez *D. unigermis*, ne correspond pas à un stade ontogénétique déterminé ; elle est absente dans les blastozoïdes mûrs des jeunes colonies et on la trouve déjà dans les bourgeons les plus jeunes des colonies mûres. Le développement ultérieur des organes génitaux ne dépend que partiellement de l'âge de l'individu, beaucoup de zoïdes disparaissant avant la maturité. Il est évident que l'apparition de l'ébauche génitale et son développement postérieur sont sous le contrôle de facteurs

saisonniers et, en premier lieu, de la température. Le même phénomène de variation sexuelle a été démontré chez d'autres Ascidies (Sabbadin, 1958), en fonction de la température saisonnière.

Berrill note aussi l'absence de glandes génitales dans le premier blastozoïde de *D. rosea*, mais il l'explique par le fait que l'ébauche, qui existe dès les premiers stades de la formation du blastozoïde, contient une quantité insuffisante de substances cellulaires. Une pareille explication ne semble pas très convaincante.

CYCLE ÉVOLUTIF DE *DISTAPLIA*.

Dans la littérature contemporaine, on trouve deux interprétations principales du cycle évolutif chez *Distaplia*.

D'après Berrill (1935, 1948), il comprend les stades suivants :

- 1) l'oozoïde donne naissance au bourgeon primaire (primordial) ;
- 2) le bourgeon primaire se divise en trois bourgeons secondaires dont deux périssent, à cause de leur petite taille et dont le troisième forme le premier blastozoïde ;
- 3) le premier blastozoïde possède une ébauche génitale mais ne mûrit pas (à cause, également, du manque de matériel cellulaire), mais isole, cependant, un nouveau bourgeon primaire ;
- 4) ce bourgeon primaire se divise à son tour en bourgeons secondaires assez grands, maintenant, et qui donnent des blastozoïdes ;
- 5) cette génération ainsi que les générations suivantes de blastozoïdes arrivent à maturité et gardent leur capacité de bourgeonnement : après la reproduction sexuée et avant la dégénérescence, chacun d'eux isole un ou deux bourgeons primaires.

Berrill décrit deux fois, de façon différente, le lieu de bourgeonnement des blastozoïdes : en 1935, dans la région de l'œsophage ; en 1948, à la base du stolon vasculaire dans lequel, comme il l'admet, pénètre l'épicarde. Ainsi, suivant cet auteur, les zoïdes de la colonie mûre sont capables des deux modes de reproduction.

Brien (1939, 1948) décrit tout autrement le cycle évolutif de *Distaplia* :

- 1) l'oozoïde isole un bourgeon primordial, homologue du stolon des Tunicata pélagiques ;
- 2) le bourgeon primordial (stolon) se divise en trois fragments : deux nouveaux stolons et un blastozoïde ;
- 3) chacun des stolons nouvellement formés se divise à son tour en deux stolons et un blastozoïde ;
- 4) les blastozoïdes atteignent leur maturité et ne sont capables que de reproduction sexuée ;
- 5) la croissance de la colonie et l'augmentation du nombre d'individus se font exclusivement aux dépens de la fragmentation des stolons qui se poursuit sans arrêt.

Comme on le voit, Berrill et Brien divergent, non seulement dans l'interprétation des faits, mais aussi dans leur description. Mes propres observations m'ont permis de confirmer les données de Brien :

- 1) contrairement à la description de Berrill, aucun des bourgeons secondaires se formant après le bourgeon primordial, ne périclète dans les conditions normales du développement ;
- 2) le nombre de bourgeons secondaires augmente sans cesse par division et peut dépasser vingt au cours de la vie de l'oozoïde ;
- 3) près de la moitié des bourgeons secondaires subissent le développement progressif et se transforment en blastozoïdes fonctionnels ;
- 4) les blastozoïdes mûrs ne sont capables que de reproduction sexuée et seulement dans des conditions extérieures bien déterminées. L'isolement des bourgeons des blastozoïdes n'a jamais été observé.

Je ne peux pourtant pas approuver l'interprétation du bourgeon primordial de *Distaplia* comme un stolon. Elle est fondée sur la ressemblance du comportement de ce bourgeon avec celui des stolons de *Colella*. Les longs stolons de cette Ascidie sont libres dans la tunique, sans liaison avec aucun zoïde et, de leur extrémité, se détachent des bourgeons qui donnent de nouveaux zoïdes. Mais, le processus de fragmentation du bourgeon primordial est beaucoup plus compliqué que celui des stolons de *Colella*. De plus, l'origine de ces derniers est inconnue et il est fort possible qu'ils ne soient pas des produits de l'oozoïde, comme l'est le bourgeon primordial de *Distaplia*, mais qu'ils représentent les extrémités postérieures des blastozoïdes, se fragmentant après la dégénérescence de l'extrémité antérieure, comme cela a lieu chez plusieurs Ascidies coloniales.

Brewin (1959) a décrit chez *Hypsistozoa fasmeriana*, autre représentant des Polycitoridae, un véritable stolon larvaire (ou, plus précisément, embryonnaire) d'où se détachent successivement jusqu'à 14 bourgeons. D'après Berrill (1948), chez *D. bermudensis*, en plus du bourgeon primordial, un petit bourgeon s'isole, qui ne se développera pas par la suite. Chez les autres représentants du genre *Distaplia* étudiés, l'embryon ne donne qu'un seul bourgeon. En comparant ces données, Brewin conclut que, chez les Polycitoridae, la productivité du stolon dépend de la quantité de substances nutritives qui restent après la formation de la larve elle-même : chez *Distaplia*, les réserves nutritives de l'œuf suffisent pour la formation de un à deux bourgeons seulement ; chez *Hypsistozoa*, caractérisée par sa viviparité placentaire, la productivité du stolon est beaucoup plus grande.

En développant l'idée de Brewin, on peut dire que le bourgeon primordial de *Distaplia* n'est pas en réalité un stolon, mais le produit de son activité, très réduite chez les Ascidies de ce genre. Dans le bourgeon primordial commence l'ontogenèse, se forment les différentes parties de l'appareil digestif, de l'appareil respiratoire, du système nerveux, etc., tout ce qui définit un bourgeon primordial non pas comme un stolon, organe de reproduction asexuée, mais comme un individu. On s'étonne qu'aucun des auteurs ayant décrit le bourgeonnement de *Distaplia* et le début de l'organogenèse dans le bourgeon primordial, n'ait tenu compte de ce fait.

A ce point de vue, le bourgeon primordial représente une génération complète — génération de blastozoïdes primaires — qui ne parvient pourtant pas à achever son développement individuel et qui, avant d'avoir atteint son état fonctionnel, par la reproduction asexuée, donne naissance à une seconde génération de blastozoïdes. Que le bourgeon primordial se reproduise par fragmentation et non par bourgeonnement n'est pas pour nous surprendre : étant donné ses petites dimensions et sa faible différenciation, la formation d'un stolon spécial est inutile et impossible. En outre, on rencontre dans la même famille des Polycitoridae, des Ascidies qui se reproduisent par scission

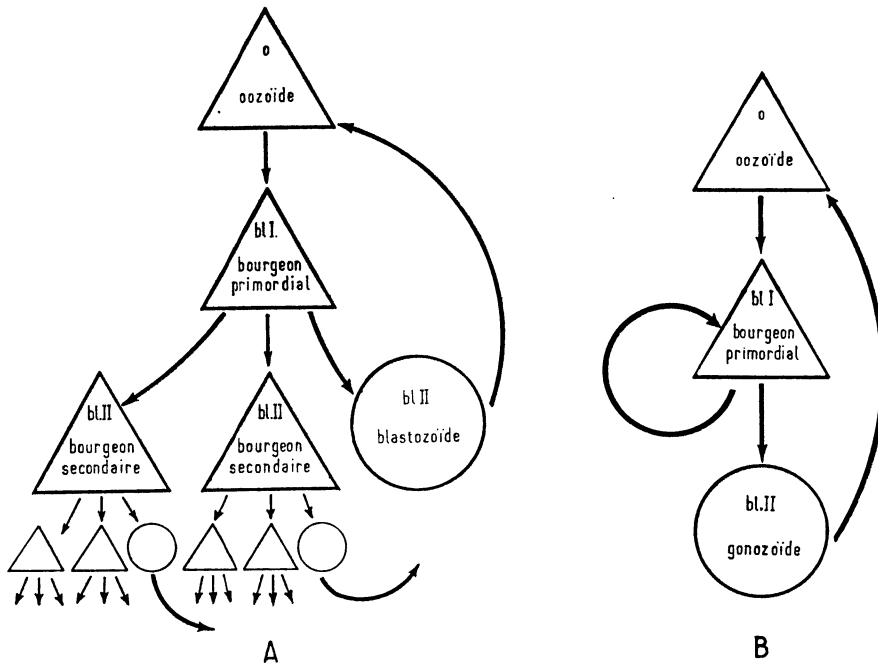


FIG. 21

Schéma du cycle évolutif de *Distaplia*. Deux variantes (A et B).

transversale (*Eudistoma*, d'après Berrill, 1947 ; *Polycitor cristallina*, d'après Carlisle, 1953). Mais, chez *Distaplia*, la deuxième génération de blastozoïdes est hétérogène : une partie des individus est pratiquement semblable au bourgeon primordial ; elle ne se développe pas complètement et continue de se diviser, tandis que l'autre achève son développement et ne se reproduit que par voie sexuée.

Ainsi, une métagenèse originale a lieu chez *Distaplia* : alternance de deux générations asexuées (oozoïde et bourgeon primordial) et d'un nombre plus considérable, mais indéfini, de générations mixtes composées d'individus qui se reproduisent, soit seulement par voie sexuée, soit seulement par voie asexuée (Fig. 21).

ÉVOLUTION DES CYCLES CHEZ LES TUNICATA.

Il existe donc déjà chez *Distaplia* une vraie métagenèse (alternance de générations sexuée et asexuée) et plusieurs auteurs y voient une ressemblance avec la métagenèse des Thaliacea. Salensky (1893) a ainsi admis que l'oozoïde de *Distaplia* correspond à la larve de *Doliolida* et que la métagenèse de *Doliolida* dérive de sa métamorphose. Julin (1896) et Brien (1929, 1939) exprimaient des opinions semblables. Brien a même supposé que tout le groupe des Thaliacea dérive d'une néoténie des Polycitoridae. Néanmoins, à cause de la complexité du cycle évolutif de *Distaplia*, il est peu probable qu'on puisse en déduire ceux des autres Tunicata métagénétiques. L'évolution de leur métagenèse doit plutôt être présentée de la manière suivante : si on laisse de côté le cas obscur des Appendiculaires, on voit que les plus primitifs des Tunicata sont les Ascidies. Leur reproduction asexuée s'est beaucoup développée à cause de leur vie fixée et elle a acquis des aspects très variés et compliqués. *Pyrosomida*, *Doliolida* et *Salpa*, issus des Ascidies coloniales, en ont hérité la faculté de se reproduire asexuellement.

Selon toute probabilité, la fragmentation est la forme la plus primitive de la reproduction asexuée chez les Ascidies. Les nouveaux individus se forment par sectionnement du corps et régénération des parties manquantes ou par réorganisation complète, comme cela se passe chez les Entéropneustes (Hyman, 1959). On peut supposer aussi qu'au départ, tous les individus étaient également capables des deux modes de reproduction. Cependant, chez plusieurs Ascidies apparaît une métagenèse rudimentaire : dans les familles des Polycitoridae, des Didemnidae et des Botryllidae, l'oozoïde donne naissance à plusieurs blastozoïdes et dégénère avant d'avoir atteint la maturité. Chez *Botrylloides carnosum*, on trouve encore quatre à six bourgeons au stade larvaire qui se développent rapidement après la fixation. Au troisième jour de la métamorphose, les blastozoïdes ne fonctionnent pas encore, mais ils montrent déjà les ébauches des bourgeons de la génération suivante. Au cinquième jour, l'oozoïde dégénère, tandis que la jeune colonie se nourrit et respire à l'aide des blastozoïdes les plus anciens (Ivanova-Kazas, 1952). Le bourgeonnement intense fait grandir la colonie ; puis commence la reproduction sexuée. Comme les zoïdes individuels vivent peu, en général, dans la plupart des cas, les premières générations de blastozoïdes sont encore asexuées ; c'est ce qui se passe chez *Hypsistozoa fasmeriana* (Brewin, 1959). Les générations suivantes présentent les deux modes de reproduction. On peut voir un tel cycle évolutif schématisé sur la figure 22 A. Sur ce schéma ainsi que sur les autres on a désigné par un triangle les générations à reproduction asexuée et par un cercle, les sexuées. Le cercle et le triangle coïncident lorsque les deux modes se réunissent et le carré désigne les impasses ontogénétiques, c'est-à-dire les formes qui sont incapables, généralement, de multiplication.

En fait, on observe le même cycle chez les Pyrosomes. Avant la fin du développement embryonnaire, il apparaît dans l'oozoïde le stolon

prolifère qui se divise en fragments, ébauches des blastozoïdes primaires. Chez *Pyrosomata fixata*, le nombre des blastozoïdes primaires est très grand (Ivanova-Kazas, 1961, 1962), mais comme on n'a pas pu observer leur devenir, on ne connaît pas entièrement le cycle de ces pyrosomes primitifs. C'est pourquoi la description suivante a trait seulement aux *Pyrosomata ambulata* qui ne forment que quatre blastozoïdes primaires. L'oozoïde dégénère lorsqu'il est encore couvert des enveloppes de l'œuf et, de cet œuf, sort une petite colonie de quatre individus. Par bourgeonnement, ils donnent des blastozoïdes secondaires qui prennent une disposition strictement géométrique, ce qui amène à une colonie de structure définitive (Neumann, 1935). Les blastozoïdes secondaires gardent leur faculté de reproduction asexuée et atteignent en même temps la maturité sexuelle, en produisant des

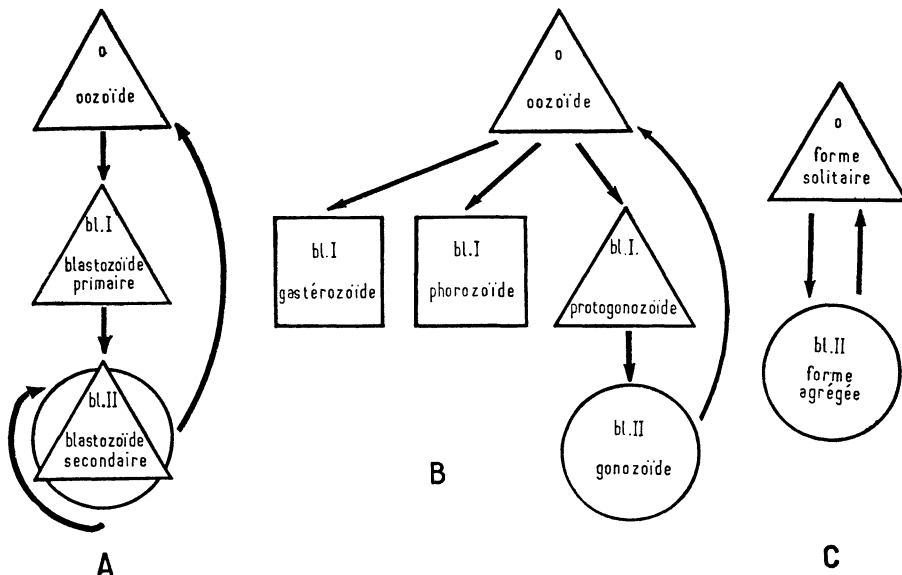


FIG. 22

Schéma de cycles évolutifs.

A : de certaines Ascidies coloniales et de *Pyrosomida*.B : de *Doliolida*.C : de *Salpa*.

gamètes. De sorte que le cycle évolutif de *Pyrosomata ambulata* ne se distingue de celui des Ascidies que par le nombre constant de blastozoïdes primaires ; cette particularité, jointe à la régularité de structure de la colonie, donne l'impression d'une stabilité générale des processus de morphogenèse.

Le cycle évolutif de *Distaplia* est beaucoup plus complexe ; il est représenté, dans son ensemble sur la figure 21, A, mais, abstraction faite du nombre véritable de bourgeons et du numéro d'ordre des générations, l'essentiel est figuré en 21, B ; l'oozoïde et le blastozoïde primaire (bourgeon primordial) se reproduisent seulement par voie asexuée, tandis que les blastozoïdes secondaires se différencient en individus sexués et asexués.

Examinons le cycle de *Doliolida* selon Uljanin (1884) et Neumann

(1935). De l'œuf de *Doliolum*, sort un oozoïde sur la face ventrale duquel se forme un stolon dit ventral. De nombreux bourgeons se détachent de l'extrémité distale du stolon, se déplacent à travers la tunique vers la face dorsale de l'oozoïde et se fixent sur le stolon dorsal. Là, ces bourgeons que nous sommes en droit d'appeler blastozoïdes primaires, se différencient en trois groupes : les uns deviennent des gastérozoïdes et assurent la nutrition et la respiration de toute la colonie, les autres, des phorozoïdes auxquels se fixent ceux du troisième groupe : les protogonozoïdes. Les phorozoïdes ayant atteint leur taille définitive se détachent de l'oozoïde et se mettent à nager librement avec les protogonozoïdes. Les gastérozoïdes et les phorozoïdes sont incapables de reproduction, tandis que les protogonozoïdes donnent naissance, par bourgeonnement, à une nouvelle génération, les gonozoïdes (c'est-à-dire des blastozoïdes secondaires) qui, en se multipliant par voie sexuée, redonnent des oozoïdes.

Le cycle de *Doliolida* est ainsi beaucoup plus compliqué que le cycle initial (Fig. 22, B). Nous y distinguons les trois mêmes générations que chez *Pyrosomida* et *Distaplia* : l'oozoïde, les blastozoïdes primaire et secondaire. On y trouve ce trait commun avec *Distaplia* que les reproductions sexuée et asexuée ne sont jamais assurées par les mêmes individus. Mais, contrairement à *Distaplia*, on observe, chez *Doliolum*, un polymorphisme dans la première génération de blastozoïdes dont une forme seulement (le protogonozoïde) est capable de se reproduire, tandis que la deuxième génération se distingue, par contre, par son homogénéité. On pourrait faire dériver le cycle complexe de *Doliolum* de celui, non moins complexe, de *Distaplia*, mais ce n'est qu'en avançant l'hypothèse peu vraisemblable qu'il s'est produit à la fois, une différenciation des individus de la première génération blastogénétique et la disparition d'une des formes d'individus de la deuxième génération. C'est pourquoi, il est plus vraisemblable de supposer que les cycles de *Distaplia* et de *Doliolum* dérivent indépendamment d'un cycle plus simple (par exemple celui de *Hypsistozoa*, qui possède un stolon bien développé, produisant un grand nombre de bourgeons) par des changements dans les différentes générations de blastozoïdes.

Parmi les Tunicata métagénétiques, le cycle le plus simple est celui des Salpae. La Salpe, forme solitaire (l'oozoïde) par bourgeonnement du stolon, donne des chaînes de formes « agrégées » produisant des œufs qui donnent à leur tour des formes solitaires (Fig. 22, C). Ici, n'a lieu qu'une alternance de deux générations dont chacune ne se reproduit que par un seul mode. Un semblable cycle évolutif a pu prendre naissance à partir de celui des autres Tuniciers métagénétiques (comme *Doliolida*), uniquement par simplification et notamment, par la disparition dans le cycle, de la phase des blastozoïdes primaires.

Summary

1. In *Distaplia unigermis*, as in other ascidians belonging to this genus, the primordial bud separates at the end of embryonic development as an evagination of ventral ectoderm, which is entered by the distal end of the left epicard and a group of mesenchyme cells. The organogenesis begins in it: the dorsal tube separates from the inner epithelial vesicle; the vesicle itself differentiates

into the rudiments of branchial sac, gut and two epicards. The anterior and posterior ends, the dorsal and ventral sides are well expressed morphologically at this stage. The primordial bud is interpreted as the first generation of blastozooids, that does not reach full development.

2. The primordial bud elongates and divides into three parts. The two anterior fragments include the parts of the outer epidermis, the inner vesicle, the dorsal tube and mesenchyme. Besides these the posterior fragment includes the rudiments of gut and epicards. During the next embryogenesis the two anterior fragments do not show any visible complication, but the posterior one continues its ontogenesis and becomes the rudiments of blastozooid. At the stage of free-swimming larva the rudiments of peribranchial cavities, oesophagus, stomach, intestine, intestinal gland, heart and epicards are already distinguished in it.

3. Oozoid, developing from the metamorphosing larva, lives about 7-11 days. During this period, the number of buds increases up to 15-20 as a result of the next fragmentation of two anterior fragments of the primordial bud. A part of arising by that way new fragments begins to develop into blastozooids. There are placenta-like structures formed by the test vessels of the oozoid and blastozooids, supplying the blastozooids with nourishment. 1-3 of the secondary blastozooids reach the full development and begin to function when oozoid is still alive. The phagocytes play an active role in the resorption of degenerating oozoid.

4. The beginning of colony formation is traced. The functioning blastozooids are capable only of the sexual reproduction which is controlled by season factors. The growth of the colony continues at the expense of fission of undifferentiated buds.

5. The life-cycle of *Distaplia* is a clue to the comprehension of the evolution of metagenesis in Tunicata:

a - in more primitive ascidians, there is no difference in oozoid and blastozooids, all generations being capable of both sexual and asexual reproduction;

b - in more advanced ascidians and Pyrosomida, oozoid and the first or some following generations of blastozooids (blastozooids I) reproduce themselves only by asexual mode, but next generations (blastozooids II) reproduce by both ways;

c - in *Distaplia*, there is a differentiation in the second generation of blastozooids in two directions: some of them are similar to the blastozooid I (primordial bud) and preserve asexual mode of reproduction (fragmentation), others develop to sexual zooids and are incapable of asexual reproduction;

d - the life-cycle of *Doliolida* is complicated in a different way, i.e. a differentiation in the generation of blastozooids I is observed: the gastrozooids and phorozooids are incapable of reproduction at all, but protogonozooids bud off blastozooids II (gonozooids), which reach sexual maturity. The cycle of *Distaplia* and *Doliolida* may be derived independently from that of less specialized ascidians;

e - the life-cycle of Salpae may arise from that of *Doliolida* by significant simplification: the generation of blastozooids I is lost by them.

Резюме

1. У *Distaplia unigermis*, как и у других представителей этого рода, первичная почка обособляется в конце эмбрионального развития как выпячивание эктодермы на брюшной стороне зародыша, в которое входит дистальный конец левого эпикарда и группа мезенхимных клеток. В первичной почке начинаются процессы органогенеза: от внутреннего эпителиального пузырька отделяется дорзальная трубка, а сам внутренний пузырек дифференцируется на зачатки жаберной полости, кишки и двух эпикардов. На этой стадии уже хорошо выражены морфологически передний и задний концы, дорзальная и вентральная стороны. Автор трактует первичную почку как первое поколение blastozooidов, не получающее полного развития.

2. Первичная почка удлиняется и двумя перетяжками подразделяется на три фрагмента. В состав передних двух фрагментов входят части эпидермиса, внутреннего пузырька, дорзальной трубки и мезенхимы. Задний фрагмент, кроме того, получает зачатки кишки и эпикардов. В течение последующего эмбриогенеза передние два фрагмента не обнаруживают заметного осложнения, а задний продолжает свой онтогенез и становится зачатком вторичного blastozooidа. На стадии свободноплавающей личинки в нем уже различаются

зачатки перибранхиальных полостей, пищевода, желудка, кишки, пилорической железы, сердца и эпикардов.

3. Оозоид, развивающийся из проделавшей метаморфоз личинки, живет 7-11 дней. За это время количество почек увеличивается до 15-20 за счет дальнейшей фрагментации двух передних отрезков первичной почки. Часть возникающих при этом фрагментов начинает развиваться в бластозооиды. При этом возникает плацентообразная структура, образованная сосудами туники оозоида и бластозооидов, служащая для обеспечения бластозооидов питанием. 1-3 вторичных бластозооида достигают полного развития еще при жизни оозоида. Дегенерация оозоида протекает при активном участии фагоцитов.

4. Прослежены начальные процессы формирования колонии. Функционирующие бластозооиды способны только к половому размножению, которое находится под контролем сезонных факторов. Рост колонии продолжается исключительно за счет деления недифференцированных почек.

5. Жизненный цикл *Distaplia* дает ключ к пониманию эволюции метагенеза у *Tunicata* :

а) У более примитивных асцидий нет никаких различий между оозоидом и бластозоидом — все поколения способны и к половому и к бесполому размножению.

б) У более продвинутых асцидий и пиросом оозоид и первые поколения бластозоидов размножаются только бесполом путем, а последующие поколения размножаются обоими способами.

в) У *Distaplia* во втором поколении бластозоидов наблюдается дифференциация в двух направлениях: одни из них сходны с бластозоидом первого поколения (первичной почкой) и размножаются фрагментацией, другие же развиваются в половые зооиды и не способны к бесполому размножению.

г) Жизненный цикл *Doliolida* усложняется в другом отношении — происходит дифференциация в поколении первых бластозоидов: гастрозоиды и форозоиды вообще не способны размножаться, а протогонозоиды отпочковывают бластозоиды второго поколения (гонезоиды), которые и достигают половозрелости. Жизненные циклы *Distaplia* и *Doliolida* могут быть выведены независимо друг от друга из цикла менее специализированных асцидий.

д) Жизненный цикл салпы мог возникнуть из цикла *Doliolida* путем его упрощения — выпадения первого поколения бластозоидов.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BERRILL, N.J., 1935. — Studies in tunicate development. IV. Asexual reproduction. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, ser. B, 225, pp. 327-379.
- BERRILL, N.J., 1947. — The structure, development and budding of the ascidian *Eudistoma*. *J. Morph.*, vol. 81, Nr 2, pp. 268-281.
- BERRILL, N.J., 1948. — Budding in reproductive cycle of *Distaplia*. *Quart. J. Micr. Sci.*, 89, pp. 253-289.
- BONNEVIE, K., 1896. — On gemmation in *Distaplia magnilarva* and *Pyrosoma elegans*. *The Norwegian North-Atlantic Expedition 1876-1878. Zoologie*.
- BREVIN, B.I., 1959. — An account of larval budding in the compound ascidian, *Hypsistozoa fasmariana*. *Quart. J. Micr. Sci.*, 100, 4, pp. 575-589.
- BRIEN, P., 1929. — Notes sur le développement de l'épicarde des Polyclinidae et considération phylogénétique au sujet des Aplousobranches. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belgique*, 60, pp. 33-46.
- BRIEN, P., 1939. — Contribution à l'étude du bourgeonnement et de l'organogenèse du blastozoïde des Distomidae (Polycitoridae) (*Distaplia magnilarva*). *Ann. Soc. Roy. Zool. Belgique*, 70, pp. 101-151.
- BRIEN, P., 1948. — Embranchement des Tuniciers. *Traité de Zoologie*, publ. P.P. Grassé, XI, pp. 553-930.
- BRIEN, P., 1956. — Les enseignements qu'apporte à la biologie l'étude de la reproduction asexuée. *Bull. Cl. Sci. Acad. Roy. Belgique*, 42, 12, pp. 1226-1240.
- CARLISLE, D.B., 1953. — The larva and adult of *Polycitor crystallinus* Renier. *Proc. Zool. Soc. London*, 123, pp. 259-265.

- DAMAS, D., 1904. — Contribution à l'étude des Tuniciers. *Arch. Biol.*, 20, pp. 745-833.
- DAWIDOFF, M., 1890. — Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte der *Distaplia magnilarva* Della Valle, einer zusammengesetzten Ascidien. *Mitt. Zool. Stat. Neapel*, IX, pp. 533-651.
- DELLA VALLE, A., 1881. — Nuove contribuzione alla storia naturale della Ascidie composite. *Atti Reale Ac. Lincei*, 10, 3, pp. 431-498.
- HUXLEY, J.S., 1921. — Studies in dedifferentiation. II. Dedifferentiation and resorption in *Perophora*. *Quart. J. Micr. Sci.*, 75, pp. 643-697.
- HUXLEY, J.S., 1925. — Studies in dedifferentiation. VI. Reduction phenomena in *Clavelina lepadiformis*. *Publ. Staz. Zool. Napoli*, VII, pp. 1-35.
- IVANOVA-KAZAS, O.M., 1948. — Le sang et le tissu conjonctif de l'Ascidie *Dendrodoa grossularia*. Recueil « A la mémoire de l'acad. A.A. Savarsin », pp. 163-173. Ed. Ac. Sc. URSS (en russe).
- IVANOVA-KAZAS, O.M., 1949. — L'utilisation du vitellus embryonnaire pendant le développement de l'Ascidie *Dendrodoa grossularia*. *Mém. Univers. Leningrad, sér. biol.*, 20, pp. 254-274 (en russe).
- IVANOVA-KAZAS, O.M., 1959. — Quelques observations sur le développement de l'Ascidie *Botrylloides carnosum*. *Travaux de la Soc. des Natur. Leningrad*, XXI, 4, pp. 142-164 (en russe).
- IVANOVA-KAZAS, O.M., 1962. — Sur les formes primitives du développement chez les Pyrosomida. *Cah. Biol. Mar.*, III, pp. 191-208.
- IVANOVA-KAZAS, O.M., 1965. — Asexual reproduction in ascidian *Distaplia unigermis*. I. Budding in the embryo and larva. *Vestnik Leningr. Univers.*, 15, 3, pp. 44-59.
- JULIN, CH., 1896. — Recherches sur la blastogenèse chez *Distaplia magnilarva* et *D. rosea*. *C.R. Congr. Intern. Zool.*, 3, pp. 507-524.
- KOWALEVSKY, A.O., 1874. — Über die Knospung der Ascidien. *Arch. Mikr. Anat.*, 10, pp. 441-470.
- NEUMANN, G., 1935. — Thaliaceae. *Handbuch d. Zool. gegr. Kükenthal*, 5, 2, Lief., 3-4, pp. 203-400.
- NEWBERRY, T.A., 1965. — Formation et évolution des gonades chez *Distomus variolosus* (Ascidiacée, Stolidobranche, Polystyelidae). *C.R. Acad. Sc. Paris*, Gr. 12, Zool. et Biol. anim., 260, N 25, pp. 6685-6688.
- SABBADIN, A., 1958. — Sur les caractéristiques du cycle biologique de quelques Ascidies dans la lagune de Venise, en rapport avec le régime thermique. *Com. Int. Exploit. Mer Méditerranée*, XIV (N.S.), pp. 577-581.
- SALENSKY, W., 1893. — Morphologische Studien an Tunicaten. II. Ueber die Metamorphose der *Distaplia magnilarva*. *Morph. Jahrb.*, XX, pp. 449-542.
- SALENSKY, W., 1893. — Über die Entstehung der Metagenesis bei Tunicaten. *Biol. Centralbl.*, 13.
- SALFI, M., 1933. — Le recenti ricerche sui fenomeni di riproduzione asessuata dei Tunicata. *Arch. Zool. Ital.*, XIX, pp. 121-201.
- SPEK, J., 1927. — Über die Winterknospentwicklung, Regeneration und Reduktion bei *Clavelina lepadiformis* und die Bedeutung besonderer « omnipotenter » Zellelemente für diese Frage. *Arch. Entw.-mech.*, CXI, pp. 119-172.
- TOKIN, B.P., 1959. — Regeneration and somatic embryogenesis. Press of Leningrad University (en russe).
- ULJANIN, W.N., 1884. — Die Arten der Gattung *Doliolum* im Golfe von Neapel. *Fauna und Flora des Golfes von Neapel*. Monogr. 10, pp. 1-140.
- ULJANIN, W.N., 1885. — Über die Metamorphose der *Distaplia*. *Zool. Anz.*, VIII, pp. 40-44.