

Activités des rosettes ciliées et leurs supports ultrastructuraux chez les Cténaïres

J.-M. Franc

Service d'Histologie et de Biologie tissulaire (ERA-CNRS n° 183)
et Centre de Microscopie Electronique appliquée à la Biologie (Dir.: Dr. Max Pavans de Ceccatty)
Université Claude Bernard, Villeurbanne, France

Reçu le 6 mars 1972

Activity and Ultrastructure of the Cell Rosettes of Ctenophores

Summary. Excretion and hydrostatic regulation of the Ctenophores depend on a particular set of special structures: the ciliated cell rosettes of the endodermal gastrovascular system.

The peculiarity of these cell rosettes lies in a free communication between the mesoglea and the lumen of gastrovascular canals. Rapid liquid currents, without ionic discernment, are carried through this hole. The direction of these currents is determined by the beating of the only flagellar tuft borne by the upper cellular crown of rosettes: an aqueous flow may be seen streaming across rosettes towards mesoglea when a *Beroë* is put in diluted sea water, whereas in concentrated sea water, the flow is streaming from mesoglea to gastrovascular cavity. A contractile diaphragm allows complete closing of the central communication of each rosette and can stop any mesogleal-gastrovascular exchange.

This activity of cell rosettes leads to an adjustment of the whole density of animal to that of external sea water.

Key words: Ciliated cell rosettes — Gastrovascular system — Ctenophores — Function — Ultrastructure.

Résumé. L'excrétion et la régulation hydrostatique des Cténaïres reposent sur un ensemble qui implique un dispositif unique en son genre: les rosettes ciliées du système gastrovasculaire endodermique.

L'originalité de ces rosettes réside dans l'existence d'un puits central mettant en communication directe la mésoglée avec le contenu intravasculaire. Entre ces deux compartiments s'établissement des courants liquides rapides sans sélectivité ionique dont le sens est déterminé par le battement de la seule touffe de flagelles issus de la couronne cellulaire supérieure de la rosette. Lorsqu'une *Beroë* est placée en milieu marin dilué, on observe au niveau des rosettes un passage de liquide en direction de la mésoglée, alors qu'en eau de mer concentrée, un courant liquide s'établit de la mésoglée vers la lumière des canaux. L'existence d'un diaphragme contractile susceptible d'obturer complètement le puits central de chaque rosette doit permettre éventuellement d'arrêter complètement ces échanges.

Cette activité des rosettes conduit à un ajustement de la densité globale du corps de l'animal par rapport à la densité du milieu dans lequel il se trouve.

Introduction

La résistance des Cténaïres à l'eau de mer diluée fut plusieurs fois démontrée depuis les premières expériences de de Varigny (1887). Hykes (1930) constatait une augmentation du poids des *Beroë* proportionnelle au degré de dilution du milieu dans lequel elles étaient placées. Il en concluait que les Cténaïres doivent établir, pour survivre, un équilibre osmotique entre leur corps et le milieu qui les entoure. Pour cela, il supposait l'intervention d'une perméabilité de tous les

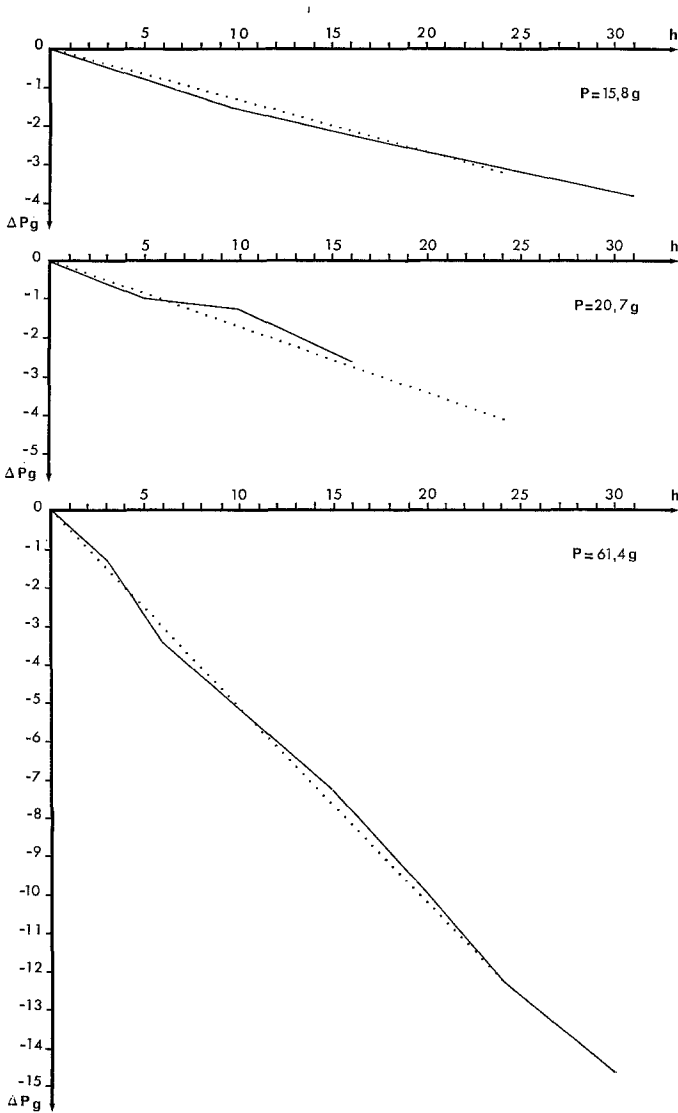


Fig. 1. Perte de poids ΔP due au jeûne pour trois lots de *Beroe ovata* (en pointillé, perte de poids théorique de 20% en 24 heures)

épithéliums, y compris de la surface de l'appareil gastro-vasculaire. Un peu plus tard, Zirpolo (1943) analysait le comportement de différents Cténaires (*Hormiphora plumosa*, *Callianira bialata*, *Lampetia pancarina*, *Beroe ovata*) placés dans divers mélanges d'eau marine et d'eau douce; il enregistrait une grande résistance des genres *Lampetia* et *Beroe* à l'eau de mer fortement diluée, à condition toutefois que cette dilution survienne progressivement. En outre, il observait chez quelques *Beroe* placées dans de l'eau de mer diluée par $\frac{1}{5}$ ou $\frac{1}{3}$ d'eau douce, l'apparition

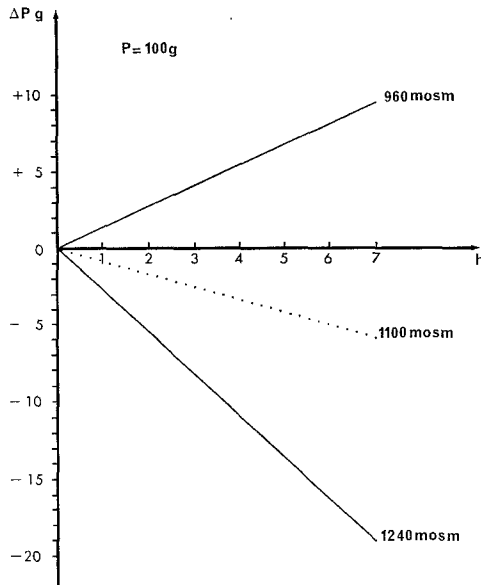


Fig. 2. Variations comparées du poids à la suite du jeûne (1100 mosm) et de la régulation hydrostatique (960 et 1240 mosm) chez une *Beroe* de 100 g

de larges vacuoles dans le «tissu gélatineux», celles-ci se résorbant en 24 heures lorsqu'on transfère les animaux dans un milieu «neuf», dilué dans les mêmes proportions. La correspondance entre le grand développement du système gastro-vasculaire endodermique du genre *Beroe*, et les possibilités d'adaptation plus importantes et plus rapides aux milieux dilués de celui-ci par rapport aux genres *Hormiphora* et *Callianira*, conduit à supposer que l'endoderme renferme les systèmes responsables de l'euryhalinité des Cténaïres.

L'épithélium endodermique limitant la lumière des canaux et des diverticules du système gastro-vasculaire revêt différents aspects selon sa position. Ainsi, sur une coupe transversale de canal méridien, les parois les plus proches de l'ectoderme externe apparaissent constituées de cellules digestives hautes, très vacuolisées et groupées en un épithélium cylindrique pluristratifié. Au sein du même canal, la paroi diamétralement opposée est formée d'un tissu unistratifié dont les éléments cellulaires sont très aplatis, et parmi lesquels se localisent en grand nombre ce que l'on a désigné sous le terme de rosettes ciliées. Ces structures particulières, souvent décrites par les anciens auteurs (Wagener, 1866; Chun, 1880; Hertwig, 1880; Krumbach, 1925) sont constituées par un nombre constant de cellules réparties en deux couronnes superposées de huit cellules flagellées chacune: l'une située dans le plan de l'épithélium endodermique, l'autre faisant saillie à l'intérieur de la mésoglée (fig. 3—4). Les flagelles issus de ces deux couronnes cellulaires se rassemblent en deux flammes vibratiles opposées, l'une battant dans la lumière du canal, l'autre dans la mésoglée.

L'interposition de ces rosettes ciliées entre le milieu intérieur (mésoglée) et le contenu gastro-vasculaire a suscité plusieurs interprétations fonctionnelles.

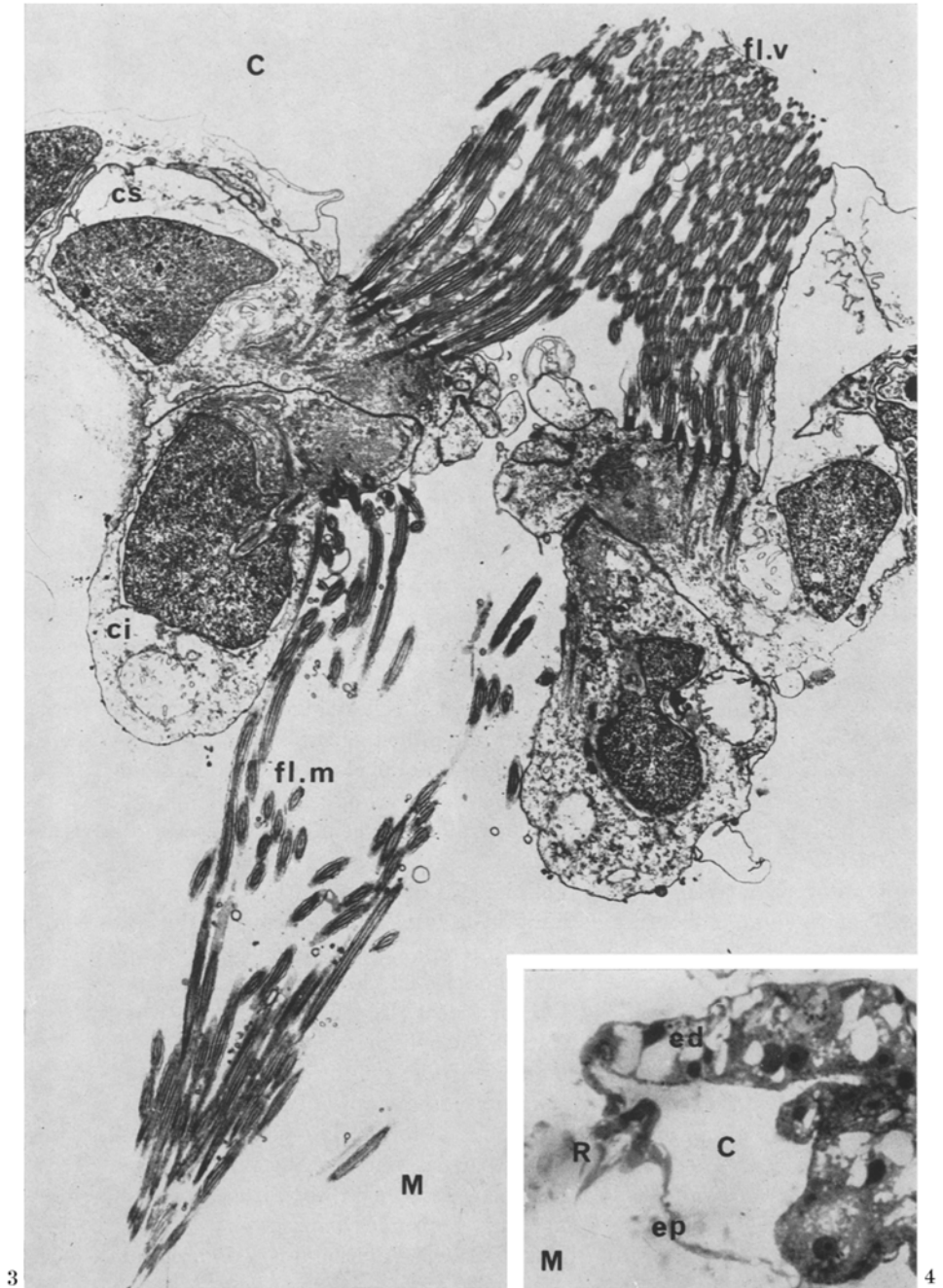


Fig. 3. Coupe longitudinale de rosette ciliée de *Beroë ovata* (1 100 mosm). G \times 5250. C lumière du canal; fl.m. flagelles intramésogléens; fl.v. flagelles intravasculaires; M mésoglé; c.i. couronne inférieure; c.s. couronne supérieure

Fig. 4. Coupe transversale d'un canal endodermique de *Beroë ovata*. G \times 500. ep épithélium pavimenteux; ed épithélium digestif; C lumière du canal; M mésoglé; R rosette ciliée

Dès 1866, Wagener établissait un lien entre l'existence de rosettes ciliées chez *Beroe ovata* et la possibilité qu'ont ces animaux de changer rapidement le volume de leur corps. Chun (1880) leur attribuait un rôle dans la conduction du liquide nourricier vers les éléments cellulaires de la mésoglée (muscles, cellules mésenchymateuses et nerveuses). Il admettait cependant comme concevable l'interprétation de Wagener, au moins chez les Béroïdés où le système canaliculaire développe un grand nombre de diverticules en cul-de-sac. Selon Hyman (1940) «la fonction de ces rosettes est inconnue, mais elles sont probablement excrétrices ou jouent un rôle de régulateur du contenu fluide du collenchyme». Cette dernière interprétation a été reprise plus récemment par Hadzi (1955, 1957) qui considère les rosettes ciliées comme des protonéphridies modifiées par suite de leur fusion avec le système gastrovasculaire. L'hypothèse d'une origine protonéphridienne des rosettes ciliées est en effet conforme aux données embryologiques qui révèlent l'existence d'un mésoderme vrai chez les Cténaïres (Metchnikoff, 1885; Reverberi, 1966). Parallèlement à cette fusion, la fonction excrétrice primaire de ces organes aurait dévié vers une fonction hydrostatique dynamique, en assurant une absorption ou un rejet d'eau par la mésoglée, ce qui permettrait des changements rapides de volume du corps.

Cependant ces diverses interprétations restent du domaine des hypothèses, et aucune preuve du rôle joué par les rosettes ciliées n'a jamais été fournie, que ce soit dans la nutrition, l'excrétion ou la régulation hydrostatique. Aussi avons nous pensé que l'observation *in vivo* des rosettes ciliées placées dans des milieux de pressions osmotiques différentes menée conjointement à leur étude ultrastructurale, pourrait apporter une réponse sur leur fonction et la façon dont celle-ci se réalise.

Matériel et méthodes

Nos observations ont porté sur deux genres de Cténaïres pélagiques pêchés dans la baie de Villefranche-sur-mer (Station Zoologique de la Faculté des Sciences de Paris): *Beroe ovata* (Chamisso et Eysenhardt) et *Eucharis multicornis* (Eschscholtz). Les animaux sont conservés dans des cristallisoirs de 4 litres remplis d'eau de mer renouvelée environ tous les deux jours, et maintenus à la température constante de 14° C.

Au cours de nos expériences, nous avons utilisé des milieux de pressions osmotiques croissantes (850, 960, 1240, 1360 mosm) dont les valeurs sont situées de part et d'autre de celle de l'eau de mer (1100 mosm). Ces milieux sont obtenus soit par dilution de l'eau de mer avec de l'eau distillée, soit par adjonction de NaCl ou concentration par évaporation. Pour chaque pression osmotique étudiée chez *Beroe ovata*, des prélèvements de tissu endodermique ont été effectués au niveau des canaux méridiens. Les pièces sont fixées dans le glutaraldéhyde à 3% tamponné au cacodylate de sodium, puis post-fixées à l'acide osmique à 1%, tamponné de la même manière. Les solutions de fixation et de lavage ont été ajustées à l'aide de NaCl de façon à maintenir une osmolarité identique à celle de l'eau de mer ayant servi à chaque expérience. Inclusion dans l'Epon. Les coupes sériées obtenues sont contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb selon Reynolds (1963). Leur observation a été menée sur microscopes électroniques Hitachi HU-11C et Philips EM 300.

Observations

Activité du système gastrovasculaire et des rosettes

Le système gastrovasculaire endodermique des Cténaïres communique avec l'extérieur par l'intermédiaire de la bouche, du pharynx et de l'estomac (entrée) et par deux pores excréteurs (sortie) localisés de part et d'autre du statocyste. Bien

qu'il soit également le siège des activités digestives (absorption intracellulaire) et reproductrice (gamétogenèse), nous ne considérerons ici le système gastrovasculaire que comme structure pouvant intervenir dans les phénomènes d'excrétion et de régulation hydrostatique.

1. Les canaux et les pores excréteurs

Notre étude a été effectuée sur *Beroe ovata* qui, outre un système vasculaire très développé, offre l'avantage d'être plus abondant et plus résistant aux manipulations que tout autre Cténaire.

a) *Au cours de l'excrétion.* Chez une *Beroe* placée dans des conditions physiologiques normales, nous avons constaté sur le vivant, l'ouverture périodique des pores excréteurs. Celle-ci survient à la suite d'une élévation de pression à l'intérieur du système gastrovasculaire. En effet, après dilatation progressive de l'ensemble des diverticules et des canaux endodermiques, les canaux excréteurs se gonflent à leur tour, repoussant les pores excréteurs qui font alors hernie au-dessus de l'ectoderme du pôle aboral sous la forme de deux petits mamelons. Finalement les pores excréteurs s'ouvrent, laissant jaillir pendant 5 à 10 minutes, un flot de liquide et de mucus très fluide qui diffuse rapidement dans le milieu ambiant. Lorsque les canaux ont repris leur diamètre normal, les pores excréteurs diminuent de taille, s'obturent et disparaissent complètement, devenant difficilement décelables à la loupe. Chaque animal possède son propre rythme, indépendant de sa taille, et dont la période séparant deux ouvertures successives se situe entre 1 et 2 heures environ.

Une élévation de pression à l'intérieur du système endodermique d'une *Beroe* peut être provoquée artificiellement en injectant directement de l'eau de mer dans les canaux méridiens. A chaque fois, il s'ensuit une ouverture des pores excréteurs qui rétablit une pression intravasculaire normale. L'ouverture des pores excréteurs apparaît donc comme un phénomène mécanique, reflétant une activité plus ou moins grande du système gastrovasculaire.

Mais cette activité n'est pas sans rapport avec la régulation du milieu intérieur mésogléen. En effet, si l'on injecte 10 ml d'eau de mer colorée par de l'érythrosine à 0,01 g/l dans la mésoglée d'une *Beroe*, le liquide injecté diffuse mal et reste localisé en un point d'œdème coloré soulevant l'ectoderme à la façon d'une cloque. La résorption de celle-ci va s'effectuer corrélativement au gonflement des canaux du système gastrovasculaire qui se teintent rapidement en rouge. Cette dilatation apparaît d'abord au niveau des diverticules endodermiques proches du point d'injection, puis s'étend en direction du pôle aboral jusqu'au carrefour stomacal des huit canaux radiaires. Au bout d'une dizaine de minutes, les pores excréteurs s'ouvrent libérant le contenu coloré du système canaliculaire. Puis le processus recommence, conduisant à une émonction toutes les 10 minutes environ, jusqu'à ce que l'œdème soit complètement résorbé. Le rythme normal d'excrétion reprend alors, avec une périodicité moyenne de 65 minutes. Il est à noter qu'aucune sortie de liquide coloré n'a pu être observé au niveau de la bouche, du pharynx ou de l'ectoderme externe pendant tout le temps de l'expérimentation. La rapidité de la réponse obtenue (gonflement et coloration des canaux) ainsi que l'accélération du rythme d'ouverture des pores excréteurs indiquent un passage rapide du liquide injecté de la mésoglée vers la lumière

des canaux, à travers l'épithélium endodermique. De plus, elles soulignent l'efficacité de l'activité excrétrice de l'endoderme. Une telle vitesse d'élimination semble aller de pair avec l'existence au niveau de l'endoderme, d'une communication directe entre la mésoglée et la cavité gastrovasculaire, par le biais des rosettes ciliées.

b) *Au cours de la régulation hydrostatique.* Lorsqu'on place des *Beroe ovata* dans de l'eau de mer concentrée (1240 ou 1360 mosm), elles flottent d'abord à la surface de l'eau, incapables de s'enfoncer malgré une grande activité de leurs palettes natatoires. Au bout de quelques heures, les animaux reprennent un comportement normal. Si des *Beroe* sont mises dans de l'eau de mer diluée (850 ou 960 mosm), elles tombent au fond du cristalliseur qui les contient, malgré un battement intense de leurs palettes natatoires. Au bout de plusieurs heures, leur comportement redevient tout à fait normal, les *Beroe* nageant à tous les niveaux du bac d'élevage.

Un phénomène de régulation hydrostatique a donc lieu permettant aux animaux d'ajuster leur densité par rapport à celle du milieu ambiant.

Afin de déterminer comment s'opère cette régulation, nous avons repris les expériences de Hykes (1930) sur des *Beroe ovata* placées dans des milieux dilués ou concentrés. Chaque expérience a duré 7 heures; pour chaque pesée et mesure de volume, les animaux soigneusement égouttés sont placés dans une éprouvette renfermant 200 ml du milieu dont les animaux sont issus; les résultats, obtenus par les différences pondérales et volumétriques entre l'éprouvette sans les animaux et l'éprouvette avec les animaux, sont donnés dans le Tableau 1. On constate

Tableau 1. Variation du poids et du volume du corps de *Beroe ovata* au cours de la régulation hydrostatique

N° d'exp.	Milieu d'exp. (mosm)	Densité du milieu	Poids des A ^x (g)	Volume des A ^x (ml)	Densité des A ^x
I	1100	1,024	62,730	61	1,028
	960	1,021	65,870	64,5	1,021
	850	1,018	69,175	67,9	1,018
II	1100	1,024	70,980	69	1,028
	960	1,021	78,025	76,3	1,022
	850	1,018	80,400	79	1,018
III	1100	1,024	59,780	58,4	1,023
	960	1,021	67,945	66,5	1,021
	850	1,018	79,740	78,3	1,018
IV	1100	1,024	29,165	28,4	1,026
	1240	1,035	25,390	24,5	1,036
	1360				
V	1100	1,025	28,200	27,4	1,029
	1240	1,034	21,725	21	1,034
	1360				
VI	1100	1,025	34,745	33,8	1,028
	1240	1,033	27,475	26,5	1,036
	1360	1,039	17,510	16,8	1,042

que dans l'ensemble, les *Beroe* maintiennent leur densité légèrement au-dessus de celle du milieu où elles se trouvent et que cet ajustement de densité s'effectue par variation du poids et du volume du corps. Mais dans l'interprétation des résultats, il faut tenir compte de la perte de poids consécutive au jeûne auquel sont soumises les *Beroe* pendant toute la durée de l'expérimentation (7 heures). Cette perte de poids, mesurée sur des animaux témoins maintenus en eau de mer normale (1100 mosm) s'élève à 20% par 24 heures, soit 5,8% en 7 heures (fig. 1). On remarque alors que pour un même poids initial de *Beroe* (100 g) placées dans des milieux d'osmolarité accrue ou diminuée de la même valeur par rapport à l'osmolarité normale de l'eau de mer (c'est à dire 1100 ± 140 mosm), la perte de poids des animaux en milieu concentré ou son augmentation en milieu dilué s'écartent sensiblement de la même valeur (+15,3 g et -13,2 g) de part et d'autre de la droite représentant la perte de poids due au jeûne (-5,8 g, fig. 2).

Au cours de cette régulation hydrostatique, l'activité des canaux gastrovasculaires et des pores excréteurs est modifiée. En milieu concentré, le rythme des émonctions ne varie pas ou s'accélère légèrement par rapport au rythme constaté sur le même animal en eau de mer normale. Les remous de diffusion créés dans le milieu ambiant par le rejet de liquide par les pores excréteurs révèlent que celui-ci a une densité beaucoup plus faible que celle de l'eau de mer concentrée où l'animal est placé. Puis la densité du liquide rejeté augmente progressivement jusqu'à ce qu'elle atteigne, au bout de 3 à 4 excréctions successives, la même valeur que celle du milieu environnant.

En eau de mer diluée, le rythme d'ouverture des pores excréteurs se ralentit nettement avant de reprendre une périodicité identique à celle qu'il avait avant la dilution. Si on injecte de l'eau de mer colorée par de l'érythrosine dans la mésoglée d'une *Beroe ovata* placée dans de telles conditions, le point d'œdème créé reste très localisé, et l'on observe aucune coloration des canaux endodermiques et aucun rejet de liquide coloré par les pores excréteurs.

Finalement, tout se passe comme si l'activité du système gastrovasculaire était ralentie ou bloquée en milieu dilué, alors qu'un milieu concentré la ferait croître.

2. Les rosettes ciliées

L'excrétion et la régulation hydrostatique provoquant des modifications analogues au niveau des canaux endodermiques et des pores excréteurs, l'intervention d'un mécanisme unique peut être envisagé. Les rosettes ciliées, localisées au niveau du système gastrovasculaire pourraient en être les structures responsables. Comment fonctionnent-elles ?

Pour les observer *in vivo* au microscope, sans perturber de façon trop profonde l'intégrité du compartiment interne (mésoglée) nous avons utilisé les auricules d'*Eucharis multicornis*. De forme très allongée, leur ablation ne crée en effet qu'une faible surface de section où la mésoglée est en contact direct avec l'eau de mer. Chaque auricule est parcouru d'un fin canal endodermique périphérique riche en rosettes ciliées.

En eau de mer normale (1100 mosm), l'activité des flagelles de chaque couronne est différente: ceux tournés vers la mésoglée (flagelles intramésogléens) sont animés de lents mouvements hélicoïdaux asynchrones, alors que ceux orientés

vers la lumière du canal (touffe intravasculaire) ne battent pas et restent groupés en une touffe dressée perpendiculairement à la paroi du canal.

La substitution d'eau de mer plus concentrée (1240 mosm) au milieu précédent provoque la mise en mouvement progressive de la touffe intravasculaire. Lorsque celle-ci atteint son activité maximale, ses flagelles se couchent, s'orientent presque parallèlement à la paroi du canal et semblent animés de mouvements rotatoires synchrones. Peu à peu le diamètre du canal endodermique augmente. Parfois, un élément intramésogléen (cellule mésenchymateuse ?) vient buter contre les flagelles intramésogléens d'une rosette. Ceux-ci sont alors fortement comprimés par suite de la pression exercée sur eux par cette cellule qui semble sollicitée — quoique sans succès — à traverser le puits central de la rosette. Les trépidations qui animent cet élément cellulaire, les fléchissements plus ou moins prononcés des flagelles intramésogléens, ainsi que le gonflement consécutif du canal vasculaire indiquent l'existence d'un courant liquide dirigé de l'intérieur de la mésoglée vers la lumière canaliculaire et passant par le puits central de la rosette.

Si on modifie alors la concentration du milieu externe en remplaçant l'eau de mer concentrée par de l'eau de mer diluée (960 mosm), l'abaissement de la concentration ionique du milieu entraîne dans un premier temps la cessation de toute activité flagellaire au niveau des rosettes. Dans le cas exceptionnel où une cellule mésenchymateuse venait s'appuyer sur les flagelles intramésogléens, on voit ces derniers précédemment comprimés, s'allonger de plus en plus, repoussant la cellule qui reste cependant à proximité. La correspondance entre l'inactivité flagellaire des rosettes et le ralentissement (ou l'arrêt) du courant liquide passant par le puits central de celles-ci souligne donc le rôle joué par les flagelles dans la régulation hydrique de l'animal. Dans un second temps, le mouvement flagellaire des rosettes reprend, conduisant à une intense activité de la touffe intravasculaire. Les flagelles qui la composent restent maintenant dressés perpendiculairement à l'épithélium endodermique et paraissent animés d'ondulations spirales synchrones, dirigées de la base des flagelles vers leur extrémité. Eventuellement, l'élément cellulaire resté près des flagelles intramésogléens s'en éloigne, comme entraîné par un courant d'eau dirigé vers la profondeur de la mésoglée. Par ailleurs, le diamètre du canal endodermique se réduit considérablement. Le déplacement de la cellule mésenchymateuse en direction de la mésoglée, ainsi que la réduction marquée de la lumière du canal vasculaire témoignent de l'existence, à travers le puits central de la rosette, d'un courant liquide dirigé cette fois-ci de la lumière canaliculaire vers la mésoglée.

Enfin, les différentes observations que nous avons pu mener sur des tissus *in vivo* nous ont montré l'indépendance des rosettes vis-à-vis les unes des autres. Ce sont les rosettes les plus proches de la section de l'auricule (c'est à dire les plus rapidement atteintes par les variations du milieu ambiant, dans les conditions de l'observation) qui répondent d'abord à ces modifications; la réponse enregistrée sur les premières rosettes gagne ensuite de proche en proche l'extrémité fermée de l'auricule. Cette progression correspond sans doute à l'avancée du front de concentration ionique différent dans le canal endodermique.

Il faut souligner ici que toute notre expérimentation a été conduite sans tenir compte de la composition ionique des différents milieux, en particulier

lors de l'apport de NaCl dans les milieux concentrés. Mais aucune différence notable dans les résultats n'a été observée entre ceux obtenus à l'aide de milieux concentrés par évaporation (donc respectant les proportions, sinon les concentrations des différents constituants de l'eau de mer) et ceux obtenus dans des milieux concentrés par apport de chlorure de sodium à de l'eau de mer normale (et ne respectant alors ni les proportions ni les concentrations ioniques). L'action spécifique de certains ions (cations monovalents en particulier) sur l'activité flagellaire ne doit cependant pas être négligée (Fawcett, 1961) et reste une explication possible de la modification des battements des flagelles de la touffe intravasculaire ainsi que des mouvements liquides observés, consécutifs aux changements de concentration du milieu.

En résumé, l'excrétion et la régulation hydrostatique des Cténaïres sont assurées par les mêmes structures ponctuant l'ensemble du système gastrovasculaire: les rosettes ciliées. Celles-ci règlent ces fonctions en provoquant soit le rejet d'un fluide intramésogléen vers l'extérieur, soit l'absorption du liquide intravasculaire en direction de la mésoglée; ces échanges liquides s'effectuent à travers le puits central de chacune des rosettes ciliées.

Etude ultrastructurale des rosettes ciliées et de leur fonctionnement

L'originalité de fonctionnement de ces rosettes nous a conduit à rechercher au niveau ultrastructural des dispositifs cytologiques particuliers ou des modifications caractéristiques en rapport avec les changements de concentration du milieu extérieur.

1. Ultrastructure

Les observations effectuées à l'aide du microscope électronique précisent les descriptions antérieures faites en microscopie photonique. Les 16 cellules constituant chaque rosette revêtent des aspects différents selon leur position. En coupe transversale (fig. 3), les cellules de la couronne supérieure disposée contre la lumière du canal, ont un aspect aplati et prolongent le plan de l'épithélium endodermique, alors que celles de la couronne inférieure sont piriformes et font saillie dans la mésoglée. La condensation des microfibrilles mésogléennes qui soulignent l'endoderme à la façon d'une membrane basale s'interrompt au niveau du puits central. Ceci correspond vraisemblablement à la fluidification de la mésoglée, déjà signalée en microscopie photonique.

Chaque cellule de la rosette renferme un noyau homogène volumineux, souvent lobé, et ponctué d'un petit nucléole très dense aux électrons. Au voisinage de chaque appareil nucléaire se rassemblent quelques mitochondries à crêtes tubulaires faiblement développées. Quelques corps multivésiculaires et des microtubules localisés entre les corps basaux des flagelles complètent l'équipement cytoplasmique commun à toutes ces cellules.

Contrairement à ce que l'on observe habituellement entre les autres cellules de l'endoderme, les interdigitations membranaires sont assez peu développées. La cohésion des cellules entre elles est assurée par une densification interne importante des membranes plasmatiques en regard. Ce dispositif est renforcé par quelques structures analogues aux desmosomes modifiés de Farquhar et Palade

(1965). A leur niveau, l'espace intercellulaire devient constant (200 Å) et peut renfermer un matériel homogène dense disposé selon une ligne médiane.

Des coupes horizontales passant au niveau de la couronne supérieure seulement (fig. 5) montrent que le cœur de la rosette est occupé par les prolongements centraux des cellules de cette couronne. Ces prolongements sont étroitement accolés et constituent un véritable diaphragme analogue à celui d'un objectif photographique. Bien que ce dispositif soit susceptible d'obturer totalement le puits central de la rosette (fig. 5), il peut aussi se relâcher, mettant alors la mésoglée en contact direct avec le liquide circulant à l'intérieur des canaux (fig. 3). La périphérie de cette zone iridienne centrale est soulignée par la présence de fins filaments de 50 à 100 Å de diamètre, plus ou moins groupés, et qui grossièrement dessinent d'une cellule à l'autre un faisceau concentrique au centre de la rosette (fig. 6). Cependant la disposition de ces amas fibrillaires intracellulaires n'est pas constante. Ainsi, une disposition plus ordonnée des filaments s'observe dans les cellules dont la sinuosité des membranes plasmiques reflète un état de tension plus prononcé au niveau de ces amas fibrillaires.

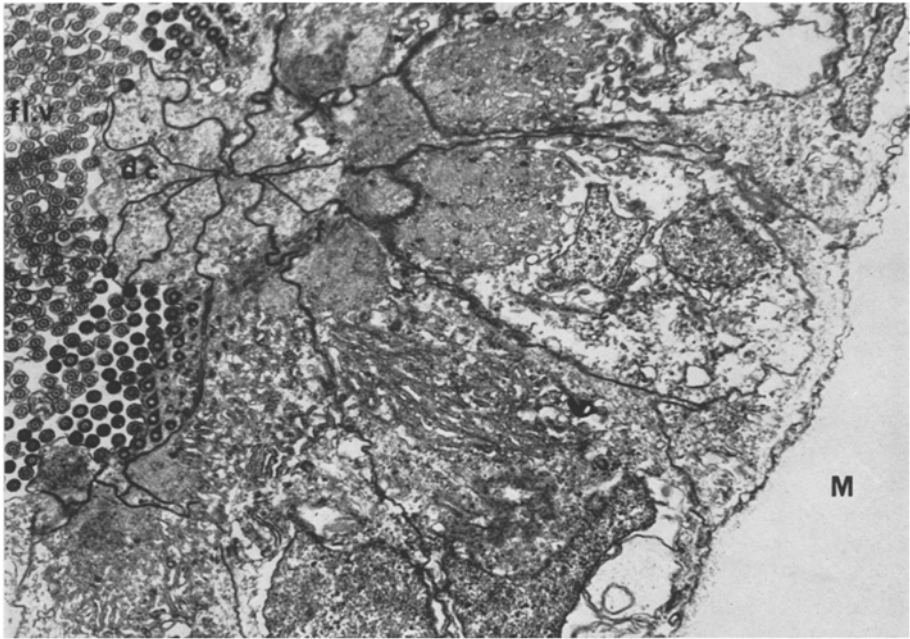
Les nombreux flagelles portés par cette couronne sont insérés régulièrement sur la surface cellulaire limitant le canal endodermique. Ils sont portés par un corpuscule basal flanqué d'un petit pied basal toujours orienté vers le centre de la rosette (fig. 3—5). A l'intérieur du cytoplasme, chaque corps basal est prolongé par des racines finement fibrillaires (r_1) entre lesquels le réticulum endoplasmique se développe considérablement, réalisant un véritable réseau de canalicules qui enserre chacune des structures radiculaires (fig. 8).

D'autres coupes passant au niveau de la couronne inférieure montrent que les flagelles intramésogléens, beaucoup moins nombreux mais deux fois plus longs, s'implantent de façon désordonnée sur les cellules qui la constituent. Le corpuscule basal de ces flagelles ne semble pas posséder de pied latéral, mais porte en plus d'une structure radulaire r_1 identique aux précédentes et associées elles aussi à du réticulum, une deuxième racine fibrillaire r_2 de plus grande taille, disposée perpendiculairement à la première et présentant des nœuds de condensation espacés de 445 Å. Aucun développement particulier du réticulum endoplasmique n'a pu être remarqué autour de ce deuxième type de racine.

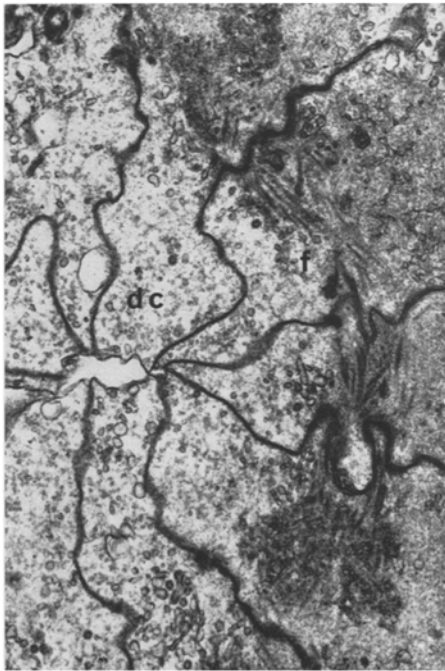
2. Les effets du changement du milieu extérieur

a) Sur les cellules de la rosette. Les préparations réalisées à partir d'animaux ayant séjournés 1 h 30 dans des milieux d'osmolarité inférieure ou supérieure à 1100 mosm (eau de mer normale) révèlent dans tous les cas une dilatation importante du réticulum endoplasmique des cellules. Cette dilatation, visible au niveau de l'ensemble des cellules constituant les épithéliums ectodermiques et endodermiques, est particulièrement accusée dans les cellules des rosettes. Ainsi elle peut conduire à des images caractéristiques où une partie du cytoplasme paraît isolée au centre de chacune des cellules (fig. 9). Les racines fibrillaires r_1 des flagelles hérissent la périphérie de ces îlots cytoplasmiques, mettant en évidence la disposition usuelle en manchon du réticulum endoplasmique autour de ces racines.

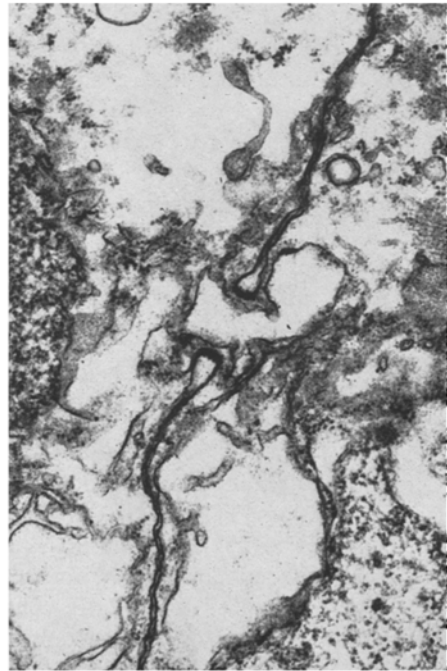
b) Sur les « membranes basales ». Sur les mêmes coupes, la microscopie électronique montre une évolution de la substance mésogléenne sous la forme d'une



5



6



7

Fig. 5. Rosette ciliée de *Beroë ovata* (1240 mosm). Coupe semihorizontale passant par le diaphragme central entièrement fermé. G \times 7450. *dc* diaphragme central; *f* filaments; *fl.v.* touffe de flagelles intravasculaires; *M* mésogée

Fig. 6. Rosette ciliée de *Beroë ovata* (1240 mosm). Détail des filaments concentriques de la couronne cellulaire supérieure. G \times 16250. *dc* diaphragme central; *f* filaments

Fig. 7. Rosette ciliée de *Beroë ovata* (1240 mosm). Pont cytoplasmique entre deux cellules de la couronne inférieure. G \times 28800

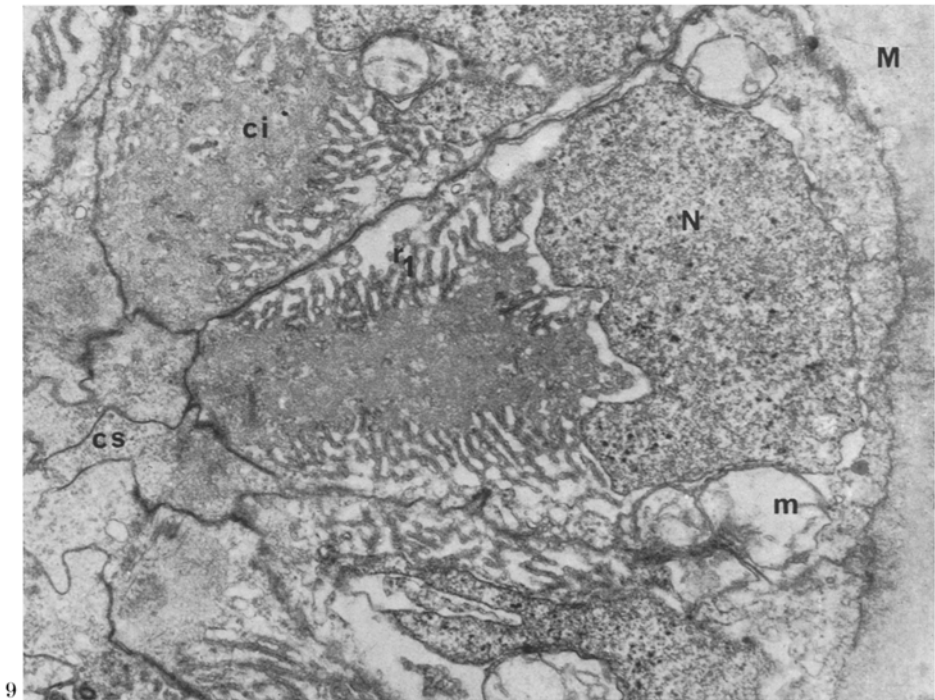
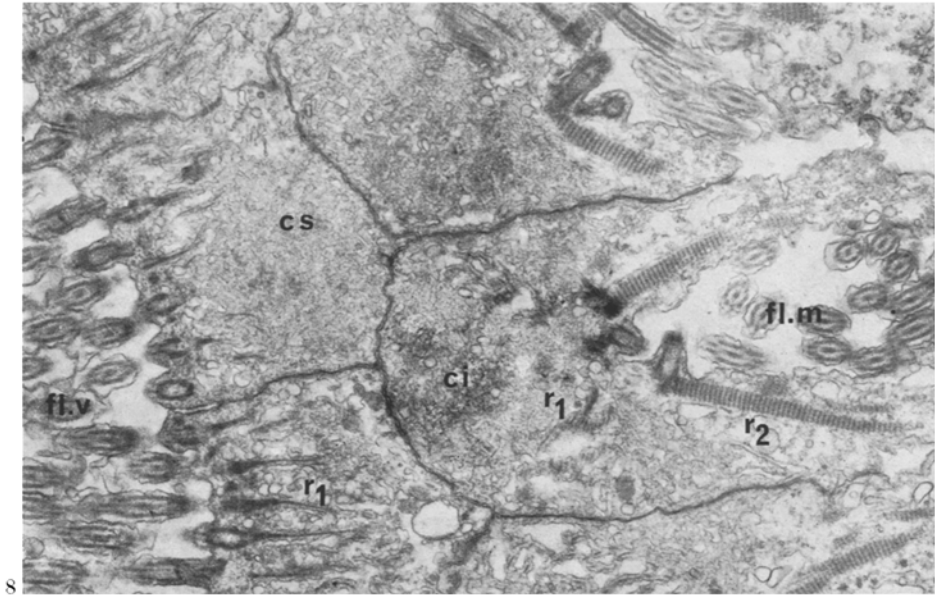


Fig. 8. Coupe longitudinale de rosette ciliée de *Beroë ovata* (1100 mosm). Racines des flagelles intravasculaires et intramésogléens. G \times 15700. *c.i.* couronne inférieure; *c.s.* couronne supérieure; *fl.m.* flagelles intramésogléens; *fl.v.* flagelles intravasculaires

Fig. 9. Coupe horizontale de rosette ciliée de *Beroë ovata* (1240 mosm). Dilatation du réticulum autour des racines flagellaires r_1 . G \times 9550. *c.i.* couronne inférieure; *c.s.* couronne supérieure; *M* mésoglyée; *m* mitochondrie; *N* noyau

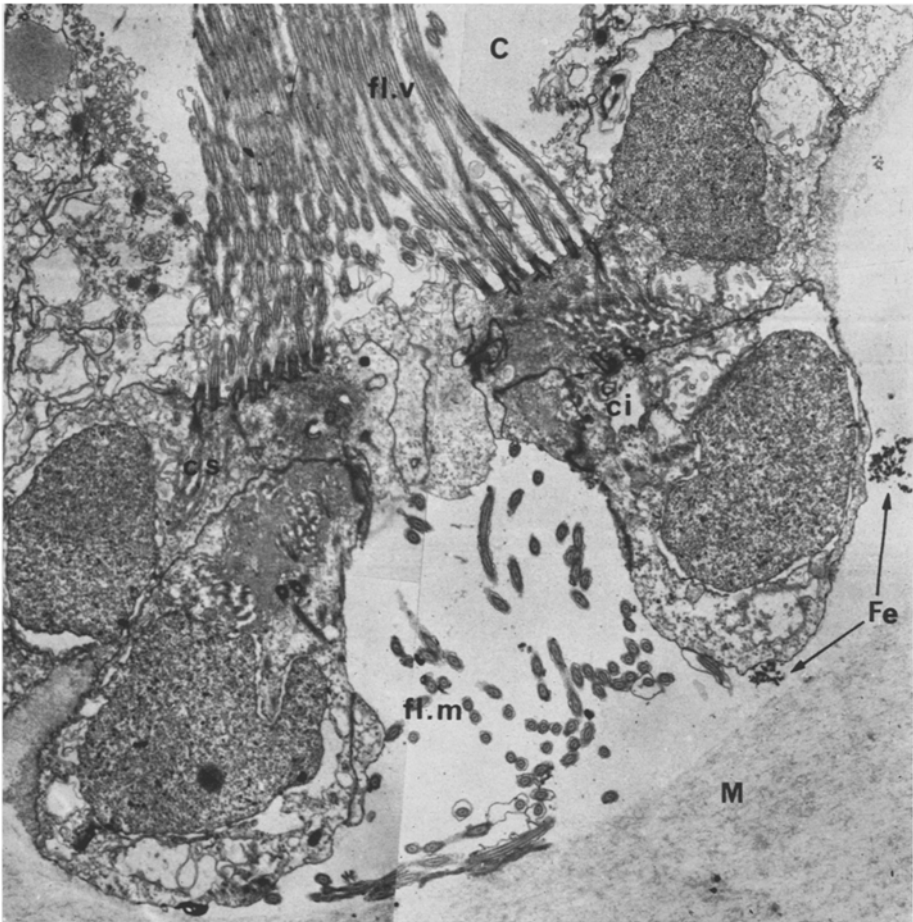


Fig. 10. Coupe longitudinale de rosette ciliée de *Beroë ovata* (960 mosm). Présence de ferritine à l'intérieur de la mésoglée. G \times 5400. C lumière du canal; c.i. couronne inférieure; c.s. couronne supérieure; fl.m. flagelles intramésogléens; fl.v. flagelles intravasculaires; M mésoglée; Fe ferritine

densification aux électrons. Celle-ci résulte d'une augmentation particulièrement nette du matériel fibrillaire de la mésoglée, tout spécialement au niveau des «membranes basales» qui sous-tendent les épithélium ou entourent les cellules musculaires. Une réaction analogue du microenvironnement cellulaire ayant été observé au cours de la régénération de ces mêmes animaux (J. M. Franc, 1970), ou au cours de processus identiques chez des Cnidaires (S. Franc, 1970) et des Spongiaires (Y. Thiney, en préparation), cet épaissement des «membranes basales» nous paraît refléter un changement dans la composition du milieu interne.

c) *Sur le transfert de substances vers la mésoglée.* A l'aide d'une fine canule, nous avons injecté dans l'estomac de plusieurs animaux 1 ml d'une solution

commerciale pure de ferritine¹. Les pulsations rythmiques de l'estomac font progresser la ferritine dans les canaux méridiens qui se colorent en brun. Deux à trois heures après l'injection, des fragments d'endoderme sont prélevés et fixés pour la microscopie électronique. Quelque soit la concentration du milieu d'expérience, l'observation ultrastructurale nous a toujours fait retrouver une partie de la ferritine dans les vacuoles de l'endoderme digestif. Celui-ci présente notamment des figures de phagocytose analogues à celles décrites par Slautterback (1967) dans les cellules digestives de *Hydra*. Par contre, nous n'avons jamais trouvé de ferritine à l'intérieur des cellules constituant les rosettes ciliées. Dans le cas précis de *Beroe* placées en milieu hypotonique (960 mosm), de petits amas de ferritine ont été retrouvés dans la mésoglée au voisinage immédiat des rosettes (fig. 10) et près du pôle basal des cellules digestives. Aucune trace de ferritine intramésogléenne n'a pu être décelé chez les animaux ayant séjournés en eau de mer concentrée (1240 mosm). Cette constatation nous indique qu'en milieu de densité plus faible que celle de l'eau de mer, une entrée de liquide de la cavité gastrovasculaire vers la mésoglée, vraisemblablement par l'orifice central des rosettes endodermiques, a lieu, sans phénomène de filtration.

Discussion

L'aptitude de *Beroe ovata* à retrouver un comportement normal au sein d'un milieu de densité différente de celle du milieu habituel, suppose l'existence d'une régulation du poids spécifique du corps de l'animal, c'est à dire d'une régulation hydrostatique. Cette régulation pourrait théoriquement se faire par les mécanismes simples de rétention ou de déplétion d'eau du système gastrovasculaire. Certaines de nos observations vont à l'encontre de cette possibilité théorique.

Par ailleurs, les travaux effectués sur des Cnidaires, groupe phylogénétiquement voisin des Cténaïres mais ne possédant aucune structure analogue à celle des rosettes ciliées, mettent en évidence des mouvements ioniques importants entre le milieu extérieur et l'animal. Chez la méduse d'eau douce *Craspedacusta soubberyi*, Fleming et Hazelwood (1967) constatent une accumulation des ions Na^+ et K^+ au niveau de la mésoglée parallèlement à l'élévation de la concentration ionique du milieu environnant, de telle façon que la pression osmotique du fluide tissulaire lui soit toujours supérieure. D'autre part, Hazelwood et coll. (1970) supposent que la régulation ionique et volumétrique du corps de cette méduse se réalise par rejet à travers la paroi gastrovasculaire d'une solution hypertonique en Na^+ par rapport à la concentration globale en sodium de l'animal. Chapman (1960) considère que chez les Cnidaires marins pélagiques, les phénomènes d'ajustement de leur densité se réalisent couramment par variation des proportions des différents ions de la mésoglée (chlorures et sulfates essentiellement) sans que ces échanges n'entraînent de modification osmotique globale du fluide mésogléen. Mackay (1969) constate, en mesurant au moyen d'isotopes radioactifs la régulation des échanges des ions sulfates chez plusieurs genres de méduses marines (placées dans des milieux de concentrations différentes en ions sulfates) que ces animaux maintiennent une concentration interne des ions SO_4 plus basse que celle du milieu d'expérience. Il estime que cette réduction quantitative des

1 Ferritin $2 \times$ cryst. Pentex PP0862, Fluka.

ions sulfates vis-à-vis de l'eau de mer pourrait être, par sa répercussion sur la densité, l'un des facteurs de la flottabilité des méduses. Pour lui, ces déplacements ioniques — probablement situés au niveau du système gastrovasculaire — sont toujours le fait de phénomènes transépithéliaux actifs lents. Ainsi, la balance ionique des sulfates entre le milieu extérieur et la mésoglée chez *Aequorea* s'établit environ 100 fois plus lentement dans la mésoglée d'un animal entièrement recouvert de ses épithéliums que dans un fragment de mésoglée de même taille, mais entièrement mis à nu (Mackay, 1969). De même, cet auteur constate que des méduses présentant des lésions épithéliales sont plus perméables aux ions sulfates que des méduses intactes.

Pour revenir à nos observations in vivo de l'auricule d'*Eucharis*, il apparaît que des échanges s'effectuent à travers les rosettes ciliées entre la mésoglée et le milieu extérieur, par le biais du système gastrovasculaire: lorsqu'un Cténaire est placé en eau de mer diluée, un courant liquide s'établit de l'extérieur vers la mésoglée; au contraire, en eau de mer concentrée s'effectue une sortie de liquide de la mésoglée vers l'extérieur. Les observations de Zirpolo (1943) sur l'apparition de grosses vacuoles à l'intérieur de la mésoglée de *Beroe* placées en milieu hypotonique pourrait alors s'expliquer facilement.

D'après les résultats de la fig. 1, qui confirment et complètent ceux de Hykes (1930), le volume du corps de *Beroe* et sa masse subissent tous deux une augmentation en milieu marin dilué ou une diminution en milieu marin concentré. En outre, l'étude ultrastructurale des rosettes révèle une structure assez originale. En effet, bien qu'étant responsables d'échanges liquides entre deux compartiments (le milieu extérieur et la mésoglée), elles ne présentent outre des flagelles, aucune des caractéristiques essentielles de tout système filtrant: pas de membrane sélective, que celle-ci soit cellulaire (membrane cytoplasmique) ou non (membrane basale), aucun repli membranaire propre à augmenter une éventuelle surface de filtration, pas de stock mitochondrial important suggérant un métabolisme élevé, aucune vésicule de pinocytose, aucun prolongement amoéboïde analogue à ceux des pôles distaux des protonéphridies. Et bien que Hadzi (1957) voit dans les néphridies particulières du Némertien *Cephalothrix* (Coe, 1930) une similitude structurale avec les rosettes ciliées des Cténaires, l'existence chez *Cephalothrix* d'une chambre terminale limitée par une membrane cellulaire éloigne ces néphridies des rosettes des Cténaires où la mésoglée peut être mise en contact direct avec le contenu des canaux par l'intermédiaire du puits central, lorsque le diaphragme contractile est ouvert.

L'ouverture ou la fermeture du diaphragme central de chaque rosette pourrait dépendre de l'action des faisceaux de filaments denses qu'il contient. En effet, leur disposition particulière ainsi que leur ressemblance en taille et densité avec ceux décrits dans les cellules épithéliales disposées en sphincter contractile de la queue du têtard d'Ascidie en cours de métamorphose (Cloney, 1966), nous conduisent à assimiler ces filaments à des formations contractiles responsables de l'ouverture ou de la fermeture du diaphragme central, par relâchement ou resserrement des prolongements centraux des cellules de l'étage supérieur de la rosette.

L'absence de système filtrant au niveau des rosettes ciliées, ainsi que la présence expérimentale de ferritine dans la mésoglée d'animaux en milieu hypo-

tonique seulement, rendent peu probable l'absorption d'eau pure par l'animal. Par suite nous devons conclure que la régulation hydrostatique des Cténaïres repose sur des échanges rapides, sans sélectivité ionique, entre le fluide mésogléen et l'eau de mer. Alors que l'on pouvait supposer d'après les seules données morphologiques que le sens des courants liquides échangés reposaient sur la dynamique de l'une ou de l'autre des deux touffes de flagelles, l'observation *in vivo* révèle que seule la touffe intravasculaire est responsable du sens des échanges réalisés au niveau des rosettes. La touffe de flagelles intramésogléens n'aurait ainsi qu'un rôle de tamis empêchant toute extrusion d'éléments cellulaires mésogléens libres susceptibles d'être entraînés lors d'une sortie de liquide par les rosettes. La disposition en manchon du réticulum endoplasmique autour des racines flagellaires non périodiques des cellules des deux couronnes, et sa dilatation correlative aux changements de pression osmotique du milieu externe nous incitent à supposer qu'il pourrait jouer un rôle dans l'activité flagellaire.

Quant au problème de l'origine embryologique des rosettes ciliées, il reste obscur. Les ponts intercellulaires observés au niveau de l'étage inférieur d'une rosette ressemblent aux communications protoplasmiques déjà décrites à maintes reprises, notamment chez l'hydre au cours de la différenciation des cellules interstitielles en spermatozoïdes (Burnett et coll., 1966), en nématocystes (Slautterback et Fawcett, 1969) ou en cellules neurosensorielles (Davis, 1969), et chez *Beroë ovata* au cours de la spermatogenèse (J. M. Franc, 1970). Fawcett et coll. (1959) ainsi que Slautterback (1961) interprètent ces ponts intercellulaires comme le résultat d'une cytokinèse incomplète. Il faut donc penser que chaque rosette provient de la division d'une seule cellule endodermique, ou comme le suggère Hadzi (1957) de l'association et de la division synchrone d'une cellule endodermique et d'une cellule mésodermique. Le nombre constant (huit) des cellules qui constituent chaque étage d'une rosette ainsi que l'orientation centripète des pieds basaux de tous les flagelles de la couronne supérieure appuient ces hypothèses.

Bibliographie

- Burnett, A. L., Davis, E., Ruffing, F. E.: A histological and ultrastructural study of germinal differentiation of interstitial cells arising from gland cells in *Hydra viridis*. *J. Morph.* **120**, 1—8 (1966).
- Chapman, G.: The structure and functions of the mesoglea. In: *The Cnidaria and their evolution* (ed. W. J. Rees). London: Acad. Press 1960.
- Chun, C.: Die Ctenophoren des Golfes von Neapel. Eine Monographie. Fauna und Flora des Golfes von Neapel, Bd. 4, 313 S. Leipzig 1880.
- Cloney, R. A.: Cytoplasmic filaments and cell movements: epithelial cells during Ascidian metamorphosis. *J. Ultrastruct. Res.* **14**, 300—328 (1966).
- Coe, W. R.: The peculiar nephridia of the Nemertean of the genus *Cephalothrix*. *Zool. Anz.* **89**, 103—108 (1930).
- Davis, L. E.: Differentiation of neurosensory cells in *Hydra*. *J. Cell Sci.* **5**, 699—726 (1969).
- Farquhar M. G., Palade, G. E.: Cell junctions in Amphibian skin. *J. Cell Biol.* **26**, 263—291 (1965).
- Fawcett, D. W.: Cilia and Flagella. In: *The cell*, vol. 2, p. 217—297 (eds. J. Brachet and A. E. Mirsky). New York-London: Acad. Press 1961.
- Fawcett, D. W., Ito, S., Slautterback, D.: The occurrence of intercellular bridges in groups of cells exhibiting synchronous differentiation. *J. biophys. biochem. Cytol.* **5**, 453—460 (1959).

- Fleming, W. R., Hazelwood, D. H.: Ionic and osmoregulation in the fresh-water medusa, *Craspedacusta sowerbyi*. *Comp. Biochem. Physiol.* **23**, 911—915 (1967).
- Franc, J. M.: Evolutions et interactions tissulaires au cours de la régénération des lèvres de *Beroë ovata* (Chamisso & Eysenhardt) Cténaïre Nudicténide. *Cah. Biol. Mar.* **11**, 57—76 (1970).
- Franc, S.: Les évolutions cellulaires au cours de la régénération du pédoncule de *Veretillum cynomorium* Pall. *Vie et Milieu* **21**, 1-A, 49—94 (1970).
- Hadzi, J.: Eine Hypothese über die morphologische Bedeutung der sogenannten Wimperrosetten der Ctenophoren. *Bull. Sci. Yougoslavie* **2**, 77 (1955).
- Hadzi, J.: Die morphologische Bedeutung der Wimperrosetten der Ctenophoren. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., ser. VI, Zool.* **13**, 32—36 (1957).
- Hazelwood, D. H., Potts, W. T. W., Fleming, W. R.: Further studies on the sodium and water metabolism of the fresh-water medusa *Craspedacusta sowerbyi*. *Z. vergl. Physiol.* **67**, 186—191—(1970).
- Hertwig, R.: Über den Bau der Ctenophoren. *Jena. Z. Naturwiss.* **14**, 393—547 (1880).
- Hykes, O. V.: Résistance des Cténoptères du genre *Beroë* dans l'eau de mer diluée. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **103**, 355—358 (1930).
- Hyman, L. H.: *The invertebrates: Protozoa through Ctenophora*, p. 662—696. New York: McGraw-Hill Book Company 1940.
- Krumbach, Th.: Ctenophora. In: *Handbuch der Zoologie von W. Kükenthal und Th. Krumbach* (ed.). Berlin: W. de Gruyter & Co. 1925.
- Mackay, W. C.: Sulphate regulation in jellyfish. *Comp. Biochem. Physiol.* **30**, 481—488 (1969).
- Metschnikoff, E.: Vergleichend-embryologische Studien. IV. Ueber die Gastrulation und Mesodermbildung der Ctenophoren. *Z. wiss. Zool.* **42**, 648—656 (1885).
- Reverberi, G.: Quelques nouvelles recherches expérimentales sur le développement des Cténoptères. *Ann. Biol. Fr.* **5**, 375—390 (1966).
- Reynolds, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208—213 (1963).
- Slautterback, D. B.: Nematocyst development. In: *The biology of Hydra and of some other Coelenterates* (eds. Lenhoff and Loomis), p. 77—129. Coral Gables, Florida: Univ. of Miami Press 1961.
- Slautterback, D. B.: Coated vesicles in absorption cells of *Hydra*. *J. Cell Sci.* **2**, 563—572 (1967).
- Slautterback, D. B., Fawcett, D. W.: The development of the cnidoblasts of *Hydra*. An electron microscope study of cell differentiation. *J. biophys. biochem. Cytol.* **5**, 441—452 (1959).
- Varigny, A. de: Notes sur l'action de l'eau douce, de la chaleur et de quelques poisons sur le *Beroë ovatus*. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **39**, 61—63 (1887).
- Wagener, G. R.: Ueber *Beroë (ovatus?)* und *Cydidippe pileus* von Helgoland. *Arch. Anat. Physiol.* 116—133 (1866).
- Zirpolo, G.: Ricerche sugli Ctenofori. 2. L'adattamento alla vita di acqua dolce. *Boll. Soc. Nat. Napoli* **53**, 143—171 (1943).

Dr. J.-M. Franc
 Service d'Histologie et de Biologie tissulaire
 Université Claude Bernard
 43 boulevard du 11 Novembre 1918
 69-Villeurbanne
 France