

APPORT DES BIOLOGISTES FRANCOPHONES
A LA CONNAISSANCE DES TUNICIERS
AU COURS DES CENT VINGT-CINQ
DERNIERES ANNEES *

J. GODEAUX
Institut de Zoologie, Université de Liège
Liège (Belgique)

CONTRIBUTIONS OF THE FRENCH-SPEAKING
BELGIAN BIOLOGISTS TO THE TUNICATE
KNOWLEDGE DURING THE LAST 125 YEARS

Mots-clés : Tuniciers, Aperçu historique, Belgique

Key-words : Tunicates, Historical Survey, Belgium

I. INTRODUCTION

Les Tuniciers constituent un embranchement dont les affinités et la position systématique ont fait longtemps l'objet de discussions passionnées. Elles n'ont été comprises en effet qu'il y a quelque cent vingt-cinq ans avec la publication du mémoire d'Alexandre Kowalevsky sur le développement de *Phallusia mammillata* (1867).

Les Ascidiées, membres de cet embranchement, comptent de nombreuses espèces littorales, de belle taille et aux couleurs vives. Si Aristote les a connues sous le nom de Tethyum, leur étude a débuté réellement avec la seconde moitié du XVIIIème siècle. Les premiers Thaliacés (les Salpes) ont été décrits par Browne (1756) à la Jamaïque, par Pallas (1774) et par Forskål en Méditerranée (1775).

Au début du XIXème siècle, les recherches anatomiques et systématiques se sont intensifiées. Dès 1816, J.C. de Savigny reconnaît que les Ascidiées simples, les Ascidiées composées, les Salpes et les Pyrosomes séparés arbitrairement, obéissent au même plan de structure : animaux marins, filtrants et microphages, munis d'un siphon inhalant et d'un siphon exhalant et au corps enveloppé d'une tunique de consistance variable. Dans l'ignorance de leur embryologie, Lamarck les rapprocha toutefois des Mollusques lamelibranches, dans une classe des Mollusques acéphales sans coquille ou Tunicata.

Peu après, un noble français émigré, Adalbert de Chamisso (1819), découvre l'alternance des générations (ou métagenèse) des Salpes. L'oozoïde stérile bourgeonne un stolon qui se découpe en blastozoïdes sexués : les deux générations sont en général fort différentes, particularité qui avait échappé à Cuvier. Et l'on peut se demander si la gloire de Chamisso réside dans cette découverte biologique fondamentale ou dans l'invention de Peter Schlemihl, l'homme qui vendit son ombre au diable !

* Communication présentée au Colloque d'Histoire des Sciences, Namur (1988).

II. RECHERCHES A L'UNIVERSITE DE LOUVAIN

Dans notre pays, les premières recherches sur les Tuniciers sont de Pierre Joseph Van Beneden (1809-1894), professeur à l'Université de Louvain et fondateur à Ostende en 1842 de la première station de Biologie marine, située à côté d'une huître où il découvre plusieurs espèces d'Ascidies. On lui doit la première description (1847) du développement embryonnaire et de la métamorphose d'*Ascidia (Molgula) ampulloides* Van Beneden avec description de la larve (fig. 1, *op.cit.*, p. 5) évoquant le têtard de la grenouille (*op.cit.*, p. 41). Manifestement influencé par les idées de A. Serres (1788-1863), précurseur de E. Haeckel (1834-1919), que l'embryogenèse récapitule les stades évolutifs de l'espèce, P.J. Van Beneden, intrigué par la larve têtard, écrit "Si l'on ne s'arrête qu'à la forme, on doit être étonné que, dans son jeune âge cet animal (l'Ascidie) a été bien élevé dans l'échelle animale pour descendre de nouveau si bas (*op. cit.*, p. 41). Néanmoins, il maintint les Ascidies parmi les Mollusques en les rapprochant des Bryozoaires, car des détails anatomiques importants lui ont échappé en raison de la faiblesse de ses moyens d'observation.

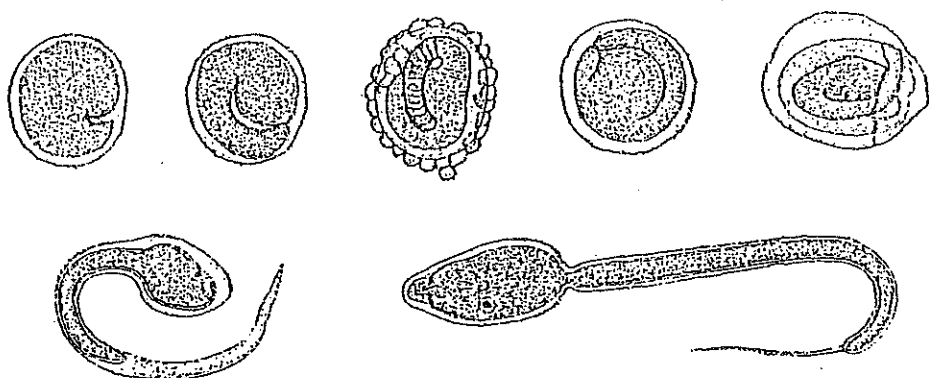


Fig. 1 : Développement de l'oeuf de *Molgula ampulloides* P.J. Van Beneden; stades neurula jeune à larve têtard nageuse.
(D'après P.J. Van Beneden, 1846, Pl. 11).

Il fallut attendre vingt ans pour que Kowalevsky (1867), étudiant le développement embryonnaire de *Phallusia mammillata*, observe que l'embryon passe par un stade neurula et présente le même plan de structure que les chordés. Les Ascidies ne sont donc pas des Mollusques acéphales sans coquille, mais des chordés qu'une métamorphose régressive réduit au stade d'animaux fixés, à apparence d'Invertébrés, filtrants, microphages, hermaphrodites et souvent blastogénétiques.

Les Tuniciers furent désormais à l'honneur dans de nombreux laboratoires d'Europe et d'Amérique. D'importants travaux de morphologie, d'embryologie, de systématique et de faunistique leur furent consacrés. En Belgique, ils furent un des sujets d'étude favoris d'Edouard Van Beneden et de ses élèves. Edouard Van Beneden (1846-1910), devenu titulaire de la chaire de zoologie à l'Université de Liège en 1870, est le père de l'ascidiologie belge. En outre, avec lui, la biologie marine acquit droit de cité dans notre Université; elle y est toujours florissante.

Les recherches sur les Tuniciers subirent une éclipse relative entre les deux guerres. Ils sont à nouveau très étudiés, notamment aux Etats-Unis, et sont le matériel de choix en embryologie expérimentale, en génétique, en écologie. Leur systématique et leur distribution géographique ne sont pas négligées.

En Belgique, plus de deux cent notes, mémoires et traités leur ont été consacrés.

III. LES RECHERCHES A L'UNIVERSITE DE LIEGE

Fasciné par les idées de Darwin sur l'évolution et très impressionné par le mémoire de Kowalevsky, Ed. Van Beneden s'intéressa au problème du passage des Invertébrés aux Vertébrés. Il vit dans les Tuniciers le chaînon manquant possible entre les deux types de structure. C'est dans cette optique qu'il s'occupa entre autres chez ces animaux du développement embryonnaire, de la formation et de la destinée du coelome, de la segmentation que celui-ci impose, de la formation du péricarde, du développement de l'appareil branchial et occasionnellement de la blastogénèse. Il associa à ses travaux plusieurs élèves: Charles Julin (1930), Marc de Selys-Longchamps (1876-1961), Désiré Damas (1877-1959). Ch. Maurice, un élève français, est l'auteur d'une importante étude monographique (1888) de l'Ascidie *Fragaroides aurantiacum* (*Parascidia areolata*).

Développement embryonnaire

Dès 1884, Van Beneden et Julin, suivant le développement de *Clavelina rissoana*, prouvent que le premier plan de segmentation de l'oeuf répond au plan de symétrie bilatérale de l'embryon, alors que le deuxième plan de clivage sépare les régions antérieure et postérieure et le troisième les parties ventrale et dorsale. Par un examen attentif qui leur permit de suivre la destinée des descendants des blastomères jusqu'au stade gastrula, ils établissent pour la première fois le lignage cellulaire (*cell lineage* des auteurs anglo-saxons) et jettent les bases de l'embryologie causale (*Entwicklungsmechanik* de Roux).

Dans un second mémoire sur *Clavelina rissoana*, les classiques *Recherches sur la Morphologie des Tuniciers*, Van Beneden et Julin (1886) soulignent que les organes impairs de la larve, le tube médullaire et la notochorde (chorde dorsale), procèdent d'une ébauche double constituée de deux moitiés parfaitement symétriques par rapport au plan médian anatomique (fig. 2). Ils écrivent (*op. cit.*, p.270) : "Dans les plus jeunes stades larvaires, aucune cellule du corps ne siège dans le plan médian".

Dès 1887, le Français Chabry confirmait leurs vues. Par destruction sélective de blastomères, il prouvait que le premier plan de segmentation chez *Ascidiella aspersa* sépare bien les moitiés gauche et droite de l'embryon et observait qu'il n'y a pas remaniement du germe, ni compensation de la partie détruite : la destruction d'un des deux blastomères entraîne la formation d'un hémiblastomère. L'embryologie expérimentale était née. Les études de Chabry seront poursuivies et confirmées par l'Américain E.G. Conklin en 1905 dans sa monographie *The organization and cell-lineage of the Ascidian egg* (*Stryela parvula*).

Dans leur mémoire de 1886, Van Beneden et Julin montrent en outre que tout le corps de la larve est antérieur au blastopore et donc que la queue locomotrice du têtard répond à une partie du tronc de l'Amphioxus. La larve est réduite à un céphalenteron (Brien, 1968).

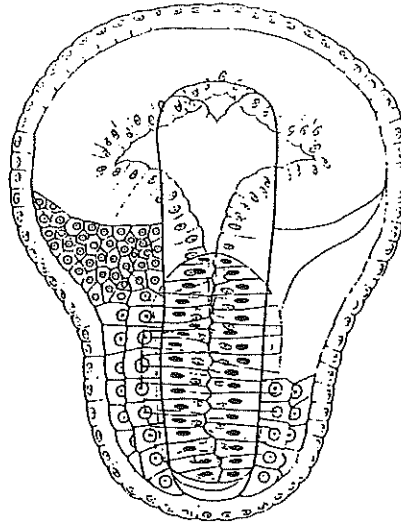


Fig. 2 : Vue dorsale d'une larve jeune de *Clavelina rissoana* montrant l'ébauche double de la corde dorsale et le contour de l'ébauche neurale en projection sur le tube digestif en avant et sur la corde en arrière. Latéralement les amas de cellules mésoblastiques (futurs cellules mésenchymateuses et cellules musculaires caudales). (D'après Ed. Van Beneden et Ch. Julin, 1886, Pl. VIII).

Plus tard, D. Damas (1902), étudiant le développement de Molgules dépourvues de stade tétard typique (genre *Anurella*), démontra que l'organe caudal apparaît sous forme d'une ébauche transitoire mais caractéristique et que l'absence de larve est un fait secondaire et non primitif (contrairement à l'hypothèse de von Kupffer).

Mésoblaste et Cardiopéricarde

Dans une note préliminaire, en 1881, Van Beneden posait la question de l'existence d'un coelome chez les Tuniciers. La réponse en est donnée dans la monographie de 1886 : le mésoderme de la larve est constitué de deux plaques latérales et postérieures, renfermant une fente en communication avec le tube digestif, ce qui prouve que les Tuniciers sont des *Entérocoeliens* (cf. le développement de l'*Amphioxus* et des Vertébrés). Secondairement, après avoir donné les muscles striés de la queue larvaire, le mésoderme se disloque et donne les globules sanguins, le mésenchyme, les muscles lisses et les organes sexuels de l'adulte. Par contre le cardiopéricarde (contrairement à l'opinion de 1881) dériverait d'une ébauche double d'origine hypoblastique (endoblastique), les *procardes* (*op. cit.*, p. 298), donnant également les deux épocardes (fig. 3). Les ébauches paires fusionnent, la cavité devient impaire et par inflexion la paroi dorsale forme le tube cardiaque si particulier des Tuniciers.

Cette manière de voir opposait les Tuniciers aux Vertébrés; Kowalevsky (1866) n'avait pu trancher sur l'origine endoblastique ou mésoblastique du coeur et la plupart, sinon tous les chercheurs de l'époque (Seeliger, Pizon, Willey), concluaient à une origine endoblastique.

La théorie des procardes devait amener Julin (1899) à trouver les épocardes chez des espèces qui n'en possèdent pas (*Cynthiadae*, *Molgulidae*), comme il devait en convenir plus tard (1904) à la suite des travaux de Oka et de Hjort concluant à l'absence des épocardes chez les *Asciidiidae* et les *Stolidobranches*.

D'ailleurs la théorie des procardes avait été très vite critiquée implicitement par deux élèves de Van Beneden, D. Damas et M. de Selys-Longchamps.

Etudiant la formation des épocardes chez *Ciona intestinalis*, Damas (1900) observe qu'ils dérivent de deux gouttières apparues de part et d'autre du raphé rétropharyngien, alors que la larve est fixée et se métamorphose. Ces gouttières s'enfoncent dans le massif viscéral et leurs lèvres se soudent, ne laissant subsister qu'un orifice ouvert dans le pharynx. Les cavités épocardiques jouent le rôle de cavité générale et cloisonnent l'abdomen; du reste récemment, Ivanova-Kazas (1988) a assimilé ces cavités à des cavités coelomiques.

Dans le septum médian résultant de l'accroissement des parois épocardiques est logé le cardiopéricarde. Toutefois chez *Ciona* et contrairement à *Clavelina*, le cardiopéricarde se forme longtemps avant les épocardes, alors que la larve vient d'éclore (de Selys-Longchamps 1901).

Damas (1900), tout en admettant que l'organe dérive du sac branchial, conclut : "chez *Ciona*, l'organe cardiopéricardique d'une part, les formations épocardiques d'autre part n'ont rien en commun au point de vue de leur origine ou de leur mode de formation" (p. 18).

De Selys-Longchamps (1904), sur des larves jeunes de *Ciona intestinalis*, a confirmé l'existence de deux petites vésicules symétriques, ébauches du péricarde, accolées à la paroi branchiale à gauche et à droite du sillon rétropharyngien, et la formation du coeur "sans intermédiaire d'aucune espèce de formation procardique". De plus, il souligne que si les cellules des deux bourrelets sont intimement unies à l'endoderme pharyngien, leur aspect les rapproche des éléments mésoblastiques. Et de refuser de se prononcer sur l'origine réelle des vésicules.

De son côté, Julin (1904), étudiant *Archiascidia neapolitana* qu'il venait de découvrir, signale la présence d'une ébauche cardiopéricardique double sans invoquer les procardes, car il nie la présence de l'épicarde chez cette espèce (à tort, Brien 1933).

La controverse sur l'origine du coeur chez les Tuniciers a pris fin en 1938 lorsque de Selys-Longchamps, reprenant l'étude du matériel de *Clavelina* préparé pour Van Beneden en 1902 et 1904 et incomplètement examiné par lui, a reconnu aux cellules des vésicules péricardiques un aspect différent (cytoplasme granuleux, moindre charge de vitellus) de celui des cellules endoblastiques, ce qui lui a permis de conclure que ces ébauches dérivent des portions ventrales des amas mésoblastiques, comme chez les Vertébrés. La théorie des procardes avait vécu.

Comment Van Beneden avait-il pu commettre une telle erreur d'observation ? Les explications en sont multiples. Van Beneden se reposait entièrement sur son collaborateur Louis Julin, dessinateur remarquable, qui préparait les coupes microscopiques et les dessinait scrupuleusement; c'est sur ses dessins que Van Beneden travaillait. Et surtout l'histologie était dans l'enfance, guère de colorants disponibles et des méthodes de fixation brutales : les Ascidiées étaient traitées par l'acide acétique glacial, puis durcies à l'alcool !

Beaucoup de structures cellulaires disparaissaient, le noyau se présentant comme une bille optiquement vide. Les faibles différences entre cellules endoblastiques et cellules mésoblastiques se trouvaient ainsi occultées.

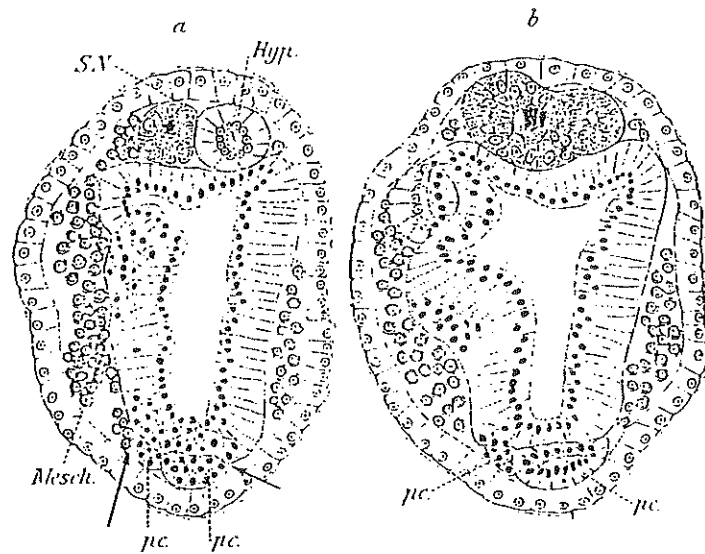


Fig. 3. : Coupes transversales voisines dans une larve de *Clavelina rissoana* à vésicules cloacales ébauchées mais sans communication avec la cavité branchiale; les organes sensoriels sont présents.

Contrairement aux conclusions des auteurs, les figures montrent

a) l'origine commune du système nerveux SN et de l' "hypophyse", Hyp.,

b) les relations des ébauches péricardiques pc (nettement séparées de la paroi pharyngienne) avec les cellules mésoblastiques Mésch. (flèches).

(D'après Ed. Van Beneden et Ch. Julin, 1886, Pl. IX).

L'hypophyse

Charles Julin, dans une description fouillée de la région branchiale de diverses Ascidies (1881), s'est intéressé à un organe accolé au ganglion nerveux et découvert par Hancock (1868). Dans sa recherche d'organes homologues chez les Vertébrés et chez les Tuniciers, Julin a vu dans cet organe le pendant de l'hypophyse "en considération de la situation, de la texture et de l'origine probable de l'organe" (*op. cit.*, p. 68). A cette époque, l'hypophyse des Vertébrés était tenue pour un organe rudimentaire.

L'opinion de Julin ne se fonde absolument pas sur une étude embryologique; il admet sans preuve que cet organe répond à l'hypophyse (adénohypophyse d'origine stomodaeale via la fosse de Rathke). Il insiste cependant à plusieurs reprises sur l'absence de tissu conjonctif interposé entre le ganglion et la glande. Cet organe communique en avant avec le pharynx par un canal vibratile s'ouvrant au centre d'un tubercule cilié, le tubercule

hypophysaire de Julin (fig. 3). La glande est tubuleuse composée; sa cavité contient de petits globules jaunâtres, produits de la desquamation de la paroi. La glande aurait "rempli primitivement chez les chordés la fonction rénale" (*op. cit.*, p. 231). Cette opinion trouvait confirmation dans l'existence de nombreux canaux secondaires débouchant dans la cavité péribranchiale chez *Phallusia mammillata* (Julin 1881).

Dans leur étude du développement de *Clavelina rissoana*, Van Beneden et Julin (1884) affirment que le canal hypophysaire dérive d'une évagination aveugle de la paroi pharyngienne qui vient s'accoller à l'ampoule neurale et donne l'hypophyse. Opinion encore admise par Damas dans son étude sur le développement des Molgules (1902).

L'interprétation de Julin a suscité de nombreuses discussions. Par exemple Willey (1892, 1894) relève que le canal "hypophysaire" dérive de la partie gauche de l'ampoule neurale larvaire qui s'individualise par un repli chez *Ciona intestinalis* et *Clavelina lepadiformis* avant de s'aboucher au stomodaeum par le neuropore. Le complexe hypophysaire est pour lui d'origine neurale, la glande se développant aux dépens de la paroi neurale opposée à celle qui donne le ganglion (d'où cette absence de tissu conjonctif interposé qui intriguait Julin), conclusions confirmées par Huntsmann (1913), Stedell (1914) et Garstang (1928). De plus, le tubercule vibratile est une néoformation indépendante du neuropore (Elwyn, 1937, Godeaux 1957) : le fait est clair chez l'embryon de *Pyrosoma atlanticum* très réduit et dépourvu de siphon buccal. La plaque neurale embryonnaire se transforme en gouttière puis en tube ouvert au niveau du neuropore qui disparaît lorsque l'ébauche dépasse la taille de 100 µm. Cette ébauche, *en dessous* du neuropore, s'abouche avec le pharynx dont la paroi ne présente jamais d'évagination et n'intervient pas dans la formation du tubercule vibratile. L'ébauche neurale du Pyrosome ne développe pas de ganglion et donne le tubercule vibratile, le canal vibratile, une ampoule à paroi mince assimilable à la "glande" neurale des autres Tuniciers et un cordon viscéral postérieur temporaire (Godeaux 1957).

Le complexe neural a fait l'objet de recherches de physiologie. Bacq et Florkin (1935, 1946) ont observé que l'extrait ganglionnaire total (*Ciona intestinalis*) renferme des principes hypophysaires tenseur (pression sanguine du chat), mélanophorodilatateur (peau de grenouille) et ocytocique (utérus de cobaye). Ces expériences donnent raison à Julin; elles n'ont toutefois pas été confirmées malgré de nombreuses tentatives.

Des investigations plus récentes, faisant appel à la technique du marquage par l'immunofluorescence, ont mis en évidence de nombreux neuropeptides à propriétés hormonales dans les cellules ganglionnaires (par ex. : *Ciona intestinalis*, Fritsch *et al.* 1982).

La glande neurale (parfois atrophique : *Didemnidae*, *Doliolidae*) est capable de phagocyter des cellules hémocoeliennes immigrées (Ascidies simples : Pérès 1943) ou des particules étrangères (encre de Chine) en provenance du milieu extérieur via le siphon buccal (Ascidies coloniales et sociales, *Pyrosoma atlanticum* : Godeaux 1964, Godeaux et Beros Debroux 1979).

Dans le cas des Tuniciers, la glande neurale serait un relais transmettant au centre nerveux des informations en provenance du milieu ambiant. Les cellules ganglionnaires à propriétés neurohumorales pourraient alors envoyer des messages à l'anse digestive, voire à l'endostyle, déclenchant par exemple la sécrétion d'enzymes digestives (Godeaux 1987).

Lorsqu'on examine les dessins publiés par Van Beneden et Julin en 1886, on constate que ganglion et glande neurale sont présentés intimement associés et les tubes péricardiques nettement séparés de la paroi pharyngienne ! (fig. 3). Or, pour ces auteurs, ganglion et "hypophyse" sont des formations distinctes au contraire des ébauches pharyngienne et péricardiques !

Van Beneden a également publié plusieurs études morphologiques visant à débrouiller la systématique des Ascidiés, mais après la parution de la monographie de 1886, il semble avoir abandonné tout intérêt personnel pour les Tuniciers, laissant à ses trois élèves le soin de poursuivre les recherches sur ces animaux.

Branchie

La branchie est un organe important qui conditionne la physiologie du Tunicier. La structure a servi de base à la classification proposée pour Lahille (1890) et toujours en usage, qui reconnaît trois sous-classes d'Ascidiacés : Aplousobranches, Phlébobranches et Stolidobranches, d'après le degré de complexité croissante de l'organe.

Le développement de la branchie de divers représentants de ces sous-classes a été suivi par de Selys-Longchamps, Damas et Julin dans une série de mémoires publiés de 1894 à 1904. Nous leur sommes redevables de l'essentiel de nos informations sur la question. Leurs conclusions appuient parfaitement les propositions de Lahille.

Parallèlement à ce qui se réalise chez les Mollusques lamellibranches, très semblables par convergence, la larve têtard, organisme réduit à une structure minimum, développe après métamorphose un système de filtration particulièrement efficace, la corbeille branchiale, témoignant du succès de l'adaptation des Tuniciers à la microphagie.

La larve d'Ascidie simple (*Ciona*, *Ascidiella*, *Molgula*) au moment de se métamorphoser, possède deux paires de fentes branchiales étroites, non ciliées, perpendiculaires à l'endostyle, mettant en communication les cavités pharyngienne et péribranchiales. Ces ouvertures ont été dénommées protostigmates primaires par de Selys-Longchamps (1901). Ultérieurement, un troisième protostigmate primaire se perce en arrière. Chaque protostigmate s'allonge, prend la forme d'un U et se coupe au niveau de la flexure. Le stade à six protostigmates secondaires est atteint, stade que ne dépasse pas la *Molgule*. Les protostigmates se diviseront ensuite en stigmates, étirés selon l'axe antéro-postérieur de l'animal.

Chez les Aplousobranches, il ne se crée que deux paires de protostigmates primaires qui parfois, en raison d'une accélération du développement (*Polycitoridae*, *Polyclinidae*) apparaissent déjà divisés en stigmates. Le stade deux paires est permanent chez *Archiascidia neapolitana* (Julin 1904). Chez les autres espèces, les protostigmates primaires se divisent en protostigmates secondaires, stade que ne dépassent pas les petites espèces coloniales (*Didemnidae*, *Polycitoridae*). Chez la Claveline et les *Polyclinidae*, la division des rangées de stigmates se poursuit.

Pour Julin (1904), *Archiascidia neapolitana* avec sa seule paire de protostigmates, représente un stade ancestral intermédiaire entre une *Protoascidia* ancestrale hypothétique et la Claveline (et donc les autres Ascidiacés), opinion nettement contestée par Brien (1933) qui voit au contraire dans cette espèce une forme évoluée de Clavelinidae.

Les Phlébobranches (*Ciona*, *Ascidiella*) atteignent le stade de six protostigmates secondaires avec multiplication subséquente. Seule *Perophora* (*P. listeri*), ascidie coloniale de petite taille, reste au stade diprotostigmatique.

Les Stolidobranches sont représentés par les *Molgulidae* (figés au stade triprotostigmatique), les *Botryllidae* (petites espèces coloniales à quatre ou cinq protostigmates reconnus), les *Cynthiidae* (*Styelidae*) qui dépassent le stade triprotostigmatique par addition d'une série de protostigmates postérieurs. Selon Julin

(1904), le septième protostigmate dériverait d'un bourgeon du sixième et ainsi de suite. Le problème mériterait d'être repris. Le cas des *Pyuridae* (*Halocynthia*, *Microcosmus*) n'a pas été examiné par les chercheurs liégeois, mais sans doute le processus est-il identique à ce qui a été décrit chez les Styelidae.

Quant aux Thaliacés et aux Appendiculaires, ils sont restés au stade monoprotostigmatique (Julin 1904 en opposition avec Damas 1904). Les Salpes et l'oozoïde de *Pyrosoma atlanticum* sont au stade de protostigmate indivis (confirmé chez l'oozoïde des *Pyrosoma fixata*, Ivanova-Kazas). L'oozoïde des *Doliolum* présente une série unique de stigmates, plus nombreux (5 à 40) chez le blastozoïde. Quant au blastozoïde de *Pyrosoma*, son protostigmate s'est étiré *parallèlement* à l'endostyle avant de se diviser en une série plus ou moins nombreuse de stigmates verticaux.

Les auteurs liégeois ont débattu de deux questions :

- quelle est la signification du stade diprotostigmatique ?
- quelles conclusions peut-on tirer d'une comparaison avec la larve d'*Amphioxus* ?

Dans quelques rares cas, Willey et de Selys-Longchamps ont observé chez *Ciona* et *Ascidella* que les deux premiers protostigmates primaires paraissent issus d'une fente unique, primordiale et éphémère qui se serait allongée en fer à cheval avant de se diviser.

Une telle observation confirme l'extrême réduction de structure du Tunicien (une paire de cavités coelomiques, une paire de fentes branchiales). La larve têtard de l'Ascidie répond à un chordé réduit à un seul segment, d'où se développera tout l'organisme adulte (comme chez les Mollusques d'ailleurs), avec une pseudoqueue (dérivée de la région préblastoporale), où "le mésoblaste arrêté dans son développement se comporte comme l'extrémité postérieure des bandes mésoblastiques des jeunes larves d'*Amphioxus* (*op. cit.*, p. 383). L'absence de segmentation chez la Claveline serait un fait secondaire. Et de considérer les extrémités antérieures des ébauches mésoblastiques de la Claveline et des Ascidiens en général, comme homologues à la première paire de segments mésoblastiques de l'*Amphioxus*". (*op. cit.*, p. 385).

Pour déceler les traces d'une segmentation disparue, Van Beneden et Julin (1886), puis Damas (1904) ont étudié la disposition des filets nerveux spinaux chez les larves et chez les Appendiculaires (Larvacés considérés comme primitifs en raison de la persistance de la queue larvaire et devenus néoténiques, mais en fait très spécialisés) et ont estimé les avoir trouvées.

Pour en terminer avec la période liégeoise reste à signaler l'étude richement illustrée mais restée inachevée, du développement et de la blastogénèse primaire de *Pyrosoma atlanticum* par Julin (1912) qui replace ce développement dans le cadre de l'embryogénèse des autres Tuniciens en réduisant à néant la curieuse théorie de Salensky qui attribuait aux kalymocytes (cellules de la testa) le rôle des blastomères. Pour Julin, la blastogénèse primaire est une strobilisation avec maintien de la valeur des feuillettes, au contraire de la blastogénèse secondaire (contesté par Godeaux 1957).

La blastogénèse a relativement peu retenu l'attention de Van Beneden et de ses élèves. Sous l'influence de la théorie des feuillettes, la composition des stolons de *Clavelina* et *Perophora* fut mal interprétée : la vésicule interne, mère de tous les organes, ne dérive pas de l'épicarde (endoblaste), mais d'éléments mésoblastiques (Brien et Brien-Gavage). Et lors de l'examen des stolons du Polycitoridé *Colella racovitzai*, étude poursuivie et publiée après sa mort par de Selys-Longchamps (1912), Van Beneden ne s'est pas prononcé sur l'origine des tissus constituant le bourgeon.

Après la disparition de son maître, de Selys-Longchamps avait quitté Liège pour Bruxelles où il devint assistant, puis professeur. Il publia en 1916 une étude sur le bourgeonnement des *Polystyelinae* (Stolidobranches), notamment *Stolonica socialis* et *Heterocarpa glomerata* (*Distomus variolosus*). Le bourgeon (statoblaste) est constitué de deux vésicules emboîtées, séparées par du mésenchyme hémocoelien. La vésicule externe dérive de l'ectoderme, la vésicule interne de la paroi péribranchiale (bourgeonnement palléal).

De son côté, D. Damas s'était orienté vers la recherche océanographique lors de son séjour à Bergen et délaissa complètement les Tuniciers.

IV. RECHERCHES A L'UNIVERSITE DE BRUXELLES

Un certain nombre d'embranchements, Spongiaires, Coelentérés, Vers, Bryozoaires, Tuniciers, associent à la reproduction sexuée propre à tous les animaux une forme de propagation par bourgeons issus des tissus somatiques, qui est la blastogénèse. Ce mode de propagation est une exagération des processus de régénération et s'opère selon des modalités très diverses. Il fournit soit des colonies (bourgeonnement d'accroissement), soit des individus libres (bourgeonnement de dissémination).

La blastogénèse ou reproduction asexuée a fait l'objet de recherches nombreuses à l'Institut de Zoologie de l'U.L.B., sous l'impulsion du Professeur Paul Brien (1897-1975).

En 1928, dans sa dissertation doctorale, P. Brien s'attaque à l'embryogénèse et à la blastogénèse des Salpes, Tuniciers holoplanctoniques vivipares. Il réfute magistralement la théorie de Salensky (déjà combattue par Julin, 1912) et de Brooks qui faisaient dériver l'embryon, non des blastomères, mais des cellules folliculeuses (kalymmocytes) qui enveloppent l'oeuf. Les cellules folliculeuses se multiplient et forment une galle au sein de laquelle les blastomères masqués mais bien présents constituent des ébauches d'organes isolées (ébauche pharyngo-cloacale, ébauche neurale, ébauche péricardique, ébauche ectodermique) qui peu à peu se rapprochent, se soudent et forment l'oozoïde. Les kalymmocytes sont un simple support. L'oozoïde encore embryonnaire, émet un stolon prolifère tubulaire qui donnera naissance aux générations successives de blastozoïdes. Ce stolon est un caecum ectodermique enveloppant un prolongement de l'endostyle (endoblaste) formant un tube interne, et des éléments mésoblastiques interposés, origine du cardiopéricarde, des muscles et du germe.

Chez les Tuniciers où la reproduction asexuée se manifeste dans des familles très éloignées, le bourgeon est en principe constitué de deux vésicules emboîtées que sépare un espace hémocoelien où siègent des cellules d'origine mésenchymateuse (amoebocytes, lymphocytes). Le développement du bourgeon est *direct*, sans rien qui rappelle la phase larvaire, et aboutit à un individu (blastozoïde) tout à fait semblable dans l'immense majorité des cas (seuls les Thaliacés font exception) à l'individu issu de l'oeuf (oozoïde).

La vésicule externe, d'origine ectodermique, donne uniquement l'ectoderme du blastozoïde. La vésicule interne, d'origine variable selon les familles, donne en principe tous les organes internes (tube digestif, système nerveux, cavités péribranchiales) alors que les cellules hémocoeliennes donnent les muscles, les cellules sanguines et éventuellement le germe.

Il revient à Brien d'avoir insisté (et il le fit à maintes reprises) sur trois notions importantes :

- a) Il n'y a pas de réserves blastogénétiques qui se maintiendraient de générations en générations pour édifier la succession des blastozoïdes. Mais il existe des zones en croissance où les tissus restent ou redeviennent embryonnaires et qui, en acquérant une sorte d' "isolement physiologique" par rapport à la souche, deviennent capables de régénérer et d'édifier un nouvel individu.
- b) L'origine de la vésicule interne du bourgeon est sans importance. Elle dérive de l'endoderme (épicaarde) chez les Aplousobranches, du mésoderme chez *Clavelina* et chez *Perophora*, de l'ectoderme (paroi péribranchiale) chez les Stolidobranches (*Botryllidae*, *Polystyelinae*), c'est-à-dire de tissus spécialisés et différenciés. Brien a souligné que les cellules somatiques constituant le bourgeon subissent une dédifférenciation poussée qui leur restitue des potentialités embryonnaires étendues. En termes actuels, on parlerait de dérégulation des gènes et l'on sait, par les expériences de Gurdon par exemple, que les cellules somatiques ont un génôme complet (dont seule une partie est active) qui peut être réactivé. Ce n'était pas évident il y a un demi-siècle.
- c) Les potentialités de la vésicule interne sont plus ou moins étendues, en fonction des ébauches qui peuvent être présentes dans l'espace hémocoelien. Brien parle alors de *potentialités totales* et de *potentialités restreintes*.

Par exemple, chez la plupart des *Polyclinidae* (Aplousobranches) tels que *Amaroucium nordmani* ou *Sidnyum turbinatum*, le bourgeonnement se fait aux dépens du postabdomen qui se strobilise. Le bourgeon contient dans son enveloppe ectodermique, un fragment de l'épicaarde (endoblaste), un fragment du cordon génital et des cellules hémocoeliennes. Dans ce cas, l'épicaarde restitue tous les organes internes (cavités pharyngienne et péri-pharyngiennes, tube digestif, épicaardes, cardiopéicaarde, système nerveux).

Mais chez l'espèce voisine *Aplidium zostericola*, dont le postabdomen est occupé par l'anse digestive, le bourgeon contient en outre un fragment de l'estomac et du rectum. Ici l'épicaarde n'édifie pas l'anse digestive du nouvel individu.

Chez les *Polycitoridae* (*Distaplia magnilarva*), le bourgeon rappelle celui de l'*Amaroucium*, tandis que chez les *Didemnidae*, les bourgeons renferment des fragments de l'anse digestive de l'animal mère et l'épicaarde n'y a que des potentialités restreintes.

La partie active de l'épicaarde est sa paroi ventrale qui s'épaissit et se charge de réserves vitellines. *Ces cellules sont totipotentes mais restent soumises aux influences corrélatives des éléments voisins. Ainsi est maintenue l'unité morphologique de l'individu.*

Le type de bourgeonnement épicaardique caractérise les Aplousobranches coloniaux et les *Diazonidae* parmi les Phlébobranches.

Il est remarquable que la polarité du bourgeon correspond à celle de l'animal-mère et cela dans toute la série des bourgeons qui résulte du découpage du postabdomen. La partie antérieure de l'épicaarde donne tous les organes thoraciques et même l'anse digestive, la partie postérieure le seul péicaarde !

Alors que de Selys-Longchamps a montré que le bourgeonnement des Polystyélinés est du type palléal, Brien et Brien-Gavage, chez la Claveline et la Pérophore, ont observé que le stolon contient un septum d'origine mésenchymateuse (et non d'origine épicaardique, Van Beneden et Julin, Damas, ni d'origine palléale, de Selys-Longchamps, ni d'origine

péricardique, Seeliger). Par convergence, les bourgeonnements chez ces deux espèces éloignées offrent certaines similitudes, ainsi que Brien et Brien-Gavage l'ont montré.

La Claveline, ascidie sociale anatomiquement proche des *Polyclinidae*, se reproduit asexuellement à partir des chambres bourgeonnantes, au départ simples varicosités du stolon, bourrées de lymphocytes. Le bourgeon est un statoblaste qui en été édifie aussitôt un nouveau blastozooïde ou qui hiberne jusqu'au printemps avant de se développer.

La blastogénèse peut être déclenchée si le stolon est détaché de l'animal souche (phénomène lié à l'interruption de la circulation sanguine ?); le nouvel individu se développe cependant près de la surface de section.

Si l'épicarde ne joue aucun rôle dans la blastogénèse normale, ses potentialités régénératives peuvent cependant être dévoilées expérimentalement (Brien 1972) (fig. 4).

Après section du pédoncule sous le thorax, la paroi ventrale de l'épicarde commence la régénération d'un nouveau thorax (soit la cavité pharyngienne, le complexe neural et les cavités péribranchiales); la cavité pharyngienne se met en relation avec l'oesophage par un entonnoir néoformé. De son côté, le thorax isolé reconstitue la partie abdominale manquante à partir du fragment d'épicarde qu'il recèle. Ces nouveaux individus sont tout à fait identiques aux blastozooïdes normaux.

Donc, au niveau de la section, l'épicarde révèle des potentialités différentes, conditionnées par les organes qui l'accompagnent;

- Si le thorax est amputé de tout élément abdominal (pas d'épicarde), ses cellules se ramassent à la manière d'un statoblaste et réédifie un individu normal ! (Brien 1971).

- Si le pédoncule abdominal renfermant l'oesophage est séparé du reste du corps par deux sections supérieure et inférieure synchrones, le pouvoir régénérateur de l'épicarde se manifeste à nouveau, mais la régénération aboutit à un individu bithoracique, le thorax antérieur étant cependant plus avancé que le thorax postérieur.

- Si la section inférieure est pratiquée 72 heures après la première, le régénérat est monothoracique et normal. Le thorax est alors suffisamment développé pour imposer la polarité au fragment et limiter au cardiopéricarde la régénération par le bord inférieur du moignon (Brien 1930, 1932).

Ainsi se trouvent élégamment démontrées les thèses de P. Brien sur les potentialités organogénétiques de l'épicarde et leur soumission aux facteurs de corrélation. Selon le principe de Driesch : "La différenciation des cellules est fonction de leur position". La gracieuse *Clavelina lepadiformis* était le matériel idéal pour démontrer l'existence de l'ontogénèse multiple.

Chabry (1887), confirmé par Conklin (1905), avait prouvé que la destruction d'un des deux premiers blastomères n'était suivie d'aucune récupération et aboutissait à un héli-embryon, au contraire de ce qui s'observe chez l'*Amphioxus* où la compensation des pertes s'effectue. D'où l'opposition classique entre oeufs en mosaïque (Ascidie) et oeufs à régulation (*Amphioxus*).

Chez l'Ascidie (*Styela partita*, Conklin), la fécondation entraîne des remaniements profonds de la structure ovulaire.

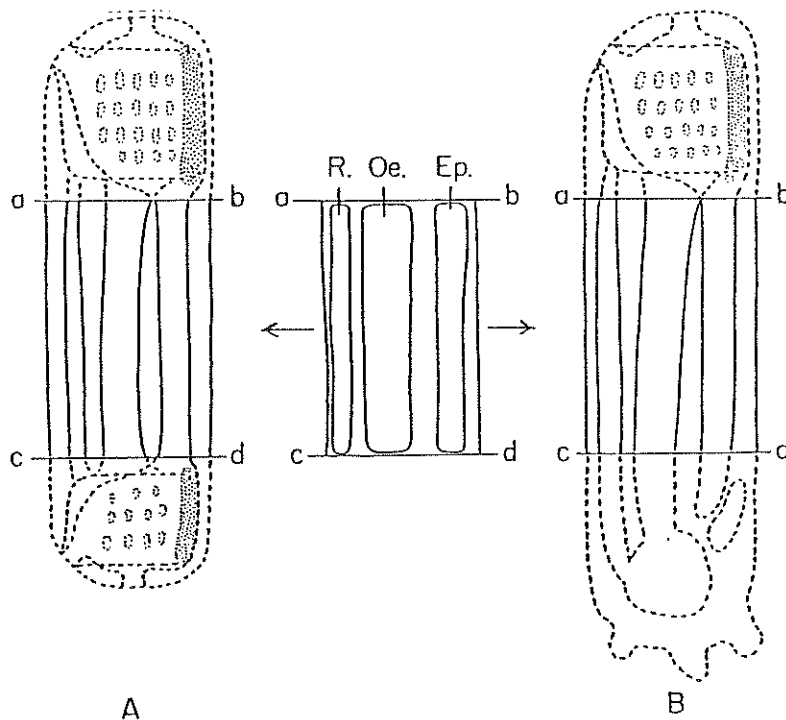


Fig. 4. : *Clavelina lepadiformis*. Schéma de la régénération d'un fragment oesophagien appartenant à l'abdomen isolé par deux sections transversales, l'une antérieure sous-thoracique (a-b), l'autre postérieure sus-stomacale (c-d).
 A : lorsque les deux sections sont synchrones, régénération bithoracique;
 B : lorsque la section antérieure est faite 48 ou 72 heures avant la section postérieure, reconstitution de la polarité -, régénération d'un ascidiozoïde normal (1931).
 Ep : tronçon épicaudique; Oe. : tronçon oesophagien; R : tronçon intestinal.
 (D'après P. Brien, *Cahiers de Biologie marine* (1972) reproduit avec l'aimable permission de la Revue).

Le professeur Albert Dalcq (1932-1941) dans ses recherches d'embryologie causale, s'est intéressé à la structure de l'oeuf avant fécondation (*Ascidella aspersa*). Il a divisé l'oeuf vierge soit selon un plan méridien, soit selon un plan latitudinal et a ensuite procédé à la fécondation des deux moitiés. Ces expériences de mérogonie semblent montrer que les plasmes de l'oeuf vierge présentent des localisations parfaitement définies et une symétrie bilatérale : - si le plan de division méridien passe fortuitement par le plan de symétrie de l'oeuf, on obtient des héli-embryons, si au contraire, il lui est perpendiculaire, on obtient des embryons jumeaux symétriques et plus ou moins complets.

Dans le cas des sections parallèles à l'équateur de l'oeuf, l'ectoplasme est en excès dans la moitié animale et déficitaire dans la moitié végétative, et l'inverse pour l'endoplasme. Les autres plasmes seraient situés soit au dessus de l'équateur (neuroplasme), soit en dessous (chordoplasme), soit comme le myoplasme à cheval et à l'opposé des deux autres plasmes : neuro=, chordo= et myoplasmes sont logés entre ecto= et endoplasmes et en forme de croissants. Toutefois, se fondant sur ses études de l'oeuf des Amphibiens, Dalcq a conclu

qu'il existait dans l'oeuf vierge d'Ascidie, un champ vertical dorso-ventral, et un gradient fondamental profond (vitellin) dont les interactions au moment de la fécondation conditionneraient le sort des différents territoires du germe.

De son côté, J.C. Tung, élève de Dalq, a pratiqué une série de manipulations sur l'embryon au stade 8 blastomères consistant en la rotation des micromères sur les macromères et en des recombinaisons de paires de micro= et de macromères. La rotation des micromères retentit sur le système nerveux qui est reporté dans le tronc (90°) ou dans la queue (180°) et alors avec les organes des sens présents (= influence de la corde). Par contre, les papilles adhésives se forment à leur place, quelque soit le degré de rotation (= induction par la portion apicale de l'entoblaste).

Les 4 micromères isolés donnent une larve avec ecto= et entoblaste et un système nerveux dépourvu d'organes des sens (absence d'induction par la corde dorsale). Les 4 macromères donnent une larve avec corde, muscles et tube digestif recouverts par de l'ectoblaste.

V. RECHERCHES ACTUELLES A LIEGE

Plus haut, il a été rappelé que des principes hypophysaires ont été détectés dans des extraits du complexe neural de *Ciona intestinalis* (Bacq et Florkin).

Quelques expériences ont été faites sur la musculature lisse de l'Ascidie adulte. Elles ont démontré que la transmission neuro-musculaire n'est pas du type cholinergique, que les muscles et le coeur sont très peu sensibles à l'acétylcholine, d'ailleurs absente dans les tissus, et que l'ésérine n'a aucun effet renforçateur (Bacq 1939). En quoi les Ascidiées s'opposent aux Vertébrés. La musculature est sensible aux substances renforçant l'action des ions K⁺ (vératine, Bacq 1939; sulfocyanure de Na, guanidine, Godeaux 1948). Les substances réagissant avec les fonctions sulfhydrylées (corps thioloprives : monobromacétate de sodium, chloropicrine, chlorure mercurique) entraînent une contraction irréversible après travail comme chez les Vertébrés et divers Invertébrés (Godeaux 1949).

La glande pylorique des Thaliacés (Pyrosome, Doliote) accumule les colorants basiques (bleu de méthylène, bleu de toluidine, vert malachite, etc. Godeaux 1954, 1956). Cette glande se comporte comme une néphridie à bout aveugle. Son rôle reste énigmatique.

La glande neurale est phagocytaire (fig. 5) chez les Ascidiées coloniales et sociales (Godeaux 1957, 1964, 1979).

La tunique, enveloppe caractéristique des Tuniciers, est tenue pour cellulosique depuis les recherches de Payen (1846) et de Berthelot (1859). La présence de cellulose chez un animal est en soi remarquable. Toutefois, la consistance des tuniques est variable selon les espèces : mucilagineuse, gélatineuse ou fibreuse. En outre, la cellulose est accompagnée de protéines et de mucopolysaccharides acides et des cellules immigrées sont présentes; l'ensemble évoque un tissu conjonctif (Godeaux 1964).

L'ultrastructure de la tunique fibreuse et hautement organisée d'*Halocynthia papillosa* est étudiée par Y. Van Daele (1990) et B. Lübbering (1992). La composition (poids sec) est de ± 50% de cellulose et ± 50% de protéines avec ± 4% de mucopolysaccharides qui, au niveau de la cuticule se confond avec le matériel interfibrillaire. Elle est très riche en eau. Les fibres (90% du poids sec) sont celluloso-protéiques. La fibre axiale est formée de deux fibrilles enveloppées d'un manchon de protéines et de mucopolysaccharides.

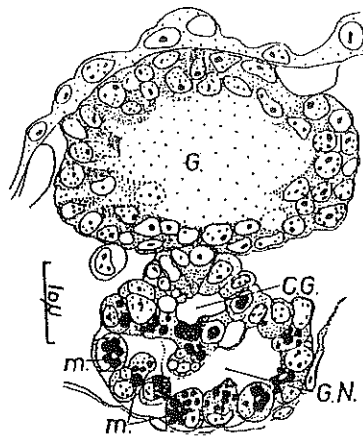


Fig. 5 : Coupe transversale dans le complexe neural d'un oozoïde de *Parascidia turbinata*, marqué le sixième jour après la métamorphose à l'aide de sépia de pieuvre et fixé quelques heures plus tard. La coupe passe au niveau du débouché du canal dans la glande. La voûte du canal CG n'est pas phagocytaire, tandis que les cellules de la glande GN renferment de gros grains de mélanine agglomérée (Godeaux 1957).

La structure de l'endostyle de divers Ascidiacés et Thaliacés a été examinée au microscope électronique (Godeaux et Firket 1965, 1968; Godeaux 1981 et 1992) qui a mis en évidence un réticulum ergastoplasmique bien développé dans les cellules glandulaires, suggérant la possibilité d'une synthèse de protéines et plus précisément d'enzymes digestives. L'étude des extraits d'endostyle a révélé la présence de nombreuses estérases, notamment des β glucosidases, appuyant l'hypothèse que l'endostyle, non seulement élabore du mucus, mais aussi participe à la digestion (Godeaux 1989). Et l'émission des enzymes digestives est peut-être induite par les cellules à neuropeptides du ganglion réagissant aux informations perçues par la glande neurale.

Pour terminer, diverses publications sur la morphologie, la distribution géographique, l'écologie des Thaliacés des mers entourant l'Afrique (notamment la mer Rouge, l'océan Indien, le golfe Persique et la Méditerranée orientale) ont également vu le jour (Godeaux, Meurice).

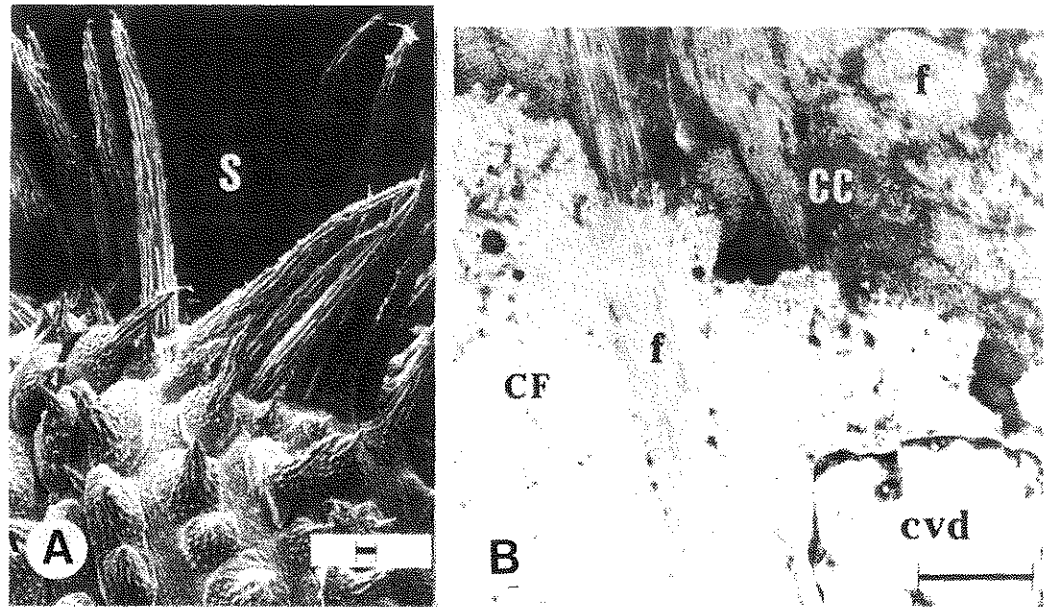


Fig. 6 : A - Vue des épines superficielles de la tunique d'*Halocynthia papillosa* (animal non contracté) au microscope électronique à balayage, au niveau du siphon buccal (S) - Echelle : 1 μ m.
 B - Coupe verticale dans la tunique d'*Halocynthia papillosa* : CC : couche dense cuticulaire; CF : couche fondamentale; cvd : cellule à vésicules dispersées; f : fibres, en continuité directe dans les deux couches - Echelle : 1 μ m (Y. van Daele, 1990).

BIBLIOGRAPHIE SOMMAIRE

BRIEN, P. (1948).- Embranchement des Tuniciers in *Traité de Zoologie* (P.P. Grassé éd., Masson, Paris), 10 : 553-894 (Bibliographie).

BRIEN, P. (1966).- Biologie de la reproduction animale. Blastogénèse, gamétogénèse, sexualisation. (Coll. Les grands problèmes de la Biologie, P.P. Grassé éd.) : 1 : 292 pp. (Masson et Cie, Paris).

BRIEN, P. (1968).- Esquisse d'une histoire de la Zoologie et de la Biologie animale en Belgique pendant le XIXe siècle et le début du XXe, in *Florilège des Sciences en Belgique*, 1 vol. (P. Brien éd.- Académie royale de Belgique, Classe des Sciences) : 751-1067 (notices nécrologiques de P. J. et Éd. Van Beneden, Ch. Julin, D. Damas, Ed. de Selys-Longchamps).

BRIEN, P. (1972).- La reproduction asexuée (un aspect des études faites à la Station biologique de Roscoff de 1924 à 1969). *Cahiers de Biologie marine*, 13 : 659-679.

DALCQ, A. (1941).- L'oeuf et son dynamisme organisateur (Coll. Sciences d'Aujourd'hui, Albin Michel éd. Paris) : 582 p.

GODEAUX, J. (1957-58).- Contribution à la connaissance des Thaliacés (Pyrosome et Doliolum). *Anns. Soc. r. zool. Belgique*, 88 : 4-285 (Bibliographie).

GODEAUX, J. (1988).- Thaliacés méditerranéens, une synthèse. *Bull. Soc. R. Sc. Liège*, 57 : 359-377.

GODEAUX, J. (1989).- Functions of the endostyle in the Tunicates. *Bull. Mar. Science*, 45 : 228-243.

KÜKENTHAL, W. et KRÜMBACH, T. (1933-1940).- Tunicata. *Hdb der Zoologie*, V(2) : 1-771 (articles de J. Huus, I.E.W. Ihle, M. Lohmann et G. Neumann).

LÜBBERING, B., NISHIKADA, T. and GOFFINET, G. (1992).- Initial stages of tunic morphogenesis in the Ascidian *Halocynthia* : a fine structural study. *Tissue and Cell*, 24 (1) : 121-130.

VAN BENEDEN, Ed. et JULIN, Ch. (1886).- Recherches sur la morphologie des Tuniciers. *Arch. de Biologie*, 6 : 237-476, 10 Pl. h.t.

VAN BENEDEN, P.J. (1846).- Recherches sur l'embryologie, l'anatomie et la physiologie des Ascidiées simples. *Mém. Acad. Roy. Belgique*, 20 : 1-66, 4 Pl. h.t.

VAN DAELE, Y. (1990).- Organisation du tégument des ascidies *Halocynthia papillosa* Gün. et *Phallusia mammillata* Cuv. (Urochordata, Ascidiacea). Morphogénèse, ultrastructure et composition chimique de la tunique en relation avec ses propriétés physiques. *Bull. Soc. r. Sci. Liège*, 59 (5) : 329-419.