

OBSERVATIONS SUR LA TUNIQUE DES TUNICIERS PÉLAGIQUES

par J. GODEAUX

INTRODUCTION

Le revêtement cutané des Tuniciers est caractéristique de cet embranchement. Exception faite des Appendiculaires qui rejettent périodiquement leur logette, les Tuniciers adultes vivent enfermés dans un sac, la *tunique*, ouvert au niveau des siphons. Depuis les recherches de SCHMIDT (1845), de LÖWIG et KÖLLIKER (1846) et de leurs successeurs (voir bibliographie, GODEAUX, 1964 ⁽¹⁾), on admet classiquement que cette tunique est de nature cellulosique. Seul BERTHELOT (1859, 1872) émit quelques réserves et proposa d'appeler « *tunicine* » cette matière particulière. La tunique est d'ailleurs de consistance et d'aspect très variables selon les genres.

Bien que les chercheurs aient souligné la difficulté d'obtenir des produits exempts d'azote, l'étude de la fraction non cellulosique de la tunique a été longtemps négligée. Récemment cependant, plusieurs auteurs (PÉRÈS, 1948; ENDEAN 1955, 1961; BARRINGTON 1957; BARRINGTON et BARRON, 1960) y ont signalé la présence de polysaccharides et de protéines porteuses de radicaux iodés et sulfurés.

Dans cette partie de mes recherches, je me suis efforcé de préciser, par voie histochemique, la nature et la localisation des composés polysaccharidiques de la tunique chez deux Thaliacés, *Iasis zonaria* PALL. et *Pyrosoma atlanticum* LES.

Matériel et techniques.

Les spécimens de *Iasis zonaria* (formes solitaires et agrégées) m'ont été aimablement envoyés par M. A. CROSNIER ⁽²⁾, attaché au Centre d'Océanographie de Pointe Noire, tandis que les colonies de *Pyrosoma atlanticum* proviennent principalement de mes récoltes à Villefranche-sur-Mer. Le matériel est fixé au formol/eau de mer (*Iasis*, Pyrosome) ou au Bouin (Pyrosome). Quelques contrôles ont également été effectués avec des Ascidies (*Clavelina*, *Salpa*).

Les observations ont porté sur des coupes à la paraffine, de 3 à 20 μ d'épaisseur, pratiquées à hauteur du siphon buccal (*Iasis*) ou cloacal (Pyrosome). Chez le Pyrosome, le matériel tunical étant moins concentré que chez la Salpe, les coupes doivent être plus épaisses. Les colorations histochemiques ont été effectuées suivant les recommandations de LISON (1960).

Observations.

La tunique de *Iasis* se compose : a) de la cuticule superficielle, b) de la substance fondamentale, de consistance ferme sur le frais et c) de l'ectoderme (manteau) monostatifé plat. En dessous de l'ectoderme siège un tissu conjonctif lacunaire dont les fibres sont disposées en mailles lâches.

(1) GODEAUX J. : Le revêtement cutané des Tuniciers. — *in Studium generale* (Springer Vlg.), 17^e année, 1964, p. 167—190.

(2) Que je remercie très vivement pour son obligeance.

Sur coupes (fig. 1), la cuticule apparaît sous forme d'une ligne mince réfringente, de structure homogène et d'épaisseur variable selon les places (5 à 15 μ), tandis que la substance fondamentale montre trois zones distinctes, deux fibreuses denses, appliquées contre la cuticule et contre l'ectoderme respectivement et, les séparant, une zone d'aspect floconneux, mal colorable et sans doute gorgée d'eau sur le vivant. De manière générale, la cuticule se colore plus intensément que la substance fondamentale; celle-ci est dépourvue de cellules immigrées et adhère fortement à l'ectoderme sous-jacent, deux caractères qui ont fait choisir ce matériel.

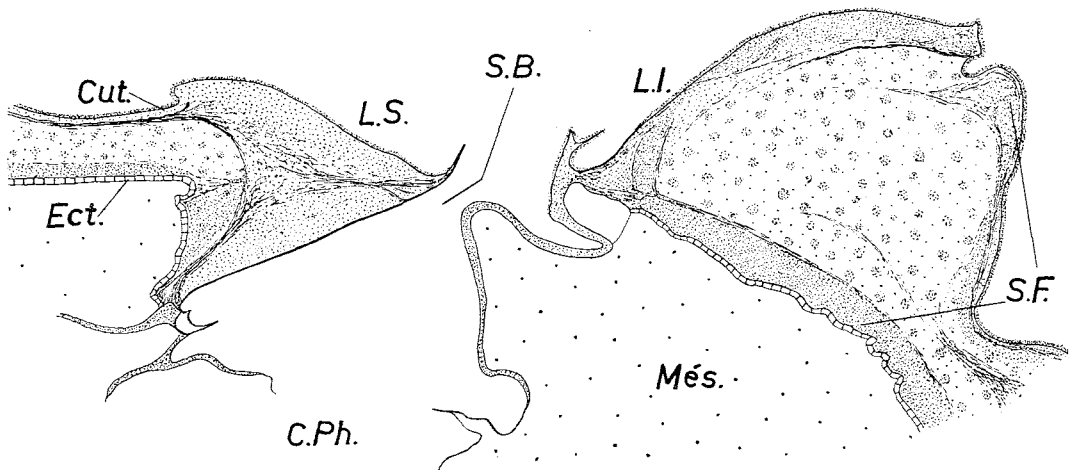


FIG. 1. — Coupe sagittale dans le siphon buccal de *Iasis zonaria* (7,5 μ) coloration par l'hématoxyline ferrique. C. Ph. : cavité pharyngienne; Cut. : cuticule; Ect. : ectoderme; L.I. : lèvre inférieure; L.S. : lèvre supérieure; Més. : mésenchyme; S.B. : siphon buccal; S.F. : substance fondamentale.

La tunique du Pyrosome, plus molle, comprend également a) la cuticule très mince (3 à 5 μ), b) la substance fondamentale homogène - parfois plus dense (par compression ?) entre deux zoïdes voisins- et c) l'ectoderme plat. La colorabilité est faible. Les cellules intratunicales sont abondantes dans la région du cloaque commun.

a) Après traitement des coupes par la méthode au P.A.S. (acide périodique / réactif de Schiff), la coloration des organes riches en substances de réserve (vitellus, éléoblaste) est intense (rouge pourpre), celle des viscères, de l'ectoderme et de la cuticule est nette. La cuticule se présente comme un liséré rose, bordant la substance fondamentale restée incolore; ce liséré s'élargit sur le bord des siphons (Pyrosome).

L'oxydation en milieu acétique anhydre renforce les colorations (*Iasis*); la salive est sans action. Sans oxydation préalable, la coloration se réduit à une teinte de fond jaunâtre.

Le mucicarmin colore en rouge la cuticule et en rose pâle la substance fondamentale (Pyrosome).

b) Le traitement des coupes par des solutions de bleu de toluidine (1/20 000) de pH compris entre 2,5 et 5,5, entraîne des colorations différentes de la cuticule et de la substance fondamentale chez *Iasis* et *Pyrosoma*.

La coloration de la cuticule de *Iasis* est orthochromatique et contraste avec la coloration rose ou pourpre, métachromatique, de la substance fondamentale sous-jacente. Tout au plus les deux colorations interfèrent-elles le long de leur surface de contact.

La coloration de la cuticule est faible à pH 2,5, quelle que soit l'épaisseur de la coupe et s'accuse aux pH supérieurs à 3.

La cuticule du Pyrosome est colorée métachromatiquement, mais sa teinte mauve s'oppose à la coloration pourpre de la substance fondamentale proche. La teinte de la cuticule paraît être

un mélange de colorations ortho- et métachromatique. La cuticule de *Clavelina lepadiformis* et de *Salpa fusiformis* se colore aussi métachromatiquement.

Au pH 2.5, la métachromasie devient perceptible au niveau de la substance fondamentale; à mesure que le pH s'élève, la coloration vire au pourpre, l'ectoderme se colorant toujours plus fortement que la tunique. Aux pH les plus bas et sur les coupes les plus fines, la coloration n'est pas stable et s'estompe après quelques jours (montage au baume du Canada).

La substance fondamentale du Pyrosome se colore de façon homogène, sauf entre les zoïdes où la matière plus dense prend un aspect fibreux. Chez *Iasis* s'observent, avec plus ou moins de netteté selon les endroits, les trois zones de la tunique : les deux couches extrêmes sont bien colorées, la couche moyenne est mouchetée et comme constituée d'un flocculum léger; la couche profonde se confond avec l'ectoderme. Le tissu conjonctif est remarquable par sa faible colorabilité : seules quelques rares fibres se colorent métachromatiquement aux pH supérieurs à 4 (*Iasis*).

La métachromasie s'observe également au niveau de la substance fondamentale lorsqu'on utilise des solutions alcooliques (30 p. 100) de bleu de toluidine.

La méthylation préalable des coupes (72 heures - 60° C) supprime complètement la coloration métachromatique (*Iasis*).

c) La réaction de capture du fer (réaction de Hale), selon Gomori ou Müller, est très intense même sur coupes de 3 μ seulement d'épaisseur. La coloration dépasse en intensité celle des viscères. La cuticule est à nouveau plus colorée que la substance fondamentale; l'ectoderme présente une teinte intermédiaire et le tissu conjonctif reste incolore. La méthylation supprime également la coloration; la saponification la rétablit.

d) Des contrôles ont été effectués avec le bleu alcian acétifié (pH 2.4 et 3) et l'aldéhyde fuchsine, sans ou après traitement oxydant.

Le bleu alcian colore nettement la cuticule et dans la combinaison P.A.S. / bleu alcian, les deux colorations se superposent, quoique de manière inconstante. Les images habituelles se retrouvent au niveau des diverses structures : les trois zones de la substance fondamentale, l'ectoderme, plus coloré que les viscères (les noyaux plus que le cytoplasme), les fibres du tissu conjonctif légèrement teintées. L'aldéhyde fuchsine, sans prétraitement, donne les mêmes images.

La méthylation inhibe toute coloration et ses effets sont réversibles par saponification (*Iasis*) avec les mêmes gradations dans les couleurs (cuticule - ectoderme - substance fondamentale).

Après oxydation (permanganate), la coloration de la cuticule par le bleu alcian et par l'aldéhyde fuchsine est très nettement renforcée; celle de la substance fondamentale et celle des tissus le sont également chez *Iasis* tandis que celle de la substance fondamentale est affaiblie chez le Pyrosome, par rapport aux témoins. La durée de l'oxydation (2,15 ou 30 minutes) ne paraît pas avoir d'influence.

e) La basophilie de la cuticule, observée chez *Iasis* avec le bleu de toluidine, est mise en évidence chez les deux espèces par la pyronine et le vert de méthyle acétique. Les solutions de pyronine (pH 2.65) teintent la cuticule intensément en rouge alors que la tunique se colore faiblement en orange (virage métachromatique); l'ectoderme est rose comme certaines fibres du tissu conjonctif et la musculature; les noyaux sont rouges. Les images données par le vert de méthyle (pH 3) recourent celles obtenues avec la pyronine.

Conclusions.

Les résultats obtenus au moyen des divers tests histochimiques appliqués à la tunique des deux Thaliacés sont concordants; ils recourent et étendent les données de la littérature.

Les cellules ectodermiques renferment des substances à fonctions acides qui, entre autre, se colorent métachromatiquement par le bleu de toluidine et fixent les colorants basiques, caractères révélant leur qualité de mucopolysaccharides acides. Ces substances sont élaborées par les cellules; le liquide hémocoelien ne donne en effet aucune réaction indiquant la présence de mucopolysaccharides acides, ce qui exclut la possibilité d'un simple transfert du matériel tunical au travers du manteau.

Le fait que les cellules ectodermiques se colorent métachromatiquement à des pH aussi bas que 2,5, indique qu'une partie de ces mucopolysaccharides porte des fonctions sulfuriques. Cependant, la fraction la plus importante porte sans doute des fonctions carboxyles, puisque, après méthylation et saponification, la coloration est comparable en intensité à celle des témoins.

La substance fondamentale est constituée au moins en partie de mucopolysaccharides acides métachromatiques et basophiles. Les différences locales dans l'intensité des colorations observées chez *Iasis* reflètent des différences de concentration de la matière dont la consistance pourrait se modifier au cours de la croissance de l'animal. D'abord dense dans les couches profondes, les plus jeunes, près de l'ectoderme, la substance gonflerait par absorption d'eau au cours d'une deuxième étape, constituant ainsi la zone moyenne, pour se déshydrater et se concentrer ensuite en une zone superficielle; les couches seraient dans ce cas de plus en plus âgées à mesure que l'on s'écarte de l'ectoderme.

La tunique du Pyrosome par contre ne montre pas de stratification, sauf dans les zones de compression entre zoïdes en expansion; la tunique du Pyrosome est sans doute plus plastique que celle de *Iasis*.

La coloration après méthylation et saponification reste comparable à celle des témoins; la fraction sulfurique paraît donc relativement peu importante, dans la mesure où elle est mise en évidence aux pH utilisés dans cette étude.

L'absence de réaction positive au P.A.S. indique la présence en quantités minimales, sinon même l'absence, de composés polysacchariques neutres au sein de la substance fondamentale de la tunique.

En raison de l'intensité des colorations qu'elle présente, la cuticule se révèle très concentrée, par rapport au reste de la tunique. Elle présente en outre une certaine variabilité de constitution, mise en évidence par le comportement différent devant le bleu de toluidine des cuticules de *Iasis* et de Pyrosome. Assez curieusement, la cuticule de *Iasis* se colore de façon orthochromatique alors qu'elle renferme des substances basophiles actives à des pH relativement bas; la raison de cette contradiction est inconnue. Les cuticules du Pyrosome, de la Claveline et de *Salpa fusiformis* sont par contre métachromatiques et basophiles, ce qui témoigne de la présence de composés mucopolysaccharidiques acides. À côté de ces composés se trouvent des composés neutres (cellulose, mucopolysaccharides neutres?) mis en évidence grâce à la réaction au P.A.S.

La cuticule contient également des protéines à fonctions -SH et -S-S- (PÉRÈS, BARRINGTON et BARRON); ces fonctions sont mises en évidence chez les Thaliacés après oxydation qui les transforme en fonctions sulfuriques décelables par le bleu alcian et l'aldéhyde fuchsine. Ces fonctions sont peu ou pas représentées dans la substance fondamentale.