

189
189

JOURNAL
DE
L'ANATOMIE
ET DE
LA PHYSIOLOGIE
NORMALES ET PATHOLOGIQUES
DE L'HOMME ET DES ANIMAUX



CONTRIBUTION

A

L'HISTO-PHYSIOLOGIE DES ÉPONGES

I

Les fibres des Reniera.

II

Action des substances colorantes sur les Éponges vivantes.

Par Gustave LOISEL

Docteur en médecine et Docteur ès sciences.

(PLANCHES I ET V.)¹

INTRODUCTION ET MÉTHODE

Après avoir joué un rôle capital dans les théories histogéniques pendant toute la première moitié de ce siècle, les substances intercellulaires ne paraissent plus remplir, maintenant, aucun rôle actif dans les fonctions vitales. Ce seraient, d'après les théories actuelles, des substances inertes, rejetées par les cellules voisines ou sorties des vaisseaux capillaires sous l'influence de la pression sanguine. Et les éléments figurés, comme les fibrilles conjonctives ou les fibres

1. La pl. V, comprenant les figures 7 à 17, paraîtra avec la deuxième partie de ce mémoire, dans le n° suivant du journal.

élastiques, que l'on trouve quelquefois à leur intérieur, seraient uniquement, dit-on, des clivages ou des durcissements particuliers se produisant, dans ces substances, sous l'influence des cellules environnantes.

Nous trouvons, cependant, dans la littérature actuelle, plusieurs histologistes qui sont arrivés, à la suite de nombreux travaux, à des conclusions différentes; tels sont, par exemple, pour ne citer que deux noms, W. Flemming et E. Retterer.

« Pour conclure, écrit Flemming à la suite d'une étude sur la formation des fibrilles conjonctives¹, je voudrais dire, qu'à mon avis, les fibrilles conjonctives ne peuvent pas être considérées comme une matière morte ou inerte, pas plus, d'ailleurs, que les substances intercellulaires en général. » Il se ferait, pour Flemming, des échanges entre ces substances et les fibres qu'elles renferment, et ainsi s'expliquerait l'accroissement des fibres élastiques et des fibres conjonctives.

D'un autre côté, Retterer, en étudiant le tissu conjonctif et le tissu épithélial, a montré que le stade primordial de ces tissus est représenté par des cellules dont il n'est pas possible de distinguer les limites. On ne trouverait, à ce stade, aucune trace de ciment ni de substance intercellulaire; les fibrilles conjonctives, d'une part, le réticulum et les ponts intercellulaires, de l'autre, se formeraient manifestement au sein du protoplasma primitif².

A plusieurs reprises, dans le cours de nos travaux, nous avons rencontré et signalé également des faits qui ne permettent pas, il nous semble, de considérer les substances intercellulaires comme de simples excréptions de cellules. En 1893³, nous trouvions que la *substance intermédiaire granuleuse* de Lebert qui forme le tissu conjonctif des muscles des Gastéropodes, est représentée, chez le jeune Mollusque, par des cellules vésiculeuses; bientôt ces éléments grossissent de plus en plus, finissent par éclater et constituent alors, chez l'animal adulte, une masse granuleuse continue renfermant encore des noyaux. Plus tard, en 1896⁴, nous voyons

1. *Arch. f. Anat. u. Phys.*, 1897, p. 186.

2. Ed. Retterer, Développement des bourses muqueuses, *Journ. Anat. et Physiol.*, 1896. — Épithélium et tissu réticulé, *id.*, 1897. — Article CELLULE du *Dictionnaire de Physiol.* de Ch. Richet.

3. G. Loisel, Les cartilages linguaux des mollusques, *Journ. Anat. et Physiol.*, 1893, p. 501.

4. G. Loisel, Formation et évolution des éléments du tissu élastique, *Journ. Anat. et Physiol.*, 1897.

les ligaments et les cartilages élastiques apparaître sous la forme de masses protoplasmiques continues ; puis, dans l'intérieur de ces masses, nous assistions à des élaborations particulières qui transformaient le plasmode primordial en cellules étoilées à longs prolongements anastomotiques. Les fibres élastiques, nées dans ces prolongements, se trouvaient bientôt isolées dans les espaces intercellulaires et leur accroissement se faisait, alors, au moyen des matières qu'elles trouvaient dans ces espaces.

Tous ces faits qui concordent avec les idées de Flemming et de Retterer, au moins en ce qui concerne l'origine des substances dites intercellulaires, nous ont engagé à continuer l'étude de ces substances. Mais, au lieu de reprendre le tissu conjonctif ou élastique chez d'autres Vertébrés, nous avons pensé qu'il était préférable de nous adresser aux Métazoaires les plus inférieurs, c'est-à-dire aux Eponges. D'abord l'étude des organes élastiques, en particulier, est très difficile à faire chez les Mammifères où ces organes sont les plus développés. Il n'est pas toujours facile, en effet, de se procurer des embryons de cheval, par exemple, longs de 35 millimètres. Ce sont pourtant ces premiers stades qu'il est important de connaître pour bien comprendre les stades ultérieurs du développement. Mais nous avons surtout choisi les Eponges, chez lesquelles les substances intercellulaires sont si développées, parce que nous avons pensé trouver, chez ces animaux, une histogénèse peu compliquée et, par cela même, plus facile à interpréter.

Les recherches qui font l'objet de ce mémoire ont été faites, d'abord, chez deux espèces d'Eponges siliceuses communes dans la mer de la Manche. L'une, *Reniera elegans* (Bow.), se trouve assez facilement sur les côtes du Calvados; elle peut être étudiée, par exemple, au laboratoire de Luc-sur-Mer où nous avons reçu, il y a quelques années, l'accueil le plus obligeant de la part de M. le professeur Joyeux-Laffuie. Malheureusement cette espèce vit loin de la côte, à une certaine profondeur et on ne peut l'obtenir qu'au moyen de dragages; les individus que l'on recueille ainsi sont toujours plus ou moins blessés et ne peuvent être conservés vivants dans les aquariums.

L'autre espèce que nous avons étudiée, *Reniera ingalli* (Bow.), se trouve également dans la mer de la Manche; nous avons pu l'étudier pendant le mois d'août 1897, à la *Station biologique* de Jersey, dirigée par M. J. Hornell, le sympathique éditeur du *Journal of*

Marine Zoology and Microscopy. Cette Éponge se trouve en grande quantité sur les rochers qui couvrent le Havre des Pas, près de Saint-Hélier, en face du laboratoire. Lors des grandes marées, on va la cueillir à la main en ayant soin de la détacher avec précaution de la roche où elle est fixée et, si c'est possible, de l'enlever avec son support. On peut ainsi conserver ces Éponges vivantes pendant un mois et même davantage dans un aquarium contenant quelques algues et où l'eau est renouvelée de temps en temps. *Reniera ingalli* est une Éponge rameuse qui présente, à Jersey, trois variétés de coloration : blanc jaunâtre, violette et rouge ; dans ce dernier cas, la matière colorante se montre, au microscope, sous forme de sphérules rouges qui remplissent les éléments cellulaires à l'exception de certaines cellules sphéruleuses. Cette matière colorante se dissout dans l'eau douce et même dans l'eau de mer quand l'Éponge a été préalablement desséchée¹.

La méthode de recherches qui a été la base de notre étude histologique sur les Éponges est l'examen à l'état vivant. Les tissus de ces animaux se laissent facilement dissocier sans aucun réactif et les cellules isolées vivent très bien, pendant un temps suffisamment long, dans une goutte d'eau de mer ou d'eau douce, suivant les espèces. Mais toute description faite uniquement d'après une dissociation ne peut être qu'insuffisante, quand elle n'est pas inexacte, étant donnée, principalement, la facilité avec laquelle on peut crever certaines cellules.

C'est pourquoi nous avons fait surtout, sur les Éponges vivantes, des coupes à main levée. Ces coupes sont très faciles à pratiquer avec le rasoir quand les tissus sont assez fermes, comme chez *Reniera ingalli*; au contraire, quand les tissus sont trop mous, il vaut mieux se servir de ciseaux fins.

Nous ne pensons pas avoir ainsi évité tout ce qu'on peut reprocher aux dissociations, mais nous croyons avoir ramené les chances d'erreur à leur minimum. Il n'est pas nécessaire de faire des coupes très minces et, même, celles un peu épaisses nous paraissent

1. La diagnose de ces deux espèces d'Éponges a été faite au moyen de l'ouvrage de Bowerbank (*A monography of the British Spongidae*) et de la *Revision* de Hanitsch (*Trans. Liverpool Biol. soc.*, 1894). Il faut remarquer, à ce propos, que Topsent considère les cinq espèces décrites par Bowerbank sous les noms de *Isodictya varians*, *I. elegans*, *I. mammata*, *Chalina Montagui* et *Ch. Flemingii* comme étant la même espèce que *Chalinula Montagui* (Fl.). De même *Isodictia ingalli* et *I. dickotoma* ne seraient autres que *Isodictia (Reniera) simulans*. Voir à ce sujet : Topsent, Étude sur la faune des spongaires du Pas-de-Calais. *Revue biolog. du nord de la France*, 1894.

préférables pour bien conserver les relations des éléments entre eux. Ces coupes, montées dans une goutte d'eau et recouvertes d'une lamelle fixée au moyen de deux gouttes de paraffine, permettent de faire toutes les observations microscopiques que l'on veut.

Le simple examen des Eponges à l'état vivant n'est cependant pas suffisant pour une étude histologique complète; il faut recourir aux colorations après fixation. Malheureusement les liquides qui fixent le mieux les tissus des Eponges altèrent encore certains éléments au point qu'il n'est plus possible, parfois, de reconnaître ce qu'on avait observé à l'état vivant. C'est pourquoi nous avons d'abord essayé de colorer les Eponges vivantes en les plaçant dans des solutions très faibles de rouge Congo, de rouge neutre, de safranine, de vert d'iode, de *nilblau sulfat*, etc. Cette méthode, que nous avons étendue à la Spongille d'eau douce, nous a fourni des résultats intéressants sur la physiologie des Eponges, comme nous le verrons plus tard, mais elle ne nous a rien appris sur l'histogénése des fibres que nous avions particulièrement en vue en commençant nos recherches.

Nous avons pensé, alors, qu'en ajoutant, à ces solutions d'eau de mer colorées, une petite quantité d'eau douce, de manière à tuer les Eponges très lentement, nous pourrions obtenir quelques résultats intéressants. C'est en effet ce qui est arrivé et nous avons eu la chance, avec cette méthode nouvelle, de pouvoir toujours mettre en évidence, par exemple, les noyaux de certaines cellules appelées *sphéruleuses* que l'on avait vainement cherchés jusqu'ici. Le rouge Congo, la safranine et le vert d'iode sont les seules substances qui nous ont donné des résultats à ce point de vue¹. Voici comment nous avons procédé avec le rouge Congo, colorant que nous avons surtout employé.

Dans l'aquarium où vivent des *Ren. ingalli* recueillies depuis peu de temps, nous versons quelques gouttes d'une solution de rouge Congo faite avec de l'eau douce de manière à obtenir une faible coloration rouge. La seule difficulté consiste à mettre une quantité suffisante de rouge pour avoir la réaction voulue sans toutefois en verser une trop grande quantité qui pourrait tuer l'Eponge. Après quelques essais infructueux, on arrive aisément à trouver la dose convenable, c'est-à-dire celle qui laisse vivre l'Eponge au moins

1. Voir la deuxième partie de ce mémoire.

pendant vingt-quatre heures¹. Il est inutile, du reste, d'attendre aussi longtemps pour faire, avec le rasoir, quelques coupes que l'on observe, au microscope, dans une goutte d'eau de mer ordinaire.

Une autre manière plus brutale, mais plus rapide, consiste à faire agir directement le rouge Congo sur une préparation microscopique extemporanée.

Pour cela, on enlève, sur une Éponge vivante, une tranche mince que l'on place sur une lame de verre, dans une goutte d'eau de mer; on recouvre le tout d'une lamelle et on regarde au microscope. Lorsqu'on a trouvé le point que l'on veut étudier, on fait arriver, sous la lamelle, une petite quantité de rouge Congo dissous dans l'eau douce. Au bout d'un instant, les cellules se contractent, puis éclatent brusquement peu de temps après; on voit alors apparaître le noyau des cellules coloré fortement en rouge.

Cette seconde manière de procéder est peut-être préférable à la première, car elle permet d'étudier plus spécialement une région déterminée. D'un autre côté, l'action du Congo est encore suffisamment lente pour que l'on puisse croquer, au moyen de la chambre claire, les différentes phases de l'expérience.

Les colorations que l'on obtient ainsi avec le rouge Congo sur les Éponges vivantes peuvent être fixées de la façon suivante. On fait agir, pendant deux ou trois minutes, une solution de

Sublimé concentré.....	2 parties.
Acide acétique.....	1 —

La couleur du Congo vire immédiatement au violet foncé sous l'influence de l'acide, mais on ramène la coloration rouge en lavant

1. Voici dans quel ordre les différents éléments de l'Éponge prennent la substance colorante. Au bout de trois heures, les gaines de spongine qui entourent l'extrémité des spicules, de même que les fibres ou fibrilles isolées dans la substance fondamentale sont fortement colorées en rouge. Il faut attendre six heures environ pour voir les cellules absorber le Congo; ce sont, d'abord, les corbeilles vibratiles, puis les cellules mésodermiques ordinaires, enfin les cellules en chapelet qui se colorent en dernier après avoir perdu une certaine quantité de leurs sphérules. Pour toutes les cellules, on ne peut pas dire qu'il y a coloration véritable du protoplasma; ce sont des vacuoles colorées en rouge qui apparaissent dans le corps cellulaire. Au contraire, pour les gaines de spongine, pour les noyaux et pour les segments de fibres contenus dans les chapelets, il se produit une véritable coloration, c'est-à-dire une imprégnation complète de ces éléments par la substance colorante. Cette action du rouge Congo, ainsi employé, semble donc se manifester seulement quand les cellules en chapelet sont un peu malades; elles ne sont pas très altérées cependant, car leur forme n'a nullement changé. Du reste, le Congo, la safranine et le vert d'iode n'agissent pas de la même façon sur des Éponges tuées préalablement; dans ce cas, en effet, la coloration des cellules est plus ou moins diffuse, mais ne met jamais en évidence le noyau.

un peu avec l'alcool ordinaire. On peut encore employer avec succès l'acide osmique. Malheureusement ces deux procédés ne donnent pas des préparations durables; au bout d'un mois ou deux la coloration du rouge Congo est très affaiblie; nous possédons toutefois des préparations vieilles de six mois et dans lesquelles on distingue encore bien le noyau des cellules.

Bien que les deux méthodes précédentes nous aient permis de nous rendre compte entièrement du mode de formation des fibres que nous étudions, nous n'avons pas négligé, cependant, d'employer les procédés habituels de technique microscopique. Nous devions, en effet, contrôler les résultats que nous avions obtenus, puis nous avions à rechercher quelle était la nature de ces fibres.

Les liquides qui nous ont paru le mieux fixer les éléments des Éponges sont : l'acide osmique au centième (en vapeurs autant que possible), le Kleinenberg sulfurique au tiers, le liquide de Flemming et le mélange composé de :

Sublimé concentré.....	2 parties.
Acide acétique.....	1 —

Tous ces réactifs doivent agir pendant un temps très court, quelques secondes, par exemple, pour l'acide osmique, quelques minutes pour le liquide de Kleinenberg.

Enfin le réactif de Millon (mercure traité par l'acide nitrique) que nous avions employé tout d'abord pour constater le degré de résistance des fibres, nous a paru être un excellent fixateur pour les éléments qui nous intéressaient. Non seulement les fibres résistent très bien à son action, mais encore les cellules sphéruleuses gardent leur forme et leur grosseur, s'éclaircissent beaucoup et laissent voir presque toujours leur noyau. Voici comment nous employons le réactif de Millon.

Une coupe faite sur l'Éponge bien vivante est lavée une ou deux fois à l'eau distillée pour enlever les sels marins, puis placée sur une lame de verre, dans une goutte de réactif; le tout est recouvert d'une lamelle et chauffé sur une flamme de gaz jusqu'à ébullition. Le point délicat de cette opération est de laver suffisamment la coupe pour enlever toute l'eau de mer, sans toutefois aller jusqu'à faire éclater les cellules sphéruleuses.

Il est curieux de voir ces cellules présenter une telle résistance au réactif de Millon alors que ce sont les éléments qui disparaissent

peut-être les premiers quand l'Éponge meurt. Mais ce n'est pas là un cas isolé. Les cellules sphéruleuses résistent, en effet, plus longtemps que les autres cellules à l'action des acides et des alcalis et Topsent¹ a remarqué qu'elles se conservent parfaitement avec leurs sphéruleuses chez certaines Éponges desséchées.

A l'exception des Éponges fixées avec le réactif de Millon, nous avons traité les autres par la méthode des coupes après inclusion dans la paraffine. En sortant des liquides fixateurs, les coupes étaient déshydratées avec précaution et conservées dans de l'alcool à 90°. Pour inclure dans la parafline, nous nous sommes servi du toluène, qui éclaircit très rapidement les Éponges et permet de les plonger directement dans la paraffine à couper; en une ou deux heures, au plus, nous avions toujours terminé l'inclusion. Nous avons collé les coupes sur la lame porte-objet au moyen de l'eau albumineuse, d'après le procédé de Mathias Duval; la paraffine était enlevée ensuite à froid au moyen de la benzine et les coupes montées dans des milieux aqueux, comme nous allons le dire maintenant.

Dans les recherches que nous avons faites sur l'histogénèse des fibres élastiques, nous avions trouvé que le baume de Canada était un mauvais milieu pour l'étude histogénique de ces éléments. Nous avions constaté, en effet, que les grains élastiques qui existent dans les cellules des ligaments élastiques embryonnaires se colorent difficilement et disparaissent complètement avec le baume, alors que leur réfringence particulière les rendait très visibles, au contraire, dans les milieux aqueux². Nous trouvions encore que les manipulations nécessitées par le montage au baume de Canada étaient une cause de ratatinement pour les cellules, qui, venant s'ajouter aux hydratations et déhydratations nécessitées par les opérations précédentes, devaient être supprimées toutes les fois qu'on le peut³.

Ce sont là des faits que nous avons constatés de nouveau, et avec plus d'évidence encore, en faisant l'étude des fibres de *Reniera*. Mais nous ne nous arrêterions pas sur ce sujet si nous n'avions vu un de nos plus savants histologistes nous reprocher cette partie de notre technique, à propos de notre travail sur le tissu élastique.

1. Topsent, Quelques Spongiaires du banc de Campeche, *Mém. Soc. zool. de France*, 1889.

2. G. Loisel, Développement des fibres élastiques dans le ligament cervical du cheval, *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1894, p. 559.

3. Thèse Fac. sc. Paris, 1896, p. 8, et ce *Journal*, 1897, p. 136.

Dans la *Revue générale des sciences* du 15 août 1897, p. 631, M. le professeur Prenant trouve, en effet, que ce sont là des « assertions étranges qui ne sont explicables, dit-il, que si l'auteur méconnait les admirables résultats obtenus au sujet de la structure intime du protoplasma sur des cellules incluses dans le baume, ou que si les « meilleurs fixatifs » employés par lui ne valaient cependant encore rien ».

Nous pourrions renvoyer M. Prenant à quelques-uns de ces admirables résultats qu'il invoque, aux travaux de W. Flemming, par exemple, où il a dû voir le degré de confiance que l'on doit accorder aux fixatifs. Mais, pour nous en tenir à l'emploi du baume de Canada, nous lui rappellerons seulement que des maîtres, comme Ranzier, Gilson, Bolles Lee et Henneguy, considèrent les résines en général comme de mauvais milieux pour la plupart des recherches *cytologiques*. « On doit nécessairement employer la méthode de préparation par la voie humide, écrivent ces derniers auteurs, toutes les fois qu'il s'agit d'étudier l'objet dans un milieu n'ayant pas la haute réfringence des résines... et même toutes les fois qu'il est indispensable d'éviter, autant que possible, le ratatinement des éléments qui accompagne toujours, nonobstant toutes les précautions, la déshydratation des tissus. » (*Traité des méthodes techniques de l'Anatomie microscopique*, 2^e éd., p. 2.)

Or, en faisant l'histogénèse du tissu élastique, nous devions rechercher, avant tout, les modifications qui pouvaient se produire dans l'intimité du corps cellulaire et, pour cela, nous devions éviter toute cause de ratatinement. C'est la même raison qui nous a fait rejeter les résines pour l'étude d'animaux qui, comme les Éponges, sont si sensibles à l'action des réactifs¹. Mais ce n'est pas encore la seule.

Les notions les plus élémentaires de physique nous enseignent que des éléments à haute réfringence, comme les fibres élastiques ou les fibres de Reniera que nous étudions ici, disparaissent dans les résines quand ces éléments ne sont pas énergiquement colorés. Or, les fibres élastiques sont difficilement colorables quand elles commencent à se former et les éléments de Reniera ne se distinguent presque plus, avec le baume, quand ils ont été colorés par le rouge Congo d'après la méthode que nous avons citée plus haut.

D'un autre côté, il nous semble que la surcoloration qu'il est

1. C'est aussi l'opinion de F. C. Noll, *Beitrage z. Naturgesch. d. Kieselschwämme, Abhandl. d. Senckenbergischen Naturf. Gesellsch.* 1888.

nécessaire d'obtenir quand on veut employer le baume peut donner lieu à des erreurs d'interprétation, si l'on s'en tient à cette méthode. On sait, en effet, que toutes les parties d'une cellule ne fixent pas partout les matières colorantes avec la même intensité. Avec les résines, on voit donc, avant tout, les parties surcolorées et on s'expose ainsi à leur donner une importance prépondérante dans la structure de la cellule. Qu'un autre observateur, maintenant, emploie un colorant qui agisse d'une autre façon, le baume lui montrera évidemment d'autres prépondérances. Ne serait-ce point là une des causes pour lesquelles les opinions varient tant sur la structure du protoplasma ?

En somme, nous voyons que deux raisons absolument essentielles justifient la préférence que nous avons accordée aux milieux aqueux pour nos recherches histogéniques. Pour l'étude des Éponges nous nous sommes servi d'un mélange d'alcool, de glycérine et d'eau, en faisant varier les proportions de façon à obtenir le degré de réfringence voulu. Mais nous avons employé encore très souvent la liqueur au vinaigre salicylique de Meyer ainsi que le mélange

1. M. Prenant revient, à deux reprises, dans la *Revue générale des Sciences*, sur la technique que nous avons appliquée à l'étude du tissu élastique : « C'est d'abord, dit-il, une technique sans doute defectueuse, à en juger par les figures ».

Cette manière de juger une technique en regardant seulement des dessins qui peuvent avoir été mal reproduits par le procédé (et c'était en partie le cas), nous a paru quelque peu légère de la part d'un savant comme M. le professeur Prenant. Qu'il nous permette, à ce propos, de lui citer quelques lignes d'un mémoire récent sur l'histogénése du tissu élastique dont les résultats confirment les nôtres :

« Par mon expérience, dit l'auteur, j'arrive à cette conclusion que le liquide de Muller est le meilleur moyen de fixation, chez les enveloppes tactiles, pour la recherche de l'histogénése des fibres élastiques (ce qui s'accorde aussi avec l'opinion de Loisel). » M. Gardner. — Zur Frage über die Histogenese des elastischen Gewebes, *Biolog. Centrabl.*, 1^{er} juin 1897, p. 398.

On ne peut guère tenir rigueur à quelqu'un qui ne connaît pas la question, comme M. Prenant l'avoue lui-même et comme l'indiquent clairement, du reste, ses citations bibliographiques. Mais on ne saurait trop s'élever, il nous semble, contre l'habitude que prennent certains critiques de lire imparfaitement les mémoires dont ils ont à rendre compte.

C'est ce qui explique, sans doute, pourquoi M. Prenant signale des contradictions dans notre travail lorsqu'il cite, d'abord, ce que nous avons écrit à la page 62 et fait suivre cette citation par une phrase que nous avions écrite 40 pages auparavant. C'est probablement aussi la raison pour laquelle M. Prenant a pu nous faire dire tout le contraire de notre pensée en nous citant encore textuellement. « Il est singulier, dit-il, de voir (p. 4) l'auteur faire il de « toutes ces données de la chimie moderne » dont il aurait dû, au contraire, tirer profit. »

Or, si l'on se reporte à la page 4 de notre thèse, nous trouvons : « Mais que peuvent signifier toutes ces données de la chimie moderne, souvent mal appliquées ; quel profit, en vue d'une idée générale, peut-on en retirer, si on s'en sert sans aucun esprit de suite et pour ainsi dire d'après le hasard des pièces rencontrées dans les laboratoires ? »

d'Apathy¹. Ce dernier nous a paru être un milieu excellent et en même temps donnant des préparations très faciles à manier; malheureusement les coupes se détériorent promptement à son intérieur, car le sucre cristallise au bout de quelques semaines.

Nous devons dire, enfin, que nous avons mis aussi à profit le pouvoir éclaircissant des résines, et en particulier de la résine Dammar. Nous savons trop, en effet, de combien de preuves il est nécessaire d'entourer l'affirmation d'un fait pour jamais négliger de contrôler une méthode par une autre méthode. Considérées seulement à ce point de vue, les résines auraient déjà une grande utilité.

Nous avons dit, plus haut, que la coloration des Éponges à l'état vivant, par la méthode ordinaire, nous avait donné quelques résultats intéressants sur la physiologie des cellules de ces animaux; ces résultats, nous les avons contrôlés en appliquant la même méthode à la Spongille d'eau douce. C'est pourquoi nous diviserons le présent mémoire en deux parties : la première concernant les fibres des Reniera, la seconde exposant la manière dont se comportent les tissus de ces Éponges vivantes en présence de certaines substances colorantes.

PREMIÈRE PARTIE

Les fibres des Reniera.

Chez les Éponges, le mésoderme qui représente, comme on le sait, la plus grande partie de l'organisme, est formé par une substance amorphe appelée quelquefois fondamentale parce qu'elle sert de soutien aux éléments squelettiques et cellulaires constituant le reste du mésoderme (fig. 4, pl. I).

Chez les deux espèces d'Éponges que nous avons étudiées, cette substance amorphe est transparente et présente une consistance muqueuse; on ne peut mieux la comparer qu'à la substance hyaline de l'ombrelle des Méduses. Elle est claire comme de l'eau de roche en beaucoup d'endroits, mais elle renferme généralement, cepen-

1. Pour les formules de ces liquides, voir le *Traité des techniques* de Bolles Lee et Henneguy, 2^e éd.

dant, un grand nombre de granulations ou de corpuscules sphériques plus ou moins gros. C'est dans son intérieur que sont creusés les canaux afférents et efférents, mais on y constate encore, chez l'Éponge vivante, la présence de grandes vacuoles qui ne sont, peut-être, que la section de canaux dont l'épithélium aurait été enlevé. Quelquefois ces vacuoles disparaissent brusquement par le rapprochement et la fusion de leurs parois; cette contraction se produit sans que l'on puisse constater aucun changement de forme dans les cellules environnantes, ce qui laisserait supposer l'existence de courants osmotiques ou encore une contractilité propre à la substance fondamentale. Celle-ci est considérée actuellement, cependant, comme étant formée par des matières rejetées hors des cellules mésodermiques; ce serait une substance intercellulaire inerte, semblable à celle que l'on trouve dans le tissu conjonctif des animaux supérieurs.

Les éléments squelettiques des *Reniera* sont des spicules siliceux de deux sortes, mais présentant les uns et les autres un seul axe et terminés en pointe; les plus gros de ces spicules sont réunis à leurs deux extrémités par des dépôts de spongine plus ou moins abondants, de manière à former une charpente continue.

On peut considérer également, comme éléments de soutien, des fibres ou des fibrilles élastiques que l'on trouve, chez *Reniera ingalli* et chez *Reniera elegans*, plongées dans l'intérieur de la substance amorphe (fig. 4 et 5). Ces fibrilles, bien visibles seulement à l'état vivant, sont nues ou présentent, à leur surface, des amas de granulations plus ou moins abondants. Les unes sont si minces qu'on ne peut les mesurer même avec les plus forts grossissements, mais leur réfringence particulière les rend très visibles. Les autres, au contraire, ont une épaisseur notable qui peut atteindre jusqu'à 2 μ ; ce sont alors de véritables fibres qui affectent presque toujours, avec certaines cellules, les rapports les plus intimes, comme nous allons le voir bientôt.

Les éléments cellulaires qui sont plongés dans la substance fondamentale (c, fig. 4) se montrent avec des formes variées qu'il est d'autant plus difficile de préciser que toutes ces cellules sont pourvues d'une amœbicité plus ou moins grande. Au point de vue physiologique, la difficulté est aussi grande et il est souvent bien difficile de dire si l'on a affaire à des cellules contractiles, digestives ou conjonctives. De tous ces éléments cellulaires, une seule espèce

doit nous arrêter ici. Ce sont des cellules (*d*, fig. 4) dont le corps protoplasmique est formé par un très grand nombre de sphérules incolores, accolées les unes contre les autres et empâtées, pour ainsi dire, dans une substance demi-liquide; cette substance, quoique peu abondante, est mise nettement en évidence par les mouvements amœboïdes que présentent ces éléments (fig. 7, pl. V). C'est à E. Topsent que nous devons la connaissance la plus complète de ces cellules qu'il nomme *sphéruleuses*¹. Ce sont des cellules, dit-il (*loc. cit.*, p. 444), qui jouent, suivant les cas, le rôle

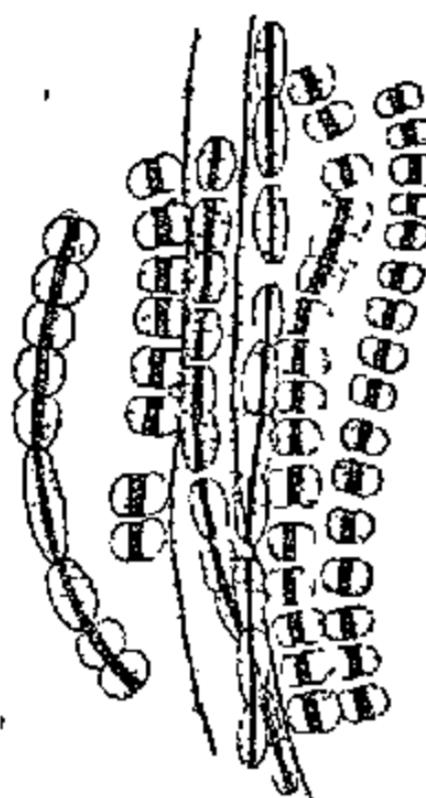


FIG. I. — *Reniera ingalli*. — Fixation par le sublimate acétique. Coloration par le mélange de Biondi. Montage dans le baume de Canada. — Chapelets de cellules sphéruleuses à différents degrés de développement.

de glandes, de réservoirs nutritifs ou d'éléments conjonctifs spéciaux, qui remplissent même parfois deux de ces fonctions simultanément.

Chez les deux espèces de *Reniera* que nous envisageons ici, les cellules sphéruleuses sont de taille variable et se présentent sous trois états différents : ou bien elles sont isolées, disséminées au milieu des autres éléments mésodermiques dans l'intérieur de la substance fondamentale, ou bien elles se groupent en amas irréguliers composés d'un nombre variable de cellules (*a*, fig. 4); d'autres fois enfin, elles s'accroissent bout à bout et se disposent comme les grains d'un chapelet en longues files de cellules (*b*, fig. 4). Si on fait agir alors, sur ces derniers éléments, un liquide

1. Dans plusieurs des mémoires qu'il a consacrés aux Éponges, Topsent a insisté longuement sur la nature et le rôle de ces cellules; il a résumé ses travaux, à ce point de vue, dans une note présentée à l'Académie des sciences le 23 septembre 1893. Ces cellules sphéruleuses correspondent aux éléments décrits par d'autres auteurs sous les noms de *cellules en rosettes*, *chondreocytes*, *collencytes* et *cystocytes*.

comme l'alcool, par exemple, qui fait éclater les sphérule, on voit, à l'intérieur des cellules, une fibre qui court dans toute la longueur des chapelets, de manière à ensiler les cellules les unes après les autres comme le fait un fil dans un collier de perles (fig. I, page précédente).

Tous les chapelets présentent ainsi une fibre à leur intérieur, mais cette fibre, au lieu d'être continue comme les fibres élastiques des Vertébrés, est formée, en réalité, par la soudure bout à bout

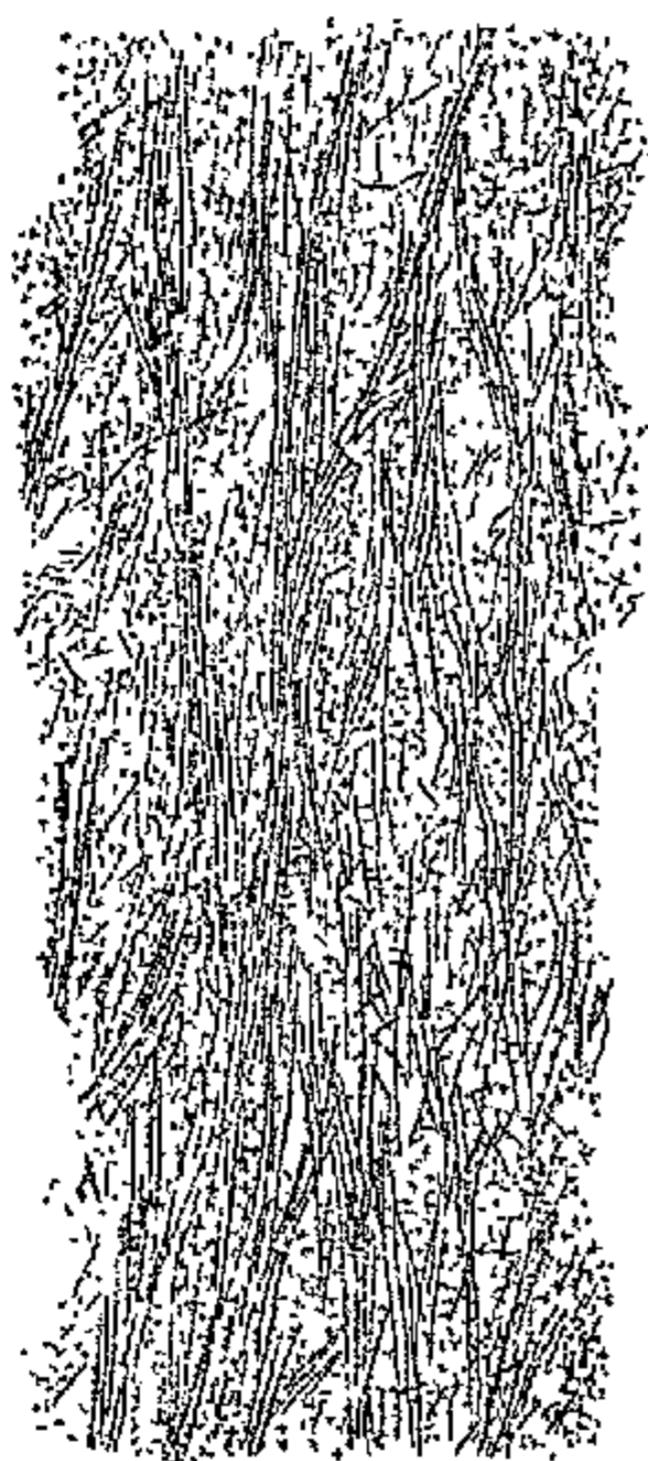
d'un certain nombre de petits articles occupant chacun le diamètre d'une cellule (fig. I).

Le mésoderme présente, dans toute son étendue, des files de cellules semblables placées généralement les unes à côté des autres, mais sans jamais s'anastomoser. Il résulte de cette disposition la formation de faisceaux de chapelets qui, chez *Reniera ingalli*, sont toujours dirigés dans le sens de l'accroissement principal de cette espèce (fig. II). On trouve ces faisceaux partout, en très grande quantité, aussi bien à la base de l'Éponge qu'à l'extrémité de ses rameaux; ils existent dans toutes les régions du mésoderme, mais ils paraissent abondants, surtout, dans le voisinage immédiat des canaux, rares, au contraire, dans l'ectosome. Les fibres et les

Fig. II. — *Reniera ingalli*. — Coupe longitudinale de l'extrémité d'une branche, pour montrer la direction des faisceaux de chapelets. — Dessiné à l'état vivant.

fibrilles nues prennent également part à la constitution de ces faisceaux, mais elles sont beaucoup moins nombreuses que les chapelets et n'existent pas au sommet des branches de l'Éponge.

Ces singulières formations cellulaires sont connues en partie depuis longtemps, puisque O. Schmidt les a très bien figurées dès 1864; elles n'ont jamais été, cependant, le sujet de travaux spéciaux, aussi ont-elles donné lieu aux opinions les plus diverses, comme nous le verrons plus tard en faisant l'historique de la



question. Elles n'ont été étudiées, du reste, jusqu'ici, que chez un tout petit nombre d'Eponges : chez *Reniera aqueductus* par O. Schmidt, chez une *Isodictya* indéterminée par Ch. Barrois, enfin chez *Reniera elegans* par Em. Topsent.

Nous diviserons notre travail en plusieurs chapitres qui comprendront successivement : 1^o l'étude de *Reniera ingalli* à l'état vivant; 2^o l'étude de *Reniera ingalli* avec le rouge Congo; 3^o l'étude de *Reniera ingalli* et de *Reniera elegans* au moyen de réactifs. Après avoir montré comment se forment les fibres et les fibrilles chez ces deux espèces d'Eponges, nous aurons à rechercher quelle est la nature de ces éléments fibrillaires. Enfin, à propos de l'historique, nous verrons que d'autres espèces d'Éponges présentent des fibres semblables à celles qui existent dans les espèces de Reniera que nous venons de citer.

I. — ÉTUDE DE « RENIERA INGALLI » À L'ÉTAT VIVANT.

Le simple examen des Éponges vivantes, sans fixation préalable et sans coloration, n'est pas suffisant pour étudier complètement les fibres des Reniera. C'est cependant, comme nous l'avons dit, la partie la plus importante, la plus nécessaire même de cette étude. Nous n'avons pu trouver encore une méthode de fixation qui conservât nettement les derniers stades des phénomènes histogéniques que nous allons décrire. Même chez les Eponges malades et sur le point de mourir, ces stades disparaissent quelquefois entièrement ou, du moins, ne se retrouvent plus avec le même aspect que chez l'Éponge vivante. C'est ainsi que nous avons vu *Reniera ingalli* perdre, à ce moment, sa viscosité particulière. Nous avons constaté alors une diminution de plus en plus grande des chapelets et des fibres et, même, leur absence complète chez l'Éponge morte depuis deux jours. En définitive, nous voyons qu'il est indispensable, non seulement d'étudier des Eponges fraîches, mais encore de faire cette étude sur des individus *bien vivants*.

Lorsqu'on fait des coupes à l'extrémité des rameaux de *Reniera ingalli*, on ne trouve que des chapelets entiers formés par des cellules globuleuses soudées les unes au bout des autres et semblables à ceux figurés en *b* (fig. 1, pl. I). Le corps protoplasmique des cellules présente un diamètre de 8 à 10 μ ; il paraît d'abord entièrement formé par un très grand nombre de petites sphérides,

mais lorsqu'on fait varier la mise au point, en employant l'objectif à immersion 1/16 de Leitz, on voit que ces sphérulels ne se trouvent qu'à la périphérie du corps protoplasmique (fig. 3, pl. I). Nous savons, en effet, que le centre de chaque cellule est occupé par un corps réfringent en forme de bâtonnet et que l'ensemble de ces corps constitue une fibre axiale dans chaque chapelet. Parfois ce corps réfringent, visible seulement qu'après l'action d'un réactif éclaircissant, comme l'alcool, ressemble à une sphère brillante que l'on pourrait prendre, à première vue, pour le noyau de la cellule, mais la forme en bâtonnet est de beaucoup la plus générale. Ces bâtonnets n'occupent quelquefois qu'une partie du diamètre de la cellule, mais ils sont généralement en contact les uns au bout des autres et leurs surfaces d'union correspondent toujours à la ligne de séparation des cellules. A cet endroit les bâtonnets sont plutôt articulés que soudés; ils sont, en effet, facilement isolables et laissent voir alors des surfaces d'articulation de formes très diverses. La grosseur de ces bâtonnets atteint ici 3 μ ; leur longueur, qui est celle de la cellule, est en moyenne de 10 μ .

Des chapelets semblables se retrouvent dans toutes les parties de l'Eponge; à l'extrémité des rameaux ils forment, à eux seuls, les faisceaux, mais dans d'autres régions plus âgées, on trouve, à côté d'eux, des chapelets différents.

Ce sont, d'abord (c, fig. 1, pl. I), les cellules qui deviennent fusiformes en perdant une certaine quantité de sphérulels; ces sphérulels disparaissent brusquement en crevant à la surface de la cellule, ou bien elles tombent dans la substance fondamentale où elles restent pendant un certain temps avant de disparaître complètement. Les sphérulels qui restent ne paraissent plus tassées les unes contre les autres en une couche corticale; elles sont isolées dans la substance hyaline semi-liquide qui existe seule dans les portions rétrécies unissant deux cellules voisines. L'alcool nous montre encore, à l'intérieur de ces chapelets, une longue fibre articulée; mais on remarque que les articles composant ces fibres sont plus longs et plus étroits que dans les chapelets précédents; il semble qu'ils se sont rétrécis en suivant l'allongement des cellules qui les contiennent. Nous verrons plus loin, que ces cellules en chapelet peuvent présenter des mouvements amoëboïdes assez étendus une fois qu'elles ont perdu une certaine quantité de leurs sphérulels.

Dans d'autres chapelets, les cellules sphéruleuses sont fusionnées entre elles de manière à former un véritable manchon protoplasmique autour de la fibre qui court dans toute sa longueur. Cette fibre est constituée par la réunion d'articles encore plus longs et plus minces que dans les fibres précédentes; nous pourrions déjà l'appeler une fibrille.

Dans certains de ces chapelets, on peut voir une ou plusieurs cellules manquer, laissant ainsi, à nu, la portion de fibre qui les traversait. Enfin, dans les régions avoisinant la base de l'Éponge, on trouve, au milieu de ces chapelets, des fibres et des fibrilles de différentes grosseurs, complètement isolées dans la substance fondamentale. Sur les fibrilles, il n'est plus possible de distinguer une segmentation quelconque, mais, dès qu'apparaît un double contour, on reconnaît facilement les lignes de soudure des articles composant les fibres. Nous avons donc là des éléments semblables à ceux qui existent dans l'intérieur des chapelets.

Par quel procédé les fibres abandonnent-elles les cellules où elles ont pris naissance et que deviennent ces cellules? Les observations sur l'Éponge vivante ne nous permettent pas de pouvoir répondre avec certitude à ces questions; il nous semble cependant qu'elles nous font déjà entrevoir ce procédé.

En effet, si l'on examine avec attention les éléments fibrillaires qui sont isolés dans la substance amorphe, on remarque que ces éléments ne sont pas entièrement nus. Nous savons déjà que certaines fibres peuvent encore présenter, sur leur parcours, des cellules isolées. Ces cellules diffèrent généralement des autres cellules sphéruleuses par un plus petit nombre de sphérules à leur intérieur; on en trouve même qui n'en ont plus que trois ou quatre plongées dans un corps protoplasmique finement granuleux; à cet état, ces cellules présentent des mouvements amoëboïdes très actifs; on les voit même, quelquefois, placées excentriquement sur la fibre (fig. 12, pl. V).

D'autres fois ce sont des globules transparents de différentes tailles, contenant encore quelques granulations et qui semblent égrénés le long des fibrilles (*b*, fig. 12, pl. V). Enfin les fibres et les fibrilles isolées présentent presque toujours, à leur surface, des granulations plus ou moins nombreuses, irrégulièrement disséminées sur toute la longueur de ces éléments (*a*, fig. 12, pl. V).

En résumé, et pour conclure de ces premières recherches, nous voyons que *les fibres de Reniera ingalli se forment à l'intérieur de certaines cellules sphéruleuses*.

Chacune de ces cellules qui sont disposées les unes à la suite des autres, comme les grains d'un chapelet, renferme d'abord un corps sphérique très réfringent occupant toute la partie centrale de la cellule.

Ce corps s'allonge peu à peu, dans l'axe du chapelet, de manière à former un petit bâtonnet qui va se souder avec les mêmes bâtonnets formés dans les cellules voisines. L'ensemble de ces bâtonnets constitue, ainsi une sorte de chaînette qui court dans toute la longueur du chapelet.

Ensuite les cellules sphéruleuses qui étaient d'abord globuleuses, prennent la forme d'un fuseau et les bâtonnets qu'elles renferment s'allongent dans le même sens. Mais, en même temps, ces bâtonnets deviennent plus minces et la chaînette acquiert ainsi l'aspect d'une fibre segmentée.

Cette double évolution se continuant, les cellules perdent une partie de leurs sphérules qui disparaissent dans la substance fondamentale; puis elles se fusionnent entre elles, de manière à former un manchon protoplasmique continu autour des fibres. Celles-ci s'allongent de plus en plus, mais aussi deviennent de plus en plus minces.

Enfin la gaine protoplasmique qui entoure chaque fibre se rétrécit davantage et disparaît peu à peu de manière à mettre cette fibre en liberté.

II. — ÉTUDE DE « RENIERA INGALLI » AVEC LE ROUGE CONGO.

Les observations précédentes nous ont montré comment se formaient les éléments fibrillaires de *Reniera ingalli*. Nous avons vu, à l'intérieur de certaines cellules, un corps sphérique très réfringent s'allonger et se souder avec des corps semblables, formés dans des cellules voisines, pour former une fibre; nous avons vu, en même temps, les cellules s'allonger, se fusionner, puis disparaître peu à peu en mettant les fibres en liberté. Nous devons, maintenant, étudier d'un peu plus près ces cellules et, en particulier, voir si ce ne serait pas leur noyau qui se transformerait ainsi en fibre comme on l'a pensé. C'est là un des points les plus importants de

cette étude, car, sans la connaissance du noyau, on ne peut rien dire de certain sur l'origine des cellules qui forment les chapelets, ni sur leur véritable destinée quand elles disparaissent.

Le rouge Congo, employé comme nous l'avons dit dans l'introduction, page 5, va nous permettre d'élucider entièrement cette question. Cette méthode de coloration est très importante ici, car nous verrons, plus tard, que le noyau des cellules en chapelet est très difficile à colorer par les moyens ordinaires; aussi avait-il été complètement méconnu jusqu'à maintenant.

Lorsqu'on étudie, au microscope, une *Reniera* qui a été traitée par cette méthode, on voit que le noyau de toutes les cellules mésodermiques est coloré uniformément en rouge; ce noyau apparaît très nettement au milieu du corps cellulaire qui, lui, n'a fixé qu'une très faible quantité de rouge Congo. Les fibres et les fibrilles isolées sont aussi uniformément colorées, de même que les segments de fibre qui sont à l'intérieur des cellules en chapelet. Mais, on voit de plus, dans chacune de ces cellules, quelle que soit la forme du chapelet considéré, un corps sphérique coloré avec la même intensité que les fibres et que les noyaux des autres cellules (fig. 13; pl. V). La forme régulière de cette sphère, sa constance dans chaque cellule, mais surtout la comparaison que l'on peut faire avec le noyau des autres cellules mésodermiques, font reconnaître immédiatement, dans cet élément, le noyau des cellules en chapelet. Voilà donc un premier point bien établi; le corps sphérique qui s'allonge dans chaque cellule en chapelet, pour former une fibre, n'est pas le noyau de la cellule.

Lorsqu'on examine les cellules sphéruléuses qui ne sont pas alignées en chapelet, on voit toujours à leur intérieur, un noyau sphérique coloré fortement en rouge (*a*, fig. 15, pl. V). Mais on remarque bientôt que certaines de ces cellules, généralement plus grosses que les autres (*b*), renferment, à côté de leur noyau, un corps de volume variable, de forme sphérique ou allongée et coloré également en rouge. Ce corps se trouve rarement dans les cellules sphéruléuses libres; il existe presque toujours au contraire dans les groupes de cellules (fig. 1 et 2) que l'on rencontre un peu partout dans le mésoderme de l'Éponge. Ces cellules sont assez fortement unies entre elles et montrent une tendance marquée à se disposer en fibres; or le rouge Congo permet de voir, à côté de leur noyau, toutes les formes de passage, depuis la petite sphère forte-

ment colorée, perdue au milieu des sphérules, jusqu'au bâtonnet qui va rejoindre les bâtonnets voisins pour s'unir à eux.

C'est là certainement l'origine des chapelets qui sillonnent tout le mésoderme de *R. ingalli*. Mais nous ne pouvons encore dire sous quelle influence ces cellules sphéruleuses se placent les unes au bout des autres pour former des chapelets. Il est possible que cette disposition singulière soit due uniquement à la division des noyaux qui se ferait toujours dans le même sens; mais nous n'avons jamais observé cette division malgré tout le soin que nous avons apporté à sa recherche; nous n'avons même jamais vu deux noyaux dans une seule cellule.

En exposant, dans l'introduction, notre méthode au rouge Congo, nous avons vu qu'on pouvait procéder de manière à dessiner, avec la chambre claire, les différentes phases de l'action exercée par le réactif sur les cellules de l'Éponge. C'est ainsi que les figures 7 et 16 (pl. V) ont été dessinées; chacune d'elles représente une même portion de chapelet dessinée, à différents intervalles, pendant l'action du Congo.

Au début de l'expérience représentée fig. 7, les cellules marquées *x* et *y* présentaient des mouvements amœboïdes très nets dont les différentes phases sont représentées en *a*, *b*, *c*, *d* et *e*. A partir de *b*, les pseudopodes paraissent plus grands, plus actifs; c'est qu'à ce moment nous avons fait arriver, sous la lamelle, une goutte d'eau de mer colorée par le Congo. Nous avons toujours remarqué, en effet, que cette substance paraissait exciter les mouvements amœboïdes de toutes les cellules de l'Éponge. En *d*, nous voyons la cellule *y* rejeter quelques sphérules (qui disparaissent bientôt dans la substance amorphe), puis reprendre sa forme primitive (*e*). Nous faisons arriver, ensuite, une goutte d'eau douce sous la lamelle; nous voyons alors (*f*) les cellules se contracter brusquement et tendre à reprendre une forme sphérique, puis la portion de la fibre nue, située entre *x* et *y*, se colorer en rouge. Au bout de quelque temps, enfin, toutes les cellules sphéruleuses éclatent brusquement (*g*), laissant à leur place une masse finement granuleuse au milieu de laquelle se voient un noyau et les différents articles de la fibre colorés également en rouge.

Nous devons faire ici quelques remarques. D'abord on constate que le chapelet s'est fortement raccourci au moment de l'arrivée de l'eau douce, par suite de la contraction des cellules. Puis les différents

segments de fibre qui étaient contenus dans ces cellules paraissent moitié plus larges que la portion de fibre qui était nue (voir *g*). Enfin, on ne trouve aucune trace de segmentation sur cette portion de fibre; il semble bien que nous ayons, dans celle-ci, un segment semblable aux segments inclus dans les cellules, mais qui aurait subi un allongement dans le sens de sa longueur.

L'expérience que représente la figure 16 (pl. V) est peut-être encore plus intéressante à étudier que la précédente. Le chapelet considéré ici était formé (*a*) par des cellules fusionnées entre elles, constituant ainsi un véritable manchon protoplasmique autour de la fibre centrale. Aussitôt après avoir fait arriver, sous la lamelle, une goutte de Congo dissous dans l'eau douce, on voit (*b*) le manchon protoplasmique se contracter de manière à faire réapparaître les contours de chaque territoire cellulaire. Cette contraction se continuant, on s'aperçoit (*c*) que quelques cellules ont repris leur individualité en glissant sur la fibre centrale, de manière à laisser certaines portions de cette fibre à découvert. Enfin toutes les cellules éclatent et les noyaux, ainsi que la fibre, se colorent presque immédiatement en rouge (*d*). Nous pourrions encore faire ici, à propos des différents segments de cette fibre, les mêmes réflexions que tout à l'heure.

Le rouge Congo permet ainsi de constater la présence de noyaux dans toutes les cellules des chapelets, quel que soit leur degré d'évolution (fig. 13, pl. V). On retrouve même ces noyaux dans les globules hyalins qui accompagnent quelquefois les fibrilles nues (fig. 42, pl. V). Enfin des noyaux semblables existent toujours à l'intérieur des faisceaux de fibrilles (fig. 5, pl. I); ces noyaux sont nus, c'est-à-dire paraissent être directement contenus dans la substance amorphe du mésoderme. La figure 5 a été dessinée après l'action du rouge Congo, suivie d'un lavage prolongé à l'alcool. Avant l'action de ces deux réactifs, la substance qui englobait les fibrilles était entièrement hyaline; c'est à peine si on y distinguait quelques rares granulations brillantes, mais on ne voyait pas la moindre trace des noyaux. En faisant glisser, sous la lamelle, une goutte de rouge Congo dissous dans l'eau douce, nous vimes apparaître presque immédiatement ces noyaux, la substance englobante restant toujours hyaline. Ce n'est que sous l'influence de l'alcool que cette substance prit l'aspect granuleux représenté dans la figure 5, avec un peu d'exagération toutefois.

Nous ne croyons pas que ces noyaux nus proviennent de cellules qui auraient été détruites par le passage du rasoir. Dans ce cas, en effet, on devrait toujours trouver, dans leur voisinage, des restes du corps cellulaire, ce qui n'existe pas comme nous venous de le voir. Il est à remarquer, cependant, que tous ces noyaux présentent toujours la même forme et la même grosseur, qu'ils soient contenus dans les cellules sphéruleuses ou qu'ils se trouvent isolés dans la substance amorphe du mésoderme.

Il est facile maintenant de se rendre compte du mode de libération des fibrilles et de la destinée des cellules sphéruleuses à l'intérieur desquelles elles se sont formées.

Nous avons vu les cellules en chapelet se débarrasser peu à peu de leurs sphérules qui tombent dans la substance amorphe mésodermique où elles disparaissent. Le protoplasma de ces cellules se trouve ainsi réduit à sa partie liquide, hyaline ou faiblement granuleuse, mais renfermant toujours un noyau à son centre. Finalement, cette partie liquide disparaît elle-même dans la substance amorphe en entraînant le noyau et en mettant en liberté la fibre ou la fibrille qu'elle entourait. Nous ne pouvons dire s'il y a, ici, fusion intime entre ce protoplasma liquide et la substance fondamentale, ou bien si les cellules gardent encore une certaine individualité. Nous n'avons pu continuer assez longtemps ces observations, qui ne peuvent être faites qu'au bord de la mer avec des Éponges vivantes. Nous complons bien les reprendre, du reste, car elles tendraient à nous donner, ici, sur la substance amorphe mésodermique de ces animaux, une tout autre idée que celle des livres classiques. Cette substance, considérée seulement chez les *Reniera* adultes, aurait, en effet, une double origine : elle serait formée de substances particulières rejetées par certaines cellules mésodermiques et de masses protoplasmiques liquides ou demi-liquides, sans contours distincts et contenant encore des noyaux.

Nous pouvons résumer, maintenant, tout ce que nous avons appris avec le rouge Congo, employé à l'étude de l'Eponge vivante, sans fixation préalable. *Certaines cellules sphéruleuses libres élaborent, à leur intérieur, une substance particulière, très réfringente, se colorant fortement en rouge.*

Cette substance apparaît, au centre de la cellule, sous la forme d'une petite sphère qui grossit peu à peu, s'allonge et prend la forme d'un bâtonnet en repoussant le noyau de la cellule à la périphérie.

Les noyaux se retrouvent toujours dans toutes les cellules des chapelets, quel que soit leur degré d'évolution.

Les fibrilles, qui résultent, comme nous l'avons vu, de la soudure des bâtonnets et de leur allongement dans un même sens, deviennent libres par suite du départ de la gaine protoplasmique dans laquelle elles ont pris naissance. Le corps protoplasmique des cellules se débarrasse, en effet, des sphérulest qu'il contient et disparaît finalement dans la substance amorphe mésodermique en entraînant le noyau avec lui.

Tous les noyaux de ces cellules se retrouvent dans la substance amorphe, épars au milieu des fibrilles.

Une question vient maintenant à l'esprit. Sous quelle influence se fait l'allongement des bâtonnets contenus dans les cellules, allongement d'où résulte la formation des fibres et des fibrilles?

Nous savons que les chapelets des cellules sphéruleuses, aussi bien que les fibres nues, sont toujours dirigés, chez *R. ingalli*, suivant la longueur des rameaux de cette Eponge, c'est-à-dire dans le sens de sa croissance principale. D'autre part, nous avons montré que chaque article composant les fibres était d'autant plus étroit qu'il était plus long. Enfin nous avons vu que ces articles pouvaient se raccourcir notablement, par exemple, sous l'influence de l'eau douce chargée de rouge Congo.

Tous ces faits semblent indiquer que les bâtonnets sont soumis, dans l'intérieur des chapelets, à une force qui les allonge de plus en plus de manière à en faire des fibres, puis des fibrilles. En effet, la substance

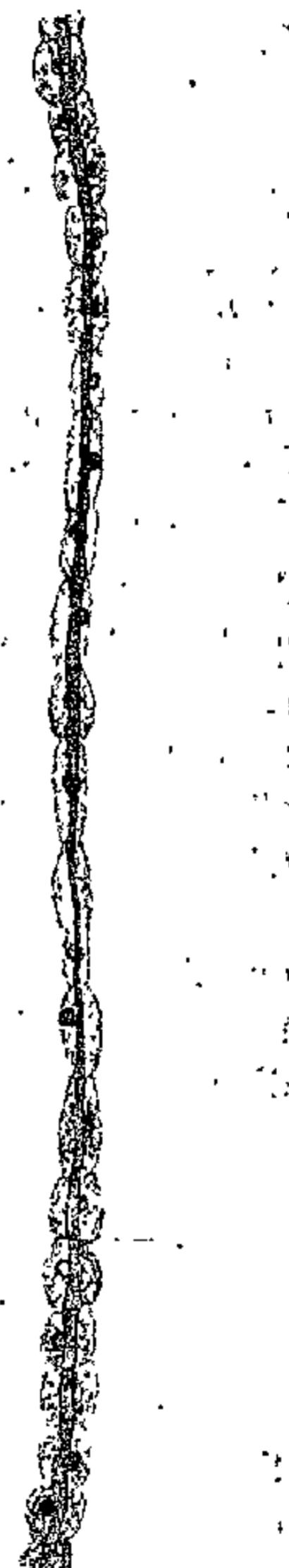


Fig. III. — *Reinera ingalli*. Rouge Congo pendant la vie; fixation par le sublimé acétique. — Montage dans la glycérine hydratée. Portion de chapelet dessinée d'après une photographie.

qui constitue ces bâtonnets est molle en même temps que tenace et se laisse facilement étirer en filaments, comme on peut s'en rendre compte de la façon suivante :

On place, sur une lame de verre, l'extrémité d'une branche de *R. ingalli*, qui ne renferme, comme l'on sait, que des chapelets. On casse cette branche en deux et l'on écarte doucement les deux morceaux qui restent attachés l'un à l'autre par une substance visqueuse et très tenace. Si l'on examine cette substance au microscope, on voit qu'elle est formée, en grande partie, par des fibres et des fibrilles provenant de l'allongement des chainettes qui étaient contenues dans les chapelets ; ceux-ci ont en effet disparu pour la plupart, les cellules sphéruleuses ayant été brisées par la traction qu'on leur a fait subir.

Il est donc bien probable que la cause principale de la formation des fibres chez les *Reniera* est une cause mécanique. Mais sous quelle influence agit cette cause ? Est-elle due uniquement à la croissance de l'Éponge ? Les mouvements amœboïdes des cellules en chapelet ne seraient-ils point pour quelque chose dans cet allongement des bâtonnets ? Ce sont là toutes questions qu'il serait très intéressant d'approfondir, mais pour lesquelles nous n'avons malheureusement pas de réponse. Nous ferons remarquer seulement que l'allongement des segments de fibre n'est pas le même pour tous les chapelets d'un même faisceau, ni pour toutes les cellules d'un même chapelet (voir fig. I et III).

III. — ÉTUDE DE « *RENIERA INGALLI* » ET DE « *R. ELEGANS* » A L'AIDE DE RÉACTIFS APRÈS FIXATION.

Nous avons déjà dit qu'aucune méthode de fixation et de coloration ne saurait remplacer l'examen des Éponges à l'état vivant avec ou sans l'aide du rouge Congo. C'est là un point sur lequel nous ne craignons pas de trop insister, car l'étude seule des Éponges conservées nous a laissé longtemps dans l'erreur, à propos des noyaux des cellules en chapelet, par exemple. Ces noyaux qui sont relativement petits et se rétrécissent encore sous l'influence des réactifs, sont très difficiles à mettre en évidence au milieu des grosses sphérules qui les entourent. Le réactif de Millon est, après le rouge Congo, le meilleur réactif pour les faire apparaître,

mais nous allons trouver d'autres procédés qui permettent également de les colorer.

La première chose que l'on constate après la fixation et la coloration des *Reniera*, c'est l'intensité avec laquelle les fibres fixent la plupart des substances colorantes et en particulier les colorants nucléaires. L'hématoxyline, l'hématéine, la safranine, le magenta, le vert de méthyle, etc., colorent de la même façon les fibrilles nues et les bâtonnets contenus dans les chapelets.

- Ces bâtonnets sont quelquefois très difficiles à voir, car les sphérulest qui forment une sorte d'enveloppe au corps cellulaire (fig. 3 et 11), se colorent avec la même intensité et cachent ainsi tout ce qui est à l'intérieur de la cellule. C'est là une des raisons pour lesquelles le noyau est si difficile à mettre en évidence. Aussi, quand on veut l'étudier, est-il nécessaire de fixer les Éponges avec un liquide, comme l'alcool, qui éclairent les cellules en détruisant les sphérulest. Malgré cette précaution, le noyau est encore très difficile à colorer; nous n'avons pu le faire jusqu'ici qu'avec le violet de gentiane et le bleu de quinoléine, mais l'emploi de ces substances demande une technique plus ou moins compliquée qui, outre qu'elle ne montre pas toujours les noyaux, les rétrécit et les altère beaucoup.

Le réactif de Millon ne présente ces inconvénients qu'à un faible degré; en effet, il fixe instantanément les cellules et fait apparaître, en même temps, les noyaux sans qu'il soit besoin de les colorer. On examine les préparations dans un milieu aqueux ou même dans le réactif lui-même et les noyaux se montrent alors avec la forme et la grosseur qu'ils avaient à l'état vivant (comparer la fig 6, pl. I, à la fig. 13, pl. V). Nous avons vu qu'ils se coloraient uniformément avec le rouge Congo; le réactif de Millon nous les montre également comme étant formés par une substance entièrement homogène.

Le violet de gentiane, employé d'après la méthode de Bizzozero et Gram¹, donne de très belles préparations, surtout si l'on colore ensuite avec l'éosine; les fibres et les noyaux se détachent en violet foncé sur le corps cellulaire coloré en rouge; mais, comme nous l'avons dit, les noyaux sont rétrécis et déformés (comparer les fig. 13 et 17); de plus, ils n'apparaissent pas toujours, ce qui pour-

1. Voir Bolles Lee et Henneguy, *Traité des méthodes techniques*, 2^e éd., p. 186.

rait induire en erreur si on ne connaissait pas les résultats fournis par le rouge Congo. Cependant, ces préparations nous font voir d'autres points intéressants. Ainsi, l'on remarque (fig. 17 et IV) que les segments de fibre sont soudés les uns aux autres par une substance particulière qui se colore en rouge, comme le protoplasma, ou en violet très pâle. Nous avons affaire, ici, à une portion du corps cellulaire qui se modifie au fur et à mesure que les bâtonnets se développent. En allant à la rencontre les uns des autres, ces bâtonnets exercent, en effet, une pression de plus en plus considé-



Fig. IV. — *Renuera ingalli*. Fixation par l'alcool absolu. Coloration au violet de gentiane par la méthode de Bizzozero-Gram. Montage dans la résine Dammar. Portion de chapelet de cellules sphéruleuses. Les fibres et les noyaux ont été seuls représentés.

rable sur la portion de protoplasma qui les sépare. C'est là, probablement, la cause déterminante de cette transformation du protoplasma en substance unissante.

Cette substance qui réunit les segments de fibre entre eux ne réduit pas le nitrate d'argent et elle résiste beaucoup moins que les fibres elles-mêmes à l'action des acides et des alcalis.

Le bleu de quinoléïne, que nous avons employé comme l'indique Ranzier dans son *Traité de techniques* (2^e éd., p. 89), colore énergiquement les cellules sphéruleuses en chapelet, et quelques-unes parmi les autres cellules sphéruleuses restées libres. Sur des pièces fixées par l'alcool (fig. 2, pl. I), les bâtonnets apparaissent très nettement dans l'intérieur des chaplets et on distingue quelquefois, à côté d'eux, le noyau des cellules sphéruleuses. Mais il vaut mieux

attendre une ou plusieurs semaines avant d'étudier ces coupes que l'on doit monter dans de la glycérine hydratée. On voit alors que la substance des fibres a pris une teinte bleue ou violette de plus en plus foncée, alors que les autres éléments mésodermiques se sont en partie décolorés. On trouve, de plus, dans l'intérieur des cellules sphéruleuses réunies en groupes, tous les stades de formation des fibres, depuis le petit corps sphérique à peine visible jusqu'au bâtonnet traversant toute l'épaisseur des cellules (fig. 2, pl. I).

Le mélange Ehrlich-Biondi (orange, fuschine et vert de méthyle) ne nous donne aucune indication sur le noyau, mais il nous montre, comme le bleu de quinoléine, deux sortes de cellules sphéruleuses libres : les unes se colorant comme les chapelets, les autres se comportant, en présence du colorant, comme les autres éléments mésodermiques. Après fixation avec le sublimé ou avec le liquide de Flemming, les chapelets se colorent en vert foncé, tirant fortement sur le bleu (fig. 14, pl. V). Quand on examine ces chapelets avec l'objectif à immersion, on voit que la coloration verte n'intéresse que les sphéruleuses ; tout le reste du corps cellulaire est teint en rouge ainsi que le bâtonnet qui est à son intérieur.

Les fibres et les fibrilles nues sont également colorées en rouge, de même que les autres éléments cellulaires du mésoderme ; aussi les chapelets tranchent-ils nettement sur le reste par leur coloration spéciale. Mais parmi les cellules sphéruleuses libres, les unes sont colorées en rouge par la fuschine, les autres, et surtout celles qui se groupent en amas irréguliers, ont pris, au contraire, la couleur bleu verdâtre des chapelets.

Cette distinction que le bleu de quinoléine et le mélange Biondi nous montre, dans les cellules sphéruleuses libres, concorde avec cette observation de Topsent : « Des deux sortes de cellules sphéruleuses de *Reniera elegans*, celles qui ne se disposent pas en chaînes conjonctives s'emplissent quelquefois d'amidon et d'autres fois n'en contiennent pas trace¹ ».

Si l'on se reporte maintenant à ce que nous a montré le rouge Congo, nous comprenons facilement pourquoi, parmi les cellules sphéruleuses libres, certaines seulement se colorent comme les cellules sphéruleuses en chapelet. Nous avons vu, en effet, que ces

1. E. Topsent, Essai sur la faune des Spongiaires de Roscoff, *Arch. zool. exp.*, 1893.

cellules étaient les éléments où s'élaborait la substance destinée à former les fibres. Le mélange de Biondi nous montre, maintenant, que cette substance ne provient pas des sphéruleuses, puisque celles-ci se colorent en vert alors que les fibres se colorent en rouge. Nous savons, du reste, que ces sphéruleuses se détachent peu à peu des cellules sphéruleuses pour tomber dans la substance amorphe mésodermique où elles disparaissent.

En résumé, l'étude des *Reniera* après fixation et coloration nous a permis de préciser les points suivants :

Il y a deux sortes de cellules sphéruleuses chez Reniera elegans et chez Reniera ingalli : 1° des cellules sphéruleuses isolées renfermant des substances nutritives telles que l'amidon, comme l'a montré Topsent; 2° des cellules sphéruleuses qui élaborent à leur intérieur la substance des fibres et qui se disposent en files continues ou chapelets.

La substance qui forme les fibres n'est pas la même que celle qui constitue les sphéruleuses des cellules en chapelet. Elle se colore très énergiquement avec la plupart des substances colorantes.

Les segments de fibres sont soudés les uns aux autres par une substance particulière qui est du protoplasma modifié.

Les noyaux des cellules sphéruleuses peuvent se voir, après fixation, avec le réactif de Millon, avec le violet de gentiane et avec le bleu de quinoléine.

IV. — NATURE DES FIBRES DE « RENIERA ELEGANS » ET DE « RENIERA INGALLI ».

Si l'on fait abstraction des fibres qui traversent les chapelets dans toute leur longueur, on ne peut s'empêcher de voir une analogie entre ces chapelets et certaines Algues de la famille des Nostocs. On sait, en effet, que les Éponges donnent asile à un grand nombre d'êtres vivants, parasites ou commensaux, et une Éponge fibreuse, en particulier, *Spongelia pallescens*, renferme, dans sa substance fondamentale, une Oscillaire dont la forme rappelle beaucoup celle des chapelets que nous connaissons¹.

Mais la disposition régulière et toujours la même que présentent les chapelets de *Reniera ingalli* (voir fig. II, p. 14) éloigne déjà

1. Voir F. E. Schulze, Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Spongién, Zeitschr. f. wiss. Zoolog., t. 32, p. 116, Taf. V, fig. 7; Taf. VIII, fig. 9 et 10.

toute idée de parasite ou de commensal. De plus, le rouge Congo agit de la même façon sur les cellules en chapelet et sur les autres cellules de l'Éponge. Enfin, il n'est pas possible de voir, dans ces cellules en chapelet, des éléments différents des autres cellules sphéruleuses qui, comme nous l'a montré Topsent, se trouvent dans toutes les Éponges. Il nous reste donc à déterminer la nature de la substance qui compose les fibres des Reniera.

Cette particularité qu'il n'existe jamais qu'un seul corps réfringent dans chaque cellule, pourrait faire croire encore à une formation parasitaire, à une spore, par exemple, qui aurait élu domicile dans certaines cellules sphéruleuses; ces spores, en se développant, détermineraient l'allongement, puis la fusion et enfin la destruction des cellules sphéruleuses.

Mais nous ne voyons pas à quel groupe d'Algues ou de Champignons il faudrait rapporter ce parasite; dans tous les cas, nous ne pourrions dire d'où proviennent ces spores et comment elles entrent dans les cellules sphéruleuses.

Nous allons voir, du reste, que les caractères physiques et chimiques des fibres de *Reniera ingalli* et de *Reniera elegans* les éloignent complètement des Algues ou des Champignons pour les rapprocher, au contraire, de la spongine qui unit les spicules de ces Éponges.

Ces fibres sont formées par une substance amorphe, homogène, très tenace, dont la réfringence rappelle tout à fait celle de la spongine ou encore celle des fibres élastiques des Vertébrés. Molle et se laissant étirer comme du verre fondu dans les grosses fibres, cette substance paraît plus ferme, plus résistante dans les fibrilles; elle présente alors une grande élasticité qui fait enrouler en spirale l'extrémité de ces fibrilles quand on les brise. Cette élasticité, qui est si développée dans les fibres de spongine en général, ne se manifeste plus ici après la dessiccation; il en est de même du reste pour la spongine de nos Reniera, car ces Éponges s'effritent complètement sous les doigts, quand elles ont été préalablement desséchées.

Nous avons vu que les fibres qui nous intéressent présentaient une affinité très grande pour la plupart des substances colorantes. Or, nous avons constaté presque toujours les mêmes affinités pour la spongine des spicules. C'est ainsi que le rouge Congo agit de la même façon sur la substance des fibres et sur la spongine, dans les

expériences que nous avons rapportées plus haut; que le mélange Erhlich-Biondi colore l'une et l'autre en rouge; l'orcéine en violet sombre; l'acide osmique en jaune gris; le picro-carmin en jaune pâle, ou en rouge pour les bâtonnets intracellulaires, etc. Ces colorations peuvent varier un peu avec le mode de fixation des éléments; nous devons faire remarquer aussi qu'elles ne montrent pas toujours la même identité entre la substance des fibres et la spongine. Le violet de gentiane, sans lavages prolongés à l'alcool, colore de la même façon ces deux substances; employé, au contraire, d'après la méthode de Bizzozero-Gram, les fibres restent fortement colorées alors que la spongine est à peine teintée. Le réactif de Millon, le bleu de quinoléine et, dans certains cas, le *nilblau sulfat*, nous montrent également des différences d'intensité assez notables dans les colorations de ces substances...

L'étude comparative que nous avons faite des fibres et de la spongine de nos *Reniera*, au moyen de liquides corrosifs ou caustiques, va nous montrer également, entre ces deux corps, quelques, petites différences à côté de grandes ressemblances.

Le moyen le plus simple, pour faire cette étude, consiste à faire macérer, pendant un certain temps, des morceaux d'Eponges dans les liquides que l'on a choisis. Mais, si l'on veut se débarrasser des cellules, de manière à n'avoir que la partie squelettique de l'Eponge, voici comment l'on peut procéder.

Dans une éprouvette suffisamment large pour laisser passer seulement un morceau d'Eponge à frottement doux, on verse, sur ce morceau, la solution suivante:

Acide sulfurique.....	1 partie.
Eau — — — — —	2 — — — — —

Au bout de vingt-quatre heures, on trouve généralement, au fond de l'éprouvette, une sorte de précipité blanchâtre formé par les cellules détruites. Il ne reste plus, dans le corps même de l'Eponge, que les fibres, les spicules et les gaines de spongine qui réunissent celles-ci.

C'est la première méthode que nous avons suivie dans les expériences que nous allons relater maintenant; ces expériences ont porté surtout sur les Eponges fixées par le liquide de Zenker ou par le sublimé et conservées dans l'alcool; mais nous avons étudié aussi des tissus frais, comme nous allons le voir.

1^o *Action de l'acide chlorhydrique.* — Au bout de quinze heures, le morceau d'Éponge est coloré en brun violet ; il est resté entier, mais se brise quand on le saisit avec des pinces. A l'examen microscopique dans l'acide, on ne voit que les spicules et la spongine qui est restée intacte. Les fibres ne se distinguent bien que dans l'eau ; elles présentent alors le même aspect qu'à l'état vivant et ne paraissent pas altérées. Sur des tissus frais, l'acide chlorhydrique rétrécit un peu les fibres et les gaines de spongine, mais ne les détruit pas, au moins après vingt-quatre heures d'action.

2^o *Action de l'acide sulfurique.* — Au bout de quinze heures, le morceau d'Éponge est coloré en brun rouge. Il est resté entier, mais se brise également quand on le saisit. Les fibres ne se voient très bien que dans l'eau ; elles ne paraissent pas altérées et sont un peu colorées en jaune comme la spongine. Les cellules sphéruleuses se distinguent encore autour des fibres, mais elles sont en grande partie détruites sur des morceaux qui ont resté pendant dix-sept heures dans l'acide.

3^o *Action de l'acide azotique.* — Au bout de deux heures, le morceau d'Éponge est coloré en jaune ; il tombe en déliquescence quand on le touche, ce qui indiquerait que la spongine est dissoute ; les fibrilles sont un peu recroquevillées, mais elles ne sont pas détruites.

Au bout de quinze heures, il ne reste plus du morceau d'Éponge, qu'une sorte de précipité jaunâtre tombé au fond du vase. Dans ce précipité, on trouve tous les spicules isolés et débarrassés de leur gaine de spongine (voir, plus loin, l'action de la potasse). Les fibres sont, au contraire, très visibles, bien qu'étant fortement éclaircies ; mais elles sont toutes brisées au niveau de la soudure des articles qui les composaient. On distingue encore, autour de ces articles, les cellules sphéruleuses avec leurs contours et quelques sphérulels à leur intérieur. Ce sont ces éléments, fibres et cellules, qui sont colorés en jaune par l'acide azotique. Sur des Éponges vivantes après un séjour de vingt-quatre heures dans l'acide, les cellules sphéruleuses sont entièrement détruites, les fibres non.

4^o *Action de l'acide acétique.* — Au bout de vingt-quatre heures, toutes les cellules sont détruites ; les fibres et la spongine ne présentent pas de changement notable.

5^o *Action de la potasse caustique à 40 pour 100 d'eau distillée.* — Au bout de quinze heures, le morceau d'Éponge est coloré en

jaunâtre; il se désagrège immédiatement quand on le touche, ce qui laisserait croire que la spongine est dissoute. En réalité, ce sont les spicules qui sortent de leur gaine de spongine quand on les touche; il peut en être de même pour l'acide azotique, mais, avec cet acide, nous n'avons jamais pu retrouver ces gaines alors qu'on les voit très facilement avec la potasse. Pour cela, de même que pour bien voir les fibres, il faut mieux observer les préparations dans la solution de potasse elle-même: si on lave à l'eau, on peut entraîner en même temps les gaines de spongine et les fibres. Celles-ci sont en effet bien conservées, avec toute leur réfringence, mais elles sont brisées en articles séparés comme avec l'acide azotique.

6^e *Action de l'ammoniaque.* — Au bout de dix-sept heures, le morceau d'Éponge est un peu coloré en jaune. La spongine et les fibres ont gardé toute leur réfringence; elles ne paraissent nullement altérées. Les cellules en chapelet existent encore; leurs contours sont très réguliers, mais elles sont devenues très transparentes. Sur des Reniera vivantes, l'ammoniaque n'altère pas les fibrilles nues, mais il attaque un peu les bâtonnets qui sont encore contenus dans les chapelets.

7^e *Action du réactif de Millon froid.* — Au bout de huit heures, le morceau d'Éponge est rougeâtre, un peu rétréci, mais il est resté entier. Les cellules sphéruleuses se voient encore avec leurs sphérule; elles sont cependant un peu rétrécies de même que les bâtonnets contenus à leur intérieur; ceux-ci ne paraissent pas autrement altérés. La spongine est restée intacte. Tous ces éléments sont colorés faiblement en jaune rouge.

8^e *Action de l'oxyde de cuivre ammoniacal.* — Au bout de six heures le morceau d'Éponge est coloré en bleu foncé; cette coloration porte uniquement sur le réseau de spongine qui se voit très bien dans toutes ses parties; c'est là une méthode de choix pour mettre en évidence ce réseau. Les fibres sont détruites en grande partie; on trouve encore quelques articles en examinant la préparation dans l'eau, mais ces portions de fibres sont incolores.

9^e *Action de l'eau de javelle (solution du commerce concentrée).* — Au bout de deux heures, le morceau d'Éponge est devenu jaunâtre; il se désagrège entièrement quand on le touche. Examiné dans l'eau de javelle, les cellules sphéruleuses forment une sorte de magma dans lequel on distingue les fibres qui sont seulement éclaircies. La spongine est dissoute en beaucoup d'endroits.

Au bout de cinq heures, la spongine est détruite entièrement; beaucoup de bâtonnets sont encore visibles; quelques-uns paraissent intacts, mais la plupart sont granuleux et déformés.

10^e *Action du lysol en solution aqueuse au 10°.* — Au bout de trois heures, les cellules sphéruleuses sont détruites en grande partie; la spongine et les fibres sont intactes.

Tableau résumant les principales réactions des fibres et de la spongine de RENIERA ELEGANS et de RENIERA INGALLI.

RÉACTIFS	FIBRES	GAINES DE SPONGINE
Rouge Congo <i>in vitro</i> .	Coloration rouge.	Coloration rouge.
Éosine.	Id.	Id.
Mélange Ehrlich-Biondi.	Id.	Id.
Orcéine.	— Violet sombre.	— Violet sombre.
Acide osmique.	— Jaune gris.	— Jaune gris.
Picro-carmine.	— Jaune pâle.	— Jaune pâle.
Violet de gentiane (méthode de Buzzozero).	— Violet foncé	— Violet très faible.
Bleu de quinoléine.	Id.	Id.
<i>Niblau sulfat.</i>	— Bleue.	— Bleue.
Acide chlorhydrique.	Transparentes, gonflées.	Un peu transparentes, gonflées.
— sulfurique.	Colorées en jaune.	Colorées en jaune.
— azotique.	Très transparentes, désagrégées, jâunes, beaucoup sont dissoutes.	Dissoutes (?) .
— acétique.	Non dissoutes.	Non dissoutes.
Potasse caustique.	Desagrégées seulement.	Non dissoutes.
Ammoniaque.	Non dissoutes.	Id.
Réactif de Millon bouillant.	Colorées en jaune faible.	Colorées en jaune.
Oxyde de cuivre ammoniacal.	Désagrégées, beaucoup sont dissoutes, incolores.	Non dissoutes, colorées en bleu foncé.
Eau de javelle.	Désagrégées, fortement éclaircies, granuleuses, déformées.	Dissoutes.
Lysol.	Non dissoutes.	Non dissoutes.
Carbonate de potasse.	Id.	Id.
Pulvérisation (1 mois dans l'eau douce).	Desagrégées, éclaircies.	Id.

11^e *Action de la trypsine en saturation, dans une solution d'acide chlorhydrique au 100°, à la température de 40°.* — Nous n'avons pu faire agir la trypsine sur des pièces fraîches, aussi donnons-nous seulement les résultats suivants comme mémoire. Dans des morceaux d'Eponge conservés dans l'alcool, puis lavés à grande eau, on ne trouve pas d'altération sensible des fibres ni de la spongine, après un séjour à l'étuve de quarante-huit heures.

12^e *Action de l'eau douce.* — L'eau douce possède, comme on le

sait, une action désorganisatrice très puissante sur les tissus des animaux marins. Au bout de quinze à vingt minutes, toutes les cellules en chapelet sont détruites et laissent voir la fibre qui est à l'intérieur; celle-ci ne présente d'abord aucune altération, mais les articles qui la composent se séparent bientôt les uns des autres, sans toutefois présenter, eux-mêmes, aucune altération sensible; les fibrilles résistent à cette action dissociante. Un séjour de huit jours dans l'eau douce n'amène pas d'autres changements, seulement la plupart des articles composant les fibres étant séparés les uns des autres, tombent au fond du vase avec les autres détritus de l'Éponge. Enfin la substance qui compose ces fibres résiste encore à la putréfaction, pendant un mois tout au moins.

Le tableau ci-dessus, qui résume les principales réactions des fibres dont nous avons étudié le mode de formation, ne nous renseigne pas sur la composition chimique de ces fibres, mais il nous montre une très grande ressemblance entre la substance qui les forme et la spongine qui unit les spicules entre eux. Bien que nous ne voyons pas, dans ce tableau, une identité absolue entre les deux substances, nous croyons pouvoir dire, cependant, que les fibres de nos *Reniera* sont des fibres de spongine. Nous savons, en effet, que l'on désigne sous le nom générique de *spongine* toute une série de corps différents qui ont été très peu étudiés au point de vue chimique et qui sont, par conséquent, très peu définis.

Les cellules sphéruleuses qui forment les fibres de *Ren. elegans* et de *Ren. ingalli* sont donc comparables aux *spongoblastes* (Schulze) que l'on a signalées à la surface des fibres d'un grand nombre d'Éponges cornées. Mais, alors que la sécrétion de spongine est très facile à constater dans les cellules sphéruleuses de nos *Reniera*, personne n'a encore vu comment les spongoblastes produisaient cette substance et arrivaient à former les grosses fibres des Éponges cornées. Nous croyons que la méthode au rouge Congo qui nous a servi si utilement, dans nos recherches, pourrait apporter également quelque lumière sur ce sujet.

V. — HISTORIQUE. — COMPARAISON DES FIBRES DES « RENIERA »
AVEC D'AUTRES FIBRES D'ÉPONGES.

Oscar Schmidt¹ est le premier observateur qui ait décrit et figuré les chapelets de cellules et les fibres qui sont le sujet de ce mémoire. C'est sur une variété de *Reniera aquæductus* que Schmidt a rencontré ces éléments. La description et les dessins qu'il en donne sont exacts tout en étant incomplets, mais il pense que les fibres sont, tout simplement, des productions artificielles, provenant peut-être des tiraillements que l'on fait subir au sarcode (substance amorphe du mésoderme) pendant les dissociations. Quant aux cellules sphéruleuses, aux *Körnchenballen*, comme Schmidt les appelle, ce seraient, probablement, des amas de granulations se produisant, par exemple, sous l'influence de courants sarcodiques. Schmidt ajoute que ces « pelotes granuleuses » peuvent avoir cependant quelque rapport avec des cellules, car il dit les avoir vues se diviser. Nous ne pouvons nous prononcer sur ce fait que nous n'avons jamais observé.

En 1872, Eimer² annonça qu'il avait découvert des organes urticants dans plusieurs Eponges siliceuses : *Reniera fibulata*, *R. informis*, *R. accommodata* et *Desmacella vagabunda*. Cette découverte était très importante puisqu'elle permettait de classer définitivement les Eponges parmi les Cœlentérés. Malheureusement Eimer avait rencontré tout simplement, dans ses dissociations, des nématocytes appartenant à un polype hydraire fixé dans les canaux excréteurs des Eponges et que F.-E. Schulze décrivit, quelques années plus tard, sous le nom de *Spongicola fistularis*.

Quand on examine la figure qui accompagne le mémoire d'Eimer et que nous reproduisons ici (fig. V), on voit, en effet, que les éléments marqués 1 et 2 sont bien de véritables nématocytes. Mais les deux rangées de cellules qui sont au milieu de la figure ressemblent énormément à ce que nous avons vu chez *Reniera ingalli*. La rangée inférieure représente, au moins dans sa partie droite, des bâtonnets de fibres à différents degrés de développement; quant à la rangée supérieure, elle est certainement formée par les cellules

1. *Supplement d. Spongien d. adriat. Meeres*, 1864, p. 3, fig. 12, pl. I.

2. Th. Eimer, Nesselzellen und Samen bei Seeschwammen, *Arch. f. mikr. Anat.*, 1872, t. VIII.

fusiformes d'un chapelet dissocié ; il suffit, pour s'en convaincre, de comparer cette partie du dessin d'Eimer à la figure suivante (fig. VI) qui représente quelques spongoblastes de *Reniera ingalli*.

Eimer pense que le filament urticant de ses prétendus nématocytes n'est autre chose qu'une transformation du noyau des cellules où il a pris naissance. C'est également ce qu'on a cru pour les fibres des *Reniera*, alors qu'on ne pouvait découvrir le véritable noyau.

Les éléments que Schmidt avait signalés dans une *Reniera* de la

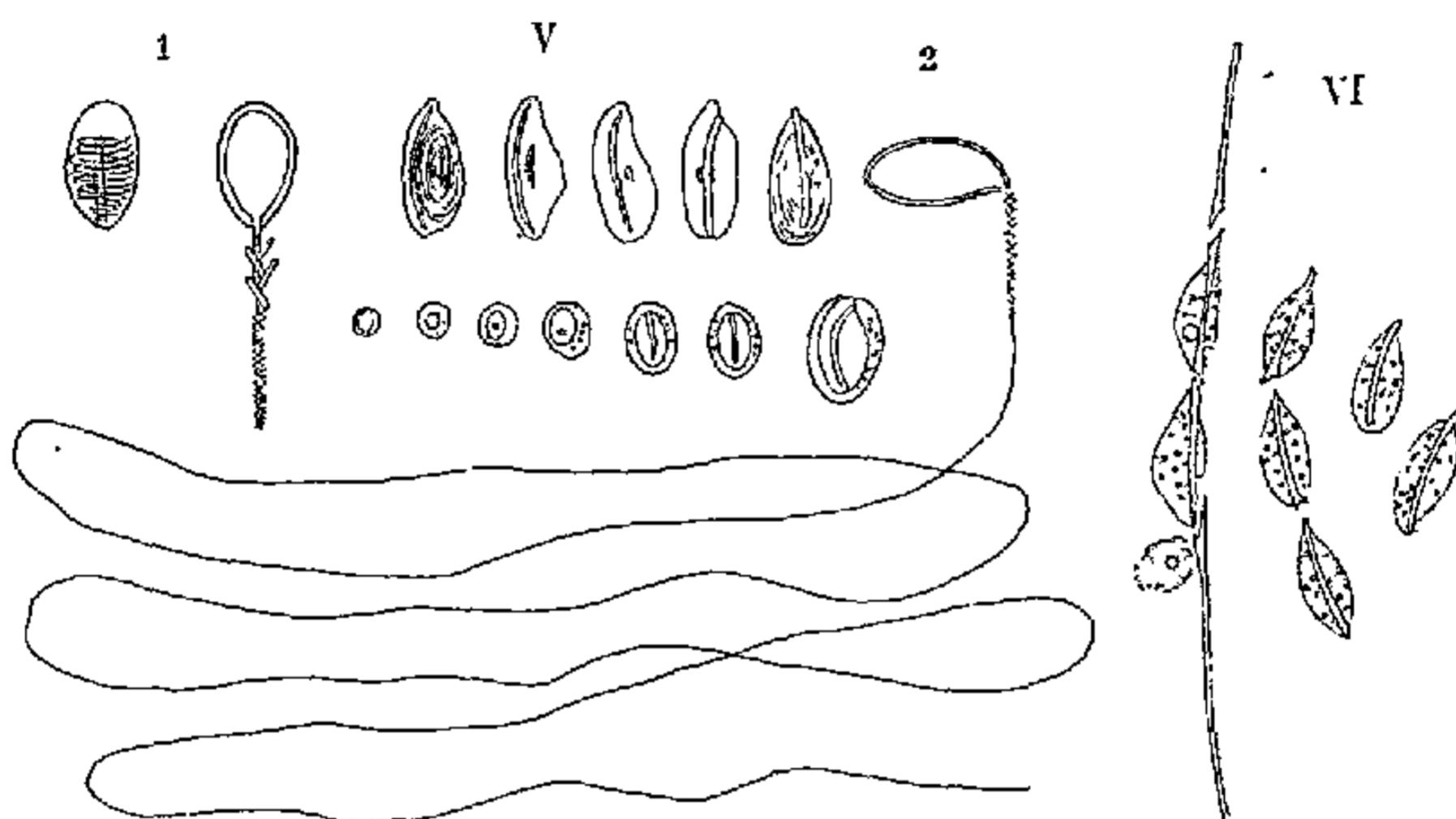


Fig. V. — D'après Th. Eimer.
Fig. VI. — *Reniera ingalli*. — Fixation par le réactif de Millon bouillant.

Méditerranée ne furent retrouvés que douze ans plus tard, par Ch. Barrois, dans une *Reniera* indéterminée vivant dans la Manche¹. Barrois n'émet pas d'opinion sur l'origine ni sur le rôle des fibres de cette Eponge ; il constate tout simplement leur nature gluante et élastique et les rapproche également des nématocytes décrits par Eimer. Si l'on examine ces fibres au microscope, « on voit qu'elles sont composées, écrit Barrois, d'une matière gélatineuse, hyaline, anhiste, empêtant de distance en distance des amas sphériques de granules ou de grosses cellules ». Il ne semble pas que cet auteur ait vu les fibres traverser les cellules sphéruleuses, car il n'en parle pas et ne le figure pas. Du reste l'idée qu'il se fait de ces cellules est assez singulière ; il tend à les considérer comme les spermato-

1. Embryologie de quelques Éponges de la Manche, Thèse fac. sc. Paris, 1876, et Ann. Sc. nat., 6^e série, t. III, p. 62, pl. 15, fig. 42.

blastes des Reniera, chaque sphérule étant destinée à se transformer en spermatozoïde.

Il est évident que tous les auteurs dont nous venons de parler n'avaient apporté qu'une faible attention aux fibres et aux cellules en chapelet qu'ils rencontraient dans certaines Eponges siliceuses. En effet, le plus simple réactif, comme l'alcool, par exemple, aurait pu leur indiquer la relation si intime qui existe entre les fibres et les cellules. C'est ce qu'a montré Topsent¹, qui a étudié, avant nous, les fibres et les cellules en chapelet de *Reniera elegans* et qui leur a attribué, très justement, un rôle conjonctif. Mais Topsent ne parle pas de fibrilles isolées dans l'intérieur du mésoderme et ne dit rien de la résistance si particulière aux alcalis et aux acides que présentent les fibres contenues dans les chapelets de cellules sphéruleuses. Quant à l'origine même de ces fibres, il les considère, d'abord, comme étant formées par les noyaux des cellules; voici comment il explique cette formation. Les chapelets que forment les cellules sphéruleuses seraient des organes élastiques; à l'état de rétraction, les noyaux de ces cellules auraient l'aspect d'une sphère; mais, lorsque les chapelets entreraient en extension, ces noyaux seraient étirés et se mettraient en rapport, par leurs extrémités, avec les noyaux voisins. « Tous les noyaux ronds dans le système rétracté, écrit Topsent, s'étirent transversalement, puis débordent, d'un côté dans les cellules terminales, des deux côtés à la fois dans les autres et se mettent en rapport par leurs extrémités un peu élargies avec les noyaux adjacents. Le fil n'est donc pas homogène, et une ligne nette marque les contacts des noyaux qui le composent. »

Six ans après, en 1893, Topsent revient sur la même question dans une note à l'Académie des sciences². Il montre que les fibres qu'il a étudiées chez *Reniera elegans* sont plus répandues qu'on ne le croyait, parmi les Eponges siliceuses, mais il ne nous renseigne pas davantage sur la nature ni sur l'origine même de ces fibres. Il constate seulement leur grande affinité pour les couleurs d'aniline et pense maintenant qu'elles ne sont pas d'origine nucléaire; cependant, dit-il, « le noyau véritable ne se retrouve pas dans les cellules ainsi différenciées. Peut-être n'a-t-il qu'une durée éphé-

1. Contribution à l'étude des Chondes, *Arch. zool. exp.*, 1887, t. V, supplémentaire, p. 164.

2. Contribution à l'histologie des Spongaires, *Compt. rend.*, 25 septembre 1893, p. 444.

mère, la cellule génératrice du ligament perdant de bonne heure son individualité cellulaire. »

En somme, les quelques zoologistes qui ont parlé des fibres des *Reniera* ne les ont considérées que d'une façon accessoire et l'on peut dire que tout était presque à faire quand nous avons commencé les recherches qui font l'objet de ce travail.

En lisant les nombreux mémoires qui ont paru sur les Éponges, nous avons été surpris de ne pas trouver signalés, plus souvent, les éléments si intéressants que nous avons étudiés ici. Nous sommes le premier, en effet, à constater leur existence chez *Reniera ingalli* et, cependant, cette Éponge est bien connue depuis longtemps. Il est probable que cela tient à l'état dans lequel se trouvent les Éponges que les auteurs ont à décrire. La plupart du temps, en effet, ce sont des pièces de collection desséchées ou conservées dans l'alcool après avoir subi généralement un ou plusieurs lavages dans l'eau douce.

Toutes les Renierides ne présentent certainement pas des fibres analogues à celles que nous avons décrites chez *Reniera elegans* et chez *R. ingalli*, mais nous croyons que des éléments de même nature ou de même origine existent plus souvent qu'on ne le croit généralement. En effet, il a suffi que l'attention de Topsent ait été attirée de ce côté, par l'étude qu'il avait faite de *Reniera elegans*, pour que ce savant spongiologue retrouve des éléments analogues dans un certain nombre d'Éponges¹.

C'est ainsi que *Chalina Montagni*², *Acervochalina finitima* et des espèces du genre *Spinosella* renferment des fibres du même type que celles de *Reniera ingalli*.

Chez *Clathria coralloïdes* et *Echinocladaria seriata*, quelquefois aussi chez *Microciana armata* et *Microciana atrasanguinea*, Topsent a vu que les cellules sphéruleuses étaient accompagnées de « fibrilles très grêles, s'enroulant en spirale après rupture, franchement élastiques, toujours tendues en tous sens dans l'ectosome et sur les parois des canaux du système aquifère ».

Une autre éponge de la famille des Ectyonines, *Rhaphidophlus Jolicæuri*, est également remplie de fibrilles remarquablement élastiques.

1. *Loc. cit.*, p. 445.

2. Rappelons que Topsent considère *Chalina Montagni* et *Reniera elegans* comme ne formant qu'une seule et même espèce. Voir la note de la p. 4.

Enfin, on sait depuis longtemps que certaines Éponges cornées, les *Hircinia*, renferment des fibrilles élastiques qui présentent également une résistance remarquable à l'action des acides et des réactifs. On a considéré successivement ces fibrilles comme étant des algues parasites, ou comme des enveloppes de spongine que l'éponge aurait sécrétée à la surface de filaments d'algues parasites. Pour H. Fol, ce serait, au contraire, des éléments normaux de l'Éponge qui se formeraient d'après un procédé qui rappelle tout à fait ce que nous avons vu chez *Reniera ingalli*.

« Si l'on choisit, pour la mettre en coupes, écrit Fol⁴, une extrémité en voie de croissance rapide, on verra, à la place des fibrilles, de grosses trainées de cellules fusiformes appartenant avec évidence au tissu conjonctif de l'Éponge. Plus bas, ces trainées s'élargissent et l'on y voit apparaître des fibrilles naissantes sur lesquelles les cellules fusiformes sont disposées en chapelet. Plus loin encore, les cellules sont atrophiées et il ne reste que leur produit, la fibrille. »

Fol avait fait ces recherches sur des Éponges qui avaient macéré pendant quelque temps ; il aurait donc été très utile de les reprendre en s'adressant surtout aux *Hircinia* vivantes. Malheureusement il ne semble pas que ces questions d'histogénèse aient jamais beaucoup occupé les spongiologues. Il y a là, pourtant, dans l'étude de ces fibres particulières que l'on trouve chez certaines Éponges, une question qui intéresse autant, il nous semble, la zoologie que la physiologie cellulaire.

VI. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Il ne nous reste plus, maintenant, pour terminer cette première partie de notre travail, qu'à rassembler toutes les conclusions que nous avons été amené à tirer dans l'exposé de nos recherches. Nous pourrons ainsi, en nous aidant de la fig. VII, présenter une vue d'ensemble de l'évolution des fibres que nous avons étudiées.

1^o La substance, qui compose les fibres de *Reniera elegans* et de *Reniera ingalli*, présente la même résistance aux agents chimiques et se colore de la même façon que la spongine qui entoure l'extrémité des spicules de ces Éponges.

4. Sur l'Anatomie des Éponges cornées, *Journ. de Micrographie*, 1890, p. 306, et *Compt. rend. Ac. sc.*, 9 juin 1890.

2° Cette substance apparaît dans l'intérieur de certaines cellules sphéruleuses. On peut donc désigner ces cellules sous le nom de *spongoblastes*, comme l'a déjà fait Schulze pour les éléments qui formeraient les fibres cornées ordinaires.

3° Dans certaines régions du corps, les spongoblastes sont isolées, comme les autres cellules sphéruleuses, mais, dans d'autres régions, elles se groupent en amas irréguliers (fig. 6, *a*), puis se disposent en files continues comme les grains d'un chapelet ou les perles d'un collier (*b*).

Le corps de ces spongoblastes présente, à la périphérie, un grand nombre de sphérules qui forment une sorte d'enveloppe opaque à la partie centrale; celle-ci est occupée par une substance demi-fluide, plus ou moins finement granuleuse, contractile, et dans laquelle se trouve le noyau de la cellule.

C'est au centre même de la cellule, à côté du noyau, que l'on voit apparaître la spongine, sous la forme d'une petite sphère très réfringente (*a*). Cette formation de spongine grossit peu à peu en rejetant le noyau de côté pour prendre sa place, mais comme cette croissance se fait toujours dans la même direction, on trouve bientôt, dans chaque spongoblaste, une sorte de bâtonnet situé dans l'axe même du chapelet (*b*).

L'accroissement des bâtonnets se continuant toujours dans le même sens longitudinal, les bâtonnets de deux cellules contiguës finissent par se rencontrer et par se souder (*b*). Cette soudure n'est pas directe; elle se fait par le moyen d'une substance, peu résistante aux acides et aux alcalis, et qui provient de la transformation du corps cellulaire compris entre deux bâtonnets juxtaposés.

L'ensemble des bâtonnets qui occupent l'axe d'un chapelet forme donc maintenant une chaînette dont chaque chainon représente l'activité formatrice d'une seule et même cellule.

4° Tels sont les éléments que l'on rencontre le plus souvent dans le corps de l'Éponge, surtout à l'extrémité des bourgeons. Mais cette évolution ne s'arrête pas là et on peut trouver, dans des parties plus âgées, à côté des chapelets précédents, d'autres formations présentant une évolution plus avancée.

Bientôt, en effet, les spongoblastes, qui étaient d'abord sphériques, s'allongent suivant l'axe du chapelet et prennent la forme d'un fuseau. Chacun des bâtonnets qu'ils renferment s'allonge également

dans le même sens et semble subir, par là même, une sorte d'étirement longitudinal. C'est ainsi que chaque chaînette prend peu à peu l'aspect d'une fibre segmentée (B).

Cet allongement se poursuivant, les spongoblastes se fusionnent par leurs extrémités, de manière à former un manchon protoplasmique continu autour des fibres (C); celles-ci s'allongent également

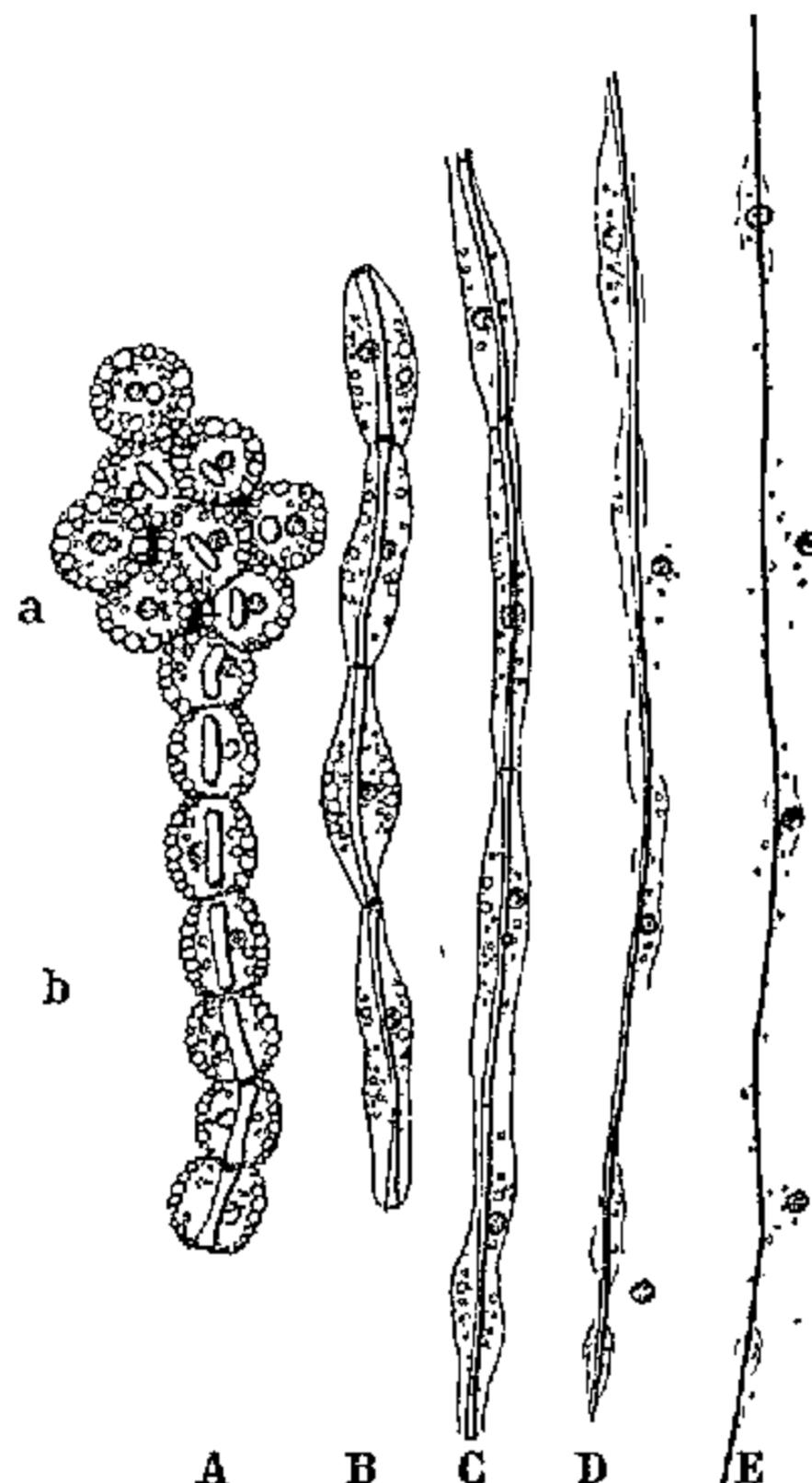


Fig. VII. — Formation d'une fibre chez *Remora magnoli*.

et deviennent aussi de plus en plus minces. Ainsi des éléments qui présentaient d'abord une épaisseur de 2μ arrivent finalement à n'être plus que des fibrilles à peine mesurables et à segmentation invisible.

5° Mais, pendant ce temps, les spongoblastes ont changé de forme et de constitution. En s'allongeant et en se fusionnant, ils se sont débarrassés peu à peu de leurs sphérules qui tombent dans la substance fondamentale; aussi ne trouve-t-on bientôt plus, autour des fibres ou des fibrilles, que la partie demi-liquide du corps cellulaire avec le noyau (D).

6^e Enfin, dans un dernier stade, ce protoplasma demi-liquide abandonne lui-même les fibrilles qui sont mises ainsi en liberté dans la substance fondamentale (E). Tous les noyaux des spongoblastes se retrouvent épars dans la substance fondamentale avec leur même forme et leur même grosseur.

Cette transformation évolutive du protoplasma des cellules sphéruleuses ne se produit pas en même temps dans toute l'étendue d'un chapelet; aussi trouve-t-on souvent des fibres ou des fibrilles isolées qui présentent encore, de place en place, des masses protoplasmiques hyalines contenant, ou non, un noyau.

Nous voyons, en somme, que les Eponges nous ont fourni, au point de vue histogénique, tout ce que nous en avions espéré. Nous trouvons, en effet, dans la formation des fibres de Reniera, une histogénèse excessivement simple et qui présente ce grand avantage, pour l'étude, de se continuer pendant toute la vie de l'animal.

Il est certainement très curieux de voir des cellules ne donner naissance, chacune, qu'à une seule portion de fibre, mais ce n'est pas là un cas d'histogénèse isolé, chez les Eponges du moins. Nous savons, en effet, que d'autres éléments squelettiques, les spicules, naissent souvent isolément dans l'intérieur d'un seul et même élément anatomique. Il y a longtemps, par exemple, que Carter nous a montré¹, dans la formation des spicules chez la Spongille, une histogénèse identique, en bien des points, à celle que nous avons étudiée ici.

(A suivre.)

Explication des planches².

PLANCHE I.

Fig. 4. — Reniera ingalli, coupe faite sur une éponge vivante et examinée immédiatement dans de l'eau de mer, grossissement 250, chambre claire.

La substance fondamentale et les cellules libres du mesoderme n'ont pas été représentées pour ne pas compliquer la figure.

a, groupe de cellules sphéruleuses se disposant en chapelet par le haut;
b, chapelets de cellules sphéruleuses les uns continués, les autres lais-

1. H.-J. Carter, The ultimate structure of Spongilla, *Annals and Magaz.*, t. XX, 1857.

2. Voir la note de la page 1.

sant voir la fibre qui les traverse; *c*, chapelet de cellules sphéruleuses qui se sont allongées le long d'une fibre; *d*, cellules fusionnées autour d'une fibre; *e*, fibre isolée; *f*, fibrilles isolées; *g*, fibrille traversant trois cellules dans leur longueur.

Fig. 2. — *Reniera elegans*, fixée par alcool absolu, colorée au bleu de quinoléïne, inclusion dans paraffine, coupes montées dans la glycérine, grossissement 650.

a, portion de chapelet de cellules sphéruleuses montrant les bâtonnets qui les traversent; *b*, cellules sphéruleuses isolées montrant des grains ou des bâtonnets à différents degrés de développement (quelques-unes de ces cellules, mal fixées, sont en partie détruites); *c*, cellules sphéruleuses ne présentant pas trace de spongine; *d*, corbeilles vibratiles.

Fig. 3. — *Reniera ingalli*, portion de chapelet dessinée à l'état vivant, dans l'eau de mer, grossissement 650, chambre claire.

a, mise au point à la surface des cellules; *b*, mise au point sur la fibre centrale.

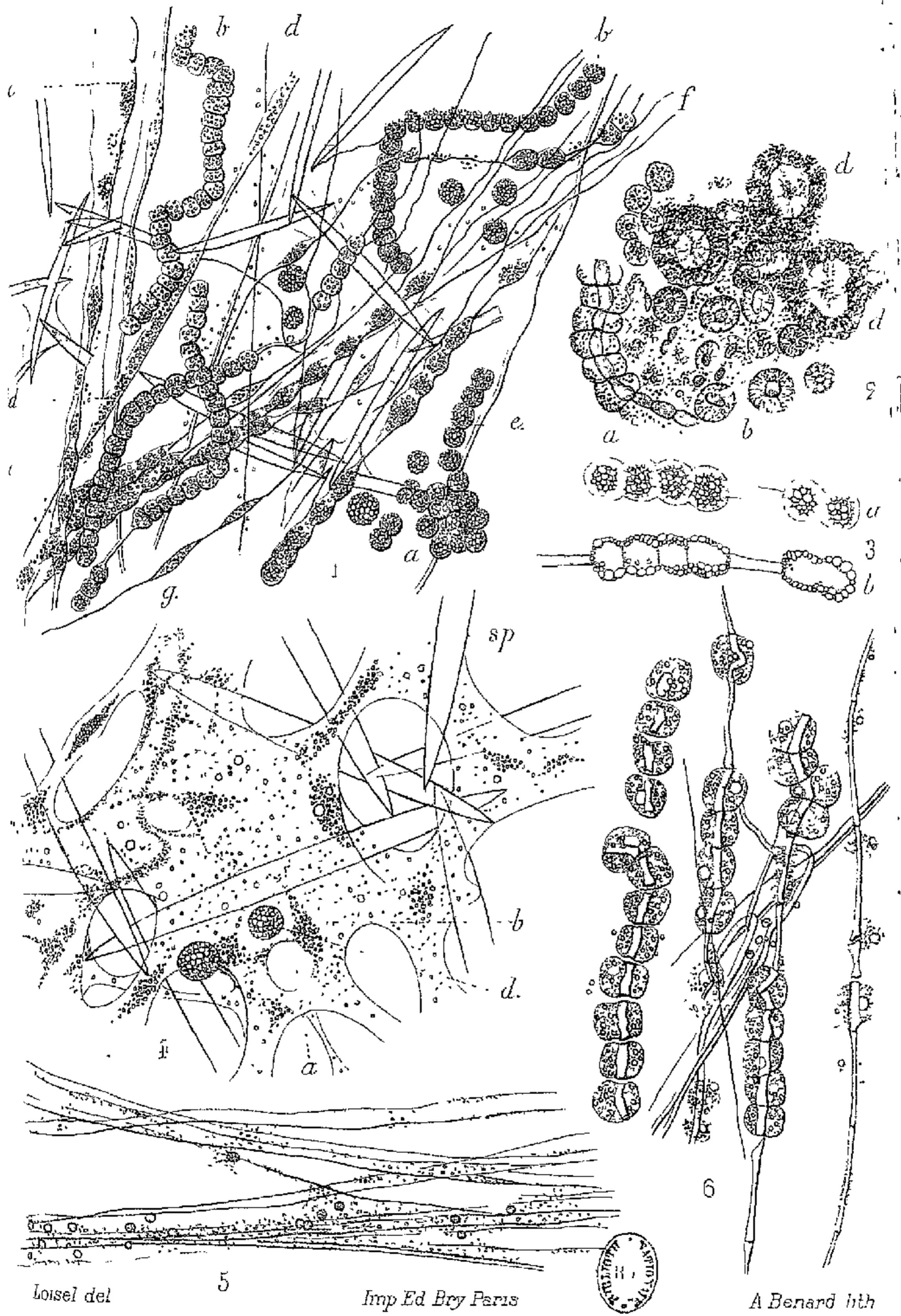
Fig. 4. — *Reniera ingalli*, éléments mésodermiques dessinés à l'état vivant, grossissement 650, chambre claire.

a, lacune creusée dans la substance fondamentale (*b*); *c*, différentes formes de cellules mésodermiques; *d*, cellules sphéruleuses.

Fig. 5. — *Reniera ingalli*, faisceau de fibrilles traité par le rouge Congo dissous dans l'eau douce, puis par l'alcool absolu, grossissement 650, chambre claire.

A l'état vivant, la substance fondamentale qui englobe les fibrilles, était entièrement hyaline et ne présentait aucun indice de noyaux.

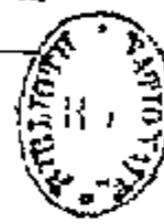
Fig. 6. — *Reniera ingalli*, action du réactif de Millon sur les chapelets, grossissement 650, chambre claire. — La plupart des cellules renferment un noyau à côté de chaque segment de fibre.



Loisel del

5

Imp Ed Brey Paris



A Benard lith

Histologie des Eponges (genre Remera Nardo)

Felix Alcan Editeur