

## FIXATION EN EXTENSION DU PÉDICULE DES VORTICELLIDES

PAR

E. FAURÉ-FREMIET

Les Infusoires Péritriches sont fixés par un pédicule ou style, essentiellement constitué par une substance protéique résistante, dont on n'a pas encore précisé si elle est voisine des kératines ou si elle appartient au groupe des glucoprotéines ; sécrétée au niveau d'une zone ciliaire modifiée, la « scopula », cette substance forme soit une masse cylindrique de texture fibreuse ou canaliculaire, soit un tube creux ; dans ce dernier cas la cavité du tube peut être occupée par un prolongement du corps différencié en élément contractile ; cette structure caractérise les espèces appartenant aux genres *Vorticella*, *Carchesium* et *Zoothamnium*, dont le pédoncule, simple ou ramifié, est toujours hautement contractile.

L'étude morphologique d'un pédoncule contractile montre que le « cordon central », entouré par une fine pellicule analogue à celle qui enveloppe le corps dont il est un prolongement, renferme une bandelette sarcoplasmique contenant de nombreuses mitochondries, et une fibre myoïde très réfringente qui se termine dans le corps de l'Infusoire sous forme d'un cône fibrillaire également contractile. Lorsque cette fibre myoïde (myonème ou spasmonème) se contracte, la gaine rigide s'incurve en spirale ou en zig-zag, par suite de la résistance qu'oppose un épaississement latéral généralement disposé en hélice. Cet

épaississement se comporte d'ailleurs comme un ressort et, lorsque la fibre myoïde se relâche, sa détente élastique suffit à ramener le pédoncule, simple ou ramifié, à l'état initial étendu.

Chez toutes les espèces de ce groupe, la fibre myoïde réagit à la moindre excitation mécanique ou chimique par une brusque et violente contraction, suivie d'une détente progressive. Tous les réactifs fixateurs provoquent cette contraction, mais l'immobilisent en contracture, de telle sorte qu'aucun d'entre eux ne permet de fixer *en extension* ni un individu, ni une colonie. Ce fait apporte une grande difficulté à l'étude des individus et des colonies fixés en vue de colorations histologiques.

On a cherché à inhiber la contractilité de la fibre myoïde pédonculaire, grâce à certaines actions physiologiques.

Les anesthésiques ont été utilisés de diverses manières avec des résultats incertains, ou tout au moins très variables suivant les conditions d'utilisation et suivant l'espèce expérimentée; il semble que des questions de perméabilité jouent ici un rôle important. Le mécanisme intime de la contraction reste insuffisamment connu; la contractilité du corps de l'Infusoire est plus grande que celle du myoïde pédonculaire et persiste beaucoup plus longtemps; or, lorsque le péristome est fermé, le liquide extérieur ne peut atteindre le cytoplasme qu'à travers la pellicule externe, relativement épaisse et dont la perméabilité, non mesurée, est probablement assez faible.

WESENBERG-LUND (1925), constate, dans le cas d'une grande espèce, *Zoothamnium gericulatum* Ayrton, que les différents anesthésiques essayés : chloral, alcool méthylique, cocaïne, donnent tous de mauvais résultats. Cependant VOLKONSKY (1933) obtient une inhibition complète de la contractibilité du pédoncule chez *Carchesium* p. ex., en utilisant un mélange de somnifène Roche (10 cm<sup>3</sup>) et de chlorétone (1 gr.) amené à 1.5 l. (1).

D'autre part les actions spécifiques exercées par certains sels ont été utilisées. KOLTZOFF (1912) a étudié ces actions sur la contractibilité du pédoncule de *Zoothamnium alternans*; mais

(1) La composition totale de ce liquide anesthésique étant alors :

Ac. diméthylebarbiturique . . . . .	1 gr.
Ac. allyleisobutylebarbiturique . . . . .	1 gr.
Chloroforme acétone . . . . .	1 gr.
Solution saline isotonique au milieu normal	1.500 cm <sup>3</sup>

les conclusions de ce travail demanderaient une nouvelle discussion. Avec les sels de potassium, et plus spécialement KCl en solution faible, MERTON (1933) a pu obtenir chez le *Stentor* et le *Spirostomum* une inhibition de la contractilité des myonènes ; mais cet effet n'est pas observé chez les Vorticellides.

L'action bien connue des sels de magnésium sur les muscles de nombreux Invertébrés (narcose magnésienne, voir ASHKENAZ, 1938) ne s'exerce que très faiblement, d'après mes propres essais, sur la fibre myoïde des Vorticellides.

Chez ces Infusoires, MERTON (1929) a observé l'action remarquable du formol en solution diluée à 0,075 0/0 ; j'ai pu vérifier le fait sur diverses Vorticelles, mais je n'ai pas obtenu le même résultat avec les *Zoothamnium* marins. Cependant, en combinant l'action du mélange hypnotique de VOLKONSKY et la technique de MERTON, j'ai pu inhiber partiellement la contractilité de ces *Zoothamnium*, et les résultats deviennent bien meilleurs en présence de chlorure de lithium qui semble augmenter la perméabilité de l'Infusoire.

Dans ce cas, les colonies sont d'abord immergées pendant 5 à 15 minutes dans un mélange à parties égales d'eau de mer et d'une solution isotonique de LiCl. On constate que les individus ouvrent normalement leur péristome tandis que leur contractilité est légèrement diminuée. Puis les colonies sont transportées dans le mélange :

Sol. hypnotique de Volkonsky . . . . .	1 partie
Sol. à 0,2 0/0 de formol dans l'eau de mer . . . . .	1 »
Sol. isotonique de LiCl . . . . .	2 »

Après 10 à 15 minutes, les colonies, largement étalées, ne réagissent plus aux actions mécaniques ; sans attendre davantage — car une contracture définitive peut apparaître si l'action du mélange est prolongée — les colonies sont fixées très rapidement par un grand excès de liquide de Bouin ou d'une solution faible d'acide osmique.

On peut encore essayer d'inhiber la contractilité du myoïde pédonculaire par le froid en plaçant les colonies de *Zoothamnium* dans de l'eau de mer rapidement refroidie jusqu'à 0° C. ; les réponses aux excitations mécaniques sont bientôt considérablement ralenties et si l'on fait agir brusquement un fixateur très énergétique et très pénétrant, tel que le sublimé alcoolique

de Schaudinn, on peut obtenir quelques fixations en demi-contraction. Mais ce résultat reste très incertain.

J'ai cherché dans une tout autre direction s'il était possible, non plus d'obtenir une sorte de paralysie dont le mécanisme reste indéterminé, mais de modifier l'état physique des constituants protéiques de la fibre myoïde avec des solutions salines appropriées.

Disons tout de suite que le chlorure de potassium employé dans les conditions de concentration et de pH qui permettent, suivant la méthode de Edsall, la dissolution de la myosine, ne semble pas agir sur la fibre myoïde dans le sens cherché. J'ai alors utilisé les anions qui, dans la série lyotrope de Hofmeister, se classent comme exerçant la plus forte action solvatante sur les protéines.

En fait, si l'on traite une colonie de *Zoothamnium elegans* ou de *Z. Hentscheli* par une solution 3 ou 4 M de sulfocyanure de potassium on obtient immédiatement la contraction de la colonie et des Infusoires qui se plissent assez fortement dans ce milieu très hypertonique; mais après un temps variant de trente secondes à deux ou trois minutes, on constate l'allongement élastique progressif des diverses branches de la colonie, puis du tronc principal et l'absence complète de toute nouvelle contraction, même au moment où l'on fait agir un réactif fixateur.

Un résultat identique est obtenu avec KBr ou KI en solutions 3 à 4 M, ainsi qu'avec  $Mg(ClO_4)_2$  et avec  $CaCl_2$  en solutions concentrées. Néanmoins ces diverses solutions salines sont moins maniables que KCNS; l'effet osmotique paraît beaucoup plus brutal, surtout avec  $CaCl_2$  et peut provoquer de sérieuses altérations.

Lorsque ces différents sels et plus spécialement KCNS ont agi et que tout le système périculaire s'est correctement déployé, on constate tout d'abord que la fibre myoïde est restée entière et n'a pas subi la fragmentation ou le tronçonnement en petits éléments cylindriques contracturés que l'on observe souvent comme suite à une altération cytolytique.

Le diamètre de la fibre ne paraît pas augmenté par rapport à l'état normal; par contre la réfringence de cette fibre semble assez nettement diminuée et l'examen à fort grossissement montre, au moins par endroits, que sa structure intime ne



semble plus homogène. Après fixation et coloration on constate en effet une structure d'apparence fibreuse qui peut être due à la présence de très petites discontinuités de substance allongées suivant le grand axe.

L'interprétation du phénomène qui vient d'être décrit ne peut être envisagée avant qu'une étude plus approfondie ait pu être effectuée sur un matériel adéquat. Il faudrait en particulier, si l'on se rappelle les effets de gonflement et de solvata-tion produits par les anions précités sur diverses protéines (soie, ichtyocolle, ascaridine), pouvoir connaître d'une part les conditions de concentration et de température qui provoquent le relâchement de la fibre myoïde; et de l'autre définir par l'examen de quelques propriétés physiques (biréfringence, röntgenogrammes) le changement d'état — par ailleurs irréversible — subi par l'un au moins des constituants de celle-ci. La permanence d'un stroma non contractile laisse seulement supposer aujourd'hui que l'un des constituants a été dissout. Une telle analyse pourrait être tentée en utilisant une grande forme de *Zoothamnium* telle que *Z. arbuscula*; elle apporterait sans doute une importante contribution à la connaissance d'un type particulier de structure contractile <sup>(1)</sup>.

Quoi qu'il en soit, au point de vue technique, l'usage des solutions suffisamment concentrées de certains sels solvatants, et plus particulièrement de KBr et de KCNS permet de fixer en extension complète le pédoncule contractile de diverses Vorticellides <sup>(2)</sup> et d'obtenir des préparations totales conservant le port normal de l'Infusoire <sup>(3)</sup>; signalons cependant que dans le

(1) Voir LAPICQUE et FAURÉ-FREMIET, 1913; BELEHRADÉCK et PASPA, 1928, *Arch. int. Physiol.*, v. 30; CHUNG-LIEN-HOU et BRUCKE, 1930, *Pflüger's Archiv*, Bd 226; PASTORI, 1932, *Archivio di Sc. biol.*, vol. 17.

(2) Dans certains cas les individus eux-mêmes restent en extension plus ou moins accusée.

(3) A titre d'indications pratiques disons qu'il est commode de procéder de la manière suivante : une colonie de *Zoothamnium* par exemple, est détachée de son support et portée avec une pipette dans une petite goutte d'eau de mer sur une lame porte-objet très propre; on ajoute à la pipette la solution saline en excès et l'on agite doucement, sous la loupe binoculaire, jusqu'à la phase d'extension complète de la colonie; à ce moment on retire la solution avec une pipette capillaire très effilée en évitant de replier les branches et les ramuscules, qui adhèrent facilement au verre; lorsqu'il reste un minimum d'eau retenue par capillarité autour des branches, on ajoute doucement, à la pipette, du sublimé acétique; généralement la colonie se trouve dès lors adhérente au verre et, si les lavages et les changements de liquide sont effectués avec soin, elle peut être colorée et montée au baume sans se détacher.

cas de *Zoothamnium alternans*, les individus se détachent très facilement du pédicule qui les porte au moment de l'extension et que des préparations complètes sont alors très difficiles à obtenir.

(Collège de France : Laboratoire d'Embryogénie comparée  
et Laboratoire Maritime de Concarneau).

#### BIBLIOGRAPHIE

1938. ASHKENAZ (E. W.). — Magnesium narcosis in muscle. *Journ. Cell. and Comp. Physiol.*, v. 11, p. 163.
1905. FAURÉ-FREMIET (E.). — La structure de l'appareil fixateur chez les Vorticellides. *Arch. f. Protistenk.*, Bd. 6, p. 207.
1912. KOLTZOFF (N. K.). — Untersuchungen über die Kontraktilität des Vorticellinenstiel (Studien über die Gestalt der Zelle. III). *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. 7, p. 344.
1913. LAPICQUE (L.) et FAURÉ-FREMIET (E.). — Mesure de l'excitabilité électrique de la Vorticelle. *C. R. Soc. de Biol.*, t. 74, p. 1194.
1930. MERTON (Hugo). — Die Wirkungen verschiedener Formol-Konzentrationen auf Vorticella. *Protoplasma*, Bd. 8, p. 126.
1932. MERTON (Hugo). — Gestalterhaltende Fixierungsversuche an besonders kontraktile Infusorien. *Arch. f. Protistenk.*, Bd. 77, p. 491.
1933. VOLKONSKY (M.). — Digestion cellulaire et accumulation des colorants acides (voir p. 141). *Bull. Biol. France et Belgique*, t. 67, p. 135.
1925. WESENBERG-LUND (C.). — Contribution to the biology of *Zoothamnium geniculatum*. *Mém. Acad. Roy. Sci. et Let. de Danemark, Sect. Sc.*, 8<sup>e</sup> s., t. 10, p. 1.