

CONTRIBUTION

A

L'HISTO-PHYSIOLOGIE DES ÉPONGES

Par Gustave LOISEL

Docteur en médecine et Docteur ès sciences.

(PLANCHE V.)

(Suite et fin <sup>1</sup>.)

DEUXIÈME PARTIE

**Action des substances colorantes sur les éponges  
vivantes.**

I. — HISTORIQUE.

L'idée de faire absorber, par les éponges vivantes, certaines substances colorées ou colorantes, en vue de l'étude physiologique de ces animaux, remonte au commencement du siècle. A cette époque où la cellule n'était guère connue et où les savants discutaient surtout pour savoir si les éponges étaient des animaux ou des végétaux, ces expériences ne pouvaient servir qu'à l'étude des courants d'eau qui se font dans l'intimité même de ces organismes.

C'est à cette période que se rapportent les expériences de Robert Grant <sup>2</sup> et de Laurent <sup>3</sup>, expériences sur lesquelles nous n'avons pas à nous arrêter. Ces auteurs constatent, tout simplement, en effet, que la craie, le charbon ou l'oxyde de fer, réduits en poudre, entrent par les pores des éponges et sont rejetés avec le courant d'eau qui sort des oscules.

1. Voir n° de janvier-février 1898.

2. R. Grant, Observ. and exper. on the structure and functions of the Sponges, *Edinburgh Philosophical Journ.*, 1825-1826. Traduit en partie dans *Ann. sc. nat.*, 1827, t. XI.

3. Laurent, Nouvelles recherches sur la Spongille. *Voyage autour du Monde sur la Bonite (Zoophytologie)*, 1844.

Quelques années plus tard, Bowerbank étudie le mode de nutrition des éponges en mélangeant à l'eau, où elles vivent, des grains de carmin et d'indigo <sup>1</sup>. Il constate, au bout d'une demi-heure ou d'une heure, que les spongilles sont colorées très fortement en bleu par l'indigo; ces spongilles restent ainsi pendant douze à dix-huit heures, puis elles rejettent la substance colorante par leurs oscules. « Si l'on tue l'éponge, dit-il, p. 121, immédiatement après l'avoir ainsi nourrie, et si l'on examine les canaux et les cavités interstitielles, on trouve la surface du sarcode piquetée d'une grande quantité de molécules d'indigo. »

Tous les spongiologues qui sont venus à la suite de Bowerbank n'ont guère fait que répéter les mêmes expériences en employant les mêmes substances colorantes : le carmin et l'indigo; aussi les résultats obtenus par cette méthode semblaient-ils devoir toujours se limiter à l'absorption ou à la non-absorption de ces substances par les cellules des éponges.

C'est ainsi que Lieberkühn <sup>2</sup>, Carter <sup>3</sup>, Weltner <sup>4</sup>, Hæckel <sup>5</sup>, Lendenfeld <sup>6</sup> et Delage <sup>7</sup> voient les grains de carmin ou d'indigo être absorbés exclusivement par les cellules flagellées entodermiques.

Lieberkühn montre en même temps (loc. cit., p. 388) que des infusoires peuvent être ingérés et digérés par les cellules mésodermiques des spongilles. Mais ce sont seulement les recherches de Lendenfeld qui doivent nous arrêter ici, à cause de l'importance et de la nouveauté des expériences faites par ce savant.

Lendenfeld étudie d'abord, chez un grand nombre d'éponges marines, le mode d'absorption du carmin, de l'amidon et du lait. Toutes ces substances ne sont jamais absorbées, dit-il, que par les cellules flagellées; quand on en rencontre dans l'intérieur des cellules mésodermique, c'est que la surface du corps aurait été préalablement lésée.

1. J.-S. Bowerbank, *A monograph of the british Spongiadæ*, 1864, vol. I.

2. N. Lieberkühn, Beiträge zur Anatomie der Spongien. *Arch. f. Anat. u. Phys.*, 1837, p. 386.

3. H.-J. Carter, On the ultimate structure of Spongilla. *Annales and Magaz.*, 1857, t. XX, et 1874, t. VIII, p. 22.

4. W. Weltner, Der Bau des Süßwasserschwammes. *Blatt Aquar. Fr.*, p. 277-285.

5. E. Hæckel, *Die Kalkschwämme*, 1872, t. I, p. 372.

6. R. v. Lendenfeld, Experimentelle Untersuchungen über die Physiologie der Spongien. *Zeits. f. w. Zool.*, 1889, t. XLVIII, p. 406. — Bemerkungen über Tictionsmittel für Spongien. *Zeits. f. w. zool.*, 1894, t. XI, p. 22-24.

7. Y. Delage, Embryogénie des Eponges. *Arch. zool. expér.*, 1892, t. X.

Ce sont donc les cellules entodermiques seules qui seraient chargées de l'absorption et même de la digestion des substances alimentaires. Ces cellules rejetteraient ensuite, dans les canaux, les matières inutiles provenant de la digestion des substances absorbées; elles seraient enfin les véritables agents de la respiration.

Les cellules flagellées, dont les fonctions seraient si complexes, ne paraissent pas faire de choix dans leurs aliments; elles pourraient même absorber des substances nuisibles si les pores ne s'opposaient à l'entrée de ces substances dans l'intérieur des canaux. C'est ce que démontrent un grand nombre d'expériences dans lesquelles Lendenfeld fait vivre des éponges en présence des poisons suivants : morphine, strychnine, digitaline, vératrine, curare et cocaïne (solutions allant de 1 p. 100 à 1 pour 15 000).

Ces deux ordres de substances (matières colorées et poisons) étaient placées, par Lendenfeld, en faible quantité, dans de l'eau de mer et maintenues en mouvement par un courant d'air constant. Les éponges vivantes étaient gardées, dans ces mélanges, pendant un temps variable de un quart d'heure à trente-six heures, puis fixées et conservées dans l'alcool. C'est ainsi que tous les exemplaires ont été inclus dans la paraffine et coupés en série avant d'être étudiés.

Lendenfeld termine son long mémoire en disant qu'aucune observation n'est venue confirmer les vues de Sollas et de Metchnikoff sur la transformation et l'émigration des cellules flagellées. Nous allons voir, en effet, que ces deux auteurs étaient arrivés, quelques années auparavant, à des conclusions différentes, mais auparavant, nous devons signaler l'opinion éclectique de Heider<sup>1</sup>, qui se sert, pour ses expériences, d'encre de Chine et de carmin. Chez *Oscarella lobularis* et *Sycon raphanus*, ce zoologiste trouve que l'absorption du charbon et du carmin se fait surtout par les cellules à collerette des chambres vibratiles ou des canaux radiaires. Chez une *Reniera*, au contraire, ces mêmes substances ne font que traverser les plaques épithéliales de recouvrement et vont s'accumuler dans l'intérieur des éléments mésodermiques.

Tous les auteurs dont il nous reste à parler : Sollas, Metchnikoff, Bidder et Masterman, ont envisagé, non seulement le mode d'ab-

1. Karl Heider, Zur Metamorphose der *Oscarella lobularis*, Arb. zool. Inst. Wien., 1886, p. 53.

sorption des substances colorantes, mais encore la manière dont les éponges se débarrassent des substances qu'elles ont absorbées.

Pour Sollas, que nous citons d'après Lendenfeld <sup>1</sup>, les cellules épithéliales des éponges seraient bien les éléments chargés d'arrêter les substances nutritives, mais, aussitôt qu'elles seraient rassasiées, elles abandonneraient leur position superficielle pour s'enfoncer dans le mésoderme. Sollas ne fait pas d'expériences avec les substances colorantes; il observe seulement la capture des diatomées par les cellules des éponges. Nous devons cependant rapporter son opinion, car nous allons la voir confirmée par certains expérimentateurs dont nous allons parler maintenant.

Les *Studien spongiologische* de Metchnikoff <sup>2</sup> se terminent par tout un chapitre concernant les phénomènes d'absorption chez les éponges. L'auteur fait d'abord cette remarque (p. 372) « qu'on peut voir, au microscope, dans les cellules entodermiques comme dans les éléments transparents du mésoderme, des corps étrangers, tels que de la chlorophylle, des diatomées colorées, des grains de sable, des corps en forme de bâtonnets, etc. ». Un peu plus loin, p. 374, il dit avoir vu, chez de jeunes spongilles, des infusoires être absorbés vivants et digérés en l'espace d'un quart d'heure.

Pour ce qui concerne l'absorption des substances colorantes par les éponges vivantes, Metchnikoff ne fait que répéter les expériences de Bowerbank, Carter, etc., en se servant exclusivement de carmin et d'indigo, mais il poursuit plus longuement ses expériences. Il voit très nettement les substances colorantes à l'intérieur des cellules mésodermiques, quelquefois même à l'exclusion des cellules flagellées de l'entoderme. Ces dernières chez *Halisarca Dujardini* pourraient du reste, dit-il, s'enfoncer dans les tissus après avoir perdu leur cil, et là se transformer en cellules digestives.

Sans revenir sur ce point particulier, Metchnikoff, dans sa *Pathologie comparée de l'inflammation* <sup>3</sup>, confirme et étend ses premières recherches sur le rôle des cellules mésodermiques dans la nutrition des éponges. Il fait ingérer à de jeunes spongilles, issues des gemmules, des grains de tournesol bleu; il remarque que ces grains ne changent pas de couleur et il en conclut « que la digestion des spon-

1. *Loc. cit.*, p. 673.

2. *Zeits. f. wiss. Zool.*, 1879, t. XXXII.

3. Paris, 1892, p. 60.

gilles ne se fait pas dans un milieu acide. » Nous verrons, plus loin, que cette conclusion était peut-être un peu prématurée.

Les expériences qu'entreprend Bidder <sup>1</sup>, avec le carmin d'indigo, ont surtout pour but de se rendre compte du mode d'excrétion des éponges. Ce zoologiste fait vivre des espèces appartenant aux genres *Ascetta*, *Ascaltis*, *Sycon* et *Leucandra*, dans de l'eau de mer saturée de carmin d'indigo (plus tard il employa des solutions diluées). Au bout de quelques heures, il remarque que les granules normalement présents dans certaines cellules sont remplacés, en grande partie, par des granules bleu sombre, alors que toutes les autres parties de l'éponge sont restées incolores. Ces cellules particulières seraient donc, conclut Bidder, des éléments chargés de rejeter l'indigo absorbé par les éponges. Il y aurait ainsi deux sortes de cellules excrétrices : d'abord des cellules ectodermiques ayant la forme de bouteilles (*flash-shaped*), puis de grandes cellules granuleuses à forme très irrégulière et que l'auteur nomme « cellules de Metchnikoff ». Ces derniers éléments seraient des choanocytes transformés qui auraient envoyé de longs prolongements dans toute l'épaisseur de l'éponge, de manière à relier ainsi les surfaces ectodermiques aux surfaces entodermiques. Ces cellules recueilleraient donc les produits de déchet des cellules digestives et les verseraient, d'un côté ou de l'autre, par le moyen d'ouvertures qui se feraient spontanément à l'extrémité de leurs prolongements. D'où cette hypothèse que formule Bidder : les pores efférents des éponges résulteraient de la destruction partielle des cellules excrétrices primitives.

Dans les choanocytes ordinaires, Bidder trouve d'autres granulations qui se colorent immédiatement, pendant la vie, avec le brun de Bismarck. Il considère que ce sont là des réserves nutritives accumulées par les cellules dans leur partie basale non nucléée, partie qui pourrait se détacher ensuite pour s'enfoncer dans le mésoderme.

Masterman <sup>2</sup> fait des expériences à peu près semblables sur

1. G. Bidder, Note on the excretion in Sponges, *Proc. Roy. soc. London*, 1892, t. LI, p. 474-484. — On the Flash-shaped Ectoderm and Spongoblasts in one of the keratosa, *id.*, 1893, t. LII, p. 134.

2. On the Nutrition and excretory Processes in Porifera, *Ann. and Magaz. of nat. hist.*, 1894, t. XIII, p. 485-496. — *Id.*, 1895, t. XIV, p. 48-49. — *Id.*, On some Points in the general morphology of the Metazoa..., *Zool. Anzeiger*, 1896, t. XIX, p. 190, 206, 225.



*Grantia compressa*. Mais, pour cet auteur, les choanocytes, après avoir absorbé le carmin, perdraient leur flagellum et s'enfonceraient entièrement dans les couches sous-jacentes où ils prendraient la forme d'éléments mésodermiques. Là, ces cellules, ainsi modifiées, pourraient digérer les substances nutritives absorbées, puis elles gagneraient la surface extérieure en charriant avec elles les produits inutiles de la digestion. Arrivées au niveau de l'ectoderme, ces *néphrocytes*, comme les appelle alors l'auteur, se désagrègeraient en mettant en liberté les excréta qu'elles renfermeraient. Dans l'idée de Masterman, il y aurait donc, au niveau des surfaces internes, un va-et-vient continuuel entre les éléments ectodermiques et mésodermiques. Les premiers puiseraient, dans l'eau qui les baigne, les substances nutritives, puis elles émigraient dans la profondeur du mésoderme pour digérer paisiblement ces substances. Certaines cellules mésodermiques, au contraire, se diviseraient continuellement pour fournir de nouveaux éléments jeunes qui viendraient prendre la place et la forme des choanocytes émigrés.

Ces idées, qui rappellent des faits déjà signalés par Sollas et Metchnikoff, comme on l'a vu plus haut, ont été combattues par plusieurs auteurs. Bidder<sup>1</sup>, entre autres, pense que la migration des choanocytes peut bien avoir lieu, mais rarement et sous l'influence, par exemple, de certaines circonstances pathologiques telles que l'asphyxie.

Tels sont les seuls travaux que nous connaissons concernant l'action des substances colorantes sur les éponges vivantes.

Notre but en commençant les recherches qui font le sujet de ce mémoire n'avait pas été de reprendre tout simplement les expériences de nos devanciers, expériences qui ont presque toujours consisté, comme nous venons de le voir, à faire absorber, par les éponges, des substances colorées *insolubles*, ou, du moins, les parties solides de ces substances tenues en suspension dans l'eau.

Les résultats que nous avons obtenus en faisant vivre des larves d'insecte dans des solutions colorantes très diluées<sup>2</sup> nous avaient engagé à appliquer la même méthode aux éponges. Nous avons déjà dit comment nous avons été amené à modifier cette méthode

1. The collarcells of Heterocœla, *Quart. Journ. micr. sc.*, 1895, t. XXXVIII, p. 9-43.

2. G. Loisel, La coloration des tissus chez les animaux vivants, *Compt. rend. Soc. biol.*, 1897, p. 624.

et quels résultats nous en avons obtenus pour l'étude particulière des fibres d'une éponge siliceuse marine, *Reniera ingalli*<sup>1</sup>. Nous parlerons maintenant, dans cette deuxième partie de notre mémoire, des expériences que nous avons faites avec cette même espèce d'éponge et avec la Spongille d'eau douce (*Spongilla fluviatilis*, Bl.). Nous avons fait ingérer, à ces éponges, des parties colorées en suspension dans l'eau, mais nous avons principalement expérimenté avec des solutions colorées. C'est en cela, surtout, que nos recherches diffèrent de celles qui avaient été faites, avant nous, sur ces animaux.

La méthode qui nous a constamment guidé dans ces recherches est celle que nous avons exposée dans la première partie de notre mémoire, c'est-à-dire l'examen à l'état vivant<sup>2</sup>; nous n'avons donc pas à y revenir ici. Nous indiquerons seulement, plus loin, quand nous exposerons nos expériences, les quelques précautions qu'il est nécessaire de prendre pour éviter des causes d'erreur, lorsqu'on veut étudier l'action des colorants solubles sur les éponges et probablement aussi sur tous les autres animaux vivants.

## II. — ABSORPTION DES SUBSTANCES COLORANTES<sup>3</sup>.

Les deux espèces d'éponges que nous avons étudiées supportent très bien, dans l'eau où elles vivent, la présence de certaines substances colorantes pourvu qu'on leur présente ces colorants en très faible quantité à la fois. Ces éponges s'imprègnent de quelques-unes de ces substances, les accumulent dans leurs éléments anatomiques et acquièrent ainsi, en peu de temps, une coloration intense, sans cesser de présenter les manifestations habituelles de leur vie.

D'autres substances, au contraire, sont absorbées difficilement par ces éponges qu'elles ne colorent jamais avec autant d'intensité.

1. *Ce journal*, 1898, p. 5.

2. Voir *ce journal*, 1898, p. 4. Il aurait été certainement très utile de pouvoir faire des coupes, après inclusion, sur les éponges colorées à l'état vivant. Malheureusement les lavages à l'alcool, ou bien dissolvent les substances colorantes, ou bien produisent, dans les cellules, une coloration diffuse qui ne rappelle plus entièrement ce que l'on voit à l'état vivant.

3. Nous employons le mot d'absorption dans son sens le plus général qui signifie, d'après Littré, l'action des tissus organiques par laquelle des molécules extérieures pénètrent dans leur substance. » Il nous arrivera, parfois aussi, de nous servir des verbes *ingérer* et *incorporer* que nous considérons, ici, comme synonymes d'*absorber*.

Une troisième catégorie, enfin, comprend des substances qui peuvent traverser leurs cellules sans être fixées par elles, comme cela a lieu pour les substances précédentes. Nous pouvons donc grouper, de la façon suivante, les substances colorantes que nous avons expérimentées, d'après leur action sur *Reniera ingalli* et sur *Spongilla fluviatilis* :

A. Subst. bien absorbées.	B. Subst. mal absorbées.	C. Subst. non absorbées <sup>1</sup> .
Carmin pulvérisé.	Tournesol.	Safran.
Rouge neutre.	Rouge Congo.	Orcanette.
Bleu du Nil (Nilbl. sulf.).	Alizarine sulfo-acide.	Vert d'iode.
Bleu de méthylène.	Tropœoline III.	Nigrosine.
Brun de Bismarck.	Orange 00.	

Les expériences que nous avons faites antérieurement (*loc. cit.*) avec des larves de diptères nous avaient montré que ces insectes pouvaient très bien vivre malgré une coloration intense de leur corps; nous les avons même vus se métamorphoser à cet état et donner naissance à des animaux adultes qui avaient conservé la coloration artificielle de leur forme larvaire.

*Reniera ingalli* et *Spongilla fluviatilis* supportent aussi bien que les insectes les colorations intenses que leur donne le rouge neutre, le nilblau sulfat, le brun de Bismarck, le bleu de méthylène et le rouge Congo. Ces éponges peuvent même vivre très longtemps dans une même eau ainsi colorée en ayant soin de faire couler cette eau continuellement au moyen d'un dispositif très facile à imaginer. C'est ainsi qu'une spongille était encore bien vivante au bout de quinze jours de séjour dans une faible solution de rouge Congo. Dans ces conditions, les éponges acquièrent généralement, au bout de quelque temps, un maximum de coloration qu'elles ne dépassent pas. Deux cas peuvent alors se présenter, si on les conserve dans la même eau colorée : ou bien elles restent dans le même état jusqu'au moment de leur mort, ou bien elles se débarrassent peu à peu, pendant leur vie, de la substance étrangère qui imprégnait leurs

1. Ce tableau montre que nous aurions pu réduire sensiblement le nombre des expériences que nous avons faites, puisque l'emploi de certaines substances ne nous a donné que des résultats insignifiants ou à peu près analogues. Mais encore fallait-il expérimenter ces substances pour connaître leur action, car, comme dit très justement Pfeffer  $\alpha$ , la connaissance empirique peut seule nous renseigner sur l'absorption ou la non-absorption des couleurs par les cellules vivantes.

$\alpha$ . Cité par O. Hertwig, *La Cellule*, trad. fr., p. 130 et par Henneguy, *Leçons sur la cellule*, p. 179.



tissus et finissent par se décolorer entièrement; tel est le cas par exemple du bleu de méthylène (4)<sup>1</sup>.

Il est une ou deux substances, cependant, avec lesquelles ce maximum de coloration ne semble jamais atteint. Plus on présente de rouge neutre, par exemple, à une spongille plus cette éponge paraît en concentrer dans l'intérieur de ses cellules, allant même jusqu'à colorer les noyaux comme nous le verrons bientôt. A cet état de surcoloration, les spongilles ne sont pas mortes, mais elles se laissent plus facilement envahir par les microbes et par les autres organismes qui les entourent (Note 2)<sup>2</sup>.

Étudions maintenant, d'un peu plus près, l'action des substances colorantes sur les tissus des éponges. Nous avons vu que, pour Hæckel, Lendenfeld, Delage, etc., les cellules flagellées jouissaient, seules, de la propriété d'ingérer les substances solides.

« D'après M. de Lendenfeld, le carmin, ajouté à l'eau que filtrent les éponges, ne se dépose que rarement dans les cellules amiboïdes (du mésoderme) et uniquement dans les endroits lésés de la surface de leur corps. Dans une éponge normale, ce ne sont que les cellules cylindriques de l'entoderme qui s'emparent de ce carmin. » Metchnikoff, auquel nous empruntons ces lignes<sup>3</sup>, a vu, au contraire, que le carmin se retrouvait toujours dans les cellules mésodermiques, au moins en aussi grande quantité que dans les cellules entodermiques.

Les expériences que nous avons faites confirment entièrement les idées de Metchnikoff sur ce point. Chez les spongilles, le carmin, par ex., se retrouve, au bout de quelques heures, dans toutes les formes des cellules mésodermiques (18)<sup>4</sup>. Ces éponges absorbent plus difficilement les grains de tournesol que l'on peut retrouver encore, cependant, dans l'intérieur des cellules mésodermiques (14). Ajoutons enfin que les grains de tournesol, de même que les

1. Ces numéros renvoient aux expériences correspondantes qui sont exposées p. 157. 207

2. Voir p. 169. 220

3. *Pathologie comparée de l'inflammation*, Paris, 1892, p. 59.

4. Toppent distingue quatre sortes d'éléments cellulaires principaux dans les éponges : des cellules flagellées, des cellules mésodermiques granuleuses, des cellules de revêtement et des cellules sphéruleuses. Les cellules de la deuxième sorte, qui sont douées d'une très grande amœbicité, seraient des éléments chargés d'ingérer les matières nutritives, de former les œufs et les spermatozoïdes. Nous pensons que les cellules sphéruleuses ne sont que des éléments de cette sorte, modifiées en vue d'une fonction spéciale, car il est souvent très difficile de distinguer ces deux espèces de cellules l'une de l'autre. Au sujet des cellules sphéruleuses, voir également ce que nous en avons dit dans la première partie de ce mémoire (*Ce journ.*, 1898, p. 13).

grains de carmin qui sont absorbés par les cellules, paraissent souvent contenus dans l'intérieur d'une vacuole sphérique.

Toutes ces expériences, faites avec des substances solides non nutritives, ne prouvent pas, comme on l'a fait remarquer, que l'absorption des véritables aliments se fasse ainsi, mais elles montrent que cette absorption peut se faire d'une façon analogue. Ce sont les mêmes réflexions qui viendront à l'esprit en lisant les expériences que nous avons entreprises avec des substances colorantes solubles et dont nous allons parler maintenant. Nous allons voir que l'absorption de ces substances est le résultat d'une suite de sélections se faisant à différents niveaux dans les tissus de l'éponge. Rien n'empêche qu'il en soit ainsi pour l'absorption des substances nutritives solubles qui entrent pour une bonne part, sinon pour la principale, dans l'alimentation des éponges (Note 1).

Lorsqu'on examine, au microscope, une partie d'éponge colorée à l'état vivant, par une des substances que nous avons citées plus haut, on voit (pl. V), dans l'intérieur des cellules, un nombre plus ou moins grand d'enclaves fortement colorées par la substance dissoute dans l'eau. Ce sont surtout les cellules digestives qui renferment ces enclaves, mais on en trouve également dans l'intérieur des cellules flagellées. Les cellules sphéruleuses, au contraire, principalement les spongioblastes que nous avons étudiés dans la première partie de ce mémoire, n'absorbent que très difficilement les substances colorantes.

La substance fondamentale intercellulaire se laisse pénétrer évidemment par les colorants, mais à un état de diffusion tel qu'elle apparaît généralement tout à fait incolore. Par contre, les gaines et les fibres de spongiine qui sont à son intérieur, chez *Reniera ingalli*, prennent, avec le rouge Congo, le bleu de méthylène et la nigrosine une teinte uniforme assez accentuée. Enfin nous allons voir que les spongiilles acquièrent, avec le tournesol, une coloration rose qui paraît provenir, surtout, de cette substance intercellulaire.

Les enclaves colorées que renferment les cellules sont toujours bien limitées et, en général, tranchent nettement au milieu d'un corps cellulaire incolore. Dans certaines cellules, ces enclaves sont sphériques; elles peuvent tomber dans la substance fondamentale sans perdre leur forme ni leur coloration; ce sont donc des sphérules. Dans d'autres cellules, ce sont des enclaves également sphé-

riques, mais qui disparaissent quand on écrase doucement la cellule; ce sont, par conséquent, des vacuoles où s'est accumulée peu à peu la substance colorante. Dans toutes espèces de cellules, enfin, on peut trouver des enclaves de forme irrégulière et dont l'opacité indique que l'on a affaire à des granulations particulières du protoplasma.

Toutes ces parties colorées, que l'on trouve dans les cellules, varient, dans une même cellule, non seulement de nombre, mais encore de grosseur; il y a des vacuoles qui sont assez volumineuses pour que l'on puisse distinguer nettement un corps étranger à leur intérieur; mais il en est aussi de si petites que l'on ne sait trop, parfois, si l'on est en présence d'une vacuole, d'une sphérule ou d'une granulation. Ces variations dans la grosseur des vacuoles paraît tenir, pour une grande partie, à la nature même de la substance colorante employée.

En dehors des granulations dont nous venons de parler, le protoplasma des cellules nous a presque toujours paru incolore. Nous avons bien vu, parfois, des cellules colorées entièrement et d'une façon uniforme tout en paraissant vivantes, mais ces cas ont toujours été rares et ne paraissent pouvoir être considérés comme de véritables colorations du protoplasma.

Il n'en est pas de même du noyau des cellules digestives et des cellules flagellées, noyau que nous avons vu se colorer, d'une façon très intense par le rouge Congo et par le bleu de méthylène, mais surtout par le rouge neutre et par le bleu du Nil. (Voir les expér. 3, 4, 10, 19, 21 et les fig. 9, 10 bis, pl. V.) Les cellules qui avaient ainsi leur noyau coloré étaient bien vivantes: les cellules digestives présentaient toujours, en effet, des mouvements amœboïdes très actifs et les cellules flagellées faisaient vibrer leur flagellum avec autant d'énergie qu'à l'ordinaire. Disons, en passant, que ce flagellum ne nous a jamais présenté aucune trace de coloration.

Jusqu'ici nous avons supposé que les éponges en expérience avaient été placées dans une eau contenant seulement une seule substance colorante en dissolution. Mais il est possible aussi d'associer ces colorants sans nuire davantage à la vie de l'éponge; on peut obtenir, alors, d'autres résultats très intéressants comme nous allons le voir.

Lorsqu'on fait vivre une spongille dans une eau contenant, par parties égales, du brun de Bismarck et du rouge neutre, la spon-

gille se comporte, en présence de ce mélange, comme en présence d'un colorant simple; on retrouve, dans ses cellules, des enclaves colorées en orangé, comme le mélange lui-même.

Au contraire, si l'on expérimente avec du rouge neutre et du bleu du Nil (24), ou, encore, avec du rouge neutre et du bleu de méthylène (25), la première de ces substances est seule absorbée, au moins pendant le premier jour. Au bout de ce temps, en effet, on trouve quelques cellules qui renferment exclusivement du bleu et d'autres qui présentent, les unes à côté des autres, des vacuoles colorées en bleu et d'autres en rouge (pl. V, fig. 8, c).

En résumé, si nous voulons tirer de toutes nos expériences les points qui concernent plus spécialement l'absorption des substances colorantes par les éponges vivantes, nous pouvons présenter les conclusions suivantes :

*Les grains de carmin et de tournesol sont absorbés par les cellules entodermiques et mésodermiques des éponges (14, 18); ils paraissent quelquefois contenus dans l'intérieur d'une vacuole du corps protoplasmique (14).*

*Certaines substances colorantes dissoutes, telles que le safran (23), le vert d'iode (7) et l'orcanette (23), sont arrêtées à la surface des éponges et ne passent pas dans l'intérieur de leurs cellules.*

*Les autres substances colorantes en dissolution sont absorbées avec plus ou moins de facilité par les tissus des éponges.*

*Le corps protoplasmique des cellules ne laisse passer à la fois, qu'une très petite quantité de ces substances qu'il puise directement à l'extérieur (pour les cellules superficielles) ou dans l'intérieur de la substance fondamentale (pour les cellules profondes).*

*Les substances colorantes, une fois entrées dans le corps protoplasmique à l'état de dilution excessivement faible, sont ensuite concentrées sur des granulations particulières du corps protoplasmique mais, surtout, dans l'intérieur de vacuoles ou de sphérules creusées dans la cellule.*

*Deux substances colorantes, entrées, à l'état de mélange intime, dans un même corps cellulaire, peuvent être séparées et concentrées isolément dans des vacuoles différentes (24, 25).*

*Le noyau peut se laisser colorer d'une façon uniforme à l'état vivant par le rouge neutre, le bleu du Nil, le bleu de méthylène et le rouge Congo.*

## III. — TRANSFORMATION DES SUBSTANCES COLORANTES ABSORBÉES.

Lors des premières expériences que nous avons faites avec *Reniera ingalli*, nous avons été frappé du changement de coloration que présentait le rouge Congo après un séjour de vingt-quatre à quarante-huit heures dans les cellules de cette éponge (exp. 1). Dans les éléments des corbeilles vibratiles comme dans les cellules digestives, cette substance prenait en effet, au bout de quelque temps, une coloration violette, plus ou moins sombre, qui tranchait nettement sur les enclaves restés rouge orange (pl. V, fig. 14). En somme, le rouge Congo prenait la teinte particulière qu'on observe quand on met cette substance en présence d'un acide (NOTE 7).

Nous avons répété cette expérience avec la spongille, mais nous n'avons pas obtenu alors des résultats aussi nets. D'abord ces éponges absorbent le rouge Congo encore plus difficilement que les *Reniera* (10), et puis le changement de coloration, tout en étant aussi net, donne plutôt une teinte brune presque noire (pl. V, fig. 9). Il est vrai que l'expérience 11 nous a montré que cette coloration particulière pouvait être due, également, à la présence d'un acide.

Le tournesol est également une substance colorante que les cellules des spongilles absorbent difficilement, mais, au moins, avons-nous, avec cette substance, des résultats positifs qui indiquent nettement, croyons-nous, une production d'acide dans certaines cellules (14, 15, 16). Ces résultats viennent à l'encontre de ceux qu'avait obtenus Metchnikoff dans les mêmes circonstances <sup>1</sup>. « Comme la plupart des corps de petit volume suspendus dans l'eau, écrit ce savant, les grains de tournesol furent bientôt incorporés par les éponges (jeunes spongilles issues de gemmules) et se trouvèrent surtout dans l'intérieur des phagocytes du mésoderme. Cependant, malgré un séjour prolongé dans ces cellules, le tournesol ne changea point de couleur, ce qui démontre que la digestion des spongilles ne se fait point dans un milieu acide. »

La raison de cette divergence entre les résultats que nous avons obtenus, M. Metchnikoff et moi, tient peut-être à ce fait que nous avons eu soin d'employer du tournesol légèrement acidifié. (Comparer les exp. 15 et 16 et voir la note 7.)

1. *Pathologie comparée de l'inflammation*, Paris, 1892, p. 60.



Quoi qu'il en soit les spongilles vivantes deviennent très nettement roses après s'être d'abord colorées en bleu dans une solution de tournesol acidifié (15). On ne peut dire que ces éponges, ainsi traitées, soient sur le point de mourir et que la coloration rose soit due à un état pathologique, car elles restent vivantes encore pendant cinq ou six jours dans le même liquide. C'est la coloration particulière de la substance intercellulaire qui donne probablement cette couleur rose à l'éponge, les cellules contenant du tournesol rougi étant très rares. On en trouve cependant (pl. V, fig. 10 b) et les mouvements amœboïdes que ces cellules présentent indiquent bien que la présence du tournesol rouge ne les gêne pas beaucoup<sup>1</sup>.

Le rouge Congo et le tournesol sont donc modifiés en séjournant dans les cellules des éponges et ces modifications ne peuvent être attribuées, ici, qu'à la production d'un acide à l'intérieur de ces cellules. Rien n'indique que cet acide provienne d'une cause pathologique, aussi pensons-nous que la digestion de *Reniera ingalli* et de *Spongilla fluviatilis* peut se faire dans un milieu acide. Nous devons ajouter cependant que l'alizarine sulfo-acide (12), l'orangé III et la tropéoline 00 (17) ne nous ont pas donné, à ce point de vue, de résultats bien positifs (Note 7).

Nous savons, d'un autre côté, que MM. Krukenberg<sup>2</sup> et Frédéricq<sup>3</sup> ont trouvé des ferments tryptiques dans l'intérieur de plusieurs éponges. Cela prouverait donc, ou bien que la digestion des éponges peut se faire au moyen de liquides différents, comme chez les animaux supérieurs, ou bien que la digestion ne se fait pas de la même façon chez toutes les espèces<sup>4</sup>.

L'expérience n° 4 (p. 159)  
209 nous a montré que le rouge Congo

1. Metchnikoff a vu, dans une de ses expériences, les leucocytes d'une larve de *Triton taeniatus* renfermer des grains de tournesol bleu à côté de grains rouges; « ce qui prouve, dit-il, que la production du suc acide intracellulaire peut se localiser dans une partie restreinte de la cellule ». (Recherches sur la digestion intracellulaire, *Ann. Inst. Pasteur*, 1889, p. 29.)

Nous avons souvent vu les mêmes différences de coloration, dans une même cellule, avec le tournesol, mais surtout avec le rouge Congo, chez *Reniera ingalli*. Nous pensons que cela tient, tout simplement, à une époque différente dans le moment de l'absorption.

2. Cité par Metchnikoff, *Pathologie de l'inflammation*, p. 60.

3. L. Frédéricq, La digestion des matières albuminoïdes chez quelques invertébrés, *Arch. zool. expér.*, 1878, t. VII, p. 400.

4. C'est ce qui existe, en effet, chez les protozoaires avec lesquels les éponges ont tant d'affinités. Chez des genres très voisins, tels que *Stylonichia* et *Euplates*, les zoologistes ont vu que les premiers digèrent dans un milieu acide et les autres dans un milieu neutre. Ces contradictions sont dues probablement, aussi, à une connaissance incomplète dans la biologie de ces êtres (voir la note 3).

était modifié aussi bien par les cellules entodermiques que par les cellules mésodermiques; ces deux sortes d'éléments pourraient donc digérer les substances alimentaires absorbées par elles. C'est là une expérience qui vient à l'appui des idées de certains zoologistes sur la proche parenté de l'entoderme et du mésoderme. Cette parenté des tissus, chez ces animaux, serait encore démontrée par cet autre fait que deux reniera ou deux spongilles, placées l'une à côté de l'autre, finissent par s'accoler et par se souder intimement entre elles.

*En résumé le rouge Congo et le tournesol bleu prennent, au bout d'un certain temps, une coloration particulière, dans l'intérieur des cellules qui renferment ces substances.*

*Cette coloration est celle que produirait un acide formé dans l'intérieur de ces cellules.*

*L'alizarine sulfo-acide, l'orangé III et la tropéoline 00 ne présentent pas de changement de coloration, nettement appréciable, après avoir séjourné un certain temps dans l'intérieur des cellules.*

#### IV. — REJET DES SUBSTANCES COLORANTES ABSORBÉES.

D'une façon générale, on peut dire que les éponges lorsqu'on les replace dans de l'eau pure, se débarrassent très difficilement des substances colorantes qu'elles ont absorbées. Ainsi une spongille qui a été fortement colorée par le rouge neutre, ne commence à se décolorer qu'au bout du dixième jour, dans de l'eau ordinaire courante; cette décoloration débute par les couches superficielles. Au contraire, quand une spongille vient de mourir, elle se décolore complètement dans les vingt-quatre heures (19). Le bleu de méthylène fait exception à cette règle, comme nous l'avons déjà dit plus haut; les reniera s'en débarrassent au bout de quelque temps même si on les maintient dans la même solution colorée.

Les cellules entodermiques qui peuvent garder les matières colorantes un temps suffisamment long pour les modifier (le congo, par ex.) rejettent peut-être ces matières directement à l'extérieur, mais il est plus probable qu'elles s'en débarrassent en les versant dans la substance fondamentale.

Cette substance intercellulaire est en effet physiologiquement comparable à la lymphe interstitielle des animaux supérieurs. C'est là que les cellules mésodermiques viennent puiser les colorants

que les éléments superficiels laissent entrer dans les éponges; c'est là que ces mêmes cellules rejettent les colorants absorbés après les avoir modifiés ou non. Toutes les expériences que nous avons faites nous ont montré, en effet, que cette substance renfermait, à un certain moment, des sphérules colorées qui provenaient évidemment des cellules environnantes. Du reste, nous avons pu suivre au microscope et dessiner à la chambre claire le rejet de ces sphérules dans la substance fondamentale. Dans les spongioblastes de reniera, par exemple, nous avons vu (pl. V, fig. 7, *d*) des sphérules placés à la périphérie d'un corps cellulaire se détacher brusquement et tomber dans la substance intercellulaire, où elles gardaient, pendant un certain temps, leur contour et leur aspect. A la place qu'elles venaient de quitter, le corps cellulaire présentait une petite encoche, une sorte de plaie qui était réparée, presque immédiatement, par la partie hyaline du protoplasma.

D'un autre côté, Metchnikoff a vu, chez des spongielles et chez d'autres éponges, des cellules mésodermiques rejeter, dans la substance fondamentale, les grains de carmin qu'elles avaient ingérés; cette excrétion se faisait par une ouverture spontanée du corps cellulaire, tandis qu'un espace clair, transparent, restait à la place qu'occupaient les grains de carmin dans l'intérieur de la cellule<sup>1</sup>.

A un certain moment nous avons pensé que le rouge Congo pouvait également être modifié dans l'intérieur de la substance fondamentale des reniera<sup>2</sup>. Mais de nouvelles expériences nous ont convaincu que ce Congo modifié provenait des cellules mésodermiques.

S'il est possible de constater directement le rejet des sphérules du corps cellulaire dans la substance fondamentale, il n'en est pas de même pour les parties liquides contenues dans les vacuoles. Les expériences 14 et 15 avec le tournesol nous font prévoir, cependant, que ces vacuoles doivent vider leur contenu dans la substance intercellulaire.

La coloration rose que nous avons constatée dans cette substance est due à du tournesol rougi comme nous l'avons vu; or ce tournesol ne peut provenir que de deux sources : ou bien il a été modifié directement par la substance fondamentale elle-même, ce que rien ne prouve; ou bien il provient de cellules dans l'intérieur desquelles

1. Studien spongiologische. *Zeits. f. w. Zool.*, 1879, p. 373, pl. XXII, fig. 8, c et d.

2. G. Loisel, Contribution à la physiologie et à l'histologie des éponges. — *C. r., Soc. Biologie*, 1897, p. 934.

il aurait été modifié, ce qui est d'autant plus probable que l'on peut voir en même temps des cellules renfermant du tournésol rouge et d'autres du tournésol bleu (pl. V, fig. 10, *b* et *c*).

Il reste à savoir maintenant comment toutes ces matières colorantes, rejetées par les cellules, peuvent sortir de la substance fondamentale pour être enfin expulsées au dehors.

Pour Lendenfeld <sup>1</sup> l'acide carbonique, produit dans l'intimité même des éponges, serait transmis, par diffusion, à l'eau environnante. Quant aux excréta proprement dits, ce seraient les cellules flagellées qui les rejetteraient à l'extérieur; mais comment ces excréta parviendraient-ils à ces cellules?

Nous avons vu, page 191, que Bidder et Masterman font jouer un rôle excréteur à certaines cellules particulières qu'ils ont trouvées dans des éponges calcaires. Pour le premier, ce seraient des cellules ectodermiques ou entodermiques modifiées en vue de ce rôle spécial, tandis que, pour Masterman, ce seraient les mêmes éléments qui changeraient de forme et de situation pour ingérer, digérer et rejeter les substances incorporées par les éponges.

Les expériences de ces deux zoologistes, quelle que soit l'interprétation que l'on veut leur donner, ne peuvent pas résoudre entièrement la question de l'excrétion chez les éponges. Si les cellules en bouteille de Bidder, ou bien les néphrocytes de Masterman, renferment, à un certain moment, du carmin ou de l'indigo, cela ne prouve pas que les résidus liquides de la digestion intracellulaire doivent nécessairement suivre le même chemin.

Chez les éponges que nous avons étudiées, certaines cellules mésodermiques jouent bien le rôle de phagocytes, débarrassant la substance fondamentale des matériaux qui y ont été introduits (14), mais cela ne nous dit pas encore comment ces phagocytes se débarrassent, elles-mêmes, des corps qu'elles ont ingérés.

Quand on examine sous quel aspect se présentent les parties colorées contenues dans la substance fondamentale, on voit que ces parties sont réunies en amas plus ou moins considérables, principalement dans le voisinage des canaux, chez *Reniera ingalli*. D'un autre côté, nous avons dit, précédemment <sup>2</sup>, que la substance fondamentale de cette éponge renfermait des lacunes plus ou moins grandes dont les bords pouvaient se rapprocher et se fusionner

1. *Loc. cit.* (1889).

2. *Ce journal*, 1898, p. 12.

sous l'influence de la contraction de la substance fondamentale elle-même.

Tous ces faits nous amènent à formuler cette hypothèse que la substance fondamentale peut se débarrasser, elle-même, des produits d'excrétion que les cellules versent dans son sein. Ces produits seraient drainés et accumulés dans tout un système de fins canalicules et de lacunes essentiellement instable, puis poussés peu à peu, vers les surfaces externes ou internes, par les contractions de la substance fondamentale aidées des contractions cellulaires.

De tels systèmes se formeraient et disparaîtraient de même, suivant les besoins de l'excrétion. Mais ils pourraient aussi devenir fixes et s'organiser pendant un temps plus ou moins long; autrement dit, les canalicules deviendraient des canaux sur les parois desquels les cellules mésodermiques s'aplatiraient et prendraient l'aspect d'éléments épithéliaux.

Cette hypothèse expliquerait, d'autre part, les disparitions de canaux que Metchnikoff a signalées chez *Halisarca Dujardinii*<sup>1</sup>. De même cet autre fait que, chez les spongilles, les corbeilles vibratiles disparaissent pendant l'hiver pour réapparaître au printemps, à l'époque où l'activité vitale de ces éponges va acquérir une nouvelle intensité.

En résumé, *les cellules qui ont absorbé des substances colorantes rejettent ces substances, au bout d'un certain temps, dans les espaces intercellulaires.*

*Les corps solides ou liquides, rejetés dans ces espaces, peuvent être repris par des cellules amœboïdes jouant le rôle de phagocytes, mais la substance fondamentale intervient elle-même, par ses contractions, dans le transport des excréta cellulaires à l'extérieur.*

## V. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Les colorations que prennent *Reniera ingalli* et *Spongilla fluxuifilis* en présence de certaines substances colorantes sont dues à l'absorption et à l'accumulation de ces substances dans l'intérieur des cellules.

Cette absorption est le résultat d'une suite de choix, de sélec-

1. *Loc. cit.*, p. 375.



tions qui se font, à différents niveaux, dans les tissus de ces éponges :

1° *Au niveau des surfaces.* — Les cellules épithéliales absorbent, par exemple, le rouge neutre et le bleu de méthylène, mais ne prennent ni le safran ni l'orcanette;

2° *Au niveau du mésoderme.* — Les cellules mésodermiques prennent le rouge neutre dans la substance intercellulaire, mais ne prennent que plus tard le bleu du Nil qui s'y trouve au même moment;

3° *Dans l'intérieur des cellules.* — Deux colorants différents, tels que le rouge neutre et le bleu du Nil, ayant pénétré dans l'intérieur d'une même cellule mésodermique, on voit le rouge s'accumuler dans certaines vacuoles et le bleu dans d'autres.

Tant que les substances colorantes se trouvent contenues dans la partie hyaline du protoplasma, il n'y a pas de réaction visible sur ces substances. C'est seulement lorsqu'elles ont été localisées dans certaines régions d'une même cellule (vacuoles, sphérules, etc.), qu'elles peuvent subir l'action modificatrice du corps cellulaire. Cette action ressemble, pour le rouge Congo et pour le tournesol, à celle d'un acide qui serait versé dans les vacuoles où se trouvent localisés les colorants.

Les matières colorantes, ainsi fixées dans certaines parties des cellules, sont gardées un certain temps par celles-ci, puis rejetées dans la substance fondamentale. Là, elles peuvent être reprises par certaines cellules particulières jouant le rôle d'organes excréteurs (*phagocytes* de Metchnikoff), mais il est probable, aussi, que la substance fondamentale s'en débarrasse elle-même en drainant ces excréta et en les poussant peu à peu vers les surfaces.

Le corps cellulaire, pas plus que la substance fondamentale, ne se colorent généralement pas dans ces expériences; ils se laissent traverser, d'une manière insensible, par les colorants que le corps cellulaire accumule ensuite, au fur et à mesure de l'absorption, dans certaines de ses régions; c'est seulement dans ces régions (vacuoles, sphérules, etc) que les colorations deviennent manifestes.

Il n'en est pas de même pour le noyau, qui fixe énergiquement, mais d'une façon diffuse, le rouge neutre, le bleu du Nil, etc. Ceci paraît être une véritable coloration, c'est-à-dire une combinaison particulière entre la substance nucléaire et la matière colorante; cette coloration résiste, en effet, aux réactifs et aux déshydratations,

ce qui n'existe pas pour les enclaves colorées, contenues dans le corps cellulaire.

La substance fondamentale des éponges nous apparaît, d'après nos expériences, comme un véritable milieu intérieur, dans lequel les cellules superficielles versent les matières qu'elles ont prises à l'extérieur et où les cellules mésodermiques choisissent elles-mêmes les matières qui leur conviennent.

La partie liquide du corps cellulaire doit également être considérée, ici, comme un autre milieu qui joue un rôle analogue, vis-à-vis des vacuoles et des sphérules qui existent dans les cellules.

De même que ces deux sortes de milieux ont servi de voie pour l'entrée des substances colorantes, de même, c'est par leur intermédiaire que sont rejetées les substances colorantes qui ont été modifiées ou non dans l'intérieur des vacuoles. Mais ce rôle d'intermédiaire n'est pas un rôle purement passif; la partie hyaline du protoplasma est éminemment contractile, et il semble bien qu'il en soit de même, quoique à un degré beaucoup moins prononcé, pour la substance fondamentale de *Reniera ingalli*, tout au moins.

Les vacuoles et les sphérules qui accumulent les matières colorantes dans leur intérieur jouent donc le rôle, dans ces expériences, de véritables organites cellulaires paraissant agir chacun dans un sens déterminé. Ces organites ne fonctionnent pas nécessairement en présence de toute substance colorante contenue dans le corps cellulaire. Ainsi la nigrosine imbibe entièrement les cellules épithéliales, puisqu'elle les traverse pour aller colorer les gaines de spongine de *Reniera ingalli*, et, cependant, cette nigrosine n'est pas arrêtée par les organites cellulaires.

Comment agissent maintenant ces organites? Autrement dit, comment expliquer l'absorption des substances colorantes dissoutes, et en particulier les sélections successives caractéristiques de cette absorption?

La coloration des sphérules, des granulations protoplasmiques et du noyau peut s'expliquer par des phénomènes d'osmose, chacune de ces parties pouvant être considérée comme un appareil dialyseur.

Il en est de même pour les vacuoles qui renferment un corps solide à leur intérieur et dont M. Le Dantec a montré très clairement le mode de formation (*loc. cit.*). Mais pour les autres vacuoles qui ne contiennent que des substances colorantes en dissolution, nous ne voyons pas quelle action physico-chimique peut expliquer jusqu'ici

leur apparition et surtout leur différenciation dans une même cellule.

Tout ce que l'on peut dire, c'est que les éléments des éponges se laissent imbiber peu à peu par certaines substances colorantes; que ces substances sont condensées au fur et à mesure de leur absorption en certaines régions de ces cellules; enfin que le protoplasma intervient directement dans cette condensation, puisqu'il sépare deux colorants intimement mélangés et qu'il les localise dans deux vacuoles différentes.

Nous n'avons rien vu, dans l'étude de ces vacuoles, qui rappelât les *tonoplastes* de de Vries ou les *hydroleucites* de Van Tieghem, pour les cellules végétales. Nous croyons même que la plupart d'entre elles se produisent au fur et à mesure de l'absorption des substances colorantes. Ainsi, chez la spongille, par exemple, ces vacuoles sont, en général, plus petites avec le rouge Congo qu'avec le rouge neutre. Elles semblent également augmenter de volume avec les progrès de l'absorption, mais la faible coloration du début rend ici l'observation très difficile.

#### EXPOSÉ DE NOS EXPÉRIENCES <sup>1</sup>.

Si la méthode qui consiste à colorer les éponges à l'état vivant est des plus simples, elle comporte cependant quelques précautions que nous croyons utile de faire connaître.

La première règle à suivre, c'est de placer autant que possible les éponges, en expérience, dans les conditions de milieu qui leur sont habituelles. C'est ainsi que les hautes températures sont à éviter, pendant l'hiver, dans les laboratoires où on expérimente <sup>2</sup>; que l'eau dans laquelle on garde les éponges doit être de préférence de l'eau de rivière. Il faut changer cette eau tous les deux jours, ou, mieux encore, la faire couler continuellement, la même eau colorée pouvant être reprise et servir toujours.

Il n'est pas indifférent de prendre tel ou tel exemplaire d'éponge pour le soumettre au régime des substances colorantes. On sait, en

1. Le nombre des expériences que nous avons faites est, en réalité, beaucoup plus grand que ne l'indique cet exposé, car nous avons toujours eu soin de répéter plusieurs fois la même expérience.

2. Grant (*loc. cit.*) nous apprend qu'Aristote avait déjà observé l'action nuisible des températures élevées sur les éponges.

→ Spongilles

effet, qu'une même espèce d'éponge présente, quelquefois, différentes colorations qui sont dues, en général, à des sphérules de pigment incluses dans l'intérieur des cellules. C'est ce qui existe, par exemple, chez *Reniera ingalli*<sup>1</sup> et chez *Spongilla fluviatilis*. Nous avons donc eu soin, pour faire nos expériences, de choisir des individus non colorés; nous avons même presque toujours examiné, au microscope, une portion de l'éponge que nous allions expérimenter, de manière à nous rendre compte de la coloration des enclaves qui pouvaient exister dans les cellules de cette éponge. Cette dernière précaution est indispensable chez la spongille; des individus de couleur blanchâtre nous ont montré, quelquefois, en effet, dans l'intérieur de leurs cellules, des sphérules colorées en jaune ou en vert, alors que ces colorations ne se manifestaient nullement à l'extérieur.

Il faut toujours commencer les expériences avec des solutions de substances colorantes excessivement diluées, à peine sensibles à la vue, et attendre un temps plus ou moins long pour que l'éponge se soit accoutumée au régime qu'on lui fait subir. Cette accoutumance met plus ou moins de temps à s'établir; elle dépend, non seulement des substances employées, mais encore des espèces d'éponges avec lesquelles on expérimente. Il ne faut donc pas se contenter d'expériences de quelques heures comme l'ont fait certains zoologistes. On doit suivre pas à pas, pour ainsi dire, les progrès de l'absorption au moyen de coupes que l'on prélève de temps en temps sur l'éponge et que l'on examine, dans l'eau, au microscope. C'est ainsi que nous avons vu le rouge Congo, par exemple, n'être absorbé qu'au bout de trois à quatre jours et n'être modifié que vers le cinquième ou le sixième jour.

L'accoutumance des éponges aux substances colorantes dépend encore, avons-nous dit, de la nature même de ces substances. En général les couleurs acides sont les moins bien tolérées; ce sont celles que les éponges absorbent toujours le plus difficilement; tels sont, par exemple, l'alizarine sulfo-acide, l'orangé III et la tropéoline 00. Mais l'acidité de ces substances n'est pas une cause qui doive les faire rejeter systématiquement dans des expériences de cette nature; il n'est même pas nécessaire de neutraliser les liquides dont on se sert.

1. Voir la première partie de ce mémoire, *ce journal*, p. 4.

M. le professeur Giard, en effet, nous a dit avoir gardé vivant, pendant quinze jours, dans une solution de carmin à l'acide osmique, un petit oligochète commun dans les eaux douces, *Allurus tetraedrus* (Sar.). Ce lombricien avait pris la coloration du carmin et il n'est mort, nous a dit M. Giard, que d'une façon tout à fait accidentelle.

« Le déterminisme expérimental des colorations *intra vitam* est loin d'être fixé », nous dit un des premiers savants qui aient appliqué cette méthode<sup>1</sup>. C'est pourquoi il est nécessaire d'essayer un grand nombre de colorants différents chaque fois que l'on veut expérimenter, non seulement sur un autre groupe d'animaux, mais même sur une autre espèce. C'est ainsi que nous avons vu le rouge Congo être assez bien absorbé par les *reniera* et difficilement par les spongilles.

Enfin, une dernière recommandation qui pourra paraître oiseuse, c'est d'avoir grand soin de bien nettoyer les vases dont on se sert, pour les expériences, quand on veut changer de colorant. Nous avons souvenir d'une spongille qui avait pris une belle coloration bleue alors que nous l'avions fait vivre dans une solution de safran; cette expérience, répétée une seconde fois, en changeant la solution de safran, nous avait donné le même résultat, et ce n'est qu'en nettoyant entièrement les parois du vase que nous avons reconnu la cause de cette coloration inattendue; c'était un vase qui avait contenu antérieurement une solution de bleu de méthylène et qui contenait encore, bien probablement, quelques traces de bleu sur ses parois.

A. EXPÉRIENCES AVEC RENIERA INGALLI (Bow.). — Nous avons fait ces expériences pendant le mois d'août 1897, à la station biologique de Jersey, comme nous l'avons dit dans la première partie de ce mémoire. Nous avons eu le soin d'expérimenter toujours avec des éponges qui ne renfermaient pas de pigment dans leurs cellules. Ces éponges étaient recueillies sur la grève, au fur et à mesure des besoins et placées, pour les expériences, dans de larges cristallisoirs où l'eau était renouvelée généralement tous les jours.

*Première expérience.* — ACTION DU ROUGE CONGO (pl. V, fig. 14.) Voir la note 7. — *Reniera ingalli* vit dans l'eau de mer colorée avec le rouge Congo, pendant trois ou quatre jours, sans se laisser imprégner par le colorant.

1. Henneguy, Colorabilité du protoplasma vivant, *Intermédiaire des biolog.*, 1898. JOURN. DE L'ANAT. ET DE LA PHYSIOL. — T. XXXIV. 14



Le cinquième jour, on constate une très faible coloration rougeâtre dans toute la substance fondamentale et dans un grand nombre de cellules mésodermiques. Par contre, les gaines de spongine qui unissent les extrémités des spicules sont assez fortement teintées en jaune rougeâtre.

Le sixième jour, l'éponge est toujours bien vivante comme le montrent les mouvements des cellules flagellées. Les cellules sphéruleuses (*a*), de même que les fibres isolées sont très faiblement colorées, d'une façon uniforme. Au contraire, les cellules digestives (*b*), de même que les cellules flagellées (*c*) ont le corps protoplasmique peu ou pas coloré, mais présentent, de place en place, des enclaves colorées les unes en rouge orange, les autres en brun ou en violet; ces différences de coloration sont surtout très nettes dans les corbeilles vibratiles. Là, en effet (*c*) on trouve, à côté l'une de l'autre, des cellules avec des enclaves rouges et des cellules avec des enclaves violettes; il n'est pas rare, même, de voir les deux colorations différentes dans une seule cellule.

Ces enclaves colorées sont très petites, le plus souvent de forme sphérique et paraissent alors être des vacuoles creusées dans le corps même de la cellule; d'autres fois, elles sont opaques, ont une forme irrégulière et sont des granulations protoplasmiques qui ont fixé plus particulièrement la matière colorante.

Dans la substance fondamentale, de même que dans certains canaux, on trouve également des amas irréguliers formés de masses brunes ou violettes semblables, mais plus grosses, à celles que l'on trouve à l'intérieur des cellules.

Le septième jour, l'éponge est toujours bien vivante; les cellules digestives et flagellées renferment une plus grande quantité d'enclaves violettes.

Le huitième jour, presque tout le Congo absorbé par les cellules a pris une couleur violet foncé tirant sur le noir; les corbeilles vibratiles, entre autres, sont entièrement violettes. Par contre la coloration rouge qui s'était manifestée dès le début, sur les gaines de spongine, n'a pas varié.

L'éponge, vue en masse, est fortement colorée en rouge, mais présente, de place en place, des plaques de couleur brun foncé; dans ces dernières régions, nous ne trouvons plus de cellules flagellées en mouvement; dans les autres parties, au contraire, ces cellules sont très actives.

Le neuvième jour, nous transportons l'éponge dans de l'eau de mer pure, mais elle meurt, au bout de deux jours, sans avoir pu se débarasser du Congo qui l'imprégnait.

*Deuxième expérience.* — ACTION D'UNE SOLUTION DE ROUGE CONGO DANS L'EAU DOUCE (fig. 7, 13, 15 et 16). — Nous renvoyons à la première partie de ce mémoire (p. 6) pour tout ce qui concerne l'action du rouge Congo dissous dans l'eau douce.

*Troisième expérience.* — ACTION DU ROUGE NEUTRE (*Neutralroth* d'EHRLICH).

— Après un séjour de vingt-quatre heures dans l'eau de mer colorée, les cellules digestives présentent, à leur intérieur, une grande quantité de vacuoles ou de granulations protoplasmiques teintées en rouge. Les cellules sphéruleuses n'ont presque pas absorbé de colorant; la plupart même n'en renferment pas du tout.

Au bout de trente-six heures, on ne trouve à signaler, de nouveau, que la présence de quelques granulations rouges dans la substance fondamentale.

Au bout de trois jours, toutes les cellules de l'éponge ont absorbé du rouge neutre (fig. 10 bis), à l'exception toutefois de quelques grosses cellules sphéruleuses. *Le noyau de beaucoup de cellules flagellées ou digestives est uniformément coloré en rouge (c et d).* Ces cellules sont toujours bien vivantes, comme l'indiquent leurs mouvements vibratils ou amœboïdes.

Le quatrième jour, pas de changement notable à signaler. Le cinquième jour, les chapelets de cellules sphéruleuses et les fibres paraissent avoir complètement disparu; quand on casse l'éponge, on constate que les morceaux ne sont plus filants. L'expérience est arrêtée le cinquième jour.

*Quatrième expérience.* — ACTION DU BLEU DE MÉTHYLÈNE. — Au bout de douze heures, l'éponge tout entière est colorée en bleu assez foncé. Les cellules digestives renferment, seules, de la matière colorante; la spongine est faiblement colorée en jaune verdâtre. On trouve, de place en place, dans la substance fondamentale, des amas plus ou moins considérables de granulations bleues.

Au bout de trente-six heures, on ne trouve aucun changement.

Au bout de trois jours, toutes les formes de cellules mésodermiques, sauf les cellules sphéruleuses, sont chargées de granulations bleues; dans presque toutes, on voit une granulation plus grosse, régulièrement sphérique et qui nous paraît être le noyau.

Le quatrième jour, l'éponge se décolore par places, bien qu'il y ait toujours du bleu de méthylène dans l'eau. Elle est toujours bien vivante, les chapelets de cellules sphéruleuses existent toujours et, cependant, l'éponge ne file presque plus quand on la casse.

*Cinquième expérience.* — ACTION DU SAFRAN EN POUDRE. — Le safran dissous dans l'eau de mer ne paraît pas être absorbé par l'éponge; du moins, celle-ci meurt au bout de quatre jours sans présenter aucune partie colorée dans l'intérieur de ses cellules. Au microscope, la substance fondamentale et toutes les cellules paraissent teintées uniformément en jaune très pâle.

*Sixième expérience.* — ACTION D'UNE SOLUTION DE SAFRANINE DANS L'EAU DOUCE. — En se servant, pour colorer l'eau de mer où vivent les reniera, d'une solution de safranine dans l'eau douce, on obtient les mêmes résultats qu'avec le rouge Congo employé de la même façon.

Au bout de cinq à six heures, les sphérules des cellules en chapelet

ont disparu en partie; les noyaux et les fibres apparaissent nettement en rouge pâle au milieu du protoplasma resté incolore. Le lendemain, l'aspect est encore plus démonstratif, car la coloration des fibres et des noyaux est allée en augmentant alors que le protoplasma est resté incolore ou à peine teinté.

Cette action de la safranine, sur les noyaux et les fibres des cellules en chapelet, ne nous a pas donné des résultats constants comme avec le rouge Congo. Il y avait des régions où le colorant n'avait pas agi. Il est vrai que nous nous sommes servi, par exception, dans cette expérience, d'une forte solution de safranine. Nous n'avons pu trouver une méthode de fixation convenable qui permit de conserver cette coloration du noyau et des fibres; le sublimé, l'acide acétique, l'alcool absolu, le liquide de Kleinenberg décolorent le tout en quelques instants, le liquide de Zenker un peu plus lentement.

*Septième expérience.* — ACTION DU VERT D'IODE. — Une reniera est restée pendant quatre jours sans présenter aucune trace de coloration dans l'intérieur de ses cellules. Il est vrai, qu'au bout de ce temps, l'eau de mer où se trouvait l'éponge était complètement décolorée.

En colorant une coupe fraîche de reniera avec une forte solution de vert d'iode dans l'eau de mer, on voit apparaître bientôt des noyaux isolés dans la substance fondamentale; ces noyaux, de même que les fibrilles de spongine, se colorent également en vert. En continuant l'action du vert d'iode, on voit les gaines de spongine se colorer, puis les cellules en chapelet se détruire en mettant à nu les fibres et les noyaux qui apparaissent alors fortement colorés en vert. On peut fixer cette coloration avec l'acide picrique et monter la préparation dans une solution de gomme et de sucre.

*Huitième expérience.* — ACTION DU BRUN DE BISMARCK. — Au bout de douze heures, l'éponge est uniformément colorée en brun. Au microscope, on trouve une faible coloration jaune diffuse de la substance fondamentale et des cellules sphéruleuses. Par contre, les cellules flagellées et les cellules digestives renferment beaucoup d'enclaves orangées.

Au bout de quarante-huit heures, les cellules digestives sont littéralement bourrées de brun de Bismarck, qui se présente sous la forme de vacuoles, de sphérules ou de grains colorés. Le troisième jour on ne trouve rien de changé. Le quatrième jour l'expérience est arrêtée; à ce moment, l'éponge n'est plus filante quand on la casse.

L'acide osmique au 1/100 conserve assez bien cette coloration.

*Neuvième expérience.* — ACTION DE LA NIGROSINE. — Au bout de douze heures, l'éponge, vue en masse, est colorée en violet très pâle, mais on ne trouve aucune coloration dans les cellules.

Au bout de quarante-huit heures, les gaines de spongine sont seules colorées en violet. Le quatrième jour, on ne constate encore aucune trace d'absorption par les cellules. L'éponge n'est plus filante quand on la casse, et cependant les cellules flagellées présentent encore des mouvements très actifs.

B. EXPÉRIENCES AVEC SPONGILLA FLUVIATILIS (Blainv.). — Les spongilles qui nous ont servi pour nos expériences proviennent de la rivière de l'Orge, près de Juvisy, où elles se trouvent en grande abondance. Ces spongilles étaient apportées à Paris avec leur support (morceaux de bois, racines d'arbres, etc.) et placées immédiatement dans le bassin à eau courante du laboratoire du Cours d'Évolution, à la Sorbonne, où nous avons reçu l'accueil le plus obligeant de la part de M. le professeur Giard.

Nos expériences ont été faites pendant l'hiver 1897-98. Pour cela, nous allions prendre les éponges dans le bassin où elles vivaient très bien et nous les placions dans de grands cristallisoirs contenant la substance colorante à expérimenter. L'eau de ces cristallisoirs était changée journellement, bien que cela ne fût pas nécessaire, car les spongilles vivent très bien, pendant cinq à six jours, au moins, dans la même eau. Pour certaines substances colorantes, comme le carmin et le tournesol, nous avons adopté un dispositif très simple qui nous permettait d'entretenir un courant d'eau continu dans les cristallisoirs.

*Dixième expérience.* — ACTION DU ROUGE CONGO (fig. 9). — Après trois heures de séjour dans une faible solution du rouge Congo, la spongille, vue en masse, présente une faible coloration rougeâtre, uniforme. Au microscope, on ne trouve rien dans les cellules.

Au bout de vingt-deux heures, la coloration uniforme de l'éponge est un peu plus foncée. Quelques cellules digestives commencent à présenter des parties colorées en rouge orange dans leur intérieur; on trouve même, dans chaque préparation, quatre ou cinq de ces cellules qui sont remplies de vacuoles rouges. Les cellules flagellées vibrent énergiquement, mais ne renferment pas d'enclaves rouges.

Le deuxième jour, la coloration générale de l'éponge est à peu près la même. A l'examen microscopique, on ne trouve pas, en effet, un plus grand nombre de cellules renfermant du Congo, même à l'endroit où nous avons blessé antérieurement l'éponge pour suivre les progrès de l'expérience. Le rouge Congo qui a été absorbé par les cellules n'a pas changé de couleur, en général; quelques cellules renferment, cependant, du rouge brun à côté du rouge orange.

Le troisième jour, on trouve plus facilement des cellules où la couleur du Congo absorbé a un peu changé, mais ces cellules sont toujours rares. D'un autre côté, il est parfois difficile de dire, ici, si les parties colorées sont des vacuoles, des sphérules ou des granulations protoplasmiques, car ces parties sont très petites. Les unes ont gardé la couleur ordinaire rouge orange du Congo; les autres ont une couleur foncée, brunâtre ou violet foncé très sombre, presque noir.

Le quatrième et le cinquième jour, les cellules contenant du rouge Congo n'ont pas augmenté de nombre; quelques-unes renferment une ou deux grosses sphères uniformément colorées en rouge orange et qui sont probablement des noyaux. On retrouve ces mêmes sphères isolées dans la substance liquide où nagent les cellules.

Rien de particulier à noter pendant les jours suivants. Le quinzième jour l'éponge, qui est restée continuellement dans l'eau courante, est toujours bien vivante, mais on ne trouve pas une plus grande quantité de cellules contenant du Congo. L'expérience est arrêtée.

*Onzième expérience.* — ACTION DU CONGO MODIFIÉ PAR L'ACIDE CHLORHYDRIQUE. — L'expérience précédente ne nous a pas donné, avec la spongille, des résultats aussi nets qu'avec *Reniera ingalli*. D'abord les spongilles n'absorbent que très difficilement le rouge Congo et puis, si cette substance se modifie bien dans l'intérieur même des cellules, la nouvelle coloration qu'elle acquiert ne rappelle que de loin ce que nous avons vu avec reniera. Mais ce changement de couleur peut être dû, également, à l'influence d'un acide, comme le montre l'expérience suivante :

Dans deux litres d'eau de Seine, contenant 1 gramme d'acide chlorhydrique, nous versons une petite quantité de rouge Congo suffisante pour donner, à la solution, une légère teinte sombre de couleur brun violet. Nous plaçons, dans ce liquide, une racine couverte de petites éponges.

Le lendemain, ces éponges n'ont pas pris la teinte du liquide ambiant; elles ne présentent du reste, dans leurs cellules, aucune trace de coloration. Le troisième jour les éponges sont toujours bien vivantes, mais elles n'ont pas absorbé de substance colorante. Du reste le liquide est complètement décoloré, et le fond du vase est recouvert par un précipité noirâtre. A l'examen microscopique, ce précipité paraît formé uniquement par des grumeaux de substance hyaline, teintée en violet sombre et contenant un très grand nombre de granulations opaques; ces grains sont colorés en brun ou en violet foncé presque noir et ressemblent tout à fait aux granulations que nous avons trouvées à l'intérieur des cellules pendant l'expérience précédente.

Ce précipité se dissout, dans un excès d'eau, en redonnant la coloration rouge orange ordinaire du congo.

*Douzième expérience.* — ACTION DE L'ALIZARINE SULFO-ACIDE. — Le 26 mars, à dix heures du matin, nous plaçons une spongille dans une faible solution rouge (voir la note 7). Le lendemain, l'éponge n'a pris aucune coloration et ne présente rien de particulier dans l'intérieur des cellules. Le troisième jour, certaines régions de l'éponge sont légèrement colorées en rouge violacé. Dans ces endroits, on trouve quelques cellules mésodermiques dont la plus grande partie du corps est colorée en rouge violacé; et qui présentent des mouvements amœboïdes; leurs pseudopodes paraissent complètement incolores.

Le quatrième jour, on trouve toujours, dans certaines régions colorées, un certain nombre de cellules mésodermiques qui renferment de l'alizarine rouge; dans les unes, c'est une sphère centrale qui paraît être



le noyau; dans d'autres ce sont deux ou trois vacuoles ou bien encore, c'est la presque totalité de la cellule qui paraît colorée en rouge.

Les cellules flagellées vibrent toujours énergiquement; elles ne renferment pas de coloration.

Nous arrêtons l'expérience le sixième jour. A cette époque, l'éponge qui est bien vivante, n'est encore colorée que dans certaines régions. On trouve les mêmes cellules avec des enclaves rouges à l'intérieur; de place en place, cependant, l'on voit une ou deux cellules renfermant des enclaves orangées ou jaunes, mais nous ne savons pas si c'est là de l'alizarine modifiée.

*Quatorzième expérience.* — ACTION D'UNE INJECTION DE TOURNESOL ACIDIFIÉ (fig. 10). — Le 18 novembre nous injectons une petite quantité de tournesol acidifié (voir la note 7) dans une spongille que nous plaçons ensuite dans de l'eau non colorée.

Au bout de quarante-cinq minutes, nous trouvons, dans quelques cellules seulement, une ou plusieurs vacuoles colorées uniformément en bleu; certaines de ces vacuoles renferment, cependant, une petite masse opaque, colorée en bleu, et qui n'est autre chose qu'une granulation de tournesol.

Cependant ces cellules qui contiennent des enclaves colorées sont rares; il faut les chercher dans les préparations. Le tournesol injecté se retrouve, en grande partie, sous forme d'amas de granulations bleues contenues dans l'intérieur de la substance fondamentale; le reste du tournesol est tombé dans le système de canaux et a été rejeté au dehors par l'éponge.

Trois heures après l'injection, nous ne trouvons pas de changement; les cellules qui ont pris du tournesol sont un peu plus nombreuses (*a*), mais elles sont toujours rares.

Le lendemain, c'est-à-dire dix-huit heures après l'injection, la région où nous avons injecté du tournesol bleu est devenue rose. A l'examen microscopique, nous voyons que les cellules qui contenaient du tournesol s'en sont débarrassées, probablement après l'avoir rougi, en le rejetant dans les espaces intercellulaires. La substance fondamentale paraît, en effet, légèrement colorée en rose; c'est elle qui donne la couleur particulière que l'on voit maintenant aux environs du point injecté.

Quelques cellules renferment bien, il est vrai, du tournesol rougi (*b*), mais ces cellules sont rares; il faut les chercher, surtout, au milieu de granulations bleues de tournesol que l'on trouve, en amas plus ou moins considérables, dans la substance fondamentale. D'autres cellules, beaucoup plus nombreuses, renferment encore du tournesol bleu (*c*). Toutes ces cellules sont bien vivantes comme l'indiquent leurs mouvements amiboïdes.

*Quinzième expérience.* — ACTION D'UNE SOLUTION DE TOURNESOL ACIDIFIÉ. — Nous plaçons une spongille dans de l'eau faiblement colorée avec une solution de tournesol acidifié.

Au bout de dix-huit heures, l'éponge tout entière est uniformément

colorée en rose. Cette coloration est assez prononcée pour que la spongille se détache nettement en rose au milieu du liquide ambiant qui est bleu; d'un autre côté, c'est bien du tournesol modifié qui a produit ce changement de couleur, car il suffit de faire tomber une goutte d'ammoniaque sur un morceau de cette éponge pour voir le point touché reprendre une coloration bleue.

— A l'examen microscopique, nous ne trouvons pas de tournesol rouge ou bleu dans aucune cellule. La coloration de l'éponge est donc due uniquement à la substance fondamentale qui paraît en effet très légèrement rosée quand on l'examine sur une épaisseur suffisamment grande.

Les spongilles, ainsi traitées, ne paraissent nullement malades car leurs cellules flagellées et digestives présentent des mouvements très actifs. Ces mouvements se voient encore chez des spongilles qui sont restées cinq ou six jours dans la même eau chargée de tournesol; pendant ce temps la coloration générale de l'éponge ne change pas et on ne trouve pas davantage de tournesol dans les cellules. Deux jours après la mort de ces spongilles, on voit des plaques bleues réapparaître, çà et là, sur le corps.

*Seizième expérience.* — ACTION DU TOURNESOL NON ACIDIFIÉ. — Avec le tournesol pur, nous n'avons pas obtenu des résultats aussi prompts que dans les deux expériences précédentes. Cela devait être du reste, d'après ce que Le Dantec nous avait appris (voir la note 7).

Le 23 novembre une spongille est placée dans une eau contenant un peu de tournesol. Au bout de cinq heures, l'éponge a pris la coloration bleue du milieu ambiant, mais nous ne trouvons pas de tournesol dans les cellules. La trentième heure, l'éponge est colorée en violet; rien encore dans les cellules.

Le troisième jour, cette coloration est devenue nettement rose; mais nous ne trouvons pas davantage de colorant dans l'intérieur des cellules. Cette expérience est arrêtée le troisième jour sans avoir donné d'autres résultats.

*Dix-septième expérience.* — ACTION DE L'ORANGÉ III DE POIRIER (voir la note 7). — Nous avons gardé des spongilles, pendant huit jours, dans une faible solution d'orangé, sans que nous ayons pu observer des phénomènes d'absorption très nets. Le cinquième ou sixième jour seulement, les éponges paraissaient prendre une faible teinte générale jaunâtre et on pouvait trouver, dans certaines cellules, des vacuoles colorées en jaune très faible. Au bout de huit jours, les éponges étaient toujours bien vivantes, mais n'avaient pas absorbé davantage de colorant.

La tropéoline 00 nous a donné les mêmes résultats que l'orangé III.

*Dix-huitième expérience.* — ACTION DU CARMIN. — De la poudre de carmin placée à la surface d'une spongille est absorbée en peu de temps. Au bout de dix-huit heures, on trouve des grains de carmin dans l'intérieur des cellules flagellées et des cellules mésodermiques; toutes les formes de ces éléments: les globules hyalins nucléés, les cellules

digestives et les cellules sphéruleuses peuvent présenter des grains de carmin à leur intérieur.

*Dix-neuvième expérience.* — ACTION DU ROUGE NEUTRE. — Après un séjour de deux heures dans une eau teinte en rose, les spongilles présentent, çà et là, sur leur corps, des plaques rouges. Ce sont des régions où la plupart des cellules : flagellées, digestives, sphéruleuses, renferment des vacuoles ou des sphérules colorées en rouge; on trouve même, dans plusieurs de ces cellules, une grosse sphère, uniformément colorée en rouge et qui nous paraît être un noyau.

Au bout de vingt heures, les éponges sont colorées partout uniformément en rouge; presque toutes les cellules renferment de la substance colorante. A la trentième, à la cinquantième et à la soixante-dixième heure nous ne trouvons aucun changement. Toutes les cellules chargées de rouge neutre sont bien vivantes, comme on le voit à leurs mouvements vibratiles et amiboïdes; nous trouvons encore un plus grand nombre de noyaux colorés et il nous semble bien que leur coloration soit allée en augmentant.

Dans la substance fondamentale, nous trouvons des noyaux colorés complètement nus; ce sont peut-être les noyaux de cellules détruites par la coupe. Nous en trouvons d'autres qui sont entourés par une mince couronne de substance hyaline, incolore et nettement limitée; ce sont probablement des noyaux sortis accidentellement des cellules digestives et que nous avons déjà vus dans d'autres expériences (fig. 10, a).

Le quatrième jour ne nous offre pas de changement sensible dans l'état des éponges, qui vivent toujours très bien malgré la grande quantité de substance colorante qu'elles ont absorbée. Nous constatons des mouvements très énergiques sur des cellules flagellées dont le noyau est fortement coloré en rouge.

Ces éponges sont mortes à la fin du cinquième jour, mais il y avait trois jours que nous n'avions changé l'eau où elles se trouvaient; elles se sont décolorées complètement en vingt-quatre heures.

*Vingtième expérience.* — Une spongille colorée fortement en rouge après un séjour de cinquante heures dans une faible solution de rouge neutre (expérience précédente) est placée dans de l'eau pure renouvelée continuellement. Cinq jours après, cette spongille présente encore la même coloration rouge; toutes les cellules nous paraissent avoir gardé la même quantité de sphérules qu'elles renfermaient au début de l'expérience; ces cellules sont bien vivantes. Le dixième jour, l'éponge présente toujours le même aspect; on constate cependant une légère décoloration dans ses tissus superficiels qui sont envahis par des bactéries, des champignons et des infusoires.

A partir de ce moment, nous n'avons pas suivi régulièrement cette expérience. Mais nous pouvons dire que l'éponge n'est pas parvenue à se débarrasser de tout le rouge qu'elle avait absorbé. Elle est morte quelque temps après, surtout, croyons-nous, parce qu'elle n'a pu résister

à l'envahissement des microbes et des champignons qui se sont développés autour d'elle (voir la note 1).

*Vingt et unième expérience.* — ACTION DU BLEU DU NIL (Nilblausulfat de REISSIG). — Nous aurions à répéter ici ce que nous avons dit de l'action du rouge neutre. Les spongilles absorbent et fixent le bleu du Nil avec autant de facilité que le rouge neutre. Signalons encore ici un certain nombre de cellules dont le noyau est coloré uniformément par ce colorant.

Nous avons voulu voir, comme pour le rouge neutre, le temps que mettrait une éponge à se débarrasser du bleu du Nil absorbé. Cette éponge s'est comportée exactement comme dans l'expérience précédente.

*Vingt-deuxième expérience.* — ACTION DU BLEU DE MÉTHYLÈNE. — Les spongilles paraissent supporter cette substance colorante aussi bien que les deux colorants précédents. Elles ne l'absorbent cependant qu'au bout de douze à vingt-quatre heures. Nous allons bientôt revenir, du reste, sur l'action du bleu de méthylène, à propos des colorations combinées.

*Vingt-troisième expérience.* — ACTION DU SAFRAN EN POUDRE ET DE L'ORGANETTE. — Les spongilles vivent plusieurs jours, en présence de ces substances, sans changer de coloration et sans présenter aucune trace d'absorption dans l'intérieur de leurs cellules.

Toutes les expériences dont il nous reste à parler ont été faites avec des solutions, par parties égales, de deux substances colorantes différentes. Pour ces expériences, nous avons eu soin de choisir les substances qui se mélangent intimement entre elles de manière à donner une coloration neutre et complètement limpide.

*Vingt-quatrième expérience.* — ACTION DU BLEU DU NIL ET DU ROUGE NEUTRE. — Ce mélange donne une solution jaune verdâtre.

Au bout d'une heure, les éponges, placées dans une eau teintée par ce mélange, sont colorées en rouge; leurs cellules renferment des vacuoles ou des sphérules colorées seulement par le rouge neutre.

Le lendemain, ces éponges sont fortement colorées en rouge livide tirant sur le violet. A l'examen microscopique, on voit que les cellules n'ont encore absorbé que du rouge neutre; quelques rares cellules, cependant, présentent des enclaves colorées en rouge livide.

Le deuxième jour on voit que la plupart des cellules ne renferment que du rouge neutre, mais on en trouve aussi quelques-unes qui n'ont pris que le bleu du Nil.

Le troisième jour, la coloration de l'éponge a pris une teinte brun violette presque noire. Le liquide coloré qui se trouve dans l'intérieur des cellules a pris maintenant une teinte violette (voir la note 6).



Nous avons fait une autre expérience avec le même mélange, mais en mettant deux fois plus de bleu du Nil que de rouge neutre; nous obtenions ainsi un liquide bleu verdâtre. Au bout de deux heures, les spongilles, placées dans ce mélange, avaient pris, par places, une faible coloration rouge violacée. Six heures après, les plaques colorées avaient augmenté d'étendue, et enfin, au bout de vingt-quatre heures, l'éponge tout entière présentait une teinte générale violette. Cette coloration n'intéressait que les couches superficielles de l'éponge; là, les cellules étaient bien vivantes: les unes renfermaient des enclaves violettes, d'autres des enclaves rouges.

*Vingt-cinquième expérience.* — ACTION DU BLEU DE MÉTHYLÈNE ET DU ROUGE NEUTRE (fig. 8). — Ce mélange donne une solution de couleur verte.

Au bout de vingt heures, les spongilles sont fortement colorées, d'une façon uniforme, en rouge vineux. Les cellules n'ont absorbé que du rouge neutre; par contre, le bleu de méthylène a été exclusivement pris par des mycéliums que nous trouvons dans nos préparations.

Le deuxième et le troisième jour, la plupart des cellules ne renferment encore que des vacuoles rouges (*a*). Mais on en rencontre aussi qui n'ont que des vacuoles bleues (*b*), et d'autres enfin qui contiennent, les unes à côté des autres, des vacuoles bleues et des vacuoles rouges (*c*).

Toutes ces cellules sont encore bien vivantes à la fin du troisième jour.

*Vingt-sixième expérience.* — ACTION DU BLEU DE MÉTHYLÈNE ET DU ROUGE CONGO. — Ce mélange donne une solution brun violette.

Les spongilles prennent difficilement ce mélange, qui est absorbé, par les cellules, sans avoir été décomposé.

*Vingt-septième expérience.* — ACTION DU ROUGE NEUTRE ET DU BRUN DE BISMARCK. — Ce mélange donne une solution orangée.

Les spongilles se colorent énergiquement dans cette solution, qui est absorbée, par toutes les cellules, sans avoir été décomposée.

## NOTES ET COMPLÉMENTS

**Note 1. — Nutrition des Éponges.** — Lieberkühn et Metchnikoff ont vu des éponges capturer des infusoires vivants et se nourrir de leur substance, mais il est bien probable que ce sont là des cas exceptionnels, car on trouve, rarement, des infusoires dans les canaux des éponges bien portantes. Pour Hæckel, ces animaux se nourrissent surtout de particules solides provenant de la décomposition des corps organisés que l'eau contient toujours en quantité plus ou moins abondante. « En outre, ajoute-t-il<sup>1</sup>, il est possible et même probable que les substances organiques liquides,

1. *Loc. cit.*, p. 372.



comme les débris du corps des animaux et des plantes en putréfaction, qui sont dissoutes dans l'eau de mer des rivages, servent de nourriture aux éponges. » C'est ce qui existe, en effet, comme nous l'avons vu en faisant vivre des spongilles dans des liquides filtrés contenant ou non des substances organiques en dissolution.

Le 12 mars, par ex., nous lavons une spongille par un courant d'eau de source, pendant cinq heures, puis nous la plaçons dans un liquide nutritif. Ce liquide n'est autre chose que de l'eau de source filtrée trois fois de suite, contenant le suc d'une autre éponge également filtré trois fois. Le tout est recouvert par une cloche de verre.

Au bout de dix jours, cette spongille est non seulement bien vivante, mais encore elle a produit cinq bourgeonnements qui paraissent complètement transparents et qui se distinguent difficilement dans l'eau. Ces bourgeons sont terminés par des oscules qui rejettent continuellement de l'eau dans laquelle on voit quelquefois passer des produits d'excrétion solides. On trouve en effet au fond du vase, des détritits solides qui avaient été rejetés par l'éponge.

Nous pouvions penser que ces détritits étaient des corps nutritifs incomplètement digérés et qui, repris par l'éponge, pouvaient continuer à lui assurer la vie; nous devons voir également si les spongilles ne pouvaient point vivre, pendant quelque temps, aux dépens de leurs propres réserves. C'est pourquoi nous avons placé une autre spongille dans de l'eau distillée; au bout de vingt-quatre heures, les cellules flagellées ne présentent plus de mouvements, et, deux jours après, l'éponge était complètement décomposée.

**Note 2. — Défense de l'organisme chez les Spongilles. —** On sait que les éponges vivent souvent dans des milieux (eau de Seine, par exemple) où les agents d'infection pullulent. Il nous est arrivé quelquefois, dans le cours de nos expériences précédentes, d'oublier des spongilles dans un cristalliseur contenant de l'eau de Seine; or nous les retrouvions bien vivantes huit, dix et douze jours après, au milieu d'un grand nombre d'organismes de toutes espèces qui avaient pullulé dans le cristalliseur.

Malgré la grande perméabilité de leurs tissus, les éponges sont en effet des animaux pour lesquels « on ne connaît pas encore, comme le fait remarquer Metchnikoff<sup>1</sup>, ni de véritables parasites, ni par

1. *Pathologie comparée de l'inflammation*, p. 64.

conséquent de maladies infectieuses ». Les spongilles, entre autres, sont exposées à être blessées continuellement; on peut les couper en morceaux et, cependant, les plaies les plus larges se cicatrisent très vite sans laisser pénétrer aucun des microbes qui vivent habituellement à côté de ces éponges.

Il n'en est pas de même quand les spongilles ne sont pas dans leurs conditions normales, quand, par exemple, elles ont vécu, pendant plusieurs jours, dans une solution colorée et qu'elles ont fixé, dans leurs cellules, une grande quantité du principe colorant. Dans ces cas, en effet, les spongilles, tout en paraissant bien vivantes, se laissent envahir, bientôt, par des zooglées, des mycéliums ou autres parasites.

Contre certaines substances dissoutes dans l'eau où elles vivent, les éponges peuvent se défendre en fermant leurs orifices, comme l'a montré Lendenfeld<sup>1</sup>, ou bien en arrêtant ces substances au niveau des cellules épithéliales, comme cela résulte de nos expériences. Contre les corps solides, les microbes, par exemple, Metchnikoff fait intervenir la phagocytose<sup>2</sup>, mais il reconnaît, en même temps, que ce moyen ne peut expliquer, à lui seul, l'immunité particulière des éponges.

Nous nous sommes demandé, alors, si la défense des éponges ne devait pas être assurée, tout d'abord, par des phénomènes de chimiotaxie négative dus, par exemple, à des substances solubles, particulières, rejetées par les éponges. Une expérience très simple nous a montré qu'il pouvait en être ainsi.

Si l'on met une aiguille en contact avec la surface d'une spongille bien vivante, on voit, au bout d'une heure ou deux, que la partie de l'aiguille qui touchait à la spongille est oxydée. Le lendemain, cette région de l'aiguille est seule entourée par un manchon de rouille qui est notablement *plus étendu du côté qui touchait à l'éponge*; tout le reste de l'aiguille est resté poli et luisant.

Cette expérience recommencée plusieurs fois en éloignant l'aiguille de la surface de l'éponge, à une distance de 1, 2 et 3 millimètres, nous a donné toujours des résultats semblables; il nous a semblé même que l'oxydation des aiguilles était plus active à 2 ou 3 millimètres qu'au contact direct de l'éponge.

Ces expériences demandent évidemment à être poussées plus

1. *Loc. cit.*

2. *Loc. cit.*, p. 64.

loin et à être complétées par d'autres pour nous renseigner sur le point qui nous intéresse ici. Elles suffisent, cependant, pour nous permettre de conclure à une zone d'oxydations particulières entourant les éponges et paraissant être sous la dépendance de ces organismes.

A quelles causes maintenant faut-il rapporter ces oxydations qui jouent probablement le rôle, à la surface des spongilles, d'une enveloppe protectrice vis-à-vis de la plupart des microbes?

Est-ce à des substances excrétrices azotées que les éponges rejetteraient normalement comme produits de leur activité vitale? Il serait permis de le croire d'après ce passage de Griffiths <sup>1</sup>: « Les éponges absorbent de l'oxygène et rejettent de l'acide carbonique avec une grande rapidité; et la manière dont elles rendent l'eau, où elles vivent, impure et mauvaise aux autres organismes fait penser à l'élimination d'une substance excrétrice azotée. »

Malheureusement cette substance est tout à fait hypothétique et les recherches que Krukenberg <sup>2</sup> a faites pour décèler la présence de l'acide urique, par exemple, ont donné jusqu'ici des résultats négatifs. L'idée nous est venue, alors, de voir si les spongilles ne formeraient point des ferments solubles particuliers qui détermineraient ces oxydations si actives à la surface de ces éponges.

Les recherches du D<sup>r</sup> Portier venaient de nous montrer la presque universalité des oxydaxes dans toute la série animale. Il était donc à prévoir que ces ferments devaient se retrouver, également, chez les éponges que cet auteur avait laissées de côté. Les moyens dont nous nous sommes servis dans ces recherches particulières sont ceux que nous enseigne le D<sup>r</sup> Portier dans son mémoire <sup>3</sup>.

*Première expérience.* — Le 28 février, une spongille est hachée et écrasée dans de l'eau saturée de chloroforme; le tout est placé à l'obscurité. Au bout de soixante heures, le liquide est filtré et une moitié seulement est essayée. On remarque d'abord que ce liquide brunit un peu à sa surface si on le laisse quelque temps à l'air libre; ceci est déjà un indice de la présence d'oxydaxes dans ce liquide. Chauffé à 50° avec

1. A.-B. Griffiths, *The Physiology of the Invertebrata*, 1 vol., London, p. 209.

2. Cité par Marchal, L'acide urique chez les Invertébrés, *Mém. Soc. zool.*, 1889, p. 42.

3. P. Portier, Les Oxydaxes dans la série animale, Thèse Fac. méd. Paris, 1897, p. 25 et 26.

M. Portier a bien voulu nous aider, ici, de son expérience et des ressources du laboratoire de physiologie de la Sorbonne. Nous sommes heureux de pouvoir le remercier de toute son obligeance.

l'hydroquinone à 1 p. 100, il présente, au bout d'un quart d'heure, une coloration rose qui prend peu à peu la teinte du vin de Malaga et dégage alors l'odeur caractéristique de la quinone. Avec une solution de gaïacol, on obtient une teinte gris rosé peu caractéristique.

L'autre moitié du liquide que nous avons mise de côté dans un flacon bien bouché, est porté, sept jours après, au Dr Portier, qui l'essaie avec de la teinture de gaïac, préparée par lui-même comme il l'indique dans sa thèse; il obtient, alors, une coloration bleu cendré peu intense mais très nette. Cette coloration ne se manifeste plus avec le même liquide préalablement bouilli.

*Deuxième expérience.* — Le 8 mars, une spongille est triturée dans de l'eau chloroformée et placée à l'obscurité. Au bout de vingt-quatre heures, le liquide est filtré et essayé :

1° *Avec la teinture de gaïac.* — Le liquide non bouilli donne immédiatement une coloration bleue très intense, due, comme on le sait, à une oxydation de l'acide gaïaconique. Préalablement bouilli, le même liquide donne seulement une coloration jaunâtre; enfin quand on le traite auparavant par de l'acide cyanhydrique au dixième, on obtient une coloration blanchâtre.

2° *Avec l'hydroquinone.* — Le liquide chauffé entre 45° et 55° prend, au bout de dix minutes, une teinte rose très nette. Cette teinte brunit ensuite de plus en plus en même temps que se dégage l'odeur caractéristique de la quinone. Le deuxième jour, on trouve, au fond du tube à expérience, un grand nombre de cristaux incolores, en forme de tablettes ou de lamelles. Le même liquide (trois centim. c.), touché préalablement avec une baguette de verre trempée dans l'acide cyanhydrique, ne donne aucune coloration, même après une attente de vingt-quatre heures.

3° *Avec le gaïacol,* nous n'obtenons aucune réaction caractéristique.

Les deux séries d'expériences que nous venons de rapporter suffisent pour nous montrer que les spongilles présentent, avec la teinture de gaïac et l'hydroquinone, les réactions caractéristiques des oxydases. Il est même inutile, pour s'en rendre compte, de faire des macérations d'éponge dans l'eau chloroformée. Si l'on écrase une spongille entre ses doigts et si l'on essaie le liquide jaunâtre qui découle, on obtient immédiatement, avec la teinture de gaïac, une coloration verte intense; cette coloration est seulement jaunâtre quand on a fait bouillir le liquide auparavant.

On peut encore obtenir la même réaction en laissant tomber trois ou quatre gouttes de teinture de gaïac à la surface d'une spongille vivante ou morte.

Nous n'avons pas eu le temps de rechercher le mode d'action de

ces oxydases. Il est nécessaire d'entreprendre de nouvelles expériences pour être fixé sur leur rôle physiologique chez les éponges ; mais nous sommes porté à croire, jusqu'ici, que ces ferments doivent intervenir activement dans la défense de ces organismes, probablement en favorisant ces oxydations que nous avons signalées plus haut.

**Note 3. — Coloration de quelques Protozoaires à l'état vivant.** — Pendant les expériences 24 et 25 (voir p. 168), nous avons pu observer des *Glaucoma scintillans* et des *Stylonichia mytilus*, qui vivaient dans les mêmes mélanges que les spongilles. Ces infusoires se sont comportés exactement comme les cellules des éponges en présence des substances colorantes ; le troisième jour, ils ne renfermaient, dans leurs vacuoles digestives, que du rouge neutre à l'exclusion du bleu du Nil ou du bleu de méthylène.

D'autre part, ces mêmes infusoires nous ont présenté avec le rouge Congo, des phénomènes tout à fait particuliers et sur lesquels nous devons nous arrêter un instant.

Le 26 novembre 1897, nous ensemençons, avec ces infusoires, une faible solution de rouge Congo dans laquelle se trouve déjà un morceau d'éponge morte, mais qui avait été colorée, pendant sa vie, avec la même substance colorante. Le lendemain, la plupart des stylonichies et des glaucomes renferment plusieurs vacuoles colorées toutes en rouge orange. Nous remarquons cependant une stylonichie qui possède cinq ou six vacuoles bleues au milieu d'un grand nombre d'autres vacuoles rouges.

Le troisième jour, beaucoup de stylonichies renferment, au milieu de vacuoles incolores, d'autres vacuoles colorées les unes en rouge orange (*c*, fig. I), d'autres en violet ou bien en bleu d'azur (*a*). Dans l'intérieur des vacuoles colorées, on peut distinguer, parfois, à un fort grossissement, un certain nombre de petits corps sphériques dont la coloration est plus accentuée (*a*). Enfin, on peut trouver encore, au milieu des granulations protoplasmiques qui composent le corps même des infusoires, un grand nombre de petites masses transparentes colorées en bleu, semblables aux corps sphériques intravacuolaires et qui nous paraissent être des vacuoles très petites (*b*).

Les glaucomes renferment également des vacuoles bleues à côté de vacuoles rouges.



Le quatrième jour, nous trouvons toujours les mêmes différences de coloration dans le corps de ces infusoires; cependant les grosses vacuoles digestives ne renferment généralement plus que du rouge Congo, alors que les petites vacuoles sphériques que nous avons signalées ci-dessus (*b*) paraissent toutes colorées en bleu ou en violet. Dans un grand nombre de stylonichies, ces petites vacuoles se trouvent accumulées à la partie postérieure du corps où leur ensemble forme une tache sombre en forme de croissant.

A quoi est due maintenant la coloration bleu d'azur qui se manifeste chez ces infusoires vivant au milieu du rouge Congo? La présence dans le même animal de vacuoles rouges, violettes et bleues ne peut guère s'expliquer, *a priori*, que par une modification

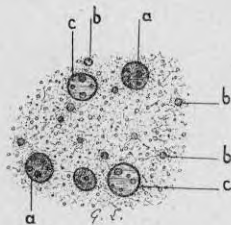


Fig. 1. — *Stytonichia mytilus*. Portion du corps dessinée, à l'état vivant, après un séjour de 2 jours dans une faible solution de rouge Congo. — *a* et *b*, vacuoles contenant du Congo bleu. — *c*, vacuoles contenant du Congo ordinaire.

progressive du rouge Congo sous l'influence, par exemple, d'un acide. C'est ce qui existe, en effet, car il suffit d'écraser doucement ces infusoires pour voir le contenu des vacuoles bleues reprendre la coloration rouge ordinaire du congo aussitôt que l'eau extérieure a pu pénétrer dans le corps de l'infusoire.

Nous avons gardé ces cultures pendant plus de dix jours sans que le nombre des infusoires ait jamais paru diminuer. A la surface du liquide, la plupart des infusoires n'avaient pas d'enclaves colorées à leur intérieur. C'était surtout dans la profondeur du vase, au voisinage du morceau d'éponge, que nous trouvions les infusoires chargées de vacuoles rouges ou bleues. Nous n'avons jamais vu, à ce moment, de coloration particulière dans le liquide rejeté par les vacuoles contractiles.

Tels sont les phénomènes que nous avons pu observer un grand nombre de fois et que nous avons montrés à M. le professeur Giard ainsi qu'à tous ceux qui fréquentent son laboratoire.

Or, quand nous avons voulu répéter ces expériences, aux mois de février et de mars suivants, nous avons été surpris de ne pas retrouver les mêmes phénomènes. Les stylo-nichies présentaient toujours bien, dans leur intérieur, des vacuoles dont le contenu était coloré par le rouge Congo, mais nous n'avons jamais observé alors, dans ces vacuoles, même après une attente de cinq ou six jours, la belle coloration bleu d'azur que nous avons vue au mois de novembre précédent. Le seul changement que l'on pouvait observer, dans ces vacuoles, était, quelquefois, une teinte de carmin violacé qui différait nettement de la couleur ordinaire du rouge Congo.

Dans le courant de ces nouvelles expériences avec le Congo, nous avons eu l'occasion d'observer d'autres faits intéressants que nous résumons ici. Le 8 mai 1898, nous avons vu la vacuole contractile d'une stylo-nichie rejeter un liquide rouge carminé semblable à celui qui était contenu dans trois grosses vacuoles du corps de l'infusoire; pendant plus de dix minutes que notre observation a duré, la vacuole contractile a toujours rejeté le même liquide carminé.

Cette observation a été, pour nous, un cas isolé chez les stylo-nichies; au contraire, d'autres petits infusoires possédant deux vacuoles contractiles et que nous croyons être des *colpodes*, paraissent rejeter continuellement un liquide coloré en rouge orange, et cependant le corps de ces animaux était complètement incolore.

Des *amibes*, vivant dans une solution de rouge Congo, ne nous ont généralement pas présenté d'enclaves colorées à leur intérieur. Nous avons observé quelques amibes, néanmoins, qui renfermaient des vacuoles très faiblement colorées en rouge orange ou en carmin violacé.

Enfin des *acinétiens* fixés sur des cyclops ne présentaient pas trace de coloration dans leur corps, même au bout de huit jours; au contraire, leur pédoncule d'attache était assez fortement coloré en rouge.

**Note 4. — Coloration des Méduses à l'état vivant.** — Pendant les expériences que nous avons faites à Jersey avec *Reniera ingalli*, nous avons eu l'occasion d'observer l'action de quelques substances colorantes sur des sciphistomes d'*Aurelia aurata* et sur plusieurs petites méduses, non déterminées, recueillies au filet

fin, dans la baie de Saint-Aubin. Ces observations ont été tout à fait superficielles et nous n'en parlons ici qu'à titre d'indication.

Le rouge Congo, le rouge neutre, le bleu de méthylène et le brun de Bismarck colorent plus ou moins promptement les sciphistomes et les méduses que l'on fait vivre dans une eau faiblement colorée par ces substances. Après un séjour de quatre heures dans le bleu de méthylène, nous avons vu, chez une petite méduse acraspède, tous les noyaux de l'ectoderme fortement colorés en bleu, alors que

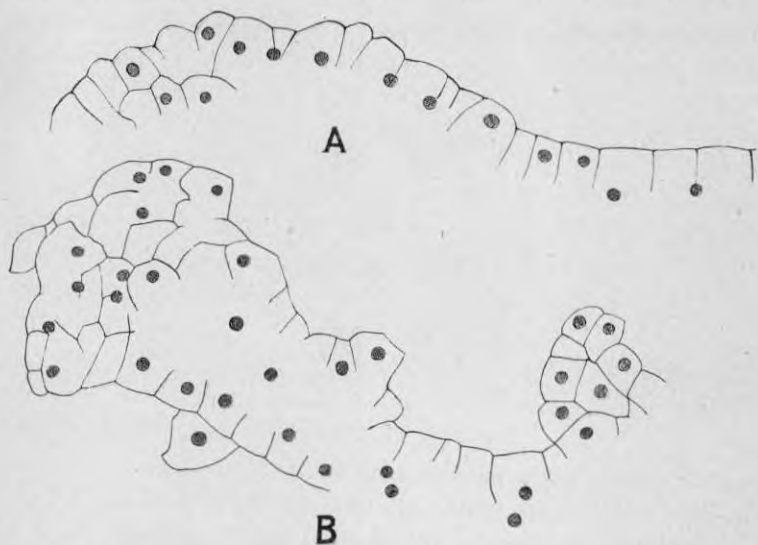


Fig. II. — Cellules ectodermiques d'une méduse dessinées à l'état vivant après un séjour de 4 heures dans une faible solution de bleu de méthylène. — A. Région prise sur le bord du manubrium. — B. Région prise sur la sous-ombrelle.

le corps cellulaire était lui-même incolore (fig. II). Cette méduse nageait tout à fait comme à l'état normal.

Chez une autre espèce de méduse acraspède que nous avons laissée, pendant quatre heures, dans une solution de rouge neutre, les éléments ectodermiques se présentaient sous la forme de petits amas de vacuoles ou de sphérules fortement colorées en rouge (fig. III). Ces amas étaient plongés dans une substance hyaline plus faiblement colorée. Avec le rouge Congo, au contraire, la coloration de ces méduses était partout diffuse et uniforme.

Les sciphistomes d'aurelia de même que les petites méduses dont nous venons de parler devenaient immobiles, puis se contrac-

taient fortement une fois qu'ils avaient absorbé une certaine quantité de colorant; ils finissaient par mourir, au bout de trois ou quatre jours, si on n'avait soin de les remettre dans de l'eau de mer ordinaire. Dans ce cas, au contraire, les sciphistomes commençaient à étendre leurs tentacules au bout de huit jours; ceux qui avaient vécu dans le rouge neutre étaient encore fortement colorés à ce moment, alors que les sciphistomes du bleu de méthylène et du congo étaient presque entièrement décolorés.

Avec le rouge neutre et le rouge Congo, les sciphistomes s'entouraient bientôt d'une couche hyaline que l'on pouvait enlever tout d'une pièce, au bout de deux jours. Cette enveloppe était formée

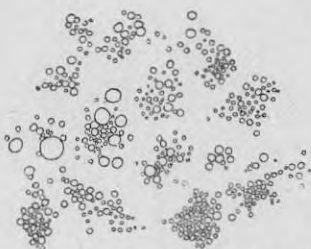


Fig. III. — Éléments ectodermiques d'une méduse dessinés à l'état vivant, après un séjour de 12 heures dans une faible solution de rouge neutre.

par du mucus dans lequel flottaient une grande quantité de nématocystes ou de cellules épithéliales ordinaires. Ces dernières renfermaient presque toujours, à leur intérieur, une ou plusieurs vacuoles à contenu coloré en rouge.

**Note 5. — Action du rouge Congo sur des Diatomées, des Oligochètes et des Cyclops.** — Pendant notre dixième expérience, nous avons pu observer l'effet du rouge Congo absorbé par des diatomées et de petits oligochètes que l'on trouve parfois en abondance avec les spongilles.

Chez les diatomées, tout le corps cellulaire était coloré uniformément en rouge. Chez les oligochètes, le tube digestif était bourré de matières colorées en rouge, mais la substance colorante n'avait pas passé dans l'intimité même des tissus; elle était restée dans le tube digestif. Nous n'avons jamais observé de changement de coloration dans le Congo absorbé par les diatomées et par les oligochètes.

Les cyclops, dont nous avons parlé à la fin de la note 3, ne présentent pas de coloration dans leurs tissus après un séjour de huit jours dans une faible solution de rouge Congo. Seules les matières qui se trouvent dans leur tube digestif sont colorées plus ou moins fortement en rouge.

**Note 6. — Action d'un mélange coloré sur les radicules d'un Saule.** — Les spongilles qui nous ont servi dans la vingt-quatrième expérience étaient fixées sur des radicules de saule. Au bout de vingt-quatre heures, l'extrémité de ces radicules était fortement colorée en rouge: or, en examinant ces organes au microscope, on remarquait que leurs cellules s'étaient exactement comportées comme les cellules des éponges. Elles avaient absorbé exclusivement le rouge neutre qui s'était localisé sur le noyau, tout le reste de la cellule paraissant incolore. La coloration des noyaux était entièrement uniforme.

**Note 7. — Colorants réactifs des acides.** — Un certain nombre de substances colorantes présentent la propriété de changer de couleur en présence d'une petite quantité d'acide. Tels sont, par exemple, le tournesol, le rouge Congo, l'alizarine sulfo-acide, la tropéoline 00 et l'orangé n° III de Poirrier, dont nous nous sommes servis dans nos expériences.

« Le *tournesol* du commerce, écrit notre savant collègue et ami, M. Le Dantec<sup>1</sup>, a un excès d'alcalinité variable, mais toujours très notable, et le grain ingéré dans une vacuole ne peut virer au rouge qu'après avoir été amené à la neutralité. » C'est pourquoi nous avons suivi son exemple en acidifiant légèrement le tournesol bleu qui nous a servi dans les expériences 14 et 15. Pour cela, les pains de tournesol étaient broyés, dans un mortier, avec de l'eau contenant 50 centigrammes pour 100 d'acide chlorhydrique. Ajoutons que les expériences avec le tournesol sont difficiles à réussir, car les éponges absorbent difficilement cette substance, qu'elle soit neutralisée ou non. Il est nécessaire de faire plusieurs essais en les modifiant un peu chaque fois.

L'*alizarine*, dont nous nous sommes servi dans l'expérience 12, est de l'alizarine sulfo-acide que nous avons fait venir directement

1. Recherches sur la digestion intracellulaire chez les Protozoaires, *Bullet. scient. de la France et de la Belgique*, 1891, p. 268.



de chez Grüber. Cette substance colorante donne une solution rouge violacée avec l'eau de source et orangée avec l'eau distillée. Cette dernière solution prend immédiatement une belle couleur rouge quand on approche d'elle le bouchon d'une bouteille d'ammoniaque; elle redevient jaune orangé quand on y verse quelques gouttes d'un acide. C'est de l'alizarine rougie avec l'ammoniaque qui nous a servi dans notre douzième expérience<sup>1</sup>.

Le rouge Congo est une substance que l'on emploie souvent, en médecine, pour rechercher l'acide chlorhydrique du suc gastrique. D'un autre côté, R. Hösclin<sup>2</sup> et H. Schulz<sup>3</sup> s'en sont servis pour montrer la présence d'acides libres dans l'estomac et dans le corps des organismes inférieurs, tels que les rotateurs.

Cette substance présente, en effet, disent les auteurs, la propriété de prendre une couleur bleu d'azur sous l'influence des acides minéraux et violet foncé en présence des acides organiques. C'est un réactif très sensible, mais qu'il faut employer avec beaucoup de circonspection. En effet, avec les composés du chlore, il se colore en bleu comme avec les acides. Wurster<sup>4</sup> a montré qu'en présence d'une liqueur ammoniacale, le rouge Congo ne change pas de couleur avec l'acide carbonique, l'acide acétique et l'acide lactique. Enfin nous avons vu, par notre onzième expérience, qu'une solution de rouge Congo dans l'eau de Seine, prenait une teinte sombre brune et non bleue avec l'acide chlorhydrique.

L'orangé IV (Tropéoline 00) et l'orangé III de Poirrier (orangé de méthyle ou hélianthine) sont des substances colorantes qui passent du jaune au rouge en présence des acides minéraux. Cependant M. Greenwood<sup>5</sup> les a employées, sans succès, pour la recherche des sécrétions acides chez les protozoaires.

Ces derniers colorants sont acides; c'est peut-être la raison pour laquelle ils sont difficilement absorbés par les cellules vivantes (voir p. 158).

1. Voir également, pour l'emploi de ce colorant, Le Dantec, *loc. cit.*

2. *Münchener med. Wochenschrift*, 1886, p. 93.

3. H. Schulz, Ueber das Congoroth als Reagens auf freie Säure, *Centralbl. f. d. med. Wiss.*, 1886, p. 449.

4. C. Wurster, Congoroth als Reagens auf freie Säure. *Centralbl. f. Physiol.*, 1887, p. 240.

5. On the digestiv process in some Rhizopods, *Journ. of Physiol.*, 1886, t. VII.

## Index bibliographique pour les auteurs cités dans ce mémoire.

- BARROIS CH. — *Embryologie de quelques Éponges de la Manche*, Thèse Fac. sc. Paris, 1876.
- BIDDER G. — Note on the excretion in Sponges, *Proc. R. soc. London*, 1892, t. LI.  
— On the Flask-shaped ectoderme and spongoblasts in one of the Keratosa, *id.*, 1893, t. LII.  
— The collarcells of Heterocœla, *Quart. J. micr. sc.*, 1895, t. XXXVIII.
- BOLLES LEE et HENNEGUY. — *Traité des méthodes techniques de l'Anatomie microscopique*, 2<sup>e</sup> éd., 1896.
- BOWERBANK. — *A monography of the british Spongiadæ*, 3 vol., 1864-1874.
- CARTER (H.-J.). — The ultimate structure of Spongilla, *Annals and magaz. of nat. hist.*, 1837 et 1871.
- DELAGE. — Embryogénie des Éponges, *Arch. zool. expér.*, 1892.
- EIMER (Th.). — Nesselzellen und Samen bei Seeschwämmen, *Arch. f. mikr. Anat.*, 1872.
- FLEMMING (W.). — Ueber die Entwicklung der collagenen Bindegewebsstrahlen, *Arch. f. Anat. u. Phys.*, 1897.
- FOL (H.). — Sur l'anatomie des Éponges cornées, *Journ. de micrographie, et C. R. Ac. Sc.*, 1890.
- FRÉDÉRICQ (L.). — La digestion des matières albuminoïdes chez quelques invertébrés, *Arch. zool. expér.*, 1878, t. VII.
- GARDNER (M.). — Zur Frage über die Histogenese des elastischen Gewebes, *Biolog. Centrabl.*, 1897.
- GRANT (R.). — Observ. and exper. on the structure and functions of the sponges, *Edinburgh philosophical Journ.*, 1825, 1826.
- GREENWOOD. — On the digestiv process in some Rhizopods, *Journ. of Physiol.*, 1886.
- GRIFFITHS (A.-B.). — *The Physiology of the Invertebrata*, London, 1892.
- HECKEL (E.). — *Die Kalkschwämme*, t. I, 1872.
- HANITSCH. — Revision of the generic nomenclature and classification in Bowerbank's « British spongiadæ ». *Trans. Liverpool Biol. soc.*, 1894.
- HEIDER (K.). — Zur Metamorphose der *Oscarella lobularis*, *Arb. zool. Inst. Wien*, 1886.
- HERTWIG (O.). — *La Cellule et les tissus*, trad. fr., 1894.
- HÖSSLIN (R.). — *Münchener med. Wochenschrift*, 1886.
- HENNEGUY. — Voir Bolles Lee.  
— Leçons sur la cellule, Paris, 1896.  
— Colorabilité du protoplasma vivant, *Interméd. des biolog.*, 1898.
- KRUENBERG. — Cité par Marchal, p. 42, et par Metchnikoff (1892), p. 60.
- LAURENT. — Nouvelles recherches sur la spongille, *autour du monde sur la Bonite*, *Zoophytologie*, 1844.
- LE DANTEC (F.). — Recherches sur la digestion intra-cellulaire chez les Protozoaires, *Bullet. scient. France et Belgique*, 1894.
- LENDENFELD (R. VON). — Experimentelle Untersuchungen über die Physiologie der Spongien, *Zeits. f. w. Zool.*, 1889.  
— Bemerkungen über Tictionsmittel für Spongien, *Zeits. f. w. Zool.*, 1894.
- LIEBERKUN (N.). — Beiträge zur Anatomie der Spongien, *Arch. f. Anat. u. Phys.*, 1857.
- LOISEL (G.). — Les cartilages linguaux des mollusques, *Journ. anat. et phys.*, 1893.  
— Formation et évolution des éléments du tissu élastique, *id.*, 1897.  
— La coloration des tissus chez les animaux vivants, *Compt. rend. Soc. biol.*, juillet 1897.  
— Contribution à la physiologie et à l'histologie des Éponges, *id.*, octobre 1897, janvier 1898 et mars 1898.
- MARCHAL. — L'acide urique chez les Invertébrés, *Mém. Soc. zool.*, 1890.
- MASTERMANN (ARTH. T.). — On the nutritive and excretory Process in Porifera, *Ann. and magaz. of nat. hist.*, 1894, t. XIII, 1895, t. XIV.  
— On some Points in the general morphology of the Metazoa..., *Zool. Anz.*, 1896, t. XIX.

- METCHNIKOFF (E.). — Studien spongiologische, *Zeits. f. wiss. Zoolog.*, 1879.  
 — Recherches sur la digestion intracellulaire, *Ann. Institut. Pasteur*, 1889.  
 — *Leçons sur la Pathologie comparée de l'inflammation*, Paris, 1892.  
 NOLL (F.-C.). — Beiträge z. Naturgesch. d. Kieselschwämme, *Abhandl. d. von Senkenberg naturf. Gessellsch.*, 1888.  
 PFEFFER. — Cité par Henneguy (1896), p. 179, et par Hertwig, p. 130.  
 PORTIER (P.). — *Les Oxydases dans la série animale*, Thèse fac. méd., Paris, 1897.  
 RETTERER (Ed.). — Développement des bourses muqueuses, *Journ. anat. et phys.*, 1896.  
 — Epithélium et tissu réticule, *id.*, 1897.  
 SCHMIDT (O.). — *Supplément d. Spongien d'Adriat. Meeres*, 1864.  
 SCHULZE (F.-E.). — Untersuchungen über den Bau u. die Entwick. d. Spongien, *Zeits. f. w. Zool.*, 1879, t. XXXII.  
 SCHULZ (H.). — Ueber das Congoroth als Reagens auf freie Säure, *Centralbl. f. d. med. Wiss.*, 1886.  
 SOLLAS. — Cité par Lendenfeld, 1889.  
 TOPSENT. — Contribution à l'étude des Clionides, *Arch. zool. expér.*, 1887, t. V, suppl.  
 — Quelques spongiaires du banc de Campêche, *Mém. soc. zool. France*, 1889.  
 — Essai sur la forme des spongiaires de Roscoff, *Arch. zool. exp.*, 1893.  
 — Contribution à l'histologie des spongiaires, *Compt. rend. Ac. sc.*, 1893.  
 — Étude sur la faune des spongiaires du Pas de Calais, *Rev. biol. nord de la France*, 1894.  
 WELTNER (W.). — Der Bau des Süßwasserschwämme, *Blatt Aquar. Fr.*, VII.  
 WURSTER (C.). — Congoroth als Reagens auf freie Säure, *Centralbl. f. Physiol.*, 1887.

#### Explication de la planche V<sup>1</sup>.

*Figure 7.* — *Reniera ingalli*. — Action du rouge Congo, dissous dans l'eau douce, sur un même chapelet de spongoblastes. Chambre claire, grossissement 650.

*a, b, d, e*, le chapelet est placé sur une lame de verre dans de l'eau de mer faiblement colorée par le rouge Congo. Les cellules restent bien vivantes, comme l'indiquent les mouvements amœboïdes des cellules *x* et *y*. Cette dernière cellule rejette, en *d*, quelques-unes de ses sphérules. La fibre de spongine reste incolore. En *f*, nous faisons arriver une goutte d'eau douce sur le chapelet. Les cellules se contractent alors et la fibre de spongine se colore en rouge; au bout de quelques instants, en *g*, les cellules se détruisent laissant voir leurs noyaux et la fibre de spongine en entier, colorés en rouge.

*Figure 8.* — Vingt-cinquième expérience. — Action d'un mélange de bleu de méthylène et de rouge neutre sur une spongille vivante. Chambre claire, grossissement 450.

Éléments mésodermiques contenant les uns du rouge neutre (*a*), les autres du bleu de méthylène (*b*), d'autres, enfin, du rouge et du bleu en même temps (*c*).

1. Les figures 7, 11, 12, 13, 16 et 17 se rapportent à la première partie de ce mémoire (*Journ. d'Anat.*, 1898, p. 1).

*Figure 9.* — Dixième expérience. — Action du rouge Congo sur une spongille vivante, chambre claire, grossissement 430.

*a*, éléments mésodermiques au bout du quatrième jour; *b*, au bout du septième ou huitième jour.

*Figure 10.* — Quatorzième expérience. — Action du tournesol bleu sur une spongille vivante. Chambre claire, grossissement 430.

*a*, éléments mésodermiques dessinés une heure après l'injection de tournesol; *b* et *c*, après vingt-quatre heures.

*Figure 10 bis.* — Troisième expérience. — Action du rouge neutre sur une *Reniera ingalli* vivante. Chambre claire, grossissement 630.

*a* et *b*, éléments mésodermiques et *c*, cellules flagellées, au bout de cinq ou six heures; *d*, au bout de trois jours.

*Figure 11.* — Éléments mésodermiques de *Reniera ingalli*. — Fixation par le liquide de Flemming, deux minutes; coloration par le mélange d'Ehrlich-Biondi, une heure; montage dans le mélange d'Apathy. Chambre claire, grossissement 450. (La coloration bleue de cette figure ne représente pas exactement la réalité.)

*a*, spongoblastes réunis en chapelets; *b*, amas de spongoblastes; *c*, cellules sphéruleuses isolées se colorant les unes en bleu verdâtre, les autres en rouge; *d* et *e*, fibre et gaines de spongine colorées en rouge; *sp*, spicules légèrement teints en rose.

*Figure 12.* — *Reniera ingalli* conservée vivante dans une faible solution de rouge Congo. — Fibres de spongine isolées dans la substance fondamentale et dessinées le septième jour de l'expérience, l'éponge étant encore bien vivante. Chambre claire, grossissement 600.

*a*, fibrille présentant trois renflements correspondant à trois spongoblastes. Ces renflements ne sont pas toujours disposés aussi régulièrement; souvent même ils n'existent plus. *b*, fibrilles traversant des cellules et des globules hyalins; ces globules disparaissent au bout de quelque temps dans la substance fondamentale. *c*, fibre et fibrille présentant encore deux spongoblastes dont les sphérules ont en partie disparu; ces cellules présentaient des mouvements amœboïdes très nets.

*Figure 13.* — *Reniera ingalli* traitée, à l'état vivant, par le rouge Congo dissous dans l'eau douce. Chambre claire, grossissement 630.

Portion d'un faisceau de spongoblastes, à différents états de développement et montrant très nettement les noyaux et les fibres de spongine; *a*, région où les spongoblastes avaient été détruits et où les lignes de séparation des fibres ne se voyaient pas distinctement.

*Figure 14.* — Première expérience. — Action du rouge Congo sur une *Reniera ingalli* vivante. Éléments mésodermiques dessinés le septième jour de l'expérience. Chambre claire, grossissement 630.

*a*, cellule sphéruleuse à peine teintée en rouge; *b*, cellules digestives

renfermant du Congo rouge ou violet plus ou moins foncé; *c*, corbeille vibratile dont les cellules renferment du Congo plus ou moins modifié.

*Figure 15.* — *Reniera ingalli* après un séjour de dix-huit heures dans de l'eau de mer colorée avec une solution de rouge Congo dans l'eau douce. Chambre claire, grossissement 650.

*a*, cellules sphéruleuses ordinaires; *b*, cellules sphéruleuses (spongoblastes) présentant, à leur intérieur, une masse de spongine (*s*); *n*, noyau de ces cellules.

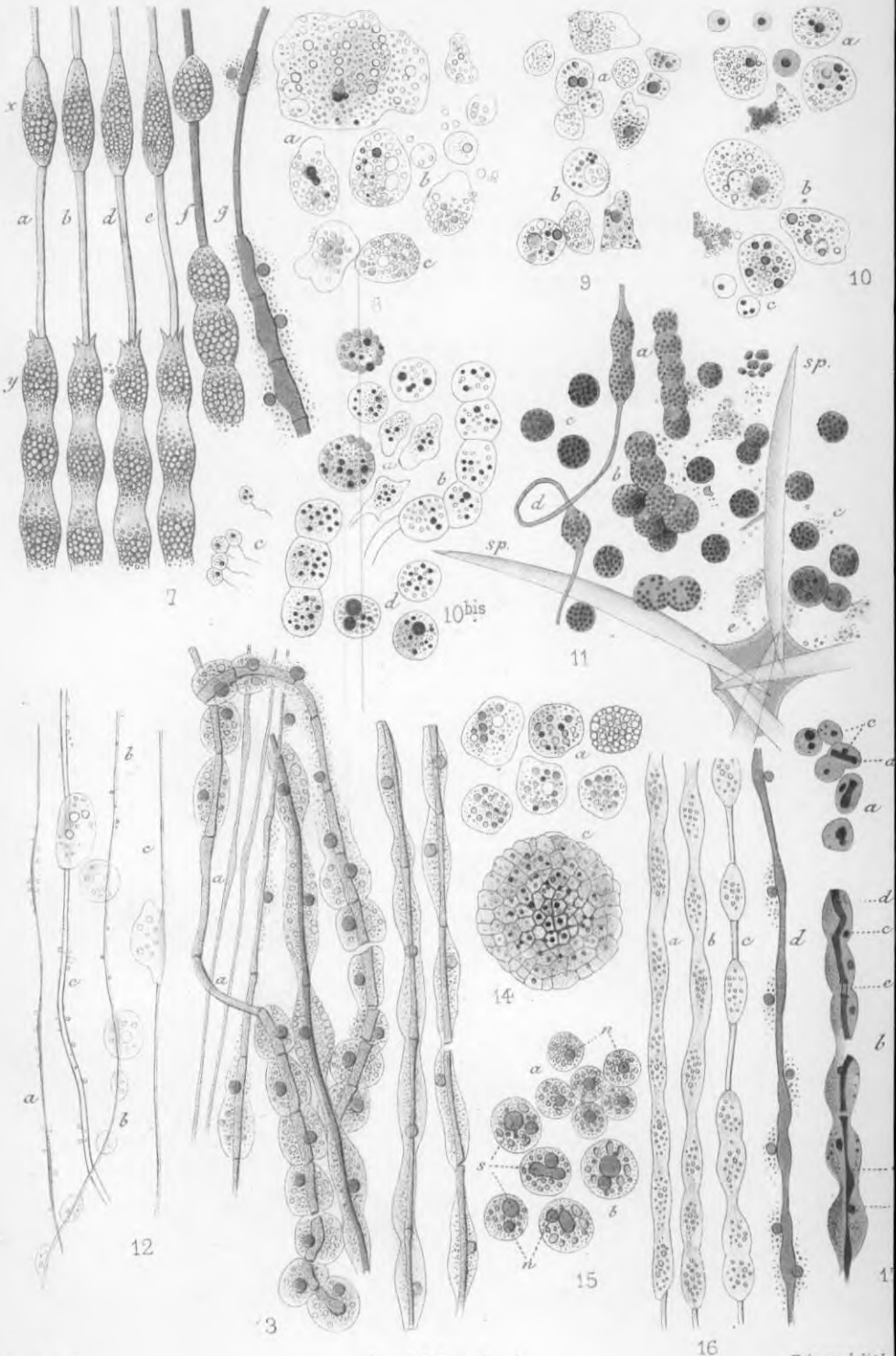
*Figure 16.* — *Reniera ingalli*. Même expérience que dans la figure 7. Chambre claire, grossissement 650.

*a*, chapelet de spongoblastes fusionnés, dessiné à l'état vivant, dans l'eau de mer; *b*, *c*, *d*, différentes phases de l'action du rouge Congo dissous dans l'eau douce. (Comparer avec la fig. 7.)

*Figure 17.* — *Reniera ingalli*. — Alcool absolu, violet de gentiane (d'après Bizzozero et Gram), éosine et résine Dammar. Chambre claire, grossissement 600.

*a*, spongoblastes isolés; *b*, spongoblastes en chapelet; *c*, noyau des spongoblastes; *d*, spongine; *e*, substance unissante étirée par les réactifs.





Loisel del.

Imp. Ed. Bry, Paris.

Bénard, lith.

# Histophysiologie des Eponges.

Félix Alcan, Editeur.