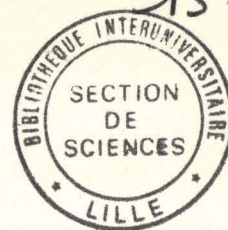


50376
1955
15-1

50376
1955
15-1



T H E S E S
présentées à la Faculté des Sciences
de l'Université de LILLE
pour l'obtention
du Diplôme d'Etudes Supérieures (Sciences Naturelles)

par

Cécile BENCE

-:-

- 1° THESE : Recherches histologiques et histochimiques
sur ONISCUS ASELLUS et PORCELLIO SCABER.
2° THESE : La peau des Mammifères.

-:-

SOUTENUES LE : 11 MAI 1955

RECHERCHES HISTOLOGIQUES ET HISTOCHIMIQUES

SUR ONISCUS ASELIUS ET PORCELLIO SCABER

RECHERCHES HISTOLOGIQUES ET HISTOCHIMIQUES

INTRODUCTION

Les glandes tégumentaires des Isopodes terrestres, n'ont fait, jusqu'à présent, l'objet que d'assez rares travaux, et il m'a été proposé de rechercher, à l'aide de techniques histochimiques, la nature de leur sécrétion.

Je me suis, toutefois, heurtée à un certain nombre de difficultés, en particulier, l'identification des glandes tégumentaires s'est avérée délicate. Il était indispensable de procéder à une étude morphologique et anatomique précise. Le travail qui m'était confié s'est trouvé, de la sorte, considérablement élargi. Aussi, les résultats que j'apporte, sont-ils rassemblés dans plusieurs chapitres.

Un premier chapitre concerne l'ANATOMIE MICROSCOPIQUE. L'identification des organes et appareils, a été réalisée par une confrontation des coupes et des dissections réalisées sous le binoculaire. L'emploi de techniques histologiques élémentaires, m'a permis d'identifier et de situer avec précision, les glandes tégumentaires dont l'étude histochimique et cytologique font l'objet du deuxième chapitre. J'y ai joint les résultats que les techniques spéciales nous ont apportés sur divers organes : (tube digestif et glandes annexes, glandes génitales, tissu nerveux).

RAPPEL DES PRINCIPAUX TRAVAUX.

Mes recherches ayant porté à la fois, sur la morphologie, l'histologie, l'histochemie, je rappellerai succinctement, en les groupant, les travaux ayant trait à ces divers domaines. Les diverses publications de LEGRAND, ont principalement trait à la morphologie. Classant les nouvelles espèces, il s'intéresse particulièrement aux détails morphologiques. Il signale les caractères sexuels du mâle : pièces préhensiles du 7ème paréopode par exemple. Chez tous les Oniscidea, il décrit la cooption. Chez *Porcellio dilatatus*, par exemple, l'endopodite se compose comme chez tous les Oniscidea, de deux articles : l'article basal est court, l'article distal très long, régulièrement effilé et se termine par une tige fine et fragile. Les deux endopodites sympétriques sont accrochés à la position de repos.

LANG a étudié la morphologie des appendices des crustacés. Il décrit et identifie les différentes parties de l'appendice. Par comparaison, j'ai pu préciser, dans les appendices d'*Oniscus* et de *Porcellio*, les différentes parties du protopodite, de l'endopodite, de l'exopodite.

Je signale également, une monographie de G. GORDON HEWITT sur *Ligia*. Cet auteur décrit la morphologie des appendices, sans d'ailleurs les interpréter. Il divise le corps de cet isopode, en quatre parties : segment céphalique ou céphalon, mésasome ou thorax, métasome ou abdomen. Il décrit les divers tronçons du tube digestif et des glandes annexes. L'hépatopancréas de *Ligia* se compose de trois paires de tubes, s'étendant de la région pylorique de l'estomac, à la partie postérieure de l'abdomen. L'anatomie macroscopique est complétée par une étude d'anatomie microscopique. GORDON HEWITT signale les cellules épithéliales différentes à divers niveaux de l'intestin moyen. Dans les tubes hépatopancréatiques, il signale aussi la présence de cellules épithéliales de deux sortes : grandes cellules sécrétrices d'une part, petites cellules d'autre part. Celles-ci peuvent être : soit de jeunes cellules sécrétrices, soit, des cellules de nature excrétrice.

Dans son ouvrage, l'auteur signale que la physiologie de l'appareil digestif a été étudiée en 1902, par MURLIN. Ce dernier trouve que la sécrétion de l'hépatopancréas, peut être libérée, soit par la dissolution de la cellule, la fragmentation, ou l'évacuation de la cellule. Elle contient des ferments capables d'agir sur les protéides, les hydrates de carbone et les graisses.

Les observations de GORDON HEWITT, en ce qui concerne les appareils excréteurs chez *Ligia*, concordent avec celles de BRUNTZT - 1904 -

Les deux auteurs décrivent les sortes d'appareils excréteurs chez *Ligia* : deux sont des néphrocytes, groupés ou disséminés : néphrocytes céphaliques, situés à la base des premières antennes ; néphrocytes branchiaux qui débouchent dans la région abdominale. En poursuivant la bibliographie, j'ai remarqué que les auteurs modernes interprètent ces organes, comme des glandes tégumentaires. La troisième catégorie serait un rein ou néphridium défini. L'auteur décrit les reins maxillaires ou néphridies qui débouchent dans la portion basale de la seconde paire de maxilles. Enfin, la dernière serait représentée par certaines cellules de l'hépatopancréas, de nature excrétrice.

- Les publications de RACOVITZA - 1923 -, permettent d'orienter l'isopode et donnent une nomenclature pratique des bords, des faces de son corps, de ses appendices.

- Parmi les recherches histologiques et physiologiques, je citerai celles de L. PATANE - - sur la structure et la fonction de l'hépatopancréas de *Porcellio Loevis*. L'auteur observe, dans l'épithélium, deux types de cellules, petites et grandes. Les petites cellules renferment de nombreuses granulations caractéristiques, se présentant d'une couleur jaunâtre sur le frais, et après fixation. Elles donnent une réaction positive avec la méthode de CIACCIO, pour les bases puriques, de sorte qu'on doit les considérer, semble-t-il, comme des produits cataboliques ; ces granulations apparaissent quelques jours après la naissance.

- Les grandes cellules renferment d'abondantes gouttelettes de gras et de nombreuses granulations de nature séreuse. La sécrétion est constituée par des fragments de protoplasme qui proviennent de la partie apicale de quelques unes des grandes cellules, et par une substance homogène entremêlée de nombreuses granulations se colorant en rouge par le liquide de GALEOTTI et semblables aux granulations intracytoplasmiques. Les deux types de cellules, grandes et petites, existent dès la naissance. PATANE a, par ailleurs, étudié la fonction

digestives des "glandes en rosette", et de l'hépatopancréas de PORCELLIO LAEVIS. Il constate que l'hépatopancréas est riche en enzymes digestives (amylase, glycogénase, saccharase, glucosidase, trypsine) et conclut qu'il a probablement une fonction digestive.

En ce qui concerne les recherches histochimiques, il faut noter les travaux de A. ROCHE, sur la répartition des phosphatases alcalines chez Asellus aquaticus. Les résultats sont les suivants :

- a) L'épithélium branchial, le coeur, et les cellules sanguines, l'hypoderme et les muscles, l'organe de Zenker (celui-ci n'existe que chez Asellus et ne se retrouve pas chez les autres isopodes terrestres) n'ont pas d'activité phosphatasique histochimiquement décelables.
- b) Le nucléole des ovocytes, l'épithélium ovarien de l'oviducte, les spermatogonies et les spermatocytes, la glande maxillaire, donnent une réaction constamment positive.
- c) Dans le tube digestif, la réaction de Gomori donne un résultat variable, suivant le segment envisagé. L'épithélium de l'oesophage donne une réaction de Gomori très nette. L'estomac ne manifeste d'activité phosphatasique alcaline que dans les parties de l'épithélium sous jacentes aux pièces calcifiées. Les typhlosoles, contrairement à la partie ventrale de l'intestin, se colorent en noir intense par la réaction de Gomori. Toutes les régions de l'intestin moyen, contiennent une phosphatase alcaline, mais l'auteur a démontré que cette activité phosphatasique dépend de l'état physiologique (jeune par exemple, état alimentaire).

Les coecums donnent une réaction constamment négative sauf dans la partie proximale, où le pôle apical des cellules donne une réaction positive intense.

ROCHE étudie minutieusement les résultats, et fait remarquer que les phosphatases alcalines non liées à un substrat protidique, échappent à la détection histochimique. Il étudie la signification de l'activité phosphatasique alcaline dans les divers organes où elle a été décelée. Il fait remarquer que l'activité phosphatasique alcaline constante et intense des typhlosoles, doit être en rapport avec leur richesse en ribonucléines, et leur rôle dans

1'absorption.

Nous rapprocherons les résultats remarquables de l'auteur de ceux de BRADFIELD - 1950 - ; celui-ci déclare que les phosphatases interviennent dans trois phénomènes différents : (métabolisme du calcium, échanges de substances, synthèse des protides).

On peut rattacher au premier cas, l'activité phosphatase des épithéliums sous jacents aux parties calcifiées ; Par contre, celle des typhlosoles de l'intestin moyen et de la partie proximale des coecums, de même que celle de la glande maxillaire, ressortent de l'échange de substances ; le corps adipeux et les nucléoles des ovocytes, ainsi que les éléments jeunes de la lignée séminale, ont une phosphatase intervenant probablement dans la synthèse des protides.

Dans ses travaux, M. de NICOLA - 1949 -, a étudié les phosphatases alcalines et le cycle des acides nucléiques dans les gonades de quelques crustacés isopodes. Il conclut : la répartition des monophosphatases alcalines, suit celle de l'acide ribonucléique ; celle des diphosphatases ne suit pas cette répartition de façon si étroite.

Pour lui, les diphosphatases sont, dans une certaine mesure, indépendantes de la répartition de l'acide desoxyribonucléique, et elles ne disparaissent pas graduellement pendant la vitellogénèse.

Je signale les travaux de G. MONTALENTI, G. VITAGLIONE, et de M. de NICOLA. En 1950, ces auteurs étudient l'apport d'acide ribonucléique aux cellules germinales mâles, pendant la méiose, chez *Asellus Aquaticus*. Ils démontrent que les cellules folliculaires à noyau polyploïde du testicule d'*Asellus*, secrètent de l'acide ribonucléique, sous forme de grains. Les cellules germinales l'absorbent semble-t-il, pour la synthèse de la chromatine (acide desoxyribonucléique).

Les auteurs concluent à une relation de cause à effet, entre la présence d'une grande quantité d'acide ribonucléique dans le cytoplasme et le déclenchement de la méiose. Ils discutent de la portée générale d'une telle hypothèse.

VITAGLIANO - 1948 - a étudié le métabolisme de l'acide ribonucléique dans la spermatogénèse d'*Asellus Aquaticus* : Il montre que des cellules testiculaires secrètent un liquide riche en acide ribonucléique, par un processus auquel participe le noyau de type polyploïde. Ce liquide baigne les cellules germinales au cours de la spermatogénèse.

Je signale enfin les travaux de G. VITAGLIONE et M. de NICOLA, sur la production d'acide ribonucléique, et la répartition de la phosphatase, pendant la spermatogénèse, chez *Asellus Aquaticus*. Les cellules polyploïdes passent par deux phases de sécrétion nucléaire, provenant de cellules folliculaires.

Je rappelle aussi les recherches faites sur les glandes tégumentaires des Isopodes terrestres.

RADU, CITODARU, GHEORGHI, ont étudié leur structure, leur position, leur développement.

Les cinq types de glandes, en lambeaux (uropodes, épimères, antennes) - en grappes (péréopodes), en masses (épimères et uropodes), de type radiaire (base des antennes, mâchoires), sont étudiés en détails. Les auteurs ont, d'une part, étudié la structure et la répartition des glandes tégumentaires, et d'autre part, l'origine et l'histogénèse de ces glandes, au cours de l'ontogénèse.

Sur les glandes tégumentaires, on relève nombreux travaux de CORVETT. En 1946, il publie une première étude sur les six types de glandes tégumentaires : les glandes en rosette. Il les décrit chez *PORCELLIO SCABER*. Selon lui, leur structure, leur développement, leur fonctionnement, correspondent aux glandes situées dans la tête, et les pièces buccales chez les décapodes. Elles ont un rapport avec les phénomènes de mue, répandant leur sécrétion quelques jours avant le rejet de la cuticule.

Dans d'autres publications, il précise que les Isopodes possèdent six variétés de glandes tégumentaires : glandes en rosettes précédemment décrites, glandes lobées des parapodes, et des plaques latérales, près des orifices des branchies, glandes composées des antennes ; celles-ci sont des glandes allongées, composées, situées dans le quatrième segment. Elles sont analogues à celles des membres des Arthropodes. Il fait remarquer qu'on ne peut les appeler : glandes antennaires : terme utilisé pour les organes excréteurs. Enfin, petites glandes composées : ce sont des petits groupes répartis dans le corps, spécialement nombreuses dans les antennes et dans les membres.

- Les glandes unicellulaires, larges, situées près du bord latéral des plaques latérales du thorax (organe du Zenker chez *Asellus*) sont des cellules très larges, de chaque côté de l'intestin. Elles sont homologues des glandes lobées. Dans les glandes en activité, CORVETT observe, dans les noyaux, de petits fragments se colorant fortement par l'éosine, entre les granules de chromatine. Ces granules passent hors du

noyau, forment une masse granulaire importante dans le cytoplasme, puis disparaissent graduellement, et le cytoplasme se vacuolise. Il se colore plus intensément par l'hématoxyline. La glande dégénère alors. Le cytoplasme perd son affinité pour l'hématoxyline et l'éosine. La sécrétion est passée dans le canal. L'auteur montre qu'il y a une relation entre l'activité des glandes et le cycle de mue ; En ce qui concerne les glandes en rosette, elle existe. La cuticule serait sécrétée sous forme de substance fluide, par les glandes en rosette, alors que la chitine est sécrétée par l'épithélium chitinogène.

En 1950, CORVETT envisage les "Glandes de Weber" et leur rôle dans la respiration chez les Isopodes terrestres. On a longtemps considéré, dit-il, que certaines glandes tégumentaires des Isopodes terrestres, connues sous le nom de Weber's gland jouaient un rôle important dans la respiration et qu'elles s'étaient développées, par adaptation à la vie terrestre. Il démontre que cette conception est erronée et a pour origine, une mauvaise interprétation de la littérature. De ses recherches, il tire donc la conclusion suivante : Les glandes lobées s'ouvrent sur les plaques latérales et les uropodes. Les glandes de Weber, ou glandes lobées, s'ouvrent près des branchies, ne joueraient aucun rôle dans la respiration. Elles ne sécrètent pas de liquide trachéal ni de couche protectrice à la surface du corps ; elles agiraient comme glandes de défense.

En 1951, sous le titre de "Glandes tégumentaires des Isopodes terrestres", l'auteur étudie les glandes lobées, leur structure et leur distribution. Il montre les différences entre celles des expansions latérales et celles des uropodes. La structure est identique dans les deux sexes. Il fait une comparaison avec les glandes de onze espèces appartenant à onze genres différents. Elles sont particulières aux Isopodes terrestres Oniscoïdes, et sont présentées dans tous les genres, mais elles offrent des variations importantes dans leur taille et leur nombre ; des variations faibles dans leur structure et leur distribution. Aucune structure de même ordre n'existe chez les autres crustacés.

En 1952, CORVETT démontre la propriété de solubilité, fait l'analyse chimique : de la sécrétion des glandes des expansions latérales d'une part, de celles des uropodes, d'autre part. Dans les deux cas, la sécrétion n'a lieu qu'en réponse à une stimulation violente. Il y a variation de la quantité de sécrétion, suivant les individus, le mode de fonctionnement physiologique des glandes.

Je signale les travaux de MACCAGNO et TORINO, sur la sécrétion des glandes tégumentaires lobées des Isopodes terrestres - 1951 - 1952 -

La sécrétion de ces glandes, d'abord liquide, devient visqueuse. L'analyse chimique décelé la présence de protéines cycliques, de tyrosine, de cystine, de mucines, de graisses neutres, de chlorures, d'urée et d'acide urique. Le pH est d'environ 6,4 , 6,5 .

Les glandes tégumentaires ont donc fait l'objet de travaux récents. Par contre, pour l'Isopode marin et côtier *Ligia Oceanica*, on ne relève pas de recherches de cet ordre. De chaque côté de l'intestin et de l'abdomen, on signalait un "branchial néphrocyte" et HEROLD avait décrit trois types de glandes lobées. Celui-ci s'était inspiré des travaux de BEPLER, sur la respiration des Isopodes terrestres, publiés en 1909. Dans cet ouvrage, les glandes décrites par WEBER ont été confondues avec certaines structures de l'abdomen décrites (incorrectement aussi) par NEMEC, en 1895-1896. C'est à ces origines composées par BEPLER, que certains, comme HEROLD, ont donné le nom de Weber's glands.

Cette mise au point est due à GROVETT . Cet auteur signale que le sang et le liquide trachéal (qui n'est pas dérivé des glandes lobées, ni des organes de NEMEC, confondus par BEPLER avec les glandes lobées), ont une réaction nettement alcaline, à pH supérieur à 8. La sécrétion des uropodes, par contre, est toujours neutre : son pH est voisin de 7,4. La sécrétion des plaques latérales nettement acide, a un pH voisin de 2,4. Ces résultats diffèrent donc un peu de ceux de MACCAGNO et TORINO.

MACCAGNO, en collaboration avec PAULUCCI, a publié, en 1950-1951, un travail sur les glandes de l'oviducte, chez les crustacés Isopodes : Il y décrit deux nouveaux types de cellules glandulaires, situées dans le cinquième segment thoracique de certains isopodes terrestres, dans la région ventrale et latérale, entre l'insertion de l'oviducte et l'insertion des périopodes.

MATERIEL ET TECHNIQUES

1) Espèces étudiées et Morphologie.

Les recherches que j'ai entreprises, sont relatives à *Oniscus Asellus* et *Porcellio Scaber*. Avant d'aborder l'examen des glandes dont l'identification s'était avérée d'abord très délicate, j'avais fait une étude morphologique de ces deux espèces, et examiné soigneusement leur anatomie microscopique.

L'étude morphologique que j'ai réalisée, comportait en particulier, l'examen systématique des appendices et leur interprétation, en tenant compte des données de HANSEN. Mais je n'ai pas inclus dans le travail, les monographies ainsi réalisées, les recherches histochimiques s'étant, par la suite, avérées fructueuses. Cette partie monographique aurait, par contre, constitué un utile préambule, si le travail présenté s'était limité à une monographie à la fois morphologique et anatomique des deux espèces étudiées.

2) Fixations : leur but :

Après anesthésie au chloroforme, des individus des deux sexes, des deux espèces pris à des stades divers d'intermue, ont été fixés au Zenker formol. Une femelle avec oostégites bien développées et oeufs dans la poche d'incubation a également été fixée au Zenker formol.

Afin d'étudier l'anatomie microscopique, les pièces fixées au Zenker formol, après passage au collodion, à l'alcool éther, au chloroforme, ont été incluses dans la paraffine, débitées en coupes transversales de cinq microns, et colorées par la méthode de VOLKONSKY.

D'autres individus, fixés au Bensley, traités à la celloidine, inclus à la paraffine, débités en coupes transversales de cinq microns, colorés à l'Azan ou à l'hémalum fuschine, ont permis d'identifier les divers organes aux différents niveaux.

Les fixations au Bensley conviennent pour la plupart des recherches histochimiques relatives aux polysides, aux mucines, aux composés soufrés, au glycogène. Pour la détection de l'acide hyaluronique (technique de Hale sur coupes sans albumine, technique de Kulonen), des exemplaires ont été fixés au Carnoy. La recherche de mucus peut être faite sur coupes fixées au Carnoy, en ayant recours aux fluorochromes. J'ai utilisé de nombreuses pièces au Bensley. Les glandes tégumentaires étant développées dans la partie abdominale, j'ai fixé l'abdomen seul de plusieurs individus. Quelques unes de ces pièces ont été coupées longitudinalement.

Pour la recherche des ribonucléines, des animaux ont été fixés à l'alcool formol acide acétique.

Les fixations à l'alcool acétone, suivies de l'inclusion immédiate, permettent, si l'on coupe rapidement les pièces, d'effectuer la recherche de la phosphatase alcaline, suivant la technique de GOMORI.

3) Principe des techniques histochimiques.

a) Recherche des aldéhydes libres et des polysaccharides.

Les aldéhydes libres recolorent la fuschine bisulfitee. Par conséquent, leur présence sera signalée par l'action directe du réactif de SCHIFF.

Les polyosides ont été recherchés. Une oxydation convenable libère des fonctions aldéhydes que le réactif SCHIFF peut mettre en évidence. Deux moyens d'oxydation ont été employés : soit par l'acide périodique (IO_4H), méthode de HOTCHKISS, soit par l'acide chromique, méthode de BAUER.

Pour la détection du glycogène, il faut avoir recours à un contrôle : La digestion salivaire le fait en effet disparaître.

La technique de HALE, permet de déceler la présence d'acide de hyaluronique. La combinaison de ce polysaccharide acide à l'hydroxyde de fer, en présence d'acide acétique, est révélée par le ferrocyanure de potassium. C'est la réaction de formation du bleu de Prusse. La couleur du composé formé doit être franche. Cette technique de HALE est recoupée par celle de KULONEN. L'action de l'hyaluronidase permet la détection, par le nitrate d'argent, des composés réducteurs formés. Si le noyau des cellules renferme du fer, l'acide acétique donnera une coloration bleue. Ce fer existait avant la réaction chimique et ne peut résulter de la combinaison de l'acide hyaluronique à l'hydroxyde de fer, en présence d'acide acétique.

b) Distinction des polysaccharides acides et des polysaccharides neutres.

La méthode de Hale est basée sur le fait que les premiers forment des sels de fer. Selon LISON, la spécificité de la réaction est douteuse. La cation Fe^{+++} peut s'unir non seulement aux polysaccharides acides, mais encore aux acides nucléiques, et, en outre, être absorbé par des protéines.

Or, l'action de l'hyaluronidase dépolymérise rapidement l'acide hyaluronique. (C'est un moyen de différencier entre eux, les mucopolysaccharides des acides).

La valeur histochimique de la digestion à la hyaluronidase, dépend de la spécificité d'action du ferment. L'hyaluronidase, tout au moins certaines préparations d'hyaluronidase, agissent sur des sulfamucopolysaccharides, comme l'acide chondroïtine sulfurique et l'acide mucosine sulfurique.

c) Valeur histochimique des réactions de HOTCHKISS et de BAUER.

Selon BAUER, le glycogène et quelques autres polysaccharides donnent, après traitement à l'acide chromique, une forte coloration rouge pourpre avec le réactif de SCHIFF. L'acide chromique agissant en tant qu'oxydant, met en effet, les aldéhydes en liberté. Mais l'oxydation par l'acide chromique, ne s'arrête pas au stade aldéhyde. Par ce point, technique de BAUER diffère donc de l'oxydation périodique réactif SCHIFF. Dans cette dernière, l'oxydation s'arrête au stade aldéhyde et la prolongation de traitement par l'acide périodique ne modifie pas la réaction. Pour chaque concentration de la solution d'acide chromique, existe une durée d'action optimum. Si on la prolonge, la coloration avec le réactif de SCHIFF, s'affaiblit.

Si la réaction de BAUER a un point commun avec l'oxydation périodique SCHIFF (apparition des groupements aldéhydiques par oxydation de groupements alcooliques) elle en diffère par le fait que l'oxydation se produit jusqu'au stade carboxylique.

Spécificité de la réaction de BAUER. Toute substance BAUER positive, est aussi positive dans la réaction de HOTCHKISS. L'inverse n'est pas vrai. Un grand nombre de localisations positives par la méthode de HOTCHKISS n'ont pas été décrites comme étant BAUER positives. Les discordances sont-elles dues au fait que la réaction de BAUER est moins sensible que la réaction de HOTCHKISS. LISON croit à une différence essentielle : Dans les éléments où l'on a localisé la réaction positive de BAUER, la présence de polysaccharides a été démontrée de façon irréfutable. Quant aux éléments BAUER négatifs, et en même temps positifs par la méthode de HOTCHKISS, ce sont des éléments dans lesquels la présence de polysaccharides n'a pas été démontrée.

d) Recherche du Glycogène.

La réaction de BAUER, l'oxydation périodique, réactif de SCHIFF, peuvent être utilisées. Ces méthodes impliquant l'action de traitements oxydants, il est obligatoire de collodionner les coupes.

Né la réaction de BAUER, ni l'oxydation périodique réactif SCHIFF, ne sont spécifiques pour le glycogène. Le contrôle s'effectue au moyen de la digestion salivaire qui dissout le glycogène.

J'ai employé la réaction à l'iode (gomme iodée, huile paraffinée et iode par exemple). Ces méthodes simples et sûres, doivent être contrôlées. En effet la spécificité de la réaction n'est pas entière. L'amyloïde donne une réaction semblable. Certains constituants protéiques, sont capables de se colorier en brun, par l'iode. La contre épreuve de la salive est, ici aussi, nécessaire.

e) Recherche des Mucines.

Parmi les constituants des mucines, l'acide mucosulfurique est décelable par le bleu Alcian et aussi par son pouvoir chromotrope (technique de la métachromasie permanente de HESS et de HOLLANDER, par exemple).

Le bleu Alcian donne donc une réaction positive avec les mucopolysaccharides acides, faible avec les mucoprotéines ; Toutefois, il ne peut permettre la discrémiation entre l'acide chondroïtine sulfurique et l'acide mucosulfurique.

La métachromasie est donnée par tous les mucopolysaccharides acides, mais non par les polysaccharides neutres. Elle n'est pas l'apanage exclusif des polysaccharides renfermant un groupement ester sulfurique. L'acide glycuronique (exempt de soufre) a été reconnu comme ayant des propriétés métachromatiques. La mucine est chromotrope. Elle renferme de l'acide mucosulfurique.

Signalons enfin la méthode de GOMORI, d'identification des mucines.

Son principe est le suivant : L'oxydation chronique conduit à la formation de composés réducteurs mis en évidence par une solution alcaline de nitrate d'argent et d'hexaméthylène tétramine.

f) Détection de l'acide ribonucléique et signification de la coloration au vert de méthyle pyronine.

La pyronine employée sous forme de mélange de Unna, indique la présence d'acide ribonucléique. L'intensité de coloration peut être mise en rapport avec la quantité d'acide ribonucléique présente dans le tissu. Le véritable intérêt de la coloration au vert de méthyle pyronine est donc la mise en évidence élective des ribonucléines. L'intensité de coloration à la pyronine augmente parallèlement à la teneur en ribonucléines des tissus. L'acide désoxyribonucléique apparaît coloré en vert, mais, pour ce dernier, la réaction n'est pas spécifique. La pyroninophilie de l'acide ribonucléique,

n'a sa vraie signification que s'il l'on pratique une réaction de contrôle : destruction de l'acide ribonucléique par la désoxyribonucléase, suivant les modalités précisées par J^Y BRACHET.

g) Principe de la recherche de la phosphatase alcaline.

La technique de GOMORI, donne une réaction positive avec la phosphatase alcaline, quand elle se traduit par précipité noir visible au terme final de la réaction. Celui-ci est constitué par du sulfure de cobalt qui s'est formé à la suite d'une longue chaîne de réactions, de substitutions dont les termes principaux sont les suivants : Glycérophosphate de sodium — phosphate de calcium — phosphate de Cobalt et — sulfure de cobalt.

Ces réactions en cascade, nécessitent une scrupuleuse vérification. D'autre part, le traitement au sulfure d'ammonium, produit le noircissement du fer ionisable, présent dans la préparation et le sulfure de fer ne peut pratiquement pas être distingué du sulfure de cobalt dans une coupe histologique. Pourvu que l'on s'astreigne à pratiquer des préparations témoins, la réaction de GOMORI donne des résultats spécifiques. Pour conserver l'activité enzymatique, il faut un fixateur comme l'alcool acétone.

h) Détection des composés soufrés.

La méthode de CHEVREMOND et FREDERICQ, a été employée. Ce test est basé sur la réduction du ferricyanure ferrique incolore en ferrocyanure ferrique ou bleu de Prusse, par l'action du radical SH. Le résultat est positif avec nombre de composés réducteurs : glutathion, cystéine. Ces composés se dissolvent l'un et l'autre dans l'eau et les solutions aqueuses. Les résultats positifs des tests au nitroprussiate, après fixation histologique, peuvent être attribués aux groupes SH des protéines cytoplasmiques.

Principe de l'action du bleu de méthylène à bas pH.

Elle suit l'oxydation performique. Le bleu de méthylène à bas pH, pendant deux heures, semble considéré par les auteurs, comme étant spécifique pour la démonstration des produits de réaction contenant du soufre. (SH est oxydé en S - S -).

L'oxydation performique peut faire apparaître trois groupes : sulfonique SO_3H , sulfinique SO_2H , aldéhyde. Les radicaux sulfonique et sulfinique, donnent une réaction avec le bleu de méthylène. Les aldéhydes ne sont pas responsables des résultats avec le bleu de méthylène. A condition d'être utilisée à bas pH, la technique au bleu de méthylène semble plus spécifique que le SCHIFF.

L'oxydation performique suivie du SCHIFF, peut déceler des lipoides. En effet, après oxydation, les lipoides ont pu être transformés en aldéhydes, donc positives après oxydation périodique SCHIFF.

Outre ces recherches histochimiques, j'ai également essayé d'identifier le pigment sous tuculaire. Le permanganate de potassium et l'acide oxalique permettent d'identifier la mélanine. La méthode est due à ALFUI. Les coupes traitées au permanganate de potassium jusqu'à brunissement, sont lavées à grande eau ; On décolore, par l'acide oxalique à 1/300° qui dissout l'oxyde de manganèse. La mélanine doit disparaître.

. . .

1 - ANATOMIE MICROSCOPIQUE -

=====

Les colorations à l'Azen, à l'hémalum fuschine, m'ont permis d'identifier les divers organes observés dans les coupes transversales (Pl. IV - V - VI).

-:-

▲ - APPAREIL DIGESTIF - =====

Chez ONISCUS, comme chez PORCELLIO, l'appareil digestif comprend :

- a) un oesophage, court, bordé par les appendices buccaux. Presque vertical, il reçoit la sécrétion des glandes salivaires situées dans la tête (Pl. IV, fig. 3).
- b) un estomac, volumineux. La dissection y révèle des pièces dures, chitineuses. La forme est subpentagonale. Il commence dans la tête qu'il occupe, ainsi que le premier anneau thoracique. La paroi dorsale est presque plate (fig. 4 et 6, Pl. IV) et se continue à l'arrière, par l'intestin moyen. La partie antérieure paraît légèrement oblique. Vue de dessus, la section est semi circulaire (fig. 4 et 6, Pl. IV).
- c) A l'estomac, fait suite, intestin moyen. Il s'étend de la partie pylorique de l'estomac, jusqu'au rectum. Sa largeur est uniforme. Il se rétrécit pourtant à l'arrière. Les cellules épithéliales de l'intestin, ont un arrangement qui permet de faire une démarcation. Je préciserai ultérieurement, dans la partie cytologie, histologie, ces différences. La paroi de l'intestin comporte toujours trois couches : une couche externe, musculaire, une membrana basale médiane, intérieurement l'épithélium recouvert d'une membrane chitineuse - (Pl. I. fig. 8). Les cellules de l'intestin moyen, sont, en général, de grande taille, possèdent de grands noyaux, et peuvent former un syncytium. Mais l'arrangement des cellules varie dans les différentes régions de l'intestin moyen. La partie antérieure de celui-ci présente une gouttière médiodorsale compartimentée par une cloison axiale émanant de sa partie profonde. ...

Cette gouttière s'élargit vers la partie postérieure : c'est le typhlosole. Dans la partie médiane ventrale de l'intestin moyen, les cellules épithéliales présentent un arrangement très irrégulier.

- d) Le rectum, est un tube court, uniforme ; il débouche à l'extrémité postérieure de l'individu. (Pl. IV, fig. 7).

B - GLANDES ANNEXES - = =====

On observe :

- 1) Des glandes salivaires, situées dans le segment céphalique.
- 2) Un hépatopancréas, composé de quatre tubes hépatopancréatiques, débouchant au niveau du pylore. Ils s'étendent de la région pylorique de l'estomac, jusqu'aux segments abdominaux où ils se terminent en cul de sac. Ils sont disposés ventrolatéralement, par rapport au tube digestif. Leur diamètre maximum semble se situer vers le quatrième ou cinquième anneau thoracique. A la dissection, les tubes ont une apparence spiralée (due aux muscles bien disposés). Cette apparence spiralée est nette sur les 2/3 environ, (Pl. IV, fig. 4-5, Pl. V).

C - APPAREIL CIRCULATOIRE - = =====

Les coupes anatomiques montrent un large vaisseau sanguin dorsal ; c'est le cœur. Situé dorsalement par rapport au tube digestif, il s'étend depuis le dernier segment ~~thoracique~~ abdominal, jusqu'à la partie antérieure du quatrième segment thoracique. (Fig. 7, Pl. IV - fig. 1 Pl. V - Pl. VI, fig. 1).

Sur un individu jeune, ou venant de muer, on peut l'observer par transparence.

Dans la région de l'intestin moyen (partie centrale) se trouvent des vaisseaux sanguins. Ce sont les artères intestinales.

D - ORGANES GENITAUX - = =====

Chez le mâle, les deux paires de testicules allongées se prolongent par un fin filament. Ils sont placés dorsalement, par rapport à l'intestin. Les canaux déférents sont situés sur les côtés dorsolatéraux de l'intestin. Il y a deux conduits étroits qui se bifurquent

ventralement autour des tubules hépatiques et viennent s'ouvrir à la base d'un appendice styliforme. (Fig. 8, Pl. IV). Dans les segments thoraciques II, III, IV, V, VI et VII, il existe des tractus de la gonade, s'insérant au niveau des segments thoraciques II, III, IV, V, VI et VII.

Chez la femelle, les ovaires sont des tubes longitudinaux situés dorsalement, par rapport à l'intestin. Au niveau du cinquième segment thoracique, les oviductes se séparent et se dirigent vers la face ventrale du corps.

L'oviducte est à peu près cylindrique, plus large près de l'ovaire. Une simple couche de cellules épithéliales paraît le constituer. Les orifices génitaux indépendants, ont la forme d'une fissure allongée, bordée par un épaissement chitineux.

E - SYSTEME NERVEUX -

= =====

Les coupes transversales examinées, montrent successivement, une masse nerveuse, cérébroïde, (Pl. IV, fig. 1) le collier périoesophagien, (Pl. IV, fig. 3), des ganglions suboesophagiens. Dans le thorax, existe une chaîne ganglionnaire ventrale. Dans l'abdomen, je ne la retrouve pas.

F - GLANDES TEGUMENTAIRES -

= =====

J'ai pu localiser les glandes tégumentaires, aux différents niveaux, par observation des coupes transversales (Pl. IV - V - VI).

Les types suivants, ont été mis en évidence :

- 1°) Les glandes en lambeaux - s'observent dans les uropodes et dans les épimères de tous les segments, surtout sur le bord de ceux-ci. La structure est la suivante : elles paraissent formées d'un épais corps glandulaire, contenant deux gros noyaux et un système très riche de canaux excréteurs. Ceux-ci semblent entourer superficiellement l'ensemble du corps glandulaire. Ces canaux se prolongent jusqu'aux pores d'excrétion.

- 2°) Les glandes en masse : sont situées dans les uropodes, région riche en glandes tégumentaires. Elles y coexistent avec les glandes en lambeaux précédemment décrites. La disposition est la suivante : quatre cellules d'inégale grandeur, se ressemblant les unes aux autres, munies d'un canal excréteur (Pl. VI, fig. 2).
- 3°) A la base des épimères du thorax, se trouvent les glandes en masse du thorax. Elles sont particulièrement développées dans les segments postérieurs. Au point de vue structure, ces glandes semblent formées de nombreuses cellules. Une ou deux d'entre elles, plus grandes, sont remarquables. Peut-être constituent-elles la plus grande partie du corps glandulaire. Les autres, plus petites, sont un nombre variable. (Fig. 4, Pl. IV).
- 4°) Dans la tête, à la base des antennes, à la base des pièces buccales et dans ces pièces buccales même, on peut voir des "masses glandulaires en rosette". Elles correspondent sans doute, aux glandes en rosette signalées par GORVETT. Elles sont de type radiaire ; elles se composent en effet, de plusieurs cellules fixées autour d'un centre. Chaque cellule possède un noyau assez volumineux (réseau et nucléole bien visibles). Les cellules accolées, forment une rosette et l'on remarque un ensemble de canaux à la limite formée par leur cytoplasme et le centre de la masse glandulaire. L'ensemble de ces canaux formerait une sorte de crible. Le centre du canal jouerait le rôle de canal excréteur.
- 5°) Une coupe transversale des antennes, montre, dans l'avant dernier article, une section de glandes en grappe (Fig. 1, Pl. IV). Dans ce cas, la glande paraît formée d'un grand nombre de cellules glandulaires, séparées par des vides. La coupe montre la section de nombreux canalicules superficiels. (Pl. I, fig. 7) Au centre, existe un canal possédant un noyau. Chaque cellule glandulaire possède une membrane criblée. Le cytoplasme apparaît plus ou moins vasculaire. En examinant diverses coupes transversales, j'ai retrouvé de telles glandes en grappe, dans les péréopodes.

REMARQUES :

- 1) Cependant, l'étude des glandes tégumentaires ne faisant pas l'unique objet du travail, les glandes en grappe n'ont pas été systématiquement étudiées.

Seules, parmi les glandes tégumentaires, ont été examinées, au point de vue cytologie, histologie et histochimie, les glandes localisées dans les schémas aux divers

niveaux du corps des cloportes. Ce sont les glandes en rosette, les glandes en lambeaux des épimères, les glandes en masses (uropodes).

- 2) L'Azan ne permet qu'une mauvaise identification des glandes tégumentaires : l'éorine, le vert lumière, employés comme colorants de fond dans les réactions histochimiques, m'ont permis de les repérer. Le Volkowsky permet une étude approfondie de la cytologie, des glandes tégumentaires.

°
°° °°

11 - CYTOLOGIE - HISTOLOGIE -

HISTOCHIMIE DES DIFFERENTS ORGANES

A - TUBE DIGESTIF -

1) Oesophage.

De la lumière vers l'extérieur, j'observe, en coupe transversale, un épithélium digestif, une membrane basale, pas de couche musculaire bien distincte. L'épithélium digestif est ici formé de cellules assez hautes qui possèdent des membranes plus ou moins distinctes. Les noyaux aux granulations azurophiles, nettement visibles après traitement au Volkowsky, sont petits, subsphériques et occupent le ventre de la cellule. Près de la membrane basale, j'observe des cellules plus petites, vraisemblablement des cellules de remplacement. La partie apicale de l'épithélium oesophagien est bordée d'un revêtement de chitine lamelleux azurophile (Pl. VII, fig. 1).

2) Estomac.

L'épithélium digestif y présente des aspects différents, dorsalement, ventralement et latéralement. Dorsalement, les cellules sont plus larges que hautes, et bordent la gouttière dorsale. Le noyau volumineux a des granulations azurophiles. Ventralement, l'observe la dent médiane tapissée d'un syncytium aux noyaux nombreux et allongés. Dans la région de la dent médiane, l'épithélium digestif proprement dit, est formé de cellules bien distinctes, plus hautes que larges et à noyau allongé. Au pôle apical, je n'ai pas observé de revêtement lamelleux. La musculature est bien développée dans la région stomacale. (Pl. IV, fig. 4). Ces muscles sont "extrinsèques". La musculature intrinsèque est également bien développée. Des fibres musculaires peuvent ainsi s'observer de chaque côté de la dent médio ventrale. Elles semblent diverger en éventail du sommet de cette dent et s'attacher sur les côtés latéraux ventraux de l'estomac. Latéralement, les cellules sont aplaties, plus larges que hautes.

3) Intestin moyen.

En coupe transversale, j'ai nettement observé trois couches : la couche externe musculaire, la partie moyenne ou membrane basale médiane, la couche interne épithéliale microphoto (Pl. 1, fig. 7).

- a - Partie antérieure : L'épithélium digestif y présente, dans sa partie médiane, une gouttière, une rainure ; les deux bords de la gouttière "réinvaginés", forment la région du typhlosole. La rainure est bordée de part et d'autre de cellules à deux noyaux. Les cellules qui forment l'épithélium digestif dorsal, sont peu nombreuses, bien distinctes, presque aussi larges que hautes. Les cellules latéro dorsales, sont plus larges que hautes (Fig. 1, Pl. IX). Le noyau présentant un réseau et des granulations azurophiles, subcentral, est volumineux. La bordure apicale est chitineuse. Latéralement, les cellules s'aplatissent ; les noyaux au réseau chromatique azurophile, sont volumineux. Ventralement, les limites cellulaires ne sont pas très distinctes. Le tissu tend à prendre une structure syncytiale. (Pl. fig.). Peu à peu, la gouttière dorsale se ferme, les cellules qui la bordaient, deviennent moins larges. Elles possèdent un noyau. Parfois, les membranes latérales s'accolent. (Pl. IX, fig. 1).
- b - dans sa partie postérieure : les cellules de l'épithélium digestif ont des limites bien distinctes dans la partie dorsale. Elles forment une proéminence qui prolonge la typhlosole. A la base, je n'observe pas de cellules de remplacement (Pl. VII, fig. 4). Le noyau volumineux aux granulations azurophiles, est sphérique ou subsphérique. Il est entouré de cytoplasme plus ou moins fibrillaire. Le cytoplasme du pôle basal compact ne présente ni azurophilie, ni fuschmophilie. Il paraît jaune orange, après coloration au Volkowsky. Les cellules épithéliales sont plus hautes que larges. Le pôle apical est bordé de chitine lamelleuse. Sous celle-ci, existe une bordure en brosse. Latéralement, chaque cellule de l'épithélium digestif a un aspect identique à celui d'une cellule dorsale (Pl. VII, fig. 2). Elle peut s'aplatir. Les limites sont bien distinctes, et l'on voit apparaître des cellules de remplacement qui s'intercalent à la base des cellules épithéliales. Les noyaux, petits, y sont parfois visibles. Alors que le pôle basal des cellules épithéliales est arrondi, la bordure apicale des cellules épithéliales, est en brosse. (Pl. VII, fig. 2). Cette bordure en brosse est nettement visible, quand le revêtement chitineux a été enlevé. Ventralement,

...

J'ai remarqué l'arrangement très irrégulier des cellules de l'épithélium digestif (fig. 5, Pl. VII). Les noyaux sont bien visibles, mais les parois cellulaires, sont indistinctes (allure syncytiale). Cet arrangement devient de plus en plus irrégulier, vers la partie postérieure. Dans le rectum, l'épithélium digestif est constitué de cellules plus ou moins régulièrement disposées. Les noyaux sont volumineux, nombreuses, les cellules de remplacement. Celles-ci ne se trouvent plus seulement à la base de l'épithélium, mais dans toute son épaisseur, (fig. 6, 7, 8, Pl. VII). Chez les espèces étudiées, les différentes portions de l'intestin ont le même aspect histologique et cytologique. L'aspect des différentes cellules épithéliales est identique. Les mêmes différences cytologiques s'observent dans les parois latérales, dorsale et ventrale de l'intestin moyen. Chez les femelles, sacrifiées en Juin, portant des oostégites bien développées, et même des œufs dans les poches d'incubation, j'ai observé, en coupe transversale, une section de tube digestif aplatie, dorso ventralement (Pl. V, fig. 2). Les ovaires sont développés et le compriment sans doute. Je n'ai jamais pu mettre en évidence, le choncriome dans les cellules épithéliales, par la méthode de Volkowsky. Au point de vue cytologie, j'ai étudié successivement, l'oesophage, l'estomac, l'intestin moyen, le rectum. J'ai remarqué que les cellules épithéliales de l'intestin moyen différaient dans leur paroi dorsale, ventrale et latérale. Cela doit nous faire pressentir un chimisme différent dans ces catégories cellulaires. Les réactions histo-chimiques, seront-elles les mêmes dans le typhlosole (caractéristique de la région antérieure de l'intestin moyen) dans la région correspondante de l'intestin moyen postérieur, où n'existe plus qu'une légère invagination (Fig. 4, Pl. VII).

Histochimie dans l'Epithélium digestif.

=====

1°) Recherche de ribonucléines.

Je l'ai effectuée, par la méthode de BRACHET, sur matériel fixé à l'alcool, formol, acide acétique. Toutefois, les contrôles ont été faits par hydrolise par HCl à chaud (60°) selon VANDRELY RANDAVEL. Elle a donné les résultats suivants :

Dans l'oesophage, j'ai décelé de petites quantités de ribonucléines cytoplasmiques, près des noyaux sphériques. Le nucléole est pironinophile.

Dans l'épithélium stomacal, j'ai décelé des ribonucléines. Je rappelle l'existence d'un syncytium stomacal, révélé par l'étude cytologique et histologique. Au pôle des noyaux allongés et nombreux de ce syncytium stomacal, j'ai décelé une faible quantité de ribonucléines cytoplasmiques. (Ce syncytium est localisé dans la région de la dent médioventrale) (Pl. IX, fig. 3)). Vers la lumière de l'estomac, l'épithélium digestif de la région, à cellules hautes, renferme également des ribonucléines (Pl. IX, fig. 3)).

L'examen en série de coupes effectuées dans la région stomacale, m'a conduit aux résultats suivants : les ribonucléines sont surtout abondantes dans les parois latérales, près des pièces calcifiées de l'estomac, et dans la partie ventrale, à la base de la dent médiane.

Dans l'intestin moyen, les résultats diffèrent dans les cellules dorsale, latérale et ventrale de l'épithélium digestif. Dans toutes les cellules, le nucléole des noyaux s'est coloré avec intensité. (Richesse en acide ribonucléique).

Le cytoplasme des cellules épithéliales montre une coloration intense, ce qui indique la présence de ribonucléines cytoplasmiques. La réaction est en effet spécifique des ribonucléines, et elle est d'autant plus intense, que celles-ci sont plus abondantes. Aussi, dois-je signaler les différences dans l'intensité de coloration. Les cellules dorsales de l'intestin moyen antérieur, qui bordent la gouttière du tube digestif, montrent une pyroninophilie intense du cytoplasme. (Pl. IX, fig. 2). Les ribonucléines se localisent en plages, près du noyau. Quelques ribonucléines semblent diffuser dans les espaces cellulaires éloignés du noyau. Les cellules dorsales qui bordent l'axe de symétrie, renferment également des ribonucléines dans leur cytoplasme, mais la réaction est moins intense que dans les cellules précédentes (Pl. IX, fig. 2).

Latéralement, l'épithélium digestif, est formé de cellules plus hautes que larges, à noyau moins basal. Il révèle des ribonucléines cytoplasmiques abondantes, plus particulièrement au pôle basal de la cellule, et dans le voisinage immédiat du noyau. (Pl. I, fig. 1).

Ventralement, l'arrangement des cellules devient irrégulier, et leurs limites imprécises. Dans de telles formations syncytiales, il n'est pas possible de préciser les rapports entre les ribonucléines cytoplasmiques et le noyau.

Les cellules dorsales de l'intestin moyen postérieur, présentent toujours une réaction positive. Les ribonucléines sont donc présentes. Si le typhlosole n'est plus net, les deux cellules dorsales accolées par leurs parois latérales, sont visibles et présentent des ribonucléines, dans leur région basale. (Pl. IX, fig. 1). Latéralement, la pyroninophilie cytoplasmique est assez faible. Les ribonucléines sont localisées autour du noyau. Elles paraissent moins abondantes que dans les cellules latérales antérieures (teinte plus faible). (Pl. VIII, fig. 2). Une coupe abdominale montre peu de ribonucléines dans l'épithélium digestif. Mais elles sont toujours identifiables dans la région dorsale.

Toutes les régions de l'épithélium digestif, montrent donc des ribonucléines pyroninophiles. Dans l'intestin moyen, elles s'observent toujours au pôle basal de la cellule, et sont plus abondantes près du noyau. L'hydrolyse par HCL, à chaud, a fait disparaître, dans les coupes témoins, la teinte rose cytoplasmique. Le nucléole garde sa teinte rose. Le ribonucléaire est devenu rose.

2°) Recherche de la phosphatase alcaline.

J'ai utilisé la méthode de GOMORI. Dans le tube digestif l'activité phosphatasique est faible. Je l'ai décelée dans les parois ventrale et latéro ventrale de l'estomac. (Pl. X, fig. 6, 5). Je n'ai pas noté d'activité phosphatasique dans la partie dorsale de l'intestin moyen antérieur et en particulier dans la région du typhlosole. ROCHE l'a signalé comme étant très importante dans cette région, chez *Asellus Aquaticus*, et la rapproche de sa richesse en ribonucléines que j'ai, par ailleurs, constatée chez *Oniscus* et *Porcellio*. La région dorsale serait une zone d'absorption, ce qui explique la richesse en phosphatase alcaline chez *Asellus Aquaticus*, mais n'explique pas mes résultats. Divers auteurs, (ROCHE, entre autres), ont signalé que l'activité phosphatasique dépend de l'état physiologique, pour les différentes portions du tube digestif. Il est donc difficile, dans ces conditions, de rechercher la signification de l'activité phosphatasique alcaline. Il faut signaler que l'intestin moyen des Isopodes, est considéré comme dépourvu de rôle, dans l'absorption intestinale, fonction qui serait dévolue aux coecums hépatopancréatiques. Mes observations concorderaient avec l'opinion admise, mais avec une réserve, puisque, d'autre part, l'état physiologique de l'animal interviendrait dans cette activité.

Quant à l'activité phosphatasique observée dans la zone de l'épithélium gastrique qui supporte les pièces broyeuses plus ou moins calcifiées, elle paraît avoir un rapport avec la calcification de cette région du tube digestif.

3°) Recherche de mucines de polysaccharides.

L'épithélium digestif possède un pouvoir chromatope. Il semble que l'intensité de virage du bleu de toluidine soit plus forte dans l'intestin moyen. La métachromane est intense dans les cellules épithéliales dorsales de l'intestin moyen (région du typhlosome), dans les cellules latérales également. Dans l'une et l'autre catégories de cellules, la métachromane, très vive au pôle apical, s'affaiblit vers la base. (Fig. 1 Pl. XIV - fig. 10, Pl. XI). La technique de GOMORI, pour l'identification des mucines, donne une réaction négative dans les cellules de l'oesophage, dans les cellules épithéliales de la paroi dorsale de l'estomac, de la paroi latéro-dorsale et latérale. Seules, les cellules latéro-ventrales et ventrales de l'épithélium stomacal, paraissent posséder des mucines sous forme de plages. Les cellules épithéliales de l'intestin moyen ont une réaction constamment négative avec cette méthode.

Le bleu Alcian, fournit une coloration nulle, ou très faible, dans une grande partie de l'épithélium digestif. Par contre, les cellules épithéliales, latérales et ventrales de l'intestin moyen, se colorent vivement dans la région de la bordure en brosse (sous le revêtement chitineux. (Fig. 7 et 8, Pl. XI). Dans les cellules dorsales, la réaction est négative. (Fig. 8, Pl. X).

L'oxydation périodique, suivie du réactif de SCHIFF, donne une réaction positive dans les cellules de l'intestin moyen, surtout localisée du pôle apical de la cellule (Pl. XI, fig. 6, 15, 9). Si la digestion salivaire précède l'oxydation périodique, la réaction reste nettement positive au pôle apical des cellules de l'intestin moyen. La technique de BAUER, par oxydation chromique, fournit des résultats identiques; et la réaction reste nettement positive au pôle apical de la cellule, si une digestion salivaire a précédé l'oxydation chromique. La technique de HOTCHKISS, et la technique de BAUER, donnent une réaction plus faible lorsqu'elles ont été précédées d'une digestion salivaire. On peut présumer la présence de deux sortes de polysaccharides, les uns, digérées par la salive, les autres, non attaquées par l'amylase salivaire.

J'ai délipidé quelques coupes dans la même région. (extraction par chloroforme et méthanol). L'oxydation périodique suivie du réactif de SCHIFF, fournit alors une réaction intense au pôle apical des cellules, plus faibles à la base, près du noyau (Fig. 3 et 4, Pl. XI). Il existe donc, vraisemblablement, des polysaccharides dans l'épithélium digestif. Les résultats des diverses réactions ont été rassemblés dans le tableau ci-dessous, leur confrontation permet de faire discrimination des catégories de polysaccharides.

Nous avons recherché l'acide hyaluronique, par la technique de HALE ; celle-ci s'est constamment montrée négative dans les cellules épithéliales. La réaction positive dans le noyau, n'indique que la présence de fer ++ (fig. 11, Pl. XI). La méthode de KULONEN, par ses résultats négatifs, prend la valeur d'un contrôle. Quant au glycogène, il paraît présent dans les cellules épithéliales de l'intestin moyen. On le trouve, sous forme de plages, plus denses à la base (fig. 5, 6, Pl. XII). Ceci expliquerait la réaction positive, mais moins intense, après digestion salivaire, de la méthode de HOTCHKISS.

L'oxydation performique, suivie du SCHIFF, a donné une réaction négative. Seuls, quelques grains du noyau ont pris une teinte rose (Fig. 5, Pl. XI).

Nous pouvons conclure à l'absence de glycolipides.

Résultats : histochimie dans l'épithélium digestif.
(Voir Tableau, page suivante).

Conclusions :

Dans les diverses sortes de cellules épithéliales du tube digestif, nous pouvons conclure à l'absence d'acide hyaluronique, par suite de la concordance des techniques de HALE et de KULONEN.

Dans les cellules épithéliales de l'intestin moyen, nous observons une substance localisée au pôle apical de la cellule qui présente à la fois, une réaction positive, par la méthode de HOTCHKISS, positive au bleu Alcian et métachromatique. Il s'agit certainement d'un mucopolysaccharide acide, mais autre que l'acide hyaluronique. Je ne puis conclure à la présence d'une mucoprotéine ; celle-ci donne bien une réaction positive au bleu Alcian (bien que légère). Mais les mucoprotéines ne sont pas métachromatiques. Il en est de même des mucopolysaccharides neutres.

Suite des Conclusions, Page 28.

	GOMORI	Blou Alcian	PAS	BAUER	P A S après di- gestion salivaire	P A S après déli- pidation	Méta- chroma- sie	PFA	HALE	KULONEN	Gly co gène
Oesophage	-		+	+	(au pole apical) +	+		-	-	-	
				moins intense	moins intense						
				se à la base	se à la base						
				la base							
Estomac											
paroi	-		+		+	+		-	-		
dorsale	-			moins intense		intense au pole apical					
latérale	-		+	se à la base							
(ventrale)	-		+								
intestin moyen											
dorsal	-	+	+		+	+					+
latéral	-	sur- tout dans le re- vête- ment	+			sur tout au pole apl- cal - plus ou moins in- tense à la base près du noyau					places denses à la base
(ventral)	-	de chû- tine	+								

Si, dans les cellules épithéliales, il existe surtout, au pôle apical, des substances présentant une réaction positive, après la technique de HOTCHKISS et la technique de BAUER, elles semblent présentes également à la base des cellules. La digestion salivaire en fait disparaître une partie. Ces substances sont de plus, négatives au bleu Alcian.

La délipidation montre qu'il s'agit bien d'un polysaccharide, et non d'un glycolipide. Ce polysaccharide est peut être du glycogène. Celui-ci est PAS +, BAUER +, ne donne aucune réaction au bleu Alcian. D'autre part,, dans les mêmes régions, nous avons décelé par le Lugol et la gommiodée, des grains brun acajou, plus denses à la base. Les deux observations se recoupent donc. En effet, si, après digestion salivaire, l'oxydation chromique, l'oxydation périodique, suivies du SCHIFF, sont positives, l'intensité de coloration est moindre. Nous pouvons donc préciser que, si le glycogène existe, il est sûrement associé à d'autres polysides. Le glycogène n'étant pas métachromatique, il n'est pas étonnant que le pouvoir chromotrope soit moindre au pôle basal de la cellule où serait localisé le glycogène, tandis que le pôle apical, riche en mucopolysaccharides acides, est, par contre, vivement métachromatique.

4°) Recherche de composés soufrés.

L'oxydation performique suivie de l'action du bleu de méthylène, à bas pH, donne une réaction négative dans les cellules épithéliales de l'oesophage, de l'estomac. Il n'y aurait donc pas de composés soufrés intracytoplasmiques dans cette région. Quant à l'intestin moyen, il montre une réaction faiblement positive dans ses parois dorsale, latérodorsale, ventrale. Dans les cellules dorsales, les granulations cytoplasmiques indiquent une réaction positive. Les noyaux montrent aussi une réaction positive (fig. 3, 4, Pl. X). Les cellules latérales et ventrales, montrent une réaction positive dans leur bordure apicale et faible dans le cytoplasme basal. La technique de CHEUREMOND et FREDERIQUE, décelle la présence de granulations positives à la base des cellules épithéliales de l'intestin. La bordure apicale a une réaction également positive. Puis-je conclure à la présence de composés soufrés ? S'ils existent, ils sont beaucoup moins abondants que dans les cellules épithéliales de l'hépatopancréas. Dans une même coupe, le précipité bleu de Prusse est plus intense dans celle-ci.

B - Hépatopancréas -

= =====

1°) Histologie - Cytologie.

Chaque tube hépatopancréatique, de section subcirculaire, est constitué de la lumière vers l'extérieur :

- a) d'un épithélium unistratifié.
- b) Celui-ci s'appuie sur une lame de tissu conjonctif (ce serait une membrane basale médiane. A cette lame de tissu conjonctif, fait suite une tunique musculaire.

L'histologie des tubes hépatopancréatiques est bien visible après coloration au Volkowsky.

J'ai fait une étude cytologique de l'épithélium unistratifié. Les cellules ne sont pas toutes identiques : il en existe toujours deux sortes : grandes et petites

Les petites cellules renferment de nombreuses granulations fuschmophiles (Pl. 11, fig. 2) qui peuvent cacher le noyau, souvent unique.

A la base des grandes cellules, les granulations semblent exister, mais sont azurophiles.

Les grandes cellules possèdent un noyau basal. Le cytoplasme apparaît plus ou moins vacuolaire. Ces vacuoles indiquent-elles la structure du cytoplasme, ou correspondent-elles à des gouttelettes de sécrétion, détruites par le fixateur ?

Le cytoplasme des petites cellules apparaît plus compact. La partie apicale des grandes cellules ne présente, ni fuschmophilie, ni azurophilie, et prend au Volkowsky, une teinte grise. Il existe également, dans la lumière du tube, des fragments détachés des grandes cellules. Pour certains auteurs, ces fragments seraient le produit de sécrétion. Ces fragments, ont, en effet, un aspect identique à celui de la partie apicale des grandes cellules. Notons que le noyau de ces dernières est basal, parfois unique, parfois double. (Pl. XIII, fig. 1).

L'épithélium unistratifié des tubes hépatopancréatiques est donc formé de grandes cellules sécrétrices, avec noyau volumineux, simple ou double, basal, et de petites cellules qui sont, soit de jeunes cellules sécrétrices, soit des cellules excrétrices. Les figures 1, 2, 3, de la Planche XIII, nous montrent les variations de forme, de l'aspect des cellules épithéliales, depuis le débouché des tubes hépatopancréatiques dans l'estomac, jusqu'au cul de sac de la glande.

J'ai examiné divers cloportes, vraisemblablement à des stades différents de l'intermue. J'y ai observé des différences dans la morphologie et la structure des cellules épithéliales hépatopancréatiques. Chez l'un, les grandes cellules affectent une forme très allongée dans la lumière du tube, leur noyau est à la base ; on observe leur fragmentation apicale. (Fig. 4, Pl. XIII). Chez un porcellio femelle (individu avec oostégites bien développées et oeufs sous ces oostégites), les grandes cellules sont moins allongées que précédemment. Certaines, ont deux noyaux à la base. Les petites cellules ont souvent un noyau de taille sensiblement égale à celui des grandes cellules. Des petits grains azurophiles sont localisés autour du noyau. On n'observe pas, chez cet individu, des fragments détachés des grandes cellules dans la lumière, donc pas de sécrétion.

HISTOCHIMIE

=====

- 1°) J'ai recherché les ribonucléines, par la technique de BRACHET. La nucléole rose foncé se révèle riche en acide ribonucléique. Des ribonucléines cytoplasmiques sont mises en évidence, près des noyaux. J'ai remarqué que la teinte rose caractéristique des ribonucléines est plus forte dans les cellules hépatopancréatiques, que dans les cellules épithéliales de l'intestin d'une même coupe. Puisque l'intensité de coloration est fonction de la quantité de ribonucléines, celles-ci sont plus abondantes dans les cellules hépatopancréatiques. J'ai recherché si l'aspect de ces ribonucléines varie de la partie proximale des tubes, vers leur partie distale. Près du débouché dans le tube digestif, l'épithélium hépatopancréatique se révèle riche en ribonucléines localisées à la base des cellules, près du noyau, sous forme de petites plages. Le pôle apical de la cellule, à structure alvéolaire, contient certainement des ribonucléines à l'état diffus. (un contrôle sur coupe hydrolysée par HCl à 60°, le démontre) (fig. 4, Pl. VIII).

Les ribonucléines s'observent dans les grandes et les petites cellules précédemment décrites. Les coupes suivantes, montrent également leur présence, sous forme de grains périnucléaires, et de plages situées au pôle basal. Les cellules à deux noyaux sont plus riches en ribonucléines. Les cellules hépatopancréatiques des coupes thoraciques postérieures, bien que toujours riches en ribonucléines, paraissent les renfermer à l'état diffus. (Pl. VIII, fig. 2).

Toutes ces observations permettent de conclure, qu'il y a diffusion des ribonucléines, à partir du noyau, et concentration au pôle basal de la cellule. Le segment proximal paraît plus riche en ribonucléines (Pl. VIII, fig. 3, 1 a et b).

- 2°) Recherche de phosphatase alcaline : La phosphatase alcaline est présente, sous forme de granulations dans les cellules hépatopancréatiques (Pl. II, fig. 3). Elle est localisée au pôle basal. L'examen de coupes sériées, montre que les parties proximales du tube, en sont très riches. L'activité phosphatasique alcaline est très faible ou nulle, dans la partie distale du coecum.

Signification de cette activité phosphatasique :

Je la trouve en relation avec la répartition des ribonucléines. L'activité phosphatasique est peut-être en relation avec le phénomène échangé de substances. Faut-il lui dévaluer un rôle dans le processus de l'absorption ?

- 3°) Recherche de mucines.

Comme pour l'activité phosphatasique alcaline, j'ai observé des réactions histochimiques différentes dans les grandes et les petites cellules. Elles varient également de l'extrémité glandulaire au débouché du coecum hépatopancréatique.

La recherche de la métachromasie, fournit un résultat positif dans les grandes et les petites cellules de tout le coecum, c'est à dire que la réaction est positive de la partie proximale à la partie distale. Le pouvoir chromatope est beaucoup plus net au pôle apical des cellules. Les fragments détachés, trouvés dans la lumière du tube, sont souvent entourés d'une auréole très métachromatique, alors que le centre même l'est beaucoup moins. (Fig. 1, Pl. XII).

La technique de GOMORI, nous a révélé la présence de mucines, au pôle basal de toutes les cellules épithéliales (grandes et petites). Ces mucines sont localisées sous forme de sphérules, de grains. (Fig. 5 et 6, Pl. XIII).

L'oxydation périodique suivie du réactif de SCHIFF, donne une réaction positive dans les grandes cellules de la partie proximale, comme dans celles de la partie distale. La réaction est plus faible dans les petites cellules. (Pl. XII, fig. 3). La même technique, précédée de la digestion salivaire, donne des résultats tout à fait identiques. Nous sommes certainement en présence de polysaccharides autres que le glycogène. (Pl. XII, fig. 4), puisque d'autre part, la gomme iodée ne fournit aucune coloration brun acajou.

Quant à l'oxydation chromique, suivie du réactif de SCHIFF (technique de BAUER), elle conduit à un résultat négatif, ou très faible, dans les deux sortes de cellules.

L'oxydation performique, suivie du réactif de SCHIFF, n'apporte aucun résultat positif dans les cellules hépatopancréatiques. Après délipidation, la réaction est toujours positive, avec l'oxydation périodique SCHIFF. Ceci confirme la présence de polysaccharides, et non de glycolipides. Le bleu Alcian ne colore, ni les grandes, ni les petites cellules. La technique de HALE, ne révèle aucune trace d'acide hyaluronique dans l'épithélium de la glande hépatopancréatique. Les résultats de la technique de KULONEN sont concordants. Aucune réaction positive n'est décelable dans le tube hépatopancréatique.

Conclusion :

Quels sont les polysaccharides identifiables, dans l'épithélium hépatopancréatique. Je n'ai pas décelé de glycogène. La méthode de HALE, la technique de KULONEN, me permettent de conclure à l'absence d'acide hyaluronique. Il est surprenant d'avoir des substances PAS + et BAUER.-. D'après LISON, on ne peut conclure avec certitude, à la présence de polysaccharides dans des substances BAUER - et PAS + . On sait, cependant, que la réaction de BAUER est beaucoup moins sensible que celle de HOTCHKISS. Ces composés positifs, après oxydation périodique, réactif SCHIFF, sont aussi doués d'un pouvoir chromotrope, et donnent une réaction négative avec le bleu Alcian. La métachromasie intense, peut nous faire conclure à la présence d'un mucopolysaccharide acide. Le caractère positif de la technique de GOMORI, nous permet d'assurer la présence de mucines à la base des cellules.

4°) Recherche de composés soufrés.

L'oxydation performique, suivie du bleu de méthylène, à bas pH, semble démontrer l'existence de composés soufrés, dans le cytoplasme de la base des cellules épithéliales. La teinte bleu foncé de cette région, tranche en effet sur le reste de la préparation incolore.

J'ai obtenu, par la méthode de CHEVREMOND et FREDERICQ, un précipité au bleu de Prusse, localisé dans les mêmes régions cytoplasmiques. Les résultats des deux méthodes, sont donc concordants, et je puis conclure à la présence de composés soufrés intracytoplasmiques : cysteine ou glutathion. (Pl. X, fig. 10).

Les composés soufrés étant très solubles, il semble que, seuls puissent être mis en évidence, ceux qui restent liés aux protides et autres composés cytoplasmiques.

C - GLANDES TEGUMENTAIRES.

= =====

1 - Cytologie d'une glande en lambeau :

Glande située dans un épimère thoracique. Une telle glande est formée d'un épais corps glandulaire, comptant plusieurs noyaux. La coupe montre un gros noyau subcentral, et deux autres, plus petits. Ces noyaux montrent une azurophilie remarquable (Pl. 11, fig. 1).

Les canalicules excréteurs qui entourent superficiellement les lambeaux des corps glandulaires, sont coupés transversalement, et, en général, près de leurs sections, j'ai noté une réaction fuschinophile. Les espaces qui séparent les lambeaux du corps glandulaire, sont également fuschinophiles. Quant au cytoplasme glandulaire lui-même, il apparaît plus ou moins alvéolaire (Fig. 1, Pl. 11). Il s'agit vraisemblablement, d'un stade de repos. Les animaux ont été sacrifiés à des stades divers d'intermue et on sait que les glandes tégumentaires ne sécrètent activement, que quelques jours avant la mue.

En coupe transversale, le canal excréteur principal n'est pas visible. Mais les glandes en lambeaux ont aussi été repérées dans les uropodes. Les coupes longitudinales de l'abdomen, me permettent, parcontre, de faire une étude cytologique complète de cette première catégorie de glandes (Fig. 1, Pl. XVIII), et de noter que le cytoplasme glandulaire ne présente ni azurophilie, ni fuschinophilie.

Remarque : La coupe longitudinale révèle la présence de nombreux noyaux entourant la glande tégumentaire. Ils sont petits et nombreux. Ce sont les noyaux de l'hypoderme. Le cytoplasme de cette couche tégumentaire est réduit. Les limites cellulaires ne sont pas visibles. Ce syncytium à nombreux noyaux, est sous jacent à la chitine lamelleuse, et colorée en bleu par le Volkowsky. Ce revêtement chitineux est la cuticule externe de l'animal. Sous l'hypoderme, j'ai remarqué, d'autre part, des grains bruns qui, par leur juxtaposition, forment une ligne brune observée non seulement sous la cuticule de l'épimère, mais aussi sous la cuticule dorsale. (Fig. 1, Pl. XVIII). Il s'agit vraisemblablement d'un pigment non altéré par la fixation, et dont je déterminerai la nature plus loin. Si les différents fixateurs employés (Zenker, Bensley, Carnoy, alcool, acétone, etc) ne l'altèrent pas, il faudra en tenir compte. En effet, il y a lieu d'éviter toute erreur d'interprétation, et en

...

... particulier, ne pas conclure à la présence de phosphatase alcaline, sous la cuticule, par exemple, après traitement par la technique de GOMORI.

J'ai précisé, précédemment, la répartition des glandes tégumentaires. Chaque coupe abdominale présente des glandes en lambeaux, non seulement dans les épimères, mais également de chaque côté de l'intestin. Dans les épimères abdominaux, des glandes du même type sont visibles. La masse glandulaire est disposée autour de deux noyaux principaux, et le canal collecteur semble déboucher dans le canal collecteur de la glande citée précédemment.

Les glandes en masses, ont un cytoplasme alvéolaire, un noyau azurophile.

2 - Glandes en rosette :

Elles sont de type radiaire. Leur cytoplasme apparaît alvéolaire. Le pôle basal de chaque cellule, présente au Volkowsky, une azurophilie très nette. Le noyau volumineux, occupe le centre de cette partie basale ; (Fig. 1, Pl. XVII - et 9, Pl. 1). Sous le noyau, le cytoplasme glandulaire perd son azurophilie ; celle-ci se retrouve au centre de la masse en rosette, c'est à dire au pôle apical de chaque cellule. Des sections de nombreux canalicules, donnent, à cette partie centrale, l'aspect d'un crible.

L'anatomie microscopique a montré l'existence de telles glandes en rosette, à la base des antennes (an2) à la base des mâchoires (Pl. 1, fig. 3).

J'ai repéré également, des glandes en grappes, disséminées, mais surtout abondantes dans les antennes (avant dernier article) et dans les péréopodes + (Pl. 1, fig. 7). En section transversale, elles peuvent faire penser aux glandes en rosette. Le cytoplasme glandulaire est vacuolaire. La glande apparaît, formée d'un grand nombre de cellules glandulaires séparées par des vides. En coupe transversale, apparaissent des canalicules superficiels. La cellule glandulaire possède une membrane criblée au pôle apical, membrane qui doit séparer chaque cellule du canal collecteur commun.

HISTOCHIMIE dans les GLANDES TEGUMENTAIRES

=====

a) GLANDES EN LAMBEAUX.

1°) Recherche des ribonucléines.

Dans le nucléole, des noyaux, j'ai pu mettre en évidence, par la technique de BRACHET, la présence d'acide ribonucléique. J'ai décelé des ribonucléines cytoplasmiques dans les glandes tégumentaires en lambeaux des épimères thoraciques. Si les ribonucléines sont peu abondantes, j'ai toujours remarqué leur présence, très près du noyau (Pl. XVIII, fig. 2). Les glandes en lambeaux des épimères thoraciques postérieures, s'enrichissent en ribonucléines. J'ai tenté de déterminer la marche de ce processus. Comme dans les régions plus antérieures, elles abondent près des deux gros noyaux principaux de la glande. La teinte rose est accentuée près du noyau. Or, l'intensité de coloration est proportionnelle à la quantité de ribonucléines. Une même glande présente une pyroninophilie différente autour de chacun des noyaux (Fig. 2, Pl. XVIII). Près de l'un, les ribonucléines sont accolées sous forme de très petits grains au contact immédiat du noyau. Le second noyau est plus difficilement visible, tant sont abondantes les ribonucléines dans son voisinage immédiat. La densité des ribonucléines diminue depuis le noyau, jusqu'aux sections des petits canalicules superficiels de la glande. Dans d'autres coupes, l'intensité de coloration s'atténue toujours, dès qu'on s'éloigne du noyau. S'il y a sécrétion de ribonucléines, il est possible que celles-ci se présentent sous forme de petits grains, et diffusent depuis le noyau, vers le cytoplasme glandulaire et les canaux superficiels. La sécrétion des ribonucléines serait centrifuge.

Les ribonucléines étant mises en évidence dans les glandes des épimères thoraciques, j'ai étudié leur répartition dans les glandes abdominales du même type. J'ai toujours observé, dans les glandes abdominales de la cavité générale du corps, la présence de ribonucléines près du noyau. L'aspect est identique dans plusieurs coupes abdominales. Lorsqu'on s'éloigne du noyau, la quantité de ribonucléines cytoplasmiques diminue. Elles semblent disparaître par vacuolisation. Dans certains cas, le noyau n'est pas entouré jointivement par l'aurole de ribonucléines : il s'agit sans doute, d'un stade de sécrétion postérieur à celui que j'ai illustré par le schéma 2 de Pl. XVIII. Il semble juste de dire que les ribonucléines

...

... diffèrent vers les canalicules superficiels : les sections circulaires de ceux-ci, observés en coupe transversale, sont, en effet, bordées d'un liseré rose. Quand celui-ci est fortement marqué, les ribonucléines sont moins abondantes autour du noyau.

J'ai noté que la répartition et le cycle de diffusion des ribonucléines, ne sont pas identiques dans les deux catégories de glandes abdominales d'une même coupe.

2°) Recherche de la phosphatase alcaline. (par la méthode de GOMORI).

La phosphatase alcaline a été mise en évidence dans les glandes en lambeaux thoraciques et abdominales, dans celles des uropodes où elles coexistent avec les glandes en masse. Dans tous les amas glandulaires observés, le réseau noir (sulfure de cobalt) décelant la phosphatase alcaline, apparaît sur le fond rose (éosine) qui colore d'épais corps glandulaires.

J'ai examiné la répartition de la phosphatase alcaline et recherché s'il existait un cycle de diffusion intracellulaire. Mes observations chez les deux espèces, ont été les suivantes : la phosphatase alcaline intracytoplasmique est plus ou moins abondante dans le cytoplasme vacuolaire de l'amas glandulaire. Sur le pourtour, l'activité phosphatasique alcaline est plus forte. Elle est également prononcée dans les canalicules qui le parcourent superficiellement, dans les sections de ceux-ci, et le long du canal excréteur principal. Les noyaux de certains lambeaux glandulaires, renferment de nombreuses granulations noires dont certaines ne montrent de la phosphatase qu'à leur périphérie. Le cytoplasme glandulaire montre une densité de granulations (dont l'ensemble forme le réseau brun noir observé) qui décroît du noyau vers la périphérie de la glande. S'agit-il d'un cycle de diffusion ? L'existence de ce cycle semble se confirmer.

Certains lambeaux ont peu, ou pas, de phosphatase alcaline décelable dans leur cytoplasme, mais le liseré noir existe toujours sur le pourtour. (Pl. 11, fig. 4 et 5). Si la phosphatase alcaline intracytoplasmique est plus abondante sur le contour de la glande et dans les canalicules excréteurs, si l'intensité de coloration augmente du noyau vers ceux-ci, si ces granulations noires existent à certains stades, dans le noyau, nous pouvons certainement dire que la sécrétion prend naissance dans le noyau, et diffuse dans le cytoplasme. Elle serait centrifuge.

Le contrôle a été effectué sur des coupes incubées dans un milieu sans glycérophosphate. La réaction négative obtenue dans ce cas, confirme la présence de phosphatase décelée précédemment. Des granulations noires existent sous l'hypoderme. Ces grains déjà repérés après coloration au Volkowsky, retrouvés plus tard sur des coupes colorées au bleu Alcian, traités par la méthode de HOTCHKISS, décelent certainement la présence d'un pigment existant avant la fixation. J'ai recherché sa nature. Ce pigment noir qui tapissait la partie interne de l'hypoderme, s'est dissout après action de MnO_4^- K et d'acide oxalique. Je l'ai donc identifié comme étant la mélanine.

Signification de l'activité phosphatasique alcaline.

D'après BRADFIELD (1950), les phosphatases interviennent dans trois phénomènes différents :
métabolisme du calcium, échange de substances,
synthèse de protides.

MOCCAGNO et TORINA, ont affirmé en 1952, que l'analyse chimique de la sécrétion des glandes tégumentaires "lobées", des Isopodes terrestres, a décelé la présence de protéides cycliques. Peut-être faut-il rattacher à la synthèse des protides, l'activité phosphatasique des glandes tégumentaires. La comparaison du résultat de mes recherches histochimiques des ribonucléines, et de la phosphatase alcaline, montre une similitude dans la localisation et dans le cycle de diffusion. Peut-on dire que la répartition des phosphatases alcalines suit celle de l'acide ribonucléique et des ribonucléines qui en sont riches ? Cette réaction existe dans les gonades de certains crustacés isopodes (M. de NICOLA 1949).

b) GLANDES EN ROSETTE.

1°) Localisation des ribonucléines.

Les noyaux ont leur nucléole pyroninophile. La méthode de BRACHET, nous a permis de déceler les ribonucléines cytoplasmiques. Elles ne sont pas diffuses dans le cytoplasme cellulaire, mais je les ai trouvées sous forme de grains (grains de sécrétion) situés au voisinage du noyau, ou sous forme de plages. Ces plages résultent de l'agglomération des grains et se remarquent souvent près des limites cellulaires. (Base des cellules) ou alors contre les limites intercellulaires (Pl. 1, fig. 3 et 6).

La teinte rose foncé semble indiquer une densité remarquable des ribonucléines et tranche sur le rose pâle du cytoplasme.

2°) Recherche de la phosphatase alcaline.

Elle a été décelée par la méthode de GOMORI. Elle est intracytoplasmique. Plusieurs stades de sécrétion sont observés. Je l'ai remarquée sous forme de grains abondants au pôle basal de chaque cellule radiaire. (Pl. XVII, fig. 2 et 3), près du noyau également. Elle existe au centre de la masse en rosette. Une autre préparation montre la présence de la phosphatase diffuse dans tout le cytoplasme cellulaire. Ces granulations suivent cependant les alvéoles cytoplasmiques et sont toujours plus abondantes près du noyau.

La signification de l'activité phosphatasique alcaline des glandes en rosette, rejoint sans doute celle des glandes en lambeaux.

On peut aussi mettre en parallèle, la répartition des ribonucléines et celles de la phosphatase.

"Les Plages de ribonucléines" sont formées de grains plus ou moins diffus dans le cytoplasme alvéolaire. La concentration est variable. La partie apicale de la cellule radiaire est moins riche en ribonucléines que la base. Celles-ci se retrouvent au centre de la masse en rosette, et cette répartition rappelle celle de la phosphatase alcaline.

3°) Recherche de mucines, de polysaccharides dans les glandes tégumentaires lobées.

Le cytoplasme de l'épais corps de ces glandes lobées, est métachromatique. Or, une certaine catégorie de mucines est caractérisée par son pouvoir chromotrope (Fig. 3, Pl. XVI). L'aspect métachromatique varie dans le cytoplasme de la glande. Le pouvoir chromotrope est plus fort sur le pourtour de la glande. Cependant, les corps métachromatiques ainsi décelés sont bien intracytoplasmiques. Les très fins corpuscules métachromatiques suivent la structure plus ou moins alvéolaire de la glande. La métachromasie, bien que légère, existe dans le noyau. Les sections des canalicules superficiels, présentent une métachromasie intense.

Toutes les coupes effectuées sur différents animaux, à des stades différents d'intermue, ne présentent pas la même métachromasie. Dans certaines, le bleu de toluidine ne vire pas dans le noyau, alors que le cytoplasme est métachromatique. Les différences observées peuvent indiquer une variation d'activité de la glande ou l'existence d'un cycle de sécrétion prenant naissance dans le noyau, ou près du noyau.

Les mucines ont été également mises en évidence par la méthode de GOMORI, dans les glandes en lambeaux thoraciques et abdominales. On les trouve à la fois dans le cytoplasme glandulaire et dans les espaces extracytoplasmiques, mais toujours près de la glande. (Pl. XV, fig. 1). Les plages les plus étendues se trouvent souvent près des sections des canalicules superficiels. A certains niveaux, les mucines sont presque uniquement cytoplasmiques. (Fig. 2, Pl. XV - Pl. lll, fig. 5).

Le bleu Alcian donne une coloration légère dans le cytoplasme de certains lambeaux. Un très fin réseau de petits grains semble suivre la structure alvéolaire du cytoplasme. Certaines glandes montrent une réaction très prononcée, sous forme de grains, dans les noyaux. Ceci est d'autant plus remarquable que les noyaux des autres cellules de la région se sont teints par l'hémalum. Des grains de même aspect se retrouvent dans le cytoplasme de la glande. Très près du cytoplasme dans la région des canalicules superficiels, il existe des plages colorées intensément par l'éosine (Pl. XV, fig. 3 - Pl. lll, fig. 3).

Les glandes en lambeaux des épimères abdominaux donnent une faible réaction positive de HOTCHKISS. Les glandes des épimères d'autres animaux, montrent, par contre, une réaction beaucoup plus intense dans les régions extracytoplasmiques, ou près des canalicules superficiels (Fig. 1, 2, Pl. XVI). Une réaction de HOTCHKISS, positive, n'est pas l'apanage exclusif des mucines. J'ai constaté la présence d'une teinte rose légère dans les travées cytoplasmiques du corps glandulaire (donc réaction faiblement positive). Par contre, une teinte d'un pourpre intense, s'observe dans les espaces extraglandulaires. En général, dans les coupes observées, la réaction de HOTCHKISS met en évidence des granulations petites, abondantes, qui indiqueraient une sécrétion autre que celles des "Plages", mises en évidence par la méthode de GOMORI. Je pense qu'il faut envisager d'une part, des substances positives après la réaction de HOTCHKISS, intracytoplasmiques ; d'autre part, des substances de sécrétion extraglandulaires.

Le bleu Alcian, indique une réaction positive intracytoplasmique. Elle mettrait en évidence, soit un acide mucosine sulfurique, soit chondroïtine sulfurique, ou plus généralement, il est l'apanage des mucopolysaccharides acides. Ceux-ci donnent une métachromase positive, une réaction de HOTCHKISS, positive. Cependant, la méthode de BAUER (oxydation chromique et SCHIFF) indique une réaction cytoplasmique entièrement négative. Or, on sait que l'oxydation chromique ne s'arrête pas au stade aldéhyde. Le résultat négatif n'implique pas obligatoirement

... l'absence de polyosides. Il se peut qu'une oxydation chromique plus ménagée, ait abouti à une réaction BAUER, positive.

Si les granulations extraglandulaires mises en évidence par la méthode de GOMORI, sont des mucines, j'estime que les granulations pourpre intense, extraglandulaires, montrées par la technique de HOTCHKISS, indiquent la présence de polyosides, polysaccharides.

Recherche de polyosides, de polysaccharides acides.

Dans les glandes en lambeaux des épimères et des uropodes, la technique de HALE donne toujours une réaction négative. Il ne est de même de la technique de KULONEN. On peut conclure à l'absence d'acide hyaluronique.

Les importantes sécrétions extracytoplasmiques à réaction positive de HOTCHKISS, doivent correspondre aux sécrétions GOMORI, positives.

Quant aux autres granulations à réaction positive de HOTCHKISS, elles représentent un, ou des polyosides qu'il reste à identifier.

Les granulations extracellulaires (qui correspondent à des grains de sécrétion) se sont montrées positives par la méthode de BAUER, dans le contour glandulaire, et surtout près de la cuticule. Après digestion salivaire, la réaction est négative. Je suis sûrement en présence de glycogène. De plus, les autres techniques de mise en évidence du glycogène (Lugol - gomme iodée), indiquent une réaction positive dans les espaces extracytoplasmiques de la région des glandes tégumentaires.

Chez certains individus, il n'y a pas trace de glycogène dans ces régions. Je pense que la présence de glycogène dépend du stade d'intermue.

La spécificité de la réaction est caractéristique. Après digestion salivaire, l'iode ne fournit plus de coloration brun acajou. Toutes les granulations extraglandulaires, positives après l'oxydation périodique, réactif SCHIFF, ne représentent pas du glycogène. Leur densité diffère trop de celle des grains brun acajou, après action de l'iode.

Précisions sur la recherche de polyosides.

Le cytoplasme glandulaire est métachromatique. Par contre, les grains de sécrétion extracytoplasmiques, ne le sont nullement. Le bleu Alcian donne une réaction positive très légère (Pl. III, fig. 6) Ceci paraît dû à la finesse des grains qui ont à peu près la même taille que les granulations métachromatiques observées précédemment. Les grains extracytoplasmiques positifs, après la réaction de HOTCHKISS, abondent près du tégument et du canal excréteur principal de la glande.

Je puis affirmer la présence de polyosides, autres que le glycogène, grâce à des réactions de contrôle. Les glandes tégumentaires en lambeaux de la région thoraciques, oxydées par l'acide périodique, après digestion salivaire, ont révélé grâce au réactif de SCHIFF, des grains roses. Ces grains sont extraglandulaires et ont le même aspect que ceux qui étaient roses après oxydation périodique directe. Le cytoplasme glandulaire prend une teinte rose faible ; ceci indiquerait la présence de polyosides à l'état diffus.

Y a-t-il contradiction avec les résultats de la méthode de HOTCHKISS ? Je ne le pense pas, car la réaction, dans ce cas, était positive, bien que faible. D'autre part, il est à remarquer que le vert lumière utilisé comme colorant de fond, prend moins après digestion salivaire, ce qui expliquerait la légère différence observée.

4°) Recherche des composés soufrés.

Une oxydation performique, suivie de l'action du bleu de méthylène à bas pH, donne une réaction positive dans les glandes tégumentaires thoraciques, dans celles des uropodes. La méthode de CHEVREMOND et FREDERIQUE a donné, dans les mêmes régions, une réaction positive, surtout localisée dans le pourtour cytoplasmique. L'une et l'autre méthode, décèlent des composés soufrés (Pl. XVI, fig. 4).

5°) Recherche de lipides.

L'oxydation performique, suivie du réactif de SCHIFF, donne une réaction constamment négative, dans le cytoplasme glandulaire. Dans la région de ces glandes, il existe cependant une réaction légère, mais extracytoplasmique.

Après délipidation (extraction par CHCl_3 et méthanal), l'oxydation périodique suivie du réactif de SCHIFF, y donne un résultat négatif.

Conclusions Histochimiques.

Le cytoplasme glandulaire, les canalicules renferment des mucines caractérisées par la méthode de GOMORI, et leur pouvoir chromotrope. La sécrétion passée à l'extérieur de la glande, près du tégument, avant d'être rejetée par le canal excréteur, renferme également des mucines ; parfois un peu de glycogène, des polysaccharides acides en particulier, des mucopolysaccharides ; certainement l'acide mucosine sulfurique (BAUER + et métachromasie).

D'autre part, si la réaction au bleu Alcian est faible dans le cytoplasme glandulaire, il s'agit peut-être d'une mucoprotéine, celle-ci étant positive avec la méthode de HOTCHKISS. Je ne puis faire la détermination exacte des différentes sécrétions. Le seul polysaccharide qui peut être déclaré absent, est l'acide hyaluronique.

Recherche de mucines dans les glandes tégumentaires en rosette.

Le cytoplasme glandulaire, et surtout le centre de la masse en rosette, sont métadiromatiques.

L'intensité de la réaction augmente du pôle basal de la cellule, vers sa partie apicale. Le réseau alvéolaire cytoplasmique présente un aspect métachromatique nul, près du noyau. L'intensité de la réaction augmente du pôle basal de la cellule, vers sa partie apicale. Le réseau alvéolaire cytoplasmique présente un aspect métachromatique nul près du noyau. Le bleu de toluidine n'a pas viré. La teinte rose violacée s'observe ensuite dans le reste de la cellule. Quant au centre de la glande, il est occupé par des granules non métachromatiques. On se trouve certainement en présence d'un cycle de sécrétion allant du pôle basal de la cellule, jusqu'au centre de la masse en rosette qui a peut-être la valeur d'un canal excréteur.

La méthode de GOMORI, met en évidence des mucines, sous forme de plages intracytoplasmiques, plus ou moins grandes, localisées dans la partie cytoplasmique qui montrait, au Volkowsky, une azurophilie marquée. La partie sous jacente en semble dépourvue. Au pôle apical, donc près du crible central, les mucines sont présentes, sous forme de petits grains. (Pl. XVII, fig. 5).

Le bleu Alcian, donne une réaction positive intense dans le cytoplasme glandulaire, alors que le centre de la masse en rosette prend fortement l'éosine.

J'ai signalé, dans le cytoplasme des glandes en lambeaux, une réaction positive, mais elle diffère beaucoup, quant à l'intensité de celle que nous observons dans les glandes en rosette. Si les mucines mises en évidence sont diffuses, on note néanmoins la présence de grains plus foncés. (Pl. XVIII, fig. 6) et (Pl. III, fig. 6).

Recherche de polyosides, de polysaccharides.

La réaction de HOTCHKISS, est positive, dans le cytoplasme des cellules de type radiaire. Les fines granulations positives, suivent la structure alvéolaire du cytoplasme (Pl. XVII, fig. 2). Elle est plus forte près des sections des cribles, et sur le pourtour ~~des~~ glandulaires.

La technique de BAUER, donne un résultat légèrement positif, dans tout le cytoplasme cellulaire. Le pourtour de la cellule est bordé d'un liseré vert. Les sections transversales des petits canaux formant cribles, sont bordées d'un liseré rose. Après digestion salivaire, la réaction devient négative. Je puis affirmer la présence de polysaccharides et l'absence de glycogène.

La technique de HALE, donne une réaction négative dans le cytoplasme. La réaction légèrement positive dans le noyau, est due à la présence de fer. La technique de KOLONEN se traduit par un résultat négatif. Il n'y a donc pas d'acide hyaluronique.

Après délipidation, l'oxydation périodique suivie du réactif de SCHIFF, donne une teinte rose faible dans le cytoplasme glandulaire. L'intensité positive de la réaction est toutefois plus forte au pôle basal de la cellule. Le résultat se superpose à celui de la méthode de HOTCHKISS. La teinte rose est bien donnée par des glucides, et non par des lipides. L'oxydation performique suivie de SCHIFF, donne un résultat négatif dans le cytoplasme glandulaire.

Recherche de composés soufrés.

L'oxydation performique suivie de l'action du bleu de méthylène à bas pH; donne une réaction légèrement positive. Il y a donc présence de composés soufrés (Pl. XIV, fig. 6)

La méthode de fluorochromisation sur coupes, ne m'a pas fourni de résultats indiscutables. Elle ne peut être probante ici, en raison de la petitesse des grains et des difficultés d'observation dans l'ultra violet aux forts grossissements.

Conclusions*

Les composés mis en évidence dans les glandes en rosette, sont les suivants : mucines, polysaccharides acides : mucopolysaccharide, sans doute acide mucosulfurique, ou un mucopolysaccharide complexe.

Il ne paraît pas y avoir de mucoprotéine, puisque la réaction au bleu Alcian est forte.

Remarque.

La recherche histochimique a été faite systématiquement dans les glandes en lambeaux des épimères, et des uropodes, dans les glandes en rosette. Les glandes en masses coexistent avec les glandes en lambeaux, dans les uropodes. Les deux catégories ont été étudiées en même temps au point de vue histochimique.

Les glandes en grappes n'ont été examinées que du point de vue morphologique et cytologique, mais leur histochimie n'a pas été entreprise.

D - SYSTEME NERVEUX .

= =====

La masse nerveuse la plus importante se trouve dans le céphalon : ganglion cérébroïde, collier périoesophagien. Le thorax renferme une chaîne ganglionnaire ventrale. Le ganglion cérébroïde est entouré complètement de corps sphériques aux granulations présentant une azurophilie marquée. (technique de VOLKONSKY). Très antérieurement dans la région de l'oesophage, les deux ganglions s'isolent, ne sont plus fusionnés.

...

Postérieurement, les corpuscules sphériques se montrent plus denses vers la face ventrale. La masse centrale du ganglion apparaît plus ou moins fibrillaire, plus ou moins lacunaire. Elle ne présente, ni azurophilie, ni fuschino-philie, mais une teinte rose, après coloration au VOLKONSKY (Pl. III, fig. 7)

La masse ganglionnaire ainsi décrite, est entourée elle-même, d'une unique pellicule, véritable capsule à laquelle sont accolés, çà et là, quelques noyaux allongés qui appartiennent à l'épithélium coelomique.

Résultats histochimiques. La technique de BRACHET, révèle peu de ribonucléïnes, dans le pourtour immédiat des corps sphériques.

L'activité phosphatasique alcaline est faible. L'examen de plusieurs coupes thoraciques, permet cependant, de conclure à l'existence d'une faible réaction dans la région du neuropile. La masse ganglionnaire même, ne présente jamais d'activité phosphatasique alcaline. Cette inactivité enzymatique, est surprenante.

La masse ganglionnaire présente un pouvoir chromotrope, très net. Le bleu de toluidine y vire au rose franc.

Quant aux corps sphériques de la périphérie, leur pouvoir chromotrope est moindre. La couleur y varie du bleu au violet. Quelques petits grains sont métachromatiques. La méthode de HOTCHKISS donne un résultat positif, près des neurocytes. Il y aurait donc des polyosides. Ce résultat semble se confirmer à la réaction est toujours positive après digestion salivaire.

Chez les deux espèces, la technique du bleu Alcian, l'oxydation performique suivie du SCHIFF, le bleu de méthylène après oxydation performique, la méthode de GOMORI pour l'identification des mucines, la technique de HALE, se sont montrées négatives.

Je puis donc conclure à la présence de polyosides dans le tissu nerveux, sans pouvoir préciser autrement leur véritable nature, ni entrer dans leur répartition ganglionnaire.

E - APPAREIL GENITAL.

= =====

- 1°) Les tubes ovariens accolés, latérodorsaux, par rapport au tube digestif, présentent, après traitement au VOLKONSKI, l'aspect suivant : la paroi externe, faite d'une seule couche de cellules, possède des noyaux allongés, montrant une azurophilie marquée. Le centre est occupé par une masse compacte qui ne prend, ni la fuschine, ni le bleu de Volkonsky, mais l'aurantia. Cette zone est entourée d'une bordure légèrement fuschinophile. Vers la périphérie, se trouve ensuite une zone à structure plus ou moins alvéolaire, et à la périphérie des masses ovoïdes fuschinophiles : ce sont les ovules (Pl. XX, fig. 1). Dans l'oviducte devenu ventral, les ovules, toujours fuschinophiles, sont disposés à la périphérie d'une masse ventrale plus ou moins compacte ne prenant, ni la fuschine, ni le bleu de Voskonsky. Chez une femelle bien développée (aux oostégites bien développées), la coupe transversale d'un oeuf révèle, au centre de celui-ci, une masse fuschino-phile où apparaissent des lacunes. A la périphérie, s'organisent un ou deux feuillets à une seule couche de cellules.

HISTOCHIMIE

1) Recherche de ribonucléines :

Par la technique de BRACHET, des ribonucléines ont pu être décelées dans la couche unicellulaire que forme la paroi du tube ovarien. (Pl. VIII, fig. 6) Chaque cellule possède un noyau volumineux en égard à ses dimensions. Il est fusiforme. La zone sous jacente à cette couche externe - zone à structure alvéolaire - renferme des ribonucléines plus ou moins diffuses (Pl. VIII, fig. 6).

2) Recherche de la phosphatase alcaline :

La méthode de GOMORI, a permis de mettre en évidence, dans le tube ovarien, la phosphatase alcaline sous forme de petits grains, dans la partie externe d'une part ; d'autre part, à l'intérieur du tube (Pl. XX, fig. 3). Dans les zones de l'appareil génital où les ovules sont bien visibles, la masse alvéolaire renferme un peu de phosphatase alcaline, mais celle-ci est surtout présente dans la paroi externe.

Signification de l'activité phosphatasique alcaline.

L'activité phosphatasique alcaline signalée à l'intérieur de l'appareil génital, n'est pas le seul apanage des Oniscides. Divers auteurs l'ont signalée à des stades de l'ovogénèse. De même, l'activité phosphatasique alcaline de l'épithélium ovarien a été décrit chez *ACANTHOCHETES FASCICULARIS* (GABE ET PRENANT, 1949). *LIMNEA STAGNALIS* (ARVY 1949). Quant à la présence d'une activité phosphatasique dans l'oviducte, ROCHE y verrait un rapport avec la sécrétion de substances intervenant dans la calcification des œufs.

3) Recherche de mucines :

Le bleu Alcian, donne une réaction négative dans l'épithélium externe, à l'intérieur du tube génital femelle également.

La méthode de GOMORI, montre des mucines dans la couche externe unicellulaire (Pl. XII, fig. 7). Elles se présentent sous forme de grains qui forment des plages plus ou moins importantes. D'autres granulations sont disséminées dans la cellule. Je n'ai pas observé de métachromasie.

La technique de HALE, ne révèle aucune substance à réaction positive dans le cytoplasme des cellules de la couche externe. La couleur bleue que prend le noyau, est due à la présence de fer. Le cytoplasme de la couche externe, prend une teinte rose marquée. L'éosine est employée comme colorant de fond. (Pl. XI, fig. 12).

L'oxydation périodique donne, dans l'appareil génital, femelle, une réaction légèrement positive.

Par l'emploi de la gomme iodée, j'ai recherché le glycogène dans les tubes ovariens de différents individus fixés à des stades d'intermue. Quand les oostégites sont bien développées, on remarque la présence d'un peu de glycogène, dans la paroi ovarienne d'une part, à l'intérieur du réseau sous-jacent, d'autre part. Sur une coupe voisine, a été effectué un contrôle par digestion salivaire, avant l'action de la gomme iodée : le résultat négatif nous confirme l'existence de glycogène.

L'oxydation performique, suivie du réactif de SCHIFF, ne donne aucune réaction dans l'épithélium externe. Seules, quelques granulations rouges s'observent dans le noyau de chaque cellule.

Recherche de composés soufrés

L'oxydation performique suivie de l'action du bleu de méthylène à bas pH, donne une réaction positive intense, dans le noyau, d'une part, une réaction plus légère dans le cytoplasme proche du noyau, d'autre part (Pl. B, fig. 2).

Conclusion : Les tubes ovariens renferment du glycogène, des polyosides, non détruits par digestion salivaire, des composés soufrés.

Les recherches histochimiques effectuées chez les individus mâles, donnent les résultats suivants : Les ribonucléines sont toujours présentes dans l'appareil génital mâle. Dans les spermiductes, j'ai observé une abondante sécrétion de ribonucléines dans la lumière, autour de la paroi. Cette présence de ribonucléines est contrôlée par une hydrolyse sur une coupe voisine (Pl. 1, fig. 2).

Diverses réactions histochimiques sont sensiblement les mêmes que dans l'appareil femelle. J'ai décelé de la phosphatase alcaline. J'ai noté un certain nombre de résultats intéressants, obtenus dans les spermiductes, à l'époque de la reproduction par exemple.

Recherche de l'acide hyaluronique

Comme dans l'épithélium ovarien, les noyaux prennent une couleur bleu intense (présence de fer). Dans la lumière des tubes testiculaires au diamètre très inférieur à celui des tubes ovariens, j'ai trouvé des granulations de même couleur, masquées un peu par l'éosine.

La technique de KULONEN, donne, dans cette lumière, des granulations au virage légèrement positif. Les noyaux de la couche externe sont bruns. Près des organes copulateurs, les spermiductes devenus ventraux, montrent une réaction positive dans les spermatozoïdes (grains fusiformes). Dans le spermiducte, la méthode de KULONEN donne une teinte d'un brun noir intense aux spermatozoïdes noyés dans un brun plus clair.

La métechromasie ne décèle aucun pouvoir chromatope de la paroi du tube ovarien, ni de la sécrétion dans la lumière.

Par la méthode de GOMORI, je n'ai pas décelé de mucines dans l'appareil génital mâle.

Le bleu de méthylène, après oxydation performique, donne une réaction positive dans le noyau, légère dans le contenu des tubes.

Les testicules sont constitués d'une écorce avec noyaux de forme ovale, positifs après oxydation périodique; réactif SCHIFF. A l'intérieur de grosses cellules renfermant des corpuscules positifs avec la méthode de HOTCHKISS, négatifs par la méthode de BAUER.

Conclusion : Les testicules, situés à des niveaux différents, suivis des spermiductes, forment l'appareil génital mâle. Celui-ci possède une paroi formée d'une seule couche de cellules. Dans les testicules, on aurait une sorte d'écorce aux noyaux fusiformes, pointe vers la lumière ; tandis que dans le spermiducte, les noyaux de la couche externe sont aplatis. Les uns sont relativement grosses : cellules nourricières peut-être ; les autres sont les spermatozoïdes au pouvoir métachromatique nul ; alors qu'une légère métachromasie est l'apanage des grosses cellules.

Le spermiducte contient une substance à pouvoir chromotrope léger. La paroi a un pouvoir chromotrope léger. Après délipidation, l'épithélium du spermiducte donne une réaction nulle par la méthode de HOTCHKISS ; il en est de même de son contenu.

Après oxydation performique, les noyaux corticaux possèdent des grains à réaction positive. Les noyaux allongés qui bordent la périphérie des tubes génitaux mâles, montrent une réaction plus forte. Hors de ces noyaux, il existe aussi des granulations positives par cette méthode.

La méthode de BAUER se traduit par un résultat négatif. Il y a donc à la fois, une réaction négative, après technique de BAUER, positive après celle de HOTCHKISS. Après délipidation, cette dernière méthode donne un résultat négatif. Je ne trouve sans doute en présence de glycolipides, et non de polysides ; je ne puis, cependant pas, confirmer la présence de ces glycolipides, n'ayant pas réalisé la technique d'identification au noir Soudan B.

D'abord latérodorsaux, les spermiductes se dirigent vers la partie ventrale du corps, vers l'appareil copulateur. L'extérieur des tubes, semble s'entourer de mélanine. La réaction se montre toujours négative par la technique de BAUER, positive par celle de HOTCHKISS.



A la partie supérieure des appareils copulateurs, cette réaction positive est très intense.

Les produits génitaux mâles, semblent donner une réaction positive au bleu de méthylène, après oxydation performique. Il s'agit peut-être d'un composé soufré. (Pl. XIV, fig. 3 - 4).

F - APPAREIL CIRCULATOIRE - = =====

Il est surtout formé par un tube dorsal à structure lacunaire. Il est entouré d'un endothélium ; quelques petits noyaux sont parfois visibles.

Les colorations au VOLKONSKY, donnent une fuschinophilie marquée dans le tube cardiaque. Cette fuschinophilie nous permet de déceler la présence d'artères intestinales, dorsale et ventrale.

Les diverses réactions histochimiques mises en oeuvre, n'ont fourni que peu de résultats. La bordure endothéliale, montre une faible activité phosphatase alcaline. Par contre, les techniques du bleu Alcian de HOTCHKISS, HOTCHKISS après digestion salivaire, oxydation performique et bleu de méthylène, technique de HALE, ont donné des résultats négatifs.

•
•• ••

CONCLUSIONS GENERALES

=====

Une étude morphologique préparatoire d'Oniscus Asellus et de Porcellio Scaber, m'a permis de préciser les caractères externes des deux espèces et d'en interpréter les appendices en me référant aux données de HANSEN, et aux travaux de divers auteurs. Je n'en ai pas fait état dans mon travail.

Par contre, j'ai rassemblé mes observations d'Anatomie microscopique et figuré les coupes effectuées à différents niveaux. Ces documents se sont avérés très précieux pour l'identification des divers organes rencontrés dans les coupes.

J'ai surtout développé les recherches cytologiques et histochimiques, particulièrement celles relatives aux glandes, au tube digestif et à ses annexes.

Elles ont permis de rassembler des résultats que nous groupons plus particulièrement, selon les constituants cytochimiquement identifiés.

a) Des ribonucléines ont été mises en évidence, au pôle basal de toutes les cellules de l'épithélium digestif. Elles sont particulièrement abondantes dans la région du typhlosolis.

Les cellules hépatopancréatiques sont riches en ribonucléines cytoplasmiques, surtout dans la partie proximale des tubes.

- b) La répartition de la phosphatase alcaline, suit celle des ribonucléines. C'est ainsi que l'activité phosphatasique alcaline est très nette dans le segment proximal des tubes hépatopancréatiques. Une telle identité de répartition, est en faveur d'un échange de substances à ce niveau, et laisse présumer le rôle important joué dans l'absorption par cette partie du tube hépatopancréatique.

Par contre, je n'ai pas observé d'activité phosphatasique alcaline dans le typhlosolis pourtant riche en ribonucléines. Cette anomalie peut toutefois s'expliquer par l'état physiologique des individus. Il se peut également que le typhlosole n'intervienne pas dans les phénomènes d'absorption et que ce rôle soit uniquement dévolu aux coecums hépatopancréatiques.

La présence de segments calcifiés (pièces broyeuses) explique, d'autre part, l'activité phosphatasique de l'épithélium stomacal. Quant à l'activité phosphatasique alcaline des tubes ovariens, elle est peut-être en relation avec une sécrétion intervenant dans la calcification des oeufs.

c) Dans les glandes tégumentaires, j'ai démontré une analogie entre le cycle de diffusion et la répartition des ribonucléines et de la phosphatase alcaline. A quel phénomène se rattache l'activité phosphatasique ? Il s'agit vraisemblablement d'un phénomène complexe comportant la synthèse de substances protéiques et peut-être le métabolisme calcique.

Dans certains cas, il y a en effet, mise en évidence de protéines soufrées. Ceci semblerait particulièrement valable pour les glandes participant à la sécrétion du tégument.

d) Je puis affirmer la présence de polysaccharides et de mucines, dans l'épithélium digestif. Il semble que la partie apicale renferme un mucopolysaccharide acide autre que l'acide hyaluronique. La partie basale renfermerait un polysaccharide, peut-être du glycogène ; celui-ci correspondrait vraisemblablement à un phénomène d'absorption.

Dans la paroi ventrale et ventrolatérale de l'estomac, il y a sécrétion des mucines.

Les cellules hépatopancréatiques renferment également des mucines, des polysaccharides. En général, grandes et petites cellules renferment des substances histochimiquement semblables. Les petites cellules représenteraient-elles de jeunes cellules sécrétrices ?

Les glandes tégumentaires renferment certainement du glycogène. Leur sécrétion extracytoplasmique, contient des polyosides, mais pas d'acide hyaluronique. J'ai identifié également des mucines. Il y a certainement deux catégories de polyosides. Dans les glandes en rosette, existent des mucines intracytoplasmiques, à la constitution desquelles participe certainement l'acide mucoïtine sulfurique. Il n'y a pas d'acide hyaluronique, et je ne puis affirmer la présence de glycogène.

Le tube ovarien renfermerait du glycogène, et d'autres polyosides ; les tubes génitaux males, de l'acide hyaluronique. D'autre part, on note l'existence de corps gras à la périphérie des tubes génitaux males ; Mais la recherche des graisses n'a pas été systématique et seuls, ont été envisagés, les lipides associés aux polyosides ou glycolipides.

Les composés soufrés semblent exister dans l'intestin moyen. Ils sont cependant moins abondants que dans l'épithélium hépatopancréatique où ils sont localisés à la base des cellules. Ces composés soufrés sont présents dans le cytoplasme des glandes tégumentaires lobées, dans les glandes en rosette. Il s'agit peut-être de cystéine. J'ai noté également, l'existence de composés soufrés dans les tubes ovariens et dans l'appareil génital du mâle.

Dans l'intestin moyen, dans les tubes hépatopancréatiques, dans les glandes tégumentaires, il faut rattacher la présence de composés soufrés à celle de la phosphatase alcaline. Ceci semble confirmer le rôle que joueraient les composés soufrés dans la synthèse de certaines catégories de protides.

REPertoire BIBLIOGRAPHIQUE

- 1/ GLICK : Méthode de HALE.
- 2/ GORDON HEWITT : " Ligia Océanica "
- 3/ GORVETT. H : Quart. J. mic. Sci. London N.5 87.3.1946
pp. 209.325
" The Tegumental glands : in the Land Isopoda"
A) The "Rosette glands"
Quart. J. micro. Sci. 92.1951. pp. 275. 296.
B) The lobed glands.
- 4/ GORVETT H. : Les glandes de WEBER et la respiration chez les Isopodes terrestres.
" Nature " G B. 1950. 166. n° 4211.115.116.
- 5/ GORVETT H. : The tegumental glands in the land Isopoda. The "lobed glands".
Quart. J. Mic. Sci. USA.
- 6/ GLICK : Méthode de HALE.
- 7/ LANG : (Interprétation des appendices)
- 8/ LANGERON : Méthode de confection de coupes -
fixateurs - Zenker formol -
Bensley -
coloration Volkonsky.
Métachromasie permanente 1949. p 1281.
- 9/ LEGRAND : JJ. Evolution morphologique de la gonade.
Bull. biologique Fr - belg -
janvier - mars 1948 - 82. 79. 84.
- 10/ LISON : Méthode de GOMORI : recherche de la phosphatase alcaline.
- 11/ MACCAGNO - V. TORINO :
" Sull. secreto. delle ghiandole tegumentali lobati degli Isopodi terrestri.
Boll. Ist. Mus. Zool. Univ. Torino.
(1951. 1952). 3- 177.84

- 12/ NICOLA M de : Les phosphatases alcalines et le cycle des acides nucléiques dans les gonades de quelques crustacés isopodes.
Quart. J. micr. Sci. USA
Résumé consulte sur le Bull. analytique. 1953 - vol XIV, f 190.
- 13/ PATANE L. V. Catania -
"Amitose - mue et incubation chez les isopodes terrestres".
Boll. Zool. Ital. (1949)
16. n° 1 - 3 - 9 - résumé consulte sur Boll. Anal. 1951 - vol. XII. n°10
- 14/ PATANE L. "Sulla struttura la funzioni dell. épatopancréas di Porcellio Loevis Latr."
Arch. Zool. ital. XX. 303. 323. s pl.
1 fig. 1934
"Sulla funzioni digestiva delle ghiandoli a rosetta : e dell. épatopancréas di Porcellio Loevis Latr."
Boll. di Zool. IX. 81. 89. 2 fig. 1938.
(résumé consulte sur l'année biologique 3è série XIII 1938).
- 15/ PEARSE. E. : Techniques histochimiques.
- 16/ ROCHE : Données histochimiques sur la répartition des phosphatases alcalines chez Asellus Aquaticus. L. Année biologique Paris 62. 1951, pp. 459. 467. 1 pl.
- 17/ RAIU V. CITRODARU - GHIORGUI M.
"Les glandes tégumentaires des Isopodes terrestres".
Ann. Sci. Uni. Jassy. Sect. 11. 1942.
28. n° 1. 131.85. (microfilm).
- 18/ STEDDMANN - " Blue Alcian "
- 19/ VANDEL A. - Recherche sur la sexualité des Isopodes.
Bulletin biologique Fr. et Belg.
317. 371. 21 - fig. 1925
- 20/ VENDRELY RANDAVEL - Recherche de l'acide ribonucléique. Emploi de HCl - succédané de la ribonucléase.
CR. Soc. biol. 1949. t 143. p 296 -
CR. Soc. biol. t.141 - p.147.
CR. Ac. des sciences 1947. p. 225 -
- 21/ VITAGLIANO G. NICOLA M. de
Production d'acide ribonucléique et répartition de la phosphatase, pendant la spermatogénèse, chez Asellus Aquaticus. Nature 18 dec. 1948 - 162. 965 - 6.