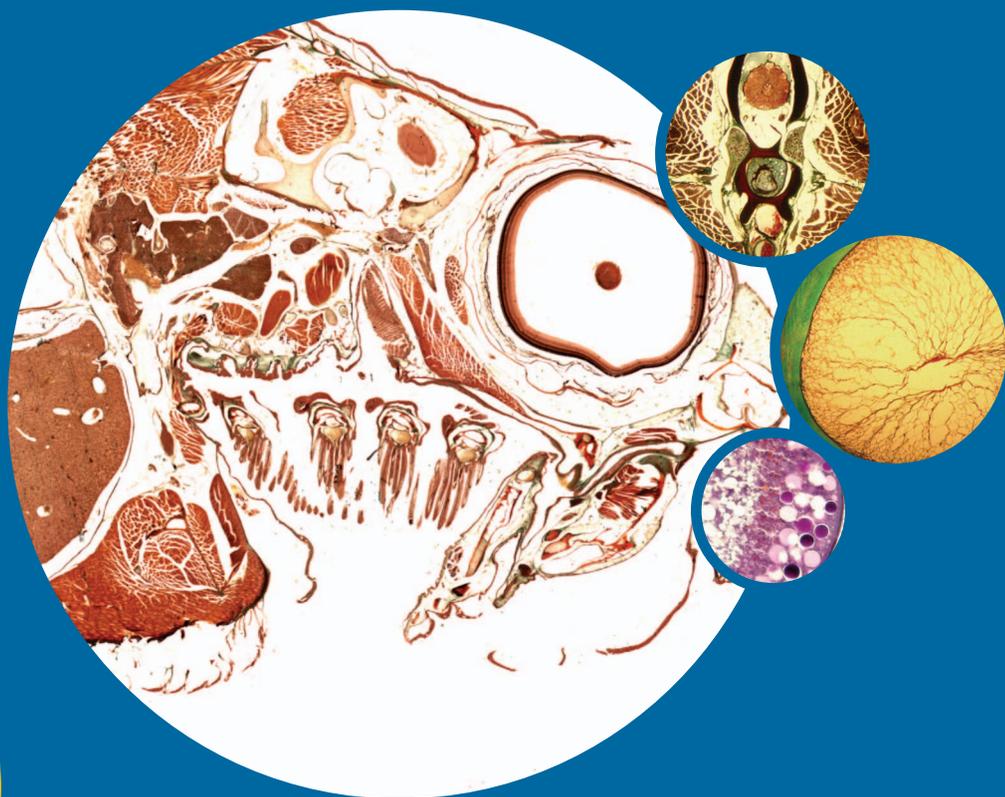


Savoir  
faire

# Histologie illustrée du poisson

F. Genten, E. Terwinghe, A. Danguy



éditions  
Quæ



# HISTOLOGIE ILLUSTRÉE DU POISSON



Quand le dernier arbre aura été coupé  
Quand la dernière rivière aura été empoisonnée  
Quand le dernier poisson aura été pêché  
Seulement après tout ça  
Vous vous apercevrez que l'argent ne se mange pas !

Proverbe de la tribu indienne Cree (Canada).



Demande aux bêtes, elles t'instruiront ;  
Aux oiseaux du ciel, ils te parleront ;  
A la terre, elle t'enseignera ;  
Et les poissons des mers t'expliqueront...  
Ou demande aux oies.

# HISTOLOGIE ILLUSTRÉE DU POISSON

Franck Genten  
Eddy Terwinghe  
André Danguy

Laboratoire d'histologie et de biopathologie de la faune piscicole.  
Laboratoire de morphologie fonctionnelle.  
Université Libre de Bruxelles.  
Bruxelles, Belgique

Éditions Quae

Collection *Savoir-faire*

Nutrition minérale des ruminants

François Meschy

2010, 210 p.

La gestion du trait de côte

Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de la Mer

2010, 352 p.

Évaluation économique de la biodiversité.

Méthodes et exemples pour les forêts tempérées

Elodie Brahic, Jean Philippe Terreaux

2010, 200 p.

Le campagnol terrestre : prévention et contrôle des populations

Pierre Delattre, Patrick Giraudoux, coord.

2009, 304 p.

Retenues d'altitude

Laurent Peyras, Patrice Mériaux, coord.

2009, 352 p.

Référentiel pédologique 2008

Association française pour l'étude du sol

Denis Baize, Michel-Claude Girard, coord.

2009, 432 p.

Le silure glane

Biologie, écologie, élevage

Jean-Pierre Proteau, Olivier Schlumberger, Pierre Elie

2009, 224 p.

Éditions Quæ

RD 10

78026 Versailles Cedex, France

© Éditions Quæ, 2010

e-ISBN 978-2-7592-3104-1

ISSN 1952-1251

Le code de la propriété intellectuelle interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Le non-respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique, et est sanctionné pénalement. Toute reproduction, même partielle, du présent ouvrage est interdite sans autorisation du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC), 20 rue des Grands-Augustins, Paris 6e.

# Table des matières

---

AVANT-PROPOS .....	9
REMERCIEMENTS .....	13
INTRODUCTION AUX TECHNIQUES HISTOLOGIQUES ET A L'ANATOMIE GÉNÉRALE DES POISSONS.....	15
Fixation.....	15
Inclusion.....	15
Confection des coupes.....	16
Colorations de routine.....	16
Colorations histochimiques.....	16
Immunohistochimie et lectinologie.....	17
Montage.....	17
Forme et anatomie générale du poisson.....	18
Légendes des images d'anatomie générale.....	20
Clé alphabétique des images d'anatomie générale.....	21
Coupes longitudinales et transversales d'anatomie générale.....	23
1. LES TISSUS ÉPITHÉLIAUX ET CONJONCTIFS .....	35
Epithéliums.....	35
Tissus conjonctifs.....	36
2. LES TISSUS SQUELETTIQUES .....	49
Tissu cartilagineux.....	53
Tissu osseux.....	54
Corde.....	56
3. LE TISSU MUSCULAIRE.....	77
Muscle strié squelettique.....	77
Muscle strié cardiaque.....	80
Muscle lisse.....	81
4. L'APPAREIL CARDIOVASCULAIRE ET LE TISSU SANGUIN.....	93
Cœur.....	93
Vaisseaux sanguins.....	96
Sang.....	99
5. LES TISSUS HÉMATOPOIÉTIQUES ET IMMUNITAIRES .....	117
Rate.....	117
Thymus.....	118

Rein antérieur.....	119
Système phagocytaire.....	120
Organe épigonal.....	120
<b>6. LE TÉGUMENT .....</b>	<b>133</b>
Epiderme.....	133
Derme et hypoderme .....	136
<b>7. L'APPAREIL DIGESTIF.....</b>	<b>157</b>
Cavité buccale et hypopharynx .....	157
Topographie de base du canal alimentaire .....	160
Œsophage.....	161
Estomac.....	162
Intestins moyen et postérieur .....	164
<b>8. LES GLANDES DIGESTIVES EXTRAMURALES .....</b>	<b>191</b>
Foie.....	191
Pancréas exocrine.....	193
<b>9. LA VESSIE GAZEUSE.....</b>	<b>207</b>
Sécrétion des gaz.....	209
Résorption des gaz.....	210
<b>10. LE SYSTÈME RESPIRATOIRE.....</b>	<b>221</b>
Branchies .....	221
Autres organes respiratoires .....	226
<b>11. LES ORGANES EXCRÉTEURS et OSMORÉGULATEURS.....</b>	<b>241</b>
Rein postérieur.....	241
Cellules à chlorure .....	246
Glande rectale.....	247
<b>12. LE TISSU NERVEUX.....</b>	<b>269</b>
Système nerveux central.....	270
Système nerveux périphérique .....	278
<b>13. LE SYSTÈME ENDOCRINIEN.....</b>	<b>307</b>
Hypophyse .....	307
Urophyse .....	310
Tissu adrénalien.....	311
Tissu interrénal .....	311
Tissu chromaffine.....	312
Thyroïde .....	312
Pancréas endocrine .....	314

Corpuscules de Stannius .....	314
Glande ultimobranchiale.....	315
Pseudobranchie et corps choroïdien.....	316
Glande pinéale et épiphyse .....	317
Cellules endocrines du tube digestif .....	318
Gonades.....	319
<b>14. L' APPAREIL REPRODUCTEUR .....</b>	<b>343</b>
Mâle.....	343
Femelle.....	347
<b>15. LES ORGANES DES SENS .....</b>	<b>379</b>
Système latéro-acoustique.....	379
L'oreille interne.....	379
Le système latéral .....	385
Chimioréception.....	387
Les bourgeons gustatifs.....	387
L'organe olfactif .....	388
Organes électriques et électroréception.....	390
Les organes électriques.....	390
Les organes électrorécepteurs .....	392
Vision .....	395
Tunique externe.....	396
Tunique moyenne ou uvée.....	397
Tunique interne ou rétine.....	398
Cristallin.....	401
Sens divers .....	402
<b>Annexe 1- Liste des espèces .....</b>	<b>437</b>
<b>Annexe 2- Systématique simplifiée .....</b>	<b>439</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>459</b>
<b>Index .....</b>	<b>469</b>



# Avant-propos

---

L'**étude histologique** par microscopie photonique est la discipline de la biologie qui consiste en la lecture au microscope de coupes fines (5-7  $\mu\text{m}$  d'épaisseur en moyenne) permettant l'examen des différents tissus d'un organisme.

Depuis de nombreuses années déjà, l'histologie n'est plus uniquement descriptive : avec les progrès des techniques optiques, de l'immunologie et de la biologie cellulaire et moléculaire, elle se doit de corrélérer l'aspect microscopique de structures à leurs propriétés fonctionnelles (**histologie fonctionnelle**).

Le présent atlas se veut, d'une part, être un **guide général de référence** d'images histologiques dédiées aux poissons, et d'autre part, apporter une réelle **contribution** dans le domaine de l'histologie **normale**, non pathologique, de ces animaux, domaine pour lequel la littérature actuelle (2010) de synthèse est pauvre.

L'histologie représente également un champ d'investigations pouvant jouer un rôle en matière de santé des poissons. En effet, la connaissance de la structure des tissus et organes d'un poisson sain peut s'avérer très utile lorsqu'il s'agit, par exemple, de diagnostiquer ou de confirmer les premiers signes d'une pathologie parfois difficilement identifiable extérieurement.

Les « **poissons** », bien que ce terme soit généraliste et sans réel fondement phylogénétique - mais que nous continuerons néanmoins à utiliser par commodité - sont des Cordés inféodés au milieu aquatique. Ils constituent, et de loin (près de 60 % des espèces), le groupe le plus important parmi les vertébrés. Chaque année, une centaine de nouvelles espèces sont décrites et il est probable, au moment où ces lignes sont écrites, que le nombre de 30 000\* est déjà dépassé ! D'après Nelson (2006), il y aurait près de 28 000 espèces de poissons, Cyclostomes (lamproies et myxines) compris, dispersées dans plus de 500 familles.

*\* : en espérant néanmoins que la surpêche et les perturbations de l'environnement ne fassent pas diminuer drastiquement ce nombre dans un avenir proche !*

En fin d'ouvrage (**annexe 2**) figure une classification très sommaire des poissons (pour une systématique détaillée, se référer à l'ouvrage de NELSON, J.S. *Fishes of the World*, 4<sup>th</sup> ed., John Wiley & Sons, New York, 2006). Nous y citons les principales familles, ainsi que les catégories taxonomiques (de la classe à l'espèce) auxquelles nous faisons référence dans ce livre. Une systématique plus complète sort totalement du contexte présent, d'autant plus que, au cours des dernières décennies, aucun groupe de vertébrés n'a subi autant de changements dans sa classification que celui des Téléostéens !

Pour rappel, on peut subdiviser les poissons de la manière suivante.

Classe des **CHONDRICHTYENS** : poissons cartilagineux (près de 1 000 espèces, mais ce nombre pourrait être compris entre 1500 et 2000), tous marins, excepté

une espèce de requin et une espèce de raie (devenue secondairement dulcicole). Considérés à tort comme « primitifs » (pris dans le sens de peu évolués ou à caractères rudimentaires), ces poissons sont en réalité tout le contraire, comme le lecteur pourra le découvrir tout au long des différents chapitres !

Classe des **OSTÉICHTYENS** : poissons osseux, soit tous les autres (pas loin de 30 000 espèces). Ils se divisent en trois sous-classes, les **Sarcoptérygiens**, les **Brachioptérygiens** et les **Actinoptérygiens**.

Les Sarcoptérygiens ont des nageoires paires lobées, charnues. Ils comprennent les Dipneustes et les Crossoptérygiens (*Latimeria chalumnae*). Les Brachioptérygiens ont de nombreuses pinnules dorsales et comprennent les polyptères et les poissons-roseaux (*Calamoïchthys*). D'après Nelson (2006), ils font partie des Actinoptérygiens. Quant à ces derniers, ils sont caractérisés par des nageoires rayonnant à partir de la base. Ils se sont vite séparés en trois groupes, les **Chondrostéens**, les **Holostéens** et les **Téléostéens**. Ces derniers, avec 27 000 espèces décrites (soit environ 95 % des poissons actuels), sont évidemment majoritaires dans ce livre ! Les Téléostéens sont des nageurs rapides, pourvus d'un squelette assez léger et de nageoires paires pivotantes très flexibles. La queue est généralement symétrique extérieurement (homocerque). Ils possèdent en outre une bouche protractile, le plus souvent une vessie gazeuse, et la grande majorité des espèces, surtout marines, pond des œufs pélagiques. Toutes ces caractéristiques ont largement contribué à leur succès.

La classification des Téléostéens est complexe, et l'une des plus récentes les divise en quatre groupes monophylétiques, à savoir, en partant du plus primitif : les Ostéoglossomorphes (poissons « à langue osseuse » comprenant les Mormyridés et de grandes espèces telles *Osteoglossum*...), les Elopomorphes (anguilles, tarpons...), les Clupéomorphes (essentiellement marins avec comme espèce type le hareng) et les Eutélostéens (plus de 17 000 espèces réparties en 375 familles).

Remarque : d'après une récente classification, les Ostéichtyens sont considérés comme une sous-classe des Teleostomi (vertébrés à mâchoires regroupant les Tétrapodes), et l'un des quatre groupes de Téléostéens est représenté par les Otocéphales englobant les Clupéomorphes et les Ostariophysaires (voir chapitres 6 et 9).

**L'intérêt économique** des poissons est énorme ! Lors des dernières décennies, les pêches annuelles de poissons marins (et dulçaquicoles) ont dramatiquement augmenté et, aujourd'hui (2010), elles plafonnent à environ 100 millions de tonnes, dont l'essentiel est destiné à l'alimentation humaine. Globalement, la demande des consommateurs pour ces animaux ne cesse de croître, surtout dans les pays industrialisés pour des raisons de santé (acides gras omega-3 intervenant dans la prévention de maladies cardiovasculaires, mais ne croyez pas pour autant que les poissons en soient épargnés !), et les 3/4 des stocks de poissons commercialisés sont surexploités ou exploités au maximum ! La **pisciculture**, dont l'importance ne cesse d'ailleurs d'augmenter - elle intervient actuellement pour près de 50 % de la consommation mondiale en poissons et est sur le point de rejoindre l'élevage bovin en tant que source de protéines animales - concerne principalement le saumon, le bar, l'anguille, la truite arc-en-ciel, la perche, la daurade, mais aussi la carpe commune (plus de  $5.10^6$  T élevées en Chine), la carpe herbivore (*Ctenopharyngodon idella*), le chano, le mullet à grosse tête, le *Pangasius* et le tilapia.... Si les dernières espèces citées se nourrissent (heureusement) de végétaux, détritiques, farines végétales et/ou débris organiques, les premières sont carnivores et nécessitent plusieurs

kilos de poissons pour voir leur propre masse musculaire s'accroître d'un seul kilogramme ! Toutefois, comme la disponibilité des ressources en poissons sauvages se réduit, divers organismes (l'INRA) ont mis au point des aliments de substitution constitués de blé, soja, colza, pois, protéines végétales, glutens... Les poissons polyploïdes tels la carpe, le barbeau ou le poisson rouge sont aussi privilégiés car ils résistent bien à des températures élevées. En dépit de tout cela, la pisciculture, telle qu'elle est pratiquée en général, ne constitue pas une alternative durable, et ses inconvénients sont loin d'être négligeables : en plus de l'impact sur les populations sauvages de poissons transgéniques échappés de bassins (bien que la production d'individus triploïdes stériles suite à un choc thermique puisse limiter ce risque), d'une pollution organique locale, de l'usage massif d'antibiotiques et de la destruction d'écosystèmes, des maladies apparaissent fréquemment notamment à cause du grand nombre d'individus maintenus en espace trop restreint.

L'établissement d'un diagnostic par l'observation de modifications externes ou de changements comportementaux n'étant pas toujours aisé, l'examen microscopique d'un frottis de peau, d'une biopsie branchiale, de mucus ou de tout autre fragment tissulaire, bien que nécessitant plus de temps, peut s'avérer complémentaire à d'autres analyses. Elle vient souvent confirmer ou infirmer une première analyse.

L'**ichtyo(patho)logie** est néanmoins un domaine complexe et peu de professionnels s'aventurent dans cette discipline. Pourtant, l'étude de la biologie des poissons, y compris donc l'histologie, constitue un versant important des **recherches scientifiques** de ces dernières années. En effet, et bien malgré eux, les poissons sont de plus en plus sollicités en tant qu'animaux de laboratoire, et dans certains pays, leur utilisation dépasse celle des rats et souris. Par exemple, en cancérologie, en génétique et en physiologie, le medaka (*Oryzias latipes*) et le guppy (*Poecilia reticulata*) sont fort prisés, tout comme d'ailleurs le danio (*Danio rerio*), petit cyprinidé dulcicole, au cycle de vie court, qui peut aussi servir de modèle pour mettre en évidence des désordres hématopoïétiques chez l'homme. Il est également massivement utilisé, à l'instar de la truite arc-en-ciel, pour sa sensibilité vis-à-vis de nombreuses formes de pollution de l'eau.

Comme la rétrodontoxine (voir chapitre sur le tissu nerveux), l'azidothymidine est un célèbre produit issu du monde des poissons. Il s'agit d'un puissant antiviral, plus connu sous les initiales AZT (première arme efficace contre le virus du sida), initialement extrait du sperme de hareng, mais chimiquement synthétisé de nos jours.

De multiples techniques microscopiques sont adéquates pour l'étude de cellules, tissus ou organes, et l'une des plus intéressantes est certainement l'examen de fragments de tissus fixés, colorés sélectivement et observés au microscope photomicroscopique. Il est hors de question de décrire ici, en détail, les principaux protocoles histologiques (se référer à l'ouvrage GABE, M. *Techniques histologiques*, Masson et Cie, 1968), mais un bref résumé des méthodes utilisées pour confectionner les préparations illustrant cet atlas sera présenté dans le chapitre intitulé « Introduction aux techniques histologiques et à l'anatomie générale des poissons ».

Ces pages et documents iconographiques ont été réalisés dans le but de concevoir un guide général de référence destiné à un large public disposant de quelques connaissances scientifiques de base ainsi que sur l'anatomie des poissons. Cet atlas peut donc s'adresser à des biologistes, histo(ichtyo)logistes et vétérinaires en quête

de renseignements précis, mais aussi à des étudiant(e)s et chercheurs travaillant dans les institutions académiques, ou encore à des aquariophiles, pisciculteurs et tout autre personne dont le « poisson » fait partie des centres d'intérêt..., chacun pouvant se focaliser sur les parties du livre qui répondront le mieux à leurs attentes et interrogations.

Nous tenons à signaler qu'une version de cet atlas existe en langue anglaise (*Atlas of Fish Histology* - Franck Genten, Eddy Terwinghe and André Danguy : Department of Histology and Biopathology of Fish Fauna, Université Libre de Bruxelles - U.L.B. - Brussels - ISBN 978-1-57808-544-6 / Science Publishers, 2009). Cependant, pour des raisons commerciales, le nombre de pages de cet *Atlas of fish Histology* a été limité. C'est pourquoi, nous avons émis le souhait de publier également cette version en français, plus étoffée au niveau des textes, et sous forme de livre électronique. Nous espérons ainsi intéresser un plus grand nombre de personnes et pensons que cela réjouira le public francophone (plus de 200 000 000 de personnes dans le monde, même si elles ne témoignent pas toutes d'un intérêt soutenu pour les poissons !), contraint le plus souvent à glaner les informations scientifiques dans la langue de Shakespeare !

Le lecteur attentif et curieux s'apercevra que, malgré des convergences inévitables, les versions française/anglaise ne sont pas les copies conformes l'une de l'autre.

Les textes n'ont pas la prétention d'être exhaustifs, mais ils permettent de mieux appréhender les microphotographies présentées. Ils sont bien sûr axés principalement sur l'histologie, mais comme cette science ne se limite plus aujourd'hui à la seule connaissance de la forme des cellules et des tissus, le lecteur y découvrira également avec plaisir des notions d'anatomie, de physiologie, de taxonomie et d'éthologie.

Une liste de références bibliographiques figure en fin d'ouvrage : nous ne les avons pas incorporées dans les textes afin de ne pas alourdir ceux-ci. Cette liste ne prétend pas être exhaustive mais regroupe les ouvrages et articles les plus pertinents concernant chaque chapitre de notre atlas.

Toutes les micrographies sont **originales**, issues de notre laboratoire (sauf indication) et **en couleurs** ; elles ont été obtenues à partir d'une quarantaine d'espèces et résultent exclusivement d'observations réalisées à l'aide du **microscope photonique**. Les tissus et organes proviennent aussi bien de poissons d'élevage ou d'aquarium, que d'individus ayant évolué dans leur environnement naturel\*. Les échantillons furent fixés, pour la grande majorité, au liquide de Bouin et inclus dans la paraffine. Les coupes ont été traitées le plus souvent par des techniques mettant en œuvre plusieurs colorants (trichromes). Quelques préparations ont toutefois été soumises à d'autres protocoles, très spécifiques mais bien plus onéreux, requérant l'utilisation d'anticorps ou de lectines.

Outre la légende, chaque document iconographique comporte le nom scientifique du poisson, la coloration appliquée et une indication approximative du grossissement (le recadrage de l'image ayant souvent nécessité l'utilisation de la fonction zoom de l'appareil photonumérique).

Les poissons dont les coupes ont servi à réaliser les images figurent sous forme d'une liste, en fin d'ouvrage (**annexe 1**) qui précise, pour chaque espèce, la famille ainsi que les noms communs anglais et français.

*\* : à chaque fois que c'était possible, les tissus furent prélevés sur des poissons nés en captivité ou destinés à la consommation. Certaines espèces africaines ont été collectées par le Prof. Max Poll (1908-1991), chef de la section Ichtyologie du Musée de Tervueren (Belgique), qui participa à de nombreuses expéditions en Afrique centrale.*

Franck Genten

Eddy Terwinghe

André Danguy

## Remerciements

Pour leur aide, conseils, et/ou encouragements durant tous ces mois de dissections, coupes, colorations, photographies, interprétations, rédaction et corrections du présent ouvrage et de sa première édition anglaise, nous tenons à remercier chaleureusement les personnes suivantes :

Pr. Malcolm Clarke, PhD, expert mondial dans le domaine des cachalots et des calmars géants – conservateur du musée des Cétacés, sur l'île de Pico, archipel des Açores (Portugal)

Georges Lenglet, PhD, chef du département des Vertébrés, Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique (Belgium)

Pr. Christian Michel, PhD, Université de Liège (Belgium)

Mr Raju Primlani, personne de contact chez Science Publishers, maison d'éditions qui nous a permis de publier pour la première fois ce travail en 2009

Nicolas Thelen, PhD Student - Cellular Biology Unit, GIGA Neurosciences, Université de Liège (relecture du chapitre sur l'oreille interne)

Mme De Winter, Pr. de latin-grec à l'Athénée Adolphe Max (Brussels), pour ses recherches étymologiques

Ainsi que :

Isabelle Coppée, compagne de F. Genten, pour sa relecture

Samantha, Olivia et Sabrina Genten pour leur patience



# Introduction aux techniques histologiques et à l'anatomie générale

---

Les différentes opérations menant à l'observation des préparations microscopiques telles qu'elles sont présentées dans l'atlas, peuvent se résumer comme suit :

## Fixation

Elle a pour buts de conserver le mieux possible les constituants cellulaires et de prévenir la décomposition *post-mortem*. Étape **essentielle** du protocole, elle doit se faire, idéalement, juste après la mort ou l'euthanasie (MS-222 en dose létale ou section de la nuque) par immersion de la pièce dans un grand volume de fixateur. La fixation peut être réalisée à l'aide d'agents chimiques pris isolément (éthanol, formol, acide picrique...) ou mélangés, en proportions adéquates comme dans les liquides de Carnoy, de Zenker, de Helly ou **de Bouin**. Nous donnons très souvent la préférence à ce dernier, vu sa vitesse de pénétration, la déformation minimale qu'il occasionne aux tissus, et aussi son action modérément décalcifiante, intéressante pour certaines pièces minéralisées. Sa tendance à parfois faire gonfler le collagène en cas de rinçage prolongé est largement compensée par l'éclat des colorations appliquées ensuite (trichromes notamment).

La taille des pièces à fixer doit de préférence être inférieure à  $\frac{1}{2}$  cm<sup>3</sup>, et le séjour dans le fixateur ne dépasse alors guère 24 heures. Des pièces plus grandes pourront être laissées plus longtemps, de 2 à 5 jours. Préalablement au prélèvement des tissus, des poissons de moins de 8-10 cm peuvent être fixés *in toto*, après avoir pris la précaution de faire une incision (abdominale de préférence, pour autant que ce ne soit pas la région convoitée) afin que le fixateur puisse pénétrer uniformément. Pour des individus plus grands, des découpes en tronçons ou la dissection des organes cibles seront alors obligatoires.

Si la présence de sels de calcium rend l'échantillon trop dur à couper, la pièce peut être soumise à l'action d'un agent décalcifiant (acides nitrique, formique, trichloracétique ou citrique...), concomitamment ou généralement juste après la fixation.

## Inclusion

Elle donne aux pièces la consistance nécessaire à leur débitage en coupes sans déformer l'architecture cellulaire. La substance utilisée dans le cas présent est la **paraffine**. Vu le caractère hydrophobe de celle-ci, l'ensemble du processus d'inclusion comporte tout d'abord la déshydratation des pièces fixées à l'aide d'alcool (96° ou de degrés croissants 70° → 90° → 100° ou absolu) et leur imprégnation au moyen d'un solvant de la paraffine (butanol ou hydrocarbure benzénique). Cette étape intermédiaire est garante d'une bonne pénétration du tissu par la paraffine, non miscible à l'alcool. Le prélèvement est ensuite placé dans plusieurs bains de paraffine fondue (étuve à 58-60 °C, 3 x 24h) qui infiltre l'entièreté de la pièce et remplace totalement le solvant. Le coulage du bloc a lieu à température ambiante et on obtient, après refroidissement, un bloc de paraffine solidifiée, de consistance homogène, à l'intérieur duquel est

incluse la pièce à étudier. La conservation des blocs est excellente (plusieurs dizaines d'années) et se fait à la température du laboratoire.

### Confection des coupes

Le bloc de paraffine est débité en coupes minces (5-7  $\mu\text{m}$ ) à l'aide d'un **microtome**. Les coupes sont prélevées puis étalées sur une lame de verre placée sur une plaque chauffante. Dès le lendemain, les préparations peuvent être colorées, ou à défaut rangées dans une boîte opaque (même durant plusieurs mois) en vue d'un traitement ultérieur.

### Colorations de routine

Le but de ces colorations est d'accentuer les contrastes afin de distinguer et reconnaître les différents constituants de la préparation. Avant toute coloration, de par la nature aqueuse des colorants, les coupes doivent être déparaffinées (par du toluol ou équivalent) et réhydratées (par des alcools de degrés décroissants, suivis d'un bain d'eau distillée). Les temps de coloration peuvent varier en fonction de l'épaisseur de la coupe, de l'âge de certains colorants etc.

Les histologistes ont le choix entre de nombreuses colorations de routine. Parmi celles-ci, l'**hématoxyline-éosine** (H-E) abondamment utilisée, repose sur l'emploi de deux colorants, d'une part l'**hématoxyline**, colorant basique, qui donne une teinte bleu noir aux noyaux (ADN, ARN), ainsi qu'aux autres structures acides (lysosomes, nucléoles, réticulum endoplasmique, ribosomes, portions cytoplasmiques riches en ARN...) et d'autre part, l'**éosine**, acide, qui colore les protéines cytoplasmiques et une variété de structures extracellulaires en rose rouge. Il s'agit d'une coloration simple, sûre, rapide mais de teinte assez uniforme et habituellement peu discriminante.

Les **trichromes** sont des colorations topographiques impliquant l'emploi de trois colorants qui ont l'avantage de donner des teintes particulières aux diverses structures permettant ainsi de différencier aisément, par exemple, cytoplasmes et noyaux, tissus musculaires et conjonctifs...

Nous affectionnons tout particulièrement le **trichrome de Masson** et ses variantes qui garantissent une excellente étude topographique : le contraste est étonnant entre la coloration nucléaire assurée par l'hématoxyline, le détail des fibres musculaires rouge vif ou pourpre (par la fuchsine-ponceau) et la précision de coloration des fibres de collagène en bleu (par le bleu d'aniline) ou en vert franc (par le vert lumière).

Citons également l'**azan de Heidenhain**, magnifique mais délicate coloration, alliant les avantages du bleu d'aniline en tant que colorant du conjonctif avec une coloration nucléaire rouge éclatant et d'une netteté saisissante. La méthode Feulgen-Rosenbeck - Bleu de Heidenhain donne également d'étonnants résultats.

### Colorations histochimiques

Des méthodes de coloration plus spécifiques sont utilisées pour mettre en évidence des composants particuliers. Les méthodes au **bleu alcian** (BA) et à l'**acide periodique-réactif de Schiff** (APS) révèlent la présence de toute une variété de

glucides, de glycosaminoglycanes (GAG) et de portions glucidiques portées par divers protéoglycanes (voir chapitre 1) et glycoprotéines. Les sites APS-positifs arborent une teinte rouge magenta, ceux BA-positifs sont bleus. Les deux techniques (BA-APS) peuvent être combinées et dévoiler des sites de couleur violet pourpre trahissant la co-existence de plusieurs types de glucides au sein d'une même cellule ou d'un tissu. Quant aux cytoplasmes, leur teinte dépend de la substance choisie pour une éventuelle coloration de fond (orange-G ; aurantia ; picro-indigocarmin...).

L'**imprégnation argentique** est une excellente méthode pour la mise en évidence de certains composants nerveux ainsi que du délicat réseau conjonctif de fibres de **réticuline** qui édifie la charpente de nombreux organes hématopoïétiques.

Grâce à l'oxydation des doubles liaisons contenues dans les acides gras insaturés, le **tétroxyde d'Osmium**, agent fixateur, permet de visualiser les lipides en gris noir.

## Immunohistochimie et Lectinologie

L'**immunohistochimie** est basée principalement sur la détection de protéines dans un tissu par l'utilisation d'anticorps qui, grâce à leur haute spécificité, se lient à l'antigène recherché. Il s'agit de techniques d'une grande précision nécessitant de nombreuses étapes (incubations, lavages...) et conditions (chambre humide, matériel propre...) à respecter scrupuleusement.

La **lectinologie**, quant à elle, implique l'utilisation de **lectines**, et ressemble assez fort à l'immunohistochimie du point de vue technique. Cette méthode est beaucoup plus spécifique que celles au BA et/ou à l'APS pour l'étude des glucides. Les lectines sont des protéines ou des glycoprotéines, d'origine non immune et non enzymatique, isolées à partir d'un large éventail de plantes et d'animaux. Leur intérêt en histochimie réside dans leur grande affinité et leur stricte spécificité (grâce à au moins deux sites de liaison) envers des résidus glycaniques bien définis, greffés sur des glycoprotéines ou des protéoglycanes. En testant une vaste gamme de lectines biotinyllées et en y associant la technique de révélation Avidine-Biotine-Peroxydase (ABC), il est possible d'obtenir de nombreuses et précieuses informations sur la localisation exacte de résidus glucidiques présents dans les tissus de vertébrés et d'invertébrés.

## Montage

Le montage des préparations a un triple objectif, à savoir la protection mécanique, une longue conservation et l'obtention d'un bon degré de transparence, essentiel du point de vue de l'observation microscopique. Après coloration, les préparations sont déshydratées dans des bains d'alcools croissants (parfois directement par l'alcool absolu, si l'un des colorants diffuse dans l'alcool 70 ou 90), puis imprégnées et éclaircies par un hydrocarbure benzénique (ou équivalent) miscible à un baume synthétique de montage (anciennement baume du Canada). Les coupes colorées sont recouvertes d'une lamelle en verre collée au baume, chimiquement neutre, qui permettra une conservation permanente, de préférence à l'abri de la lumière. Idéalement, l'étape finale sera le **lutage**, opération qui consiste à appliquer une mince couche de vernis autour de la lamelle, prévenant ainsi toute intrusion ultérieure d'air sous celle-ci.

## Forme et anatomie générale du poisson

### Comment définir, de manière simplifiée, un poisson par ses caractères externes ?

La majorité des espèces modernes ont conservé le **profil hydrodynamique**, fuselé et allongé, de leurs ancêtres. Il ne faut toutefois pas oublier l'existence des formes globulaires (baudroie ; Tétrodontidés ou poissons-globes ; Ostracionidés ou poissons-coffres...), allongées (anguilles, syngnathes, fistulaires...) ou encore comprimées dorsoventralement (raies) ou latéralement (poissons-plats ; nombreuses espèces coralliennes dont les poissons-papillons...). Mais la palme revient indubitablement aux hippocampes tropicaux tels le dragon des mers (*Phycodurus eques*) dont les appendices en forme de feuille lui donnent l'apparence d'algues ondulant au gré des courants ! Tous les bons nageurs endurants (thons et formes apparentées, marlins, espadons, certains requins ...) présentent un rapport  $d$  (diamètre du corps à son point le plus large) /  $l$  (longueur du corps) voisin de 0.25, ce qui leur confère un corps en fuseau relativement élargi.

Le **corps** peut être grossièrement divisé en trois régions : la **tête**, le **tronc** et la **queue**. La tête, généralement conique, se termine au niveau du bord postérieur de l'opercule (cas des poissons osseux) où elle se rattache au tronc. Elle ne présente aucune mobilité autonome (sauf chez le singulier *Lepadogalaxias salamandroïdes* - Osmérimorphes). La tête porte des mâchoires articulées qui, conjointement avec les nageoires paires et la forme hydrodynamique, ont largement contribué au succès des poissons en leur permettant de capturer avec plus d'efficacité des proies de plus en plus grosses et rapides. Le tronc se poursuit jusqu'au plan imaginaire transversal situé juste en arrière des organes de la cavité générale. Il contient donc la plus grande part des organes digestifs, reproducteurs et excréteurs, ainsi que la vessie gazeuse (quand elle existe). La partie restante ou queue est presque exclusivement constituée de muscle et de tissu conjonctif entourant l'extrémité postérieure de la colonne vertébrale. Il est évident que, chez certaines espèces (poissons-plats...), les limites de ces différentes parties sont difficiles à préciser et qu'il peut y avoir une variabilité certaine selon les groupes considérés.

Le corps est généralement recouvert d'**écailles** revêtues par l'épiderme, mais ici encore, leur forme et leur composition varient grandement selon les espèces. Une autre caractéristique essentielle des poissons est la présence de **nageoires**, paires et impaires qui assurent la propulsion et l'équilibre (*pour plus de détails, voir chapitre consacré aux tissus squelettiques*).

### Comment définir, de manière simplifiée, un poisson par ses caractères internes ?

Tous les poissons possèdent une **corde**, encore bien présente chez les esturgeons et *Latimeria*, mais plus ou moins régressée dans les autres groupes suite au développement des vertèbres. La corde et la colonne vertébrale ondulent grâce aux masses musculaires (myomères). Toutes les espèces sont pourvues de **branchies** comme surfaces d'échanges gazeux, d'un **cœur** à quatre cavités (dont une oreillette et un ventricule), et d'un système circulatoire simple. La disposition générale des **viscères** varie assez peu. Signalons encore l'organisation des **myomères** en chevrons, l'existence de la paire des **neurones géants de Mauthner** (voir chapitre 12 sur le tissu nerveux) ainsi que l'agencement typique des neurones au niveau de la moelle épinière.