





LA CELLULE

LA CELLULE

RECUEIL

DE CYTOLOGIE ET D'HISTOLOGIE GÉNÉRALE

FONDÉ PAR

J. B. CARNOY, PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE,

PUBLIÉ PAR

G. GILSON, PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE,

A L'UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

TOME XX

1^{er} FASCICULE.

- I. La vésicule germinative et les globules polaires chez les batraciens,
par Hector **LEBRUN**.
- II. L'ovogénèse chez le *Thysanozoon brocchi*,
par Rufin **SCHOCKAERT**.
- III. Nouvelles recherches sur le *Nebenkern*
et la régression du fuseau caryocinétique,
par Arthur **BOLLES LEE**.

Prix : 25 francs.

LIÈRE

TYP. DE JOSEPH VAN IN & C^{ie},
Grand'place, 38.

LOUVAIN

A. UYSTPRUYST, LIBRAIRE,
rue de la Monnaie.

LA CYTODIÉRÈSE DE L'ŒUF

La vésicule germinative et les globules polaires

CHEZ LES

BATRACIENS

PAR

Hector LEBRUN

(Mémoire déposé le 20 novembre 1901.)

SIXIÈME MÉMOIRE.

LES CINÈSES SEXUELLES

CHEZ

DIEMYCTILUS TOROSUS

Les Cinèses sexuelles chez *Diemyctilus torosus*

INTRODUCTION.

En terminant notre mémoire précédent sur les cinèses sexuelles des anoures, nous pensions pouvoir clore par là notre série de mémoires sur l'œuf des batraciens. Leur histoire nous a occupé pendant douze ans et, malgré la grande quantité de faits nouveaux que nous avons fait connaître, nous en étions arrivé à une certaine lassitude de travailler toujours le même objet. L'immense variété des phénomènes observés nous avait cependant toujours rappelé à la tâche. C'est en cédant de nouveau à l'attrait de l'inconnu et à l'espoir de trouver une confirmation de nos idées chez des espèces non européennes, qu'au cours d'une mission en Californie, dont nous avait chargé le Ministre de l'Intérieur, M. DE TROOZ, nous avons recueilli un matériel de travail abondant pour l'étude de la maturation de l'œuf chez *Diemyctilus*. Arrivé à San-Francisco au commencement de mars, nous avons été frappé de l'abondance des *Diemyctilus torosus* dans tous les petits cours d'eau des environs, et nous entrevîmes aussitôt à quel magnifique objet de recherches nous aurions à faire! Malheureusement, les phénomènes de la ponte étaient accomplis depuis plusieurs semaines dans toute la région avoisinant les côtes de l'océan et de la baie de San-Francisco. Nous rappelant alors qu'en Belgique les phénomènes de la ponte sont d'autant plus tardifs que l'alti-

tude de l'habitat s'élève, nous chargeâmes notre ami, M. VAN DER NAILLEN, professeur à l'école des mines, qui excursionnait dans les montagnes avec ses élèves, de s'informer sur la présence des *Diemyctilus* dans ces parages. Nous apprîmes aussitôt qu'ils se trouvaient en abondance à Tocoloma et qu'ils s'y accouplaient. Nous ne pouvions manquer pareille occasion et, le lendemain, muni de liquides fixateurs et d'une grande provision d'alcool et de flacons, nous étions à l'œuvre pour procéder au massacre des femelles de *Diemyctilus*. Nous en avons sacrifié pendant 8 jours plus d'un millier, nuit et jour, et quand nous crûmes être en possession d'un matériel suffisant, nous revînmes à San-Francisco pour commencer immédiatement l'examen des œufs recueillis.

Nous avons pu nous livrer à ce travail dans les meilleures conditions d'outillage, grâce à la généreuse hospitalité que la Société de Microscopie de San-Francisco nous a offerte pendant notre séjour en cette ville. Nous adressons donc à la Société entière l'expression de notre vive gratitude. Mais nous devons un remerciement spécial à M. OTIS MITCHELL, à nos amis MM. LOY et EISEN pour l'obligeance qu'ils ont mise à nous procurer notre matériel d'étude, à nous aider dans la chasse des animaux et à nous guider dans un pays totalement inconnu pour nous. Le 15 mai, nous avons communiqué à la Société de Microscopie de San Francisco quelques préparations et nous avons donné lecture d'une communication préliminaire sur le résultat de nos recherches.

Cette communication, une courte note de cinq ou six pages, a été adressée à cette époque à M. le professeur WITHMAN de Chicago avec demande de l'insérer dans le *Biological Bulletin*.

MÉTHODES.

Diemyctilus torosus est un urodèle qui ressemble beaucoup, quant à l'aspect, la forme, la couleur, la taille, à certains de nos tritons européens, notamment *Triton cristatus*. Il est d'une abondance extraordinaire en Californie. Il pond, comme nos tritons, plusieurs fois au printemps, à quelques semaines d'intervalle, si nous en jugeons d'après le volume des œufs à maturité qu'on trouve dans l'ovaire au moment de la première ponte; quand celle-ci est terminée, il reste encore dans l'organe une quantité d'œufs suf-

fisante pour deux pontes; les œufs qui seront ainsi pondus se reconnaissent facilement par leur volume moindre.

Chaque ponte comprend une trentaine d'œufs.

Contrairement à ce qui s'observe chez nos espèces européennes, il y a accouplement prolongé. Le mâle, beaucoup plus robuste et plus grand que la femelle, la saisit sous les aisselles et se place sur son dos en l'étreignant fortement. Les muscles du bras sont aussi développés chez *Diemyctilus* mâle que chez le mâle de *Rana temporaria*.

L'accouplement dure très longtemps, parfois même plus de 12 heures. La fécondation s'opère dans le cloaque; vers la fin de l'accouplement, la femelle, tout en restant immobile dans la partie antérieure du corps et dans la même position, son ventre contre terre, fait subir à son arrière-train une torsion de presque 70 degrés pour amener l'anus dans une situation latérale; le mâle en fait autant en sens inverse et applique les deux renflements, qui garnissent l'entrée de l'anus, sur l'orifice de la femelle et dépose un spermatophore dans le cloaque. Nous n'avons jamais trouvé de spermatozoïdes dans les oviductes; nous avons donc tout lieu de croire que la fécondation s'opère pendant le passage de l'œuf dans le cloaque. Nous n'avons pu toutefois jamais observer le phénomène de la ponte; car, fait curieux, celle-ci s'opère de 12 à 24 heures après l'accouplement.

Quand le moment de la déhiscence est venu, l'accouplement est toujours terminé. Nous n'avons jamais observé d'œufs tombés dans le péritoine chez les femelles accouplées.

Les oviductes ayant la même structure et disposition anatomiques que celles de nos tritons européens, la déhiscence des œufs, leur trajet à travers le péritoine et les oviductes s'opèrent de la même manière.

Les œufs tombent un à un dans la cavité péritonéale. Ils traversent les oviductes en se suivant à de courtes distances, et viennent s'accumuler en séries dans la portion terminale de l'organe. Quand le moment de la ponte est arrivé, les femelles disparaissent et vont déposer leur œufs au milieu des racines des arbres qui surplombent les berges de la rivière, où il nous a été impossible de les retrouver. Nous n'avons jamais trouvé d'œufs pondus que dans l'estomac d'autres femelles qui les avalent, et où ils ne tardent pas à dégénérer en se gonflant beaucoup (1).

(1) Le lecteur qui désirerait plus de détails sur l'animal étudié les trouvera dans la monographie qu'en a publiée le professeur RITTER, de l'Université de Californie, dans les *Proceedings de l'Académie des Sciences de San Francisco*, 1896.

Nous étant rendu compte de tous ces détails, voici comment nous avons opéré pour recueillir notre matériel de travail.

Après avoir observé l'accouplement dans l'une ou l'autre des nombreuses criques de la rivière, nous procédions le lendemain à la pêche de toutes les femelles que nous pouvions atteindre en cet endroit; nous les ouvrons instantanément sur place ou à l'auberge qui se trouvait à cinquante mètres à peine de l'endroit exploré.

Nous placions dans des flacons séparés remplis de liqueur de GILSON les œufs trouvés : 1° dans la moitié inférieure de l'oviducte; 2° dans la portion supérieure; 3° dans le péritoine. Nous fixions enfin l'ovaire entier, quand le nombre des œufs tombés de l'ovaire n'était pas trop grand.

Les œufs ovariens et ceux trouvés dans le péritoine séjournèrent un quart d'heure minimum dans le fixateur, ceux de la portion supérieure au moins une heure, ceux de la portion inférieure pendant deux heures.

Nous avons soin d'enlever soigneusement la paroi de l'oviducte pour permettre à la solution fixatrice de pénétrer plus rapidement.

L'enveloppe de mucine gonfle presque instantanément dans la solution aqueuse et prend la forme d'une perle opaline, au centre de laquelle l'œuf ne tarde pas à se durcir.

Il est absolument nécessaire pour obtenir un matériel irréprochable de laisser les œufs se durcir pendant au moins deux heures dans la solution mercurique, quand ils sont entourés d'une coque assez épaisse; voici pourquoi : quand le durcissement est insuffisant, il est quasi impossible d'éloigner la coque de mucine sans déformer les œufs ou sans les blesser; l'opération s'accomplit au contraire assez facilement par le procédé que nous avons déjà indiqué pour nos espèces européennes, quand ils ont pris une consistance plus ferme.

La sphère ovulaire sort de la cavité où elle est enfermée, quand on opère délicatement une légère pression sur le pôle opposé à l'ouverture pratiquée avec le scalpel dans la coque muqueuse. Il ne faut pas non plus remettre cette opération après le durcissement dans les alcools forts de l'œuf entouré de ses enveloppes; cela devient alors impossible, même après leur ramollissement dans l'eau; quand on durcit les œufs de cette manière, la couche muqueuse adhère fortement à la membrane ovulaire, et quand on la ramollit dans l'eau, elle se dilate brusquement et entraîne avec elle la couche superficielle de l'œuf, où se trouve la figure polaire. Il en est autre-

ment, quand le durcissement s'effectue dans la solution de GILSON; celle-ci donne à l'œuf une consistance plus forte et liquéfie, au contraire, la couche muqueuse qui lui est adhérente.

La coque des œufs de *Diemyctilus* est beaucoup plus résistante que celle de nos batraciens; elle se ramollit beaucoup plus lentement dans l'eau; aussi faut-il laver les œufs à grande eau plusieurs fois, pour en extraire les dernières traces de sublimé. Après lavage, ils étaient passés successivement dans la série des alcools jusqu'à 80 degrés.

L'enrobage se pratiquait dans la paraffine fusible à 52 degrés, d'après la méthode que nous avons donnée dans nos travaux antérieurs. Nous avons essayé, avec le même succès, plusieurs méthodes de coloration que nous avons exposées auparavant; nous en avons expérimenté une nouvelle qui est plus rapide, plus pratique et plus sûre que les précédentes.

Les œufs débités en tranches de 4 à 5 μ d'épaisseur étaient colorés par une solution forte d'hématoxyline de DELAFIELD, lavés rapidement dans l'eau pour enlever l'excès du colorant, puis portés dans l'alcool à 80° contenant des traces d'ammoniaque pour donner une teinte bleue à la coloration, ce qui se produit instantanément; de là, plongés dans une solution très diluée de rouge congo dans l'alcool à 80° jusqu'à ce que la coloration rouge se soit substituée au bleu de l'hématoxyline; cette substitution s'opère assez rapidement et proportionnellement à la force de la solution de rouge congo; en général après une heure, le virage au rouge est accompli.

Dans cet état, la préparation est surcolorée et ne se présente pas bien à l'œil; il faut, pour la mettre à point, la décolorer rapidement. On y parvient aisément en passant les coupes d'abord à l'alcool acidulé légèrement d'acide chlorhydrique; on laisse agir ce dernier jusqu'à ce que la préparation ait pris une teinte bleuâtre et que, en égouttant le porte-objet, on ne voie plus de matière colorante sortir des coupes. On la reporte alors pendant quelques instants dans l'alcool à l'ammoniaque, qui ramène instantanément la teinte rouge à la préparation.

Le résultat qu'on obtient est le suivant: la nucléine, sous la forme de nucléoles, boules ou chromosomes, a gardé la teinte bleu foncé de l'hématoxyline, tandis que le protoplasme, les enclaves et toute la partie plasmique de la figure est d'un rouge orangé.

Cette méthode permet de reconnaître les plus petits fragments de l'élément nucléinien au milieu des enclaves vitellines.

Les préparations ont été dans la suite montées dans la gomme THUS, introduite par EISEN dans la technique microscopique. Nous nous en sommes très bien trouvé, l'indice de réfraction est moindre que celui des autres milieux résineux et de plus elle sèche rapidement.

Comme éclairage, nous nous sommes servi de la méthode indiquée par JANSSENS (1901); c'est elle qui nous a permis de débrouiller certains détails que nous n'étions pas parvenu à déceler par les moyens ordinaires.

OBSERVATIONS PERSONNELLES

Etat de l'ovaire.

Nous ne reprendrons pas l'étude de l'œuf de *Diemyctilus* pendant toute sa vie ovarique, ainsi que nous l'avons fait pour toutes les espèces étudiées auparavant; nous devrions nous répéter et redire à peu de chose près tout ce que nous avons écrit des tritons dans notre second mémoire de 1898. L'aspect, le volume, la forme des œufs de *Diemyctilus torosus* sont identiquement les mêmes que ceux de *Triton alpestris*; le pigment a identiquement la même teinte et la même distribution. L'ovaire est constitué de la même manière et contient le même nombre d'œufs et le même nombre de générations. Nous avons noté une seule différence, c'est que certains individus avaient déjà accompli les premières pontes de l'année et ne portaient plus dans l'ovaire que les œufs destinés à la dernière ponte, tandis que d'autres, en quantité à peu près égale aux premiers, étaient encore porteurs de tous les œufs mûrs de l'année. Nous observions donc chez les uns la première, chez les autres la dernière ponte.

En Europe, nous avons, au contraire, toujours constaté la plus grande uniformité de la ponte chez tous les individus d'un même habitat.

Nous attribuons cette différence à la douceur du climat californien, qui ne connaît pour ainsi dire pas l'hiver, tandis qu'en Belgique, la période d'hibernation dure toujours pour les tritons de 4 à 5 mois et c'est au sortir de l'hibernation que la maturation se produit.

Etat de l'œuf.

Nous commencerons donc l'histoire de l'œuf arrivé à maturité sans nous soucier de sa vie antérieure.

Nous devons à la vérité de dire que nous n'avons pu examiner la vésicule germinative à frais, et que nous n'avons pu instituer aucune réaction

microchimique pendant le temps trop court de notre séjour en Californie, pour nous renseigner avec une certitude absolue sur la nature nucléinienne des nucléoles qui sont contenus dans le noyau. Nous croyons néanmoins pouvoir conclure à leur nature nucléinienne, en nous basant non seulement sur les colorations, ce qui est insuffisant, mais aussi sur leur évolution et sur leur destinée, qui, ainsi qu'on le verra, reproduisent dans les moindres détails la description donnée par nous de ces phénomènes chez les tritons.

Quand nous sommes revenu en Europe, notre matériel de travail avait séjourné pendant trop de temps dans l'alcool pour pouvoir être soumis à des réactions délicates et à des digestions artificielles. Tous nos dessins proviennent donc d'œufs fixés et enrobés.

Si l'on ouvre une femelle au moment où la déhiscence des œufs commence, on trouve deux ou trois œufs, soit dans le péritoine, soit dans l'oviducte; les autres œufs, qui sont destinés à être pondus en même temps, sont donc encore dans l'ovaire. Ils y séjournent peut-être encore 24 heures avant de suivre les autres. On les reconnaît aisément au milieu des autres; quand on fend la paroi de l'ovaire d'un coup de ciseaux, on les isole avec facilité en les détachant avec des aiguilles des parois de l'organe.

Dans quel état les trouvons-nous 24 heures après la déhiscence?

La vésicule germinative est au pôle pigmenté, presque contre la membrane de l'œuf, entourée sur tout son pourtour d'enclaves vitellines de volume moyen; les plus volumineuses siègent pour la plupart dans l'hémisphère inférieur. Le pigment lui constitue une auréole sur sa face supérieure seulement. Elle est volumineuse, gorgée de produits de résolution nucléolaire, d'une infinité de granules d'une petitesse très grande, qui remplissent les espaces interfibrillaires du réticulum, mais jamais cependant au point de masquer la structure réticulaire du caryoplasme. Il existe sous ce rapport une grande différence avec les tritons, qui à ce stade ont une telle abondance de granules volumineux entre les mailles du réseau qu'ils masquent la structure réticulée du caryoplasme. Au centre de la vésicule germinative, on voit rassemblés les nucléoles nombreux, qui ont émigré de la périphérie; nous en avons compté jusqu'à 450 de volume et d'aspect variés. Ils sont tous vacuoleux et bien près du moment de la résolution; une vacuole plus grande s'observe dans chacun d'entre eux. Ils circonscrivent un îlot caryoplasmique rempli de granules, de petits nucléoles, dans lequel on aperçoit toujours un nombre de nucléoles plus ou moins grand en train de reprendre la forme filamenteuse; on dirait, à les voir, des chromosomes prêts pour la cinèse.

Nous avons représenté, FIG. 1 et 2, une partie de la vésicule germinative d'un œuf à ce stade; on peut y voir des nucléoles entourant un espace central, où les nucléoles ayant repris la forme filamenteuse sont en train de s'étendre ou de se replier sur eux-mêmes. Nous avons dessiné dans cet espace central tous les nucléoles de l'œuf qui ont repris cette forme, c'est-à-dire que nous avons combiné trois ou quatre coupes pour les rassembler en une seule. Ce stade nous est connu depuis longtemps; nous rappellerons pour mémoire les figures que nous en avons données en 1898, Pl. VIII, fig. 55, *T, a et b*, 56, *T*, et 58, *A*, de même que les fig. 37, *T*, 39, *A*, 40, *A*, et 41, *A*, de la Pl. VII du même mémoire. On pourra y suivre toutes les étapes de la transformation des nucléoles de forme ronde et vacuolisés en filaments recourbés et entortillés.

Ce mode de résolution qui, chez les urodèles, se manifeste chez quelques nucléoles à la fois, et d'abord chez ceux qui se trouvent au centre du massif central, atteint chez les anoues presque tous les nucléoles en même temps. Nous rappellerons à ce sujet les fig. 17, *R*, de *Rana*, 36 et 37 de *Bufo*, des Pl. III et V de notre mémoire de décembre 1899.

Chez *Diemyctilus*, qui est un urodèle, la résolution nucléolaire est identique à celle que nous avons décrite chez les tritons et chez la salamandre. Dans la FIG. 2 du présent mémoire, quelques-uns des filaments dessinés portent encore des traces manifestes des vacuoles qui remplissaient le nucléole, lorsqu'il avait sa forme sphérique. L'un d'eux est encore presque ovulaire; il porte seulement deux extrémités libres, qui commencent à s'étendre; le corps du nucléole lui-même n'est pas encore étiré. Quand on se trouve pour la première fois en présence de pareilles images, à un moment très proche de la maturation, le première pensée qui vient à l'esprit est que ce sont là des chromosomes qui sont destinés à former la première figure polaire. Quand on n'a pas suivi leur évolution et qu'on se contente de quelques préparations à ce stade, on doit considérer toutes les formes qu'ils revêtent comme des indices de division longitudinale, s'ils sont accouplés; si les deux branches en voie d'extension s'enroulent l'une sur l'autre ou s'entrecroisent, on sera tenté avec BORN, RÜCKERT, HELEN DEAN KING, d'y voir des fusions, des condensations de deux chromosomes pour former un chromosome bivalent, etc., etc.

Toutes ces interprétations sont suggérées à l'esprit des observateurs, chez lesquels la préoccupation prédominante est celle de faire accorder les faits qu'ils découvrent avec les postulats de théories hâtives, simples pro-

duits de l'imagination, reposant sur des observations incomplètes et insuffisantes. Ces observations supposent donc sans preuves que ces prétendus chromosomes subsistent pendant un jour entier, sans changement, sans subir de modifications, parce que 24 heures plus tard ils retrouvent des corps ayant à peu près la même forme et la même constitution sur l'ébauche du fuseau de la première figure polaire.

C'est là une erreur profonde. Les phénomènes qui se déroulent dans la vésicule germinative à cette époque sont extrêmement rapides et de si courte durée qu'il faut faire des centaines et des centaines de préparations pour pouvoir les suivre pendant un jour seulement. C'est ce que nous avons fait pour toutes les espèces étudiées par nous. A quel résultat sommes-nous arrivés? Nous avons eu d'abord sous les yeux des vésicules germinatives, dans lesquelles tout l'élément nucléinien était localisé dans les nombreux nucléoles ramassés au centre du noyau. En dehors de ces nucléoles, on ne pouvait trouver traces d'élément nucléinien filamenteux. Ce stade important a été signalé avant nous par IWAKAWA dans la fig. 29 de son mémoire de 1882. C'est le point de départ d'une résolution nucléolaire. Les nucléoles au début sont compacts et homogènes en apparence; ils grossissent, se vacuolisent et alors on peut entrevoir plus ou moins distinctement ce qu'ils contiennent. Mais bientôt, ceux qui sont au centre du massif commencent à perdre leur forme sphérique et à reprendre la forme filamenteuse; on en observe 2, puis 10, puis 20 parfois, jamais un nombre fixe. De tous les nucléoles présents à ce moment, jamais plus de 10 à 20 ne se résolvent en même temps, c'est-à-dire qu'ils n'arrivent pas à maturité en même temps. C'est la caractéristique des urodèles.

Ils ne gardent pas longtemps cette forme filamenteuse lisse; ils se bossèlent et subissent rapidement une désagrégation granuleuse, en se divisant d'abord en sphérules, qui elles se résolvent en granules plus petits. Rappelons les figures 55, 57, 59, des tritons, dont la fig. 24 de HELEN KING n'est en somme qu'une reproduction. Tous ces prétendus chromosomes sont déjà formés de séries de sphérules encore adhérentes entr'elles, qui ne tarderont pas à se séparer et à se désagréger, en donnant de jolies figures en goupillons, que nous avons représentées dans les FIG. 3 et 4 pour *Diemyctilus*, et dans une foule de figures de nos mémoires précédents, particulièrement planche VIII pour les tritons, planche III pour la salamandre. On retrouvera dans la FIG. 3 toutes les formes nucléolaires, à peu de chose près, qu'on a vues dans la FIG. 2; seulement, la désagrégation des filaments en granules y est

déjà très avancée. Toutes ces images sont éphémères et destinées à disparaître. Il est vrai que BORN, RÜCKERT, HELEN KING à leur suite, en donnent une interprétation absolument contraire à la nôtre. Pour eux, nos FIG. 3 et 4, qui représentent la désagrégation des chromosomes en granules, sont des stades de condensation des granules nucléiniens pour reformer le peloton primitif des jeunes œufs qui, après mille vicissitudes subies au cours de la vie de l'œuf, réapparaît peu de temps avant la cinèse polaire. Il s'est opéré une condensation de toute la masse de nucléine en quelques filaments réunis par paires. HELEN KING, qui ignore nos travaux et la critique que nous avons faite de celui de RÜCKERT, se range à l'avis de ce dernier. La critique que nous avons faite des travaux de BORN et de RÜCKERT en 1898 s'applique donc entièrement à l'interprétation qu'elle donne de ces images chez *Bufo lentiginosus*; nous renvoyons le lecteur aux pages 157 à 163 de notre second mémoire. Nous ne comprenons pas comment la résolution des nucléoles en cordons lui a échappé, sa figure représente manifestement plusieurs de ces derniers encore attachés au nucléole dont ils sont sortis.

Elle constate pourtant que les nucléoles prennent la même coloration que l'élément nucléinien. Mais elle se déclare incapable de trancher la question de savoir si ces images sont dues à une juxtaposition des chromosomes et des nucléoles, ou si les chromosomes auraient pris cette forme. Elle ne soupçonne même pas l'identité de ces éléments. Elle a compté néanmoins avant la maturation 14, puis 16, puis 20 de ces prétendus chromosomes. Elle présume néanmoins que le chiffre normal serait 24, chiffre qu'elle a trouvé au moment de la maturation.

La résolution se poursuit et s'accomplit chez les anoues avec un ensemble remarquable; on se rappellera sans doute nos figures de *Rana* et de *Bufo*, où presque tous les nucléoles ont repris leur forme filamenteuse. Nous avons donc de bonnes raisons de penser que chez *Bufo lentiginosus* les phénomènes s'accomplissent de la même manière. Il y a une telle concordance d'ailleurs entre les phénomènes observés par HELEN KING et ceux que nous avons décrits chez *Bufo vulgaris*, qu'on ne peut trouver notre affirmation trop hasardeuse. Tous les nucléoles se déroulent, puis tombent en granules, sauf ceux qui fourniront les chromosomes de la première figure polaire et qu'on retrouve à la base des belles figures irradiantes qui accompagnent la disparition de la vésicule germinative.

Nos FIG. 1 à 4 prouvent donc que chez *Diemyctilus* l'élément nucléinien, qui est en excès dans le noyau arrivé à maturité, reprend momenta-

nément la forme filamenteuse avant de disparaître et de se dissoudre dans le caryoplasme. C'est la répétition du phénomène que nous avons décrit chez toutes les espèces étudiées par nous et que nous avons représenté fig. 50 chez la salamandre, fig. 16-19 chez le pleurodèle, fig. 56-59 chez les tritons, fig. 14 et 17 chez *Rana*, fig. 25, *c*, chez *Bufo calamita*, fig. 36 et 37, *bv*, chez *Bufo vulgaris*.

Disparition de la vésicule germinative.

Quand la dernière résolution nucléolaire s'est accomplie, les produits granuleux qui en proviennent remplissent les mailles du réseau caryoplasmique en telle abondance parfois, qu'il est difficile d'y distinguer encore la structure réticulée. Mais cet état dure peu de temps; tous ces granules se dissolvent dans l'enchylème nucléaire et changent bientôt l'aspect du noyau. Cette énorme quantité de nucléine dissoute détermine une absorption abondante d'enchylème cytoplasmique chargé des albumines du protoplasme, et consécutivement une vacuolisation générale du noyau. La dimension de ce dernier atteint à ce moment son apogée. Cet état particulier est vraiment remarquable et permet de se rendre compte, d'une manière beaucoup plus nette qu'en n'importe quel moment de la vie de l'œuf, de la structure réticulée du caryoplasme. Les vacuoles abondantes et volumineuses ont resserré en cordons épais les fibrilles du réseau; mais cependant elles ne sont pas assez serrées les unes contre les autres, pour qu'on ne puisse reconnaître aisément plusieurs fibrilles dans chacun de ces cordons. Un partisan de la structure alvéolaire au sens de BÜTSCHLI verrait autant d'alvéoles dans ces vacuoles; mais c'est là une erreur grossière, car il suffit de mouvoir la vis du microscope pour retrouver le réseau sur les parois des vacuoles et dans les cordons qui les séparent.

Cet état, nous l'avons représenté dans la figure avec un faible grossissement; pour la structure plus fine et plus détaillée de ce stade, nous nous permettrons de renvoyer le lecteur aux images que nous avons données de ce stade fig. 54 de *Salamandra*, fig. 23 du pleurodèle, fig. 17 et 18 de *Bombinator*, fig. 41 de *Bufo vulgaris*. Nous avons retrouvé chez *Diemyctilus* une structure identique de la vésicule germinative à ce stade.

Au milieu du noyau, l'élément nucléinien s'est rassemblé en gros nucléoles compacts et non vacuolisés; ou bien ceux-ci sont encore éparpillés en divers endroits; on en trouve même parfois contre la membrane, FIG. 5 et 6.

C'est à ce moment que la disparition de la vésicule germinative se produit, chez *Diemyctilus*, suivant un processus particulier que nous n'avons pas encore rencontré jusqu'ici.

Avant de fournir les figures irradiantes qui entraineront la plus grande partie de son réticulum plastinien, le noyau se débarrasse de l'excès d'en-chylème hyalin qui distend ses mailles. Nous avons vu chez *Rana*, chez *Bufo*, chez les tritons, ces deux éléments être absorbés en même temps par l'œuf avec des modalités un peu différentes; chez *Diemyctilus*, il y a succession et séparation dans l'absorption.

Le réticulum plastinien se contracte, se ramasse sur lui-même et expulse l'en-chylème liquide qui remplit les vacuoles. On dirait qu'une force intime le presse comme une éponge et le fait sortir de la membrane. La FIG. 5 est très instructive à cet égard : d'un côté du noyau, la structure vacuolaire est manifeste; dans la moitié de droite, au contraire, le réseau est dense, ramassé sur lui-même, les vacuoles ont disparu et, en dehors de la membrane, on voit une masse homogène qui a repoussé les enclaves vitellines sur tout l'hémisphère de droite de la vésicule germinative. Cette masse est homogène, sans trace aucune de structure; elle se colore intensément par le rouge congo; on ne peut y déceler le moindre granule, la plus petite enclave vitelline. Cette contraction du noyau se généralise bientôt et, au fur et à mesure qu'elle avance, la masse de substance homogène transsudée augmente; on peut en suivre les étapes dans les FIG. 5 à 12.

Dans la FIG. 6, l'exsudat a commencé au pôle supérieur de l'œuf, pour s'étendre peu à peu sur l'équateur du noyau en diminuant d'épaisseur; d'autres fois, c'est au pôle inférieur du noyau que l'exsudat commence, pour s'étendre vers le haut. Jamais pourtant, il ne s'étend sur toute la surface de la vésicule germinative; un des côtés reste toujours adhérent sur une petite surface avec le cytoplasme ovulaire. On obtient pourtant des sections qui pourraient faire croire que l'exsudat entoure le noyau de toutes parts, mais cela est dû à ce que le plan des sections ne rencontre pas l'endroit où ce contact subsiste. Quand on suit la série des 15 à 20 coupes qui contiennent le noyau, on en trouve toujours à un pôle de l'œuf, soit l'inférieur, soit le supérieur, dans lesquelles le caryoplasme est resté en contact avec la zone des enclaves vitellines. Si l'on a sous les yeux une section passant par le plan *a, a'*, de la FIG. 6, la couche de l'exsudat apparaîtra comme ayant la même épaisseur sur tout le tour du noyau; si, au contraire, il passe suivant un plan analogue à *b, b'*, de la FIG. 6, l'épaisseur de l'exsudat paraîtra

plus forte d'un côté que de l'autre. La FIG. 13 représente une section suivant le plan a, a' , les FIG. 7, 8, 9, 10, des sections suivant le plan b, b' .

Quoi qu'il en soit, l'exsudat ne reste pas longtemps dans cette position et dans les FIG. 6 et 7 on voit apparaître en son intérieur des vacuoles, qui vont toujours en augmentant en nombre et en volume : on peut voir le commencement de ce phénomène dans la FIG. 9 et son apogée dans les FIG. 10 et 13. Les vacuoles voisines se confondent en grandissant, et bientôt la couche compacte de l'exsudat est parcourue de vastes lacunes, qui sont traversées par des trainées de substance solide.

Mais toute cette masse subit bientôt un mouvement de rotation autour du noyau, qui est d'autant plus marqué qu'elle se trouve placée plus près du pôle supérieur de l'œuf, pour venir s'accumuler à sa face inférieure, du côté du pôle végétatif.

La masse vacuolisée, déjà profondément attaquée par le cytoplasme, se détache bientôt du noyau et tombe au milieu des enclaves vitellines, pour être entraînée au milieu du pôle inférieur de l'œuf.

C'est cet état que nous montrons réalisé dans la FIG. 11. Si l'on compare les dimensions du noyau aux débuts du phénomène avec celles qu'il a lorsque l'exsudat s'est détaché de lui, on verra qu'elles sont diminuées de moitié. Le caryoplasme de l'œuf représenté FIG. 12 est tout semblable à celui du noyau de la FIG. 5, à l'endroit où la contraction s'est déjà opérée; il est dense, les mailles du réseau sont serrées les unes contre les autres, et on n'y voit plus de traces de vacuoles. HELEN KING a constaté aussi une diminution analogue de la vésicule germinative, mais elle mentionne le fait sans l'interpréter.

Nous nous trouvons donc ici devant un processus dont nous avons suivi toutes les étapes et qui nous explique un fait qui nous avait jusqu'ici beaucoup intrigué et duquel nous n'avions jamais pu donner une explication plausible.

Nous avons, en effet, souvent remarqué dans nos recherches sur les œufs, tant jeunes que vieux, une diminution brusque de volume de la vésicule germinative. Quand, pour suivre l'évolution des nucléoles, nous procédions à des examens continus du noyau, nous avons vu, tant dans les ovaires jeunes que dans les ovaires vieux, que le noyau, après une résolution nucléolaire, gorgé des produits de la désagrégation des nucléoles, se vacuolisait parfois très fort; puis le lendemain, nous le retrouvions notablement diminué de volume. Son caryoplasme était redevenu dense, son réseau serré, et nous étions obligé de conclure à une expulsion d'enchylème au travers de la membrane

nucléaire se produisant par une action osmotique lente, sans toutefois changer les rapports topographiques des éléments de l'œuf. Les diverses phases intermédiaires du processus nous échappaient.

Nous avons eu le bonheur de les saisir sur le fait dans l'œuf de *Diemyctilus*, et voici quelle interprétation nous croyons devoir leur donner.

L'enchylème nucléaire, au moment de la maturation, est très abondant; il s'est produit dans le noyau, sous l'influence de la résolution nucléolaire et de la mise en liberté des acides paranucléïniques qui en résulte, un apport abondant d'enchylème caryoplasmique, qui est venu distendre les mailles du réseau nucléaire et a provoqué une vacuolisation générale du noyau. Dans cet état, tous les granules qui s'y trouvaient en abondance se sont dissous et, en se dissolvant, ils ont produit sur le réticulum plastinien une excitation qui a provoqué sa contraction. Celle-ci a été suivie d'une expulsion, au travers de la membrane, d'un enchylème chargé de produits nucléo-albumineux. Cet enchylème a naturellement une constitution chimique et physique différente de l'enchylème de l'œuf; c'est pourquoi il se coagule en sortant du noyau en une substance homogène, dans laquelle on ne peut déceler la moindre structure. Cet état naturellement renforcé par le liquide fixateur, nous le considérons néanmoins comme normal et comme l'expression d'un processus physiologique d'échanges entre le noyau et le cytoplasme. Ce n'est pas une formation pathologique dépendant d'un défaut de fixation ou des manipulations de l'enrobage. Ces œufs sont ovariens et, comme tels, facilement accessibles pour la solution fixatrice. Nous avons pris pour l'enrobage les précautions les plus minutieuses; la rétraction du caryoplasme ne peut donc être mise sur le compte de la chaleur. Ces sortes de rétractions sont d'ailleurs facilement reconnaissables; quand elles se produisent, la membrane reste toujours adhérente au cytoplasme par des cordons ténus, qui s'étirent et se rompent; elles entraînent avec elles quelques enclaves vitellines facilement reconnaissables; ou bien quelques grains de pigment. Dans le cas présent, rien de semblable ne s'est produit; l'exsudat, en sortant, a au contraire repoussé lentement et d'une manière uniforme les enclaves qui étaient situées contre la membrane nucléaire. Celle-ci a gardé son contour régulier et n'a conservé aucune adhérence avec la couche cytoplasmique environnante.

Ces images nous ont remis en mémoire une figure de SCHULTZE, que nous avons d'abord critiquée et interprétée comme dérivant d'un vice de préparation; nous devons reconnaître aujourd'hui que l'idée de SCHULTZE

était correcte. Notre critique était pourtant bien justifiée; nous avons fait des centaines de milliers de coupes, sans jamais rencontrer les images qui nous sont tombées tout à coup sous les yeux! HELEN KING représente aussi à la base du noyau une substance liquide; elle assimile cette substance au périvitellin des auteurs; elle la considère plutôt comme une portion du cytoplasme de l'œuf amenée à la surface du noyau par une contraction de l'œuf.

Ces images nous rappellent aussi le travail de VAN BAMBEKE sur l'œuf des poissons osseux. Cet auteur figure un œuf jeune, dont le noyau est entouré d'une couche protoplasmique quasi homogène (83).

Ces échanges de substance entre le noyau et le cytoplasme avaient été admis comme des hypothèses très vraisemblables, sans que toutefois on en eût donné une démonstration complète. Nous croyons donc, quant à nous, qu'ils sont plus fréquents qu'on ne pense, mais qu'ils ont échappé jusqu'ici aux observateurs à cause de la rapidité avec laquelle ils s'accomplissent.

Ils se produisent à divers âges de l'œuf; nous nous rappelons des images à peu près semblables à celles que nous venons de décrire dans les jeunes œufs de *Rana*, *Bufo*; nous les avons toujours considérées comme des formes singulières du Nebenkern.

Le lecteur aura sans doute remarqué que nous n'avons jamais jusqu'ici fait la moindre allusion au noyau vitellin de BALBIANI. Nous avons recueilli depuis les premiers temps de nos recherches, 1887, un grand nombre de faits encore inédits que nous nous proposons de publier dans un mémoire spécial. Nous n'avons pas encore trouvé une solution satisfaisante à donner au polymorphisme incroyable que présente ce corps dans l'œuf des batraciens. Les observations que nous venons de faire chez *Diemyctilus* hâteront certainement le moment de leur publication, car nous sommes convaincu que la plupart des corps qu'on a trouvés sont des fractions du noyau expulsées dans le cytoplasme.

Presque tous les auteurs qui ont étudié le noyau vitellin de BALBIANI en font en quelque sorte un nouvel organe permanent de la cellule, persistant à côté du noyau pendant toute la vie de l'œuf. Nous pouvons dire dès maintenant que chez les batraciens rien de semblable ne s'observe. Toutes les formes de ce corps que nous avons observées à des âges différents sont passagères et n'ont entre elles aucun lien de parenté; ce sont des formations nouvelles. Ces corps, qu'on retrouve dans le cytoplasme à une année d'intervalle, n'ont pas persisté pendant tout ce temps. On dit généralement qu'ils se sont agrandis, parce qu'on retrouve des corps similaires plus grands dans des œufs plus vieux. Cette conclusion n'est pas rigoureuse.

Ceux qui ont étudié l'œuf jusqu'ici ont une manière uniforme de procéder : ils constatent dans le cytoplasme et dans la vésicule germinative des œufs jeunes certains corps, nucléoles, chromosomes, noyaux vitellins ; puis, confiant dans la permanence de l'élément nucléinien sous ses formes habituelles, ils retrouvent ces corps un an plus tard et se hâtent de conclure que ce sont les mêmes corps avec quelques modifications. Fick a fait remarquer avec beaucoup d'à propos que ce raisonnement équivaut à celui d'un homme qui, se retrouvant à un intervalle de 25 ans devant un champ de manœuvres, y verrait évoluer un corps de troupes et s'écrierait : tiens, voilà le capitaine et ses officiers, puis ses soldats en compagnies, en peloton ou en tirailleurs, et croirait se retrouver devant les mêmes hommes, sans penser qu'une génération entière a eu le temps de naître, de se reproduire, de mourir et de donner de nouveaux soldats. Certes, les uniformes, le groupement des hommes sont les mêmes ou à peu près, mais ce sont d'autres hommes.

Pendant que le caryoplasme expulse ainsi son excès d'enchylème, les nucléoles qui ont échappé à la résolution se rassemblent au centre du noyau ; ils sont compacts et d'apparence homogène et présentent une tendance manifeste à se fusionner entre eux. Cette fusion s'opère bientôt et on ne trouve plus alors qu'une seule masse au centre du noyau pour représenter l'élément nucléinien. Nous avons figuré une de ces masses de fusion **FIG. 18**.

L'expulsion de l'enchylème et son glissement le long de la surface externe du noyau ont eu pour effet de détruire toutes les adhérences qu'il avait avec le cytoplasme et de faire disparaître la membrane. Celle-ci ne se reforme plus et, quand les enclaves vitellines reviennent en contact avec le noyau, elles l'envahissent peu à peu. Le caryoplasme et le réseau plastinien ont pénétré à leur tour dans l'intérieur de l'œuf et rayonnent entre les enclaves vitellines. On peut voir dans la **FIG. 17** l'envahissement du noyau presque entièrement achevé et l'irradiation manifeste qui sort de l'ilôt caryoplasmique, où les boules de fusion se sont rassemblées.

Le nombre des œufs qui présentent ce mode de disparition de la vésicule germinative est assez fréquent, mais ce n'est certainement pas le procédé habituel, qui s'accomplit ainsi que nous l'avons représenté **FIG. 15**. Ce mode rappelle tout à fait ce que nous avons observé chez les tritons et chez *Bufo*.

D'après ce mode, nous voyons au contraire que les boules de fusion se sont rassemblées vers la partie inférieure du noyau dans une aire protoplasmique à structure réticulée plus dense. C'est ce que nous avons appelé ailleurs *plage fusoriale*. Le reste du noyau est vacuoleux et on y voit une

orientation manifeste des mailles du réseau se produire autour de la plage fusoriale pour s'étendre en rayonnant vers le pôle supérieur de l'œuf. Si nous interprétons cette image en nous souvenant des faits que nous avons précédemment décrits chez les tritons, *Rana* et *Bufo*, nous dirons que dans ce cas le noyau s'est vacuolisé au fur et à mesure que les nucléoles se sont désagrégés; puis la membrane nucléaire s'est résolue sur sa face supérieure, comme chez *Bufo* et les tritons; l'enchylème nucléaire, en s'écoulant, a entraîné le réseau avec lui et lui a donné l'orientation irradiante que nous connaissons. Les nucléoles rassemblés dans la plage fusoriale ne se sont pas encore fusionnés en une seule masse, et il est bien probable qu'ils ne le feront pas.

Dans le premier mode que nous avons observé chez *Diemyctilus*, les choses se passeraient plutôt comme chez *Rana*, où nous avons vu l'élément nucléinien se rassembler au centre du noyau et l'irradiation se produire du centre vers toute la périphérie. Quoi qu'il en soit, comme dans les autres espèces que nous avons étudiées, il est certain que chez *Diemyctilus* il ne subsiste plus dans le noyau, au moment où il disparaît, que le produit de fusion des nucléoles pour représenter l'élément nucléinien, et, comme nous allons le voir, c'est de ces masses de fusion que les chromosomes de la première figure polaire se formeront.

HELEN KING représente, dans sa fig. 2, un îlot protoplasmique qu'elle assimile au périvitellin des auteurs; mais, au contraire de la généralité des observateurs, elle lui attribue une autre origine: il se serait formé sous l'influence d'une contraction du protoplasme. Remarquons tout d'abord que cette portion n'est pas à l'extérieur de la membrane et que rien ne nous assure qu'il sera expulsé de l'œuf; son étirement dans une direction parallèle à la circonférence semble au contraire indiquer qu'il participe au mouvement du cytoplasme. Nous croyons donc que cette production sera plutôt absorbée par l'œuf et qu'elle pourrait bien être une portion de la vésicule germinative en voie de résorption.

Les phénomènes qui accompagnent la disparition de la vésicule germinative ont paru si singuliers à l'observatrice américaine, qu'elle a cru d'abord se trouver en présence de faits pathologiques dépendant de la méthode de procéder pour réaliser la fécondation.

L'auteur, en effet, prend des œufs directement de l'ovaire avant le moment de la maturation, les dépose dans l'eau, nus, avant qu'ils se soient entourés de leur coque d'albumine et procède alors à la fécondation artificielle. Elle constate les faits suivants: ou bien les œufs se désagrègent dans

l'eau après 4 ou 5 heures, ou bien, si la femelle a été tuée 4 ou 5 heures seulement avant le moment de la maturation, l'œuf continue son développement d'une manière normale.

Tous les œufs observés suivent uniformément les mêmes phases de développement que ceux qui ont achevé leur maturation dans l'ovaire. L'auteur conclut avec raison à la normalité des images qu'elle a observées. Elle a fait faire un pas marquant en avant dans la technique de ce stade de la vie de l'œuf, en démontrant que 1° les œufs ovariens sont capables de développement sans être entourés de leurs enveloppes, 2° que la fécondation artificielle est réalisable dans ces conditions. Ce fait est possible chez *Bufo*, parce que, à ce moment, les deux globules sont expulsés de l'œuf. Il ne l'est pas chez *Rana*, ainsi que l'a observé BATAILLON, parce que, chez cette dernière espèce, c'est plus tard seulement que les divisions de maturation s'opèrent.

Nous n'avons pas, quant à nous, suivi le même procédé. Tous les œufs que nous avons étudiés ont été pris aux animaux pendant leur développement naturel. Les faits que nous avons observés chez *Bufo vulgaris* donnent d'ailleurs l'explication complète de la différence constatée, à savoir que les œufs proches du moment de la maturation continuent à se développer, tandis que les autres se désagrègent dans l'eau.

Nous savons en effet 1° que chez *Bufo*, dès que le moment de la maturation arrive, la membrane de l'œuf augmente rapidement d'épaisseur, 2° que tous les phénomènes de la disparition du noyau et l'expulsion des deux globules polaires se déroulent dans l'ovaire, avant que la déhiscence des œufs ne se produise. Il en résulte 1° que les œufs qui ont été détachés de l'ovaire trop tôt n'ont pu résister au mouvement osmotique qui provoque leur gonflement immédiat dans l'eau, fait qui a été observé également par BATAILLON, parce que la membrane n'avait pas encore pris une épaisseur suffisante; 2° que les œufs pris dans l'ovaire, au moment même ou peu de temps avant la déhiscence, ont continué leur développement, parce que la membrane s'était déjà épaissie, et aussi parce que les phénomènes de maturation étaient déjà en pleine évolution. On se rappellera, en effet, que chez *Bufo vulgaris* l'œuf est tout près de la fécondation au moment où il tombe dans le péritoine. C'est pourquoi, avons-nous aussi fait remarquer, les œufs passent d'un trait à travers les oviductes, sans y subir un temps d'arrêt, ce qui se produit chez d'autres espèces où les phénomènes de maturation débutent plus tardivement. On se rappellera qu'ils débutent chez *Rana tem-*

poraria au moment même de la déhiscence, et chez les tritons peu de temps auparavant. Chez ces derniers, la première figure commence son évolution dans l'ovaire et s'achève dans la portion supérieure de l'oviducte.

Nous sommes donc en droit de conclure que chez *Bufo lentiginosus* les phénomènes se passent identiquement de la même façon que chez *Bufo vulgaris*, à savoir que les phénomènes de la maturation s'accomplissent normalement dans l'ovaire. Il est regrettable que l'auteur nous dise si peu de chose de l'état des œufs au moment où ils traversent le péritoine et l'oviducte.

Chez *Diemyctilus* la chronologie des phénomènes est absolument la même que chez *Rana temporaria*; c'est au moment de la déhiscence de l'œuf dans le péritoine que la vésicule germinative disparaît. Ce phénomène peut toutefois commencer dans l'ovaire, car nous avons observé une fois seulement la résolution de la membrane sur un œuf ovarien, mais la première figure polaire n'était pas formée; il s'agissait des toutes premières phases du phénomène.

HELEN KING nous donne ensuite une série de figures absolument identiques à celles que nous avons données chez *Bufo vulgaris* pour la disparition du noyau.

Il est vraiment regrettable que notre mémoire lui ait été inconnu, car en comparant ses figures avec les nôtres, elle leur aurait donné une tout autre sériation. Notons d'abord qu'elle a trouvé, peu de temps avant la disparition du noyau, des masses résultant de la fusion de plusieurs nucléoles, que bien à tort elle croit être - a late secretion product of the germinal vesicle -, écartant ainsi l'hypothèse de la fusion de plusieurs nucléoles.

Rappelons pour mémoire que nous avons suivi la formation de ces corps chez *Rana*, *Triton*, aux dépens des nucléoles fusionnés.

Si, d'autre part, nous interprétons les fig. 13, 14, 15, 18, 20, 21, 22, de HELEN DEAN KING, en nous rappelant ce que nous avons observé chez *Bufo vulgaris*, nous leur donnerons une autre sériation.

Le point de départ serait une figure un peu plus âgée que sa fig. 7, dans laquelle tout le caryoplasme vacuolisé se serait ordonné en corbeille ou en bouquet, comme notre FIG. 47, Pl. VI, de *Bufo*; ces stades ainsi que les suivants ont échappé à l'auteur; puis, nous nous trouverions en présence des fig. 18 à 22, qui indiquent nettement le rassemblement, dans l'aire que nous avons appelée plage fusoriale, des nucléoles qui ont échappé à la résolution dernière et qui représentent à ce moment l'élément nucléinien de l'œuf; ses fig. 13, 14, 15, ne sont, selon nous, que des étapes de l'envahissement de la vésicule germinative par les enclaves vitellines, en respectant

toujours l'espace qui se trouve à la base de la figure irradiante, que l'auteur indique par les lettres *LR*, et que nous avons appelé plage fusoriale, parce que c'est à cet endroit que le premier fuseau s'organisera. Tous les granules que l'auteur indique par la lettre *n* ne seraient, selon nous, que des enclaves vitellines du cytoplasme, qui ont déjà envahi progressivement la vésicule germinative.

Nous n'avons jamais, en effet, observé dans les nombreuses figures que nous possédons de la disparition du noyau des granules de ce volume, ni en pareille abondance; c'est au contraire une des caractéristiques de ce stade de renfermer seulement des granules d'une très grande finesse, qui se dissolvent dans l'enchylème très abondant du noyau, au point de vacuoliser entièrement la vésicule germinative.

Nous sommes peut-être bien téméraire de sérier ainsi les figures de *Bufo lentiginosus*; nous devrions, pour être absolument certain, avoir les préparations sous les yeux. Mais il y a tant de ressemblance entre celles-ci et celles que nous avons reproduites de *Bufo vulgaris*, que nous croyons pouvoir le faire avec la plus grande vraisemblance. Il est regrettable que l'auteur n'ait pas dessiné le pôle entier des œufs qui lui ont fourni ces figures; cela nous aurait guidé d'une manière plus sûre et aurait facilité de beaucoup la compréhension de cette série de figures.

Nous ne pouvons toutefois nous rallier à sa manière de voir en ce qui concerne l'accroissement et la formation des rayons de la figure rayonnante aux dépens de ces prétendus granules nucléaires; selon nous, ces filaments irradiants ne sont que des fibrilles du réticulum plastinien préexistant dans la vésicule germinative.

Elaboration des éléments de la figure.

Nous disposons d'un petit nombre de figures pour l'étude de ces stades. Mais nous pouvons aisément les rattacher à des stades similaires que nous avons observés ailleurs, notamment chez les tritons. Nous nous bornerons donc à en donner la description, en indiquant la place qu'ils occuperaient dans la sériation telle que nous l'avons établie pour les espèces voisines.

Élément nucléinien.

Reprenons notre description aux stades de la FIG. 18, c'est-à-dire à celui de la fusion de tous les nucléoles qui ont résisté à la dernière résolution nucléolaire en une seule masse compacte et homogène.

Nous savons comment et dans quelles circonstances se produit cette fusion.

Au moment où le cytoplasme envahit la vésicule germinative, les nucléoles ont une tendance à s'accoler et à se fusionner à plusieurs pour former des masses volumineuses. Nous avons signalé ce fait chez *Rana* et chez les tritons; on peut en voir des images très démonstratives dans les figures que nous avons données dans nos mémoires de 1898, 1899 et 1900.

Nous avons assisté chez les tritons à la formation de ces sphères de nucléine au centre de la figure irradiante, et nous en avons marqué toutes les étapes dans la série des figures 65 à 81, Pl. IX et X. Ces masses absorbent non seulement des nucléoles, mais aussi un grand nombre de granules résultant de la résolution des nucléoles environnants. Nous en avons conclu qu'il s'opère à ce stade un remaniement profond dans l'élément nucléinien, et que les chromosomes qui en sortiront sont des entités nouvelles n'ayant plus aucun rapport morphologique avec les chromosomes des ovogonies disparus depuis des années.

Un phénomène identique à ce qui se passe chez les tritons se présente chez *Diemyctilus torosus*. Nous en voyons la preuve dans les FIG. 14 à 20.

Dans la première, qui est tirée d'un œuf ovarien, dont la vésicule germinative a gardé ses limites normales et sa membrane, mais pourtant est fortement vacuolisée, tous les nucléoles, si nombreux quelques heures auparavant, se sont résolus en granules, et ceux-ci se sont dissous, sauf ceux qui sont ici représentés et qui se trouvaient au centre du noyau. On en voit deux assez volumineux s'allongeant et s'étirant entre les cordons du caryoplasme; tout autour d'eux se voit une grande quantité de petites sphérules ou de petits anneaux, qui ont la coloration franche de la nucléine. C'est tout ce qui représente l'élément nucléinien dans cet œuf; on n'y peut voir de chromosomes en dehors de ces corps.

Nous trouvons l'étape suivante dans la FIG. 15. Ce stade est plus avancé; nous en jugeons ainsi à cause des changements qui sont survenus dans la vésicule germinative. Tout d'abord la membrane a disparu, le caryoplasme vacuoleux s'est orienté en une figure irradiante partant de la plage fusoriale, qui est nettement formée à la portion inférieure du noyau. Celle-ci contient l'élément nucléinien sous la forme de plusieurs masses spongieuses résultant de la fusion des nucléoles non résolus et, près de celles-ci, quelques boules plus petites qui semblent se rapprocher.

Enfin, les FIG. 18 et 19 sont les aboutissants. Dans ces deux figures, la

vésicule germinative a été presque entièrement résorbée; il ne subsiste plus autour des masses de fusion qu'une couche peu épaisse de caryoplasme réticulé; les enclaves ont envahi peu à peu tout le caryoplasme, en ne laissant indemne que la portion de la plage fusoriale destinée à la première figure polaire. Dans la FIG. 19, il y a encore trois masses bien distinctes; dans la FIG. 18, la fusion est complète, nous nous trouvons en présence d'une masse unique.

C'est aux dépens de ces masses de fusion que nous allons voir les chromosomes s'élaborer au sein de la plage fusoriale. Elles se fragmentent, en effet, en un nombre variable de blocs de nucléine; les FIG. 20, *A*, et 16, *A*, en contiennent 6 de grandeur différente. La FIG. 16, *B*, en représente 3 qui ont une forme de boule, un autre a déjà une forme de croix qui se dessine légèrement.

Ces trois premiers blocs ont, selon toute probabilité, le volume d'un chromosome définitif; les trois qui restent dans la figure sont plus volumineux et se diviseront encore vraisemblablement en deux ou trois fragments pour donner le nombre voulu de chromosomes à la figure. La FIG. 20, *A*, est à peu près au même stade; elle contient aussi 5 blocs de volume variable; le plus petit est sphérique et porte en son milieu une vacuole qui va le transformer en anneau; son voisin de gauche est compact et s'allonge légèrement en se courbant; les autres, plus volumineux, s'allongent d'une manière irrégulière; ils portent encore en leur intérieur des vacuoles qui ne laissent aucun doute sur leur origine. Ce sont certainement des fragments qui proviennent de masses spongieuses semblables à celle de la FIG. 19. Elles se diviseront certainement encore une ou deux fois pour donner à la figure le nombre déterminé de chromosomes. Nous voyons cette division s'opérer dans la FIG. 20, *B*. Ici, nous remarquerons d'abord deux masses, les plus petites, qui ont déjà leur volume définitif et qui s'allongent pour donner des bâtonnets, puis des paires de bâtonnets accouplés, qui, selon toute probabilité, viennent de se diviser; les moitiés restent accolées et chevauchent l'une sur l'autre. Enfin, une masse plus volumineuse et compacte devra encore se diviser deux fois pour fournir à la première figure le nombre habituel de chromosomes, qui est 12. Elle est grande assez pour cela et contient un volume suffisant de nucléine pour fournir 4 chromosomes.

Cette division est poussée plus loin encore dans les FIG. 17 et 20, *C*.

Dans la FIG. 17, nous comptons 9 fragments de grosseur inégale, les deux plus volumineux ayant la forme d'**U** largement ouverts. Subiront-ils

encore une division transversale, qui portera le nombre des chromosomes à 11 ? Cette figure présente ensuite une particularité intéressante : sur le côté de la plage fusoriale, on peut voir une boule vacuolisée et spongieuse, portant en son centre une cavité plus grande. Cette boule ne sera pas utilisée par l'œuf pour la cinèse; elle a été rejetée de la plage fusoriale, parce qu'elle était en excès et elle sera résorbée par l'œuf, après avoir été entraînée au milieu des enclaves vitellines, comme celle que nous avons représentée dans la FIG. 23.

Il nous reste maintenant à décrire la FIG. 20, C.

Cette figure nous représente un stade un peu plus avancé, en ce sens que le fuseau est déjà nettement dessiné au sein de la plage fusoriale, qui est cependant encore très grande et loin d'être envahie par les enclaves vitellines.

On peut dire, sans crainte d'être démenti, que quatre chromosomes sont déjà formés; le plus petit a la forme d'une boule un peu ovalaire portant à ses deux extrémités deux petites protubérances; il semble donc s'étirer sur les filaments du fuseau. Cet étirement est plus marqué dans le chromosome qui se trouve à l'extrémité supérieure du fuseau; il porte en son milieu un renflement qui est réparti également sur les deux côtés de son axe en deux protubérances arrondies; c'est le commencement de la formation des branches horizontales ou ailes d'un oiselet. Nous trouvons cette forme réalisée dans le chromosome supérieur de droite, qui est placé sur le bord du fuseau; les deux protubérances à peine ébauchées dans le chromosome précédent se sont allongées et font saillie en dehors du fuseau, tandis que l'axe vertical adhérent aux filaments du fuseau s'est aminci et un peu raccourci. Les deux chromosomes du centre ont des formes singulières et rien ne peut faire préjuger de leur sort ou de leur évolution. Les trois autres, qui se trouvent à la partie inférieure de la figure, sont trop volumineux pour former un seul chromosome; ils subiront donc encore, selon toute vraisemblance, une division transversale en leur milieu coudé et ainsi le chiffre habituel de 12 sera atteint.

Nous avons observé chez *Diemyctilus* les images si curieuses trouvées dans les cellules-mères par tous les botanistes qui ont étudié les liliacées et par JANSSENS chez les tritons (1901) au stade qui précède la mise des chromosomes au fuseau.

Le lecteur se rappellera certainement les chromosomes entortillés par paires après que le peloton s'est scindé en autant de segments qu'il y aura

de paires de chromosomes sur le fuseau. Chez les végétaux, la division longitudinale du filament nucléinien est indiquée longtemps avant la scission du peloton. Il en est de même chez les tritons; il suffit de jeter un coup d'œil sur les fig. 4, 5 et 6 du mémoire de JANSSENS pour s'en convaincre. En est-il ainsi chez *Diemyctilus*; existerait-il aussi un stade peloton? En suivant les sinuosités qui se dessinent à la surface de la grosse masse de fusion dans la FIG. 18, on serait presque tenté de le penser. Ce serait à coup sûr un fait nouveau dans l'histoire de la cinèse des œufs de batraciens. Nous n'avons jusqu'ici observé rien de pareil dans les nombreuses préparations que nous avons de ce stade dans toutes les autres espèces que nous avons étudiées. Mais est-il bien nécessaire qu'une division longitudinale soit intervenue et qu'il existe un stade spirème pour expliquer l'aspect que revêtent certains des chromosomes de la FIG. 21. Examinons d'abord cette figure de plus près. Remarquons qu'elle renferme seulement 10 chromosomes. Est-cela le nombre définitif? Nous avons de bonnes raisons de le croire. Mais il ne nous paraît pas impossible que l'un ou l'autre des plus volumineux se divise encore pour porter le nombre à 11 ou 12 chromosomes.

Nous voyons parmi ces chromosomes quelques formes caractéristiques. Tout d'abord les deux plus petits, indiqués par les lettres *a* et *b*, sont compacts et d'apparence homogène; ils ont la forme d'une croix à branches grosses et courtes; c'est une des formes les plus typiques, que nous avons le plus souvent rencontrées au moment de la mise au fuseau. Celui que nous indiquons par la lettre *c* nous paraît être un seul filament replié sur lui-même en son milieu, et dont les deux branches se seraient coudées une seconde fois sur un plan vertical au premier.

Ceux qui correspondent aux lettres *d*, *f*, *h*, sont à peu près dans le même cas; ils ont en effet deux extrémités libres ou accolées à l'un des bouts de l'U plus ou moins irrégulier qu'ils forment, tandis qu'on ne voit aucune solution de continuité à l'autre bout. Les deux branches formées par la première courbure se sont simplement accolées et superposées. La seconde courbure s'indique manifestement sur celui qui est indiqué par la lettre *i*. Les deux branches formées par la première courbure, au lieu de rester superposées dans un même plan, comme en *f* et en *h*, se sont entortillées à la lettre *j*. On dirait que le chromosome a subi un mouvement de torsion autour d'un axe passant par le premier angle de courbure. Il en résulte un véritable entrelacement. Cet entrelacement est entièrement réalisé en *g*; seulement ici, il s'est opéré un phénomène nouveau, à savoir que le chromosome s'est brisé au point de courbure, puisque nous y distinguons

maintenant quatre extrémités libres. Cette rupture au point de la première courbure se produit aussi, sans que pour cela l'entortillement des deux moitiés soit nécessaire; cet état est presque réalisé en *k*.

Si nous revenons maintenant pour un instant à la FIG. 20, nous y voyons deux chromosomes typiques en **U**; l'un, en *a*, est coudé en un endroit et les deux moitiés y sont droites; en *b*, la seconde courbure est réalisée. Ces deux formes sont, à notre avis, les points de départ des chromosomes entortillés de la FIG. 21, avec formation comme aboutissement d'une paire de chromosomes entièrement séparés. Au lieu donc d'une seule section transversale du peloton, divisé longitudinalement au préalable, nous nous trouverions chez *Diemyctilus* devant deux divisions transversales consécutives. La position qu'occupent les deux paires de chromosomes de la FIG. 20, *B*, qui chevauchent l'un sur l'autre, pourrait aussi suggérer une autre explication. Les blocs qui se seraient détachés de la masse nucléinienne se seraient étranglés très tôt et, en s'allongeant et en maintenant leur adhérence, ils s'enrouleraient l'un autour de l'autre. Il faudrait alors, dans cette hypothèse, que la grosse masse de nucléine encore indivise renferme encore une quantité suffisante de matière pour former cinq chromosomes. Les chromosomes groupés par paires dans la FIG. 20, *B*, rappellent presque la fig. 10 de JANSSENS.

Nous nous trouvons donc devant des groupements de chromosomes absolument de formes identiques à celles que JANSSENS a observées dans les spermatocytes des tritons, mais leur origine et leur formation sont absolument différentes.

La préparation à la cinèse est d'ailleurs tout autre et beaucoup plus rapide dans l'œuf que dans les cellules testiculaires.

Nous avons dit tantôt que nous expliquions la formation de ces paires de chromosomes par une double division transversale. Nous n'entendons nullement par là donner à ce mot le sens que WEISSMANN a voulu lui donner. On connaît notre manière de voir sur cette théorie; nous insistons néanmoins sur ce cas une fois de plus pour montrer qu'il ne faut pas voir dans ces divisions autre chose qu'un moyen de partager un gros bloc de nucléine en 11 ou 12 blocs plus petits, sans préjuger en quoi que ce soit de la qualité des granules élémentaires qui y sont contenus. Il y aura divisions transversales consécutives, quand les masses de fusion reprendront la forme filamenteuse, comme c'est le cas en *c* de la FIG. 20, *C*; mais pour le cas des FIG. 19, 20, *A*, 20, *B*, on conviendra avec nous qu'il est impossible

de voir une division transversale au sens de WEISSMANN dans le fait qu'un fragment de l'élément nucléinien se détache de la masse, dans laquelle celui-ci s'est condensé en un bloc compact.

Nous ne pouvons accorder non plus une trop grande importance au fait de l'entortillement des deux moitiés; nous avons signalé au cours de l'histoire de l'œuf, dans des œufs encore loin de l'époque de la maturité, des entortillements et des doubles courbures dans un grand nombre de nucléoles en voie de reprendre la forme filamenteuse. Nous rappellerons les fig. 38 de *Bufo*, 44, *A*, et 58, *A*, des tritons. Or, qu'est-ce après tout qu'un chromosome à cette période de la vie de l'œuf? C'est un nucléole qui reprend sa forme filamenteuse, et nous ne voyons pas que, pour l'occasion, il doive se comporter autrement qu'aux autres époques de sa vie dans des circonstances analogues.

Le fuseau.

Nous avons peu de chose à dire sur la formation du premier fuseau chez *Diemyctilus*; nos recherches sur ce sujet sont incomplètes. Nous ne pourrions que rapporter les images que nous aurons sous les yeux à celles que nous ont fournies les tritons.

Constatons d'abord que la plage fusoriale où les nucléoles se sont rassemblés est une petite portion de la vésicule germinative, ainsi qu'en témoignent les FIG. 15 à 20, où le noyau est représenté subissant l'envahissement progressif des enclaves vitellines sur les figures irradiantes qui accompagnent sa disparition. Toutes les fibrilles sortent d'un ilot protoplasmique réticulé, où sont retenus les bâtonnets ou les blocs de nucléine. Le fait est très bien indiqué dans la FIG. 17, *B*; sur le pourtour de cet ilot protoplasmique sphérique, des radiations très marquées s'étendent à travers le caryoplasme jusqu'au sein des enclaves vitellines. Le réticulum plastinien qui le compose ne présente à ce moment aucune orientation. On pourra s'en convaincre en jetant un coup d'œil sur les FIG. 17 et 20. A ce stade, il n'existe donc qu'un seul centre de rayonnement, c'est la plage fusoriale entière.

Dans la FIG. 16, la plage fusoriale s'est nettement délimitée par une couche réticulée, où toutes les fibrilles de l'irradiation paraissent s'insérer.

Dans la FIG. 20, *B*, toutes les fibrilles irradiantes ont repris la forme ordinaire du réticulum; on n'y distingue plus le moindre rayonnement et, à

l'intérieur de la plage, aucune orientation nouvelle ne se manifeste, qui pourrait faire penser à l'apparition du fuseau.

Nous trouvons le fuseau réalisé dans la FIG. 20, A; la plage fusoriale, nettement limitée par les irradiations qui l'entourent de toutes parts, est entièrement transformée en un fuseau légèrement allongé qui commence à se former. Comme nous l'avons déjà fait remarquer pour les autres espèces précédemment étudiées, les fibrilles du fuseau, arrivées aux pôles, ne s'implantent pas toutes sur une sphère ou sur un centrosome (ces corps n'existent pas plus dans *Diemyctilus* que dans les autres batraciens), mais elles paraissent tourner autour du pôle pour se continuer sur la face opposée.

La FIG. 20, c, est certainement plus avancée que la précédente; ici, l'irradiation qui entourait le fuseau est entièrement disparue. Le fuseau est beaucoup plus grand; on n'en voit en réalité qu'une partie sur ce dessin, car il a été coupé obliquement et les deux pôles de la figure ne sont pas visibles. Il en est de même de la FIG. 21, où l'on ne peut voir qu'un pôle de la figure et où tous les autres chromosomes qui se trouvaient sur la coupe suivante ont été transportés pour plus de facilité.

Il résulte de l'examen que nous venons de faire de ces quelques figures que le fuseau naît toujours dans le caryoplasme après que la membrane du noyau s'est dissipée et quand le cytoplasme a envahi presque entièrement l'espace occupé par le noyau. Cet envahissement se produit malgré l'irradiation qui traverse l'îlot protoplasmique où se trouvera la figure; on dirait même qu'à ce moment les enclaves suivent les rayons dans leur acheminement vers le centre, FIG. 16, B, et 19.

Une autre constatation à faire est la suivante, c'est que le fuseau peut apparaître, alors que l'élément nucléinien est encore loin du moment d'atteindre le chiffre normal de chromosomes et a la forme de blocs d'aspects les plus variés, FIG. 20, A.

D'autre part, la division de l'élément nucléinien peut être déjà très avancée, alors qu'on n'aperçoit encore aucune trace de formation du fuseau, FIG. 20, B. Remarquons pour finir que le fuseau reproduit dans la FIG. 20, A, rappelle singulièrement celui que nous avons représenté du *Triton teniatus* en 1898, fig. 87, T; le réseau plastinien qui l'entoure rayonne sur tout son pourtour au travers du caryoplasme.

Ovocyte de premier ordre.

Maintenant que nous connaissons l'origine et la constitution des éléments de la première figure polaire et que nous avons assisté à l'ébauche de

celle-ci, nous allons poursuivre son évolution jusqu'à la formation du premier globule polaire.

Nous avons pris pour la sériation des figures les mêmes points de repère que ceux qui nous ont conduit dans la même tâche dans l'étude des tritons. Mais nous n'avons pas chez *Diemyctilus* observé la même régularité. Tandis que chez les tritons nous avons observé la formation presque complète du premier fuseau dans l'ovaire, chez l'espèce californienne, tous les phénomènes qui accompagnent la disparition de la vésicule germinative et la formation de la première figure s'accomplissent dans le péritoine, quand l'œuf est en liberté. Nous avons seulement trouvé une seule fois la maturation commencée dans l'ovaire. La FIG. 16 représente l'élément nucléinien de cet œuf. Toutes nos autres figures des PL. II et III, à l'exception de deux ou trois, proviennent d'œufs que nous avons trouvés dans le péritoine. Les FIG. 26, 27, 29, 30, 32, proviennent d'œufs trouvés dans la portion supérieure de l'oviducte.

Il y a plus, nous avons même trouvé dans le péritoine des œufs ayant expulsé leur premier globule polaire et dont la seconde figure était en couronne équatoriale. La plus grande irrégularité paraît donc présider ici à la déhiscence de l'œuf et à son séjour dans le péritoine; nous verrons que cette irrégularité retentira sur tous les phénomènes de la maturation.

Evolution du fuseau.

Reprenons donc maintenant l'évolution du fuseau au point où nous l'avons laissée.

Nous l'avons vu dans la FIG. 20, *A*, à peine ébauché, de taille relativement petite, si on le compare au développement qu'il va prendre plus tard. Il n'a pas encore d'asters bien marqués aux pôles, car les filaments qui l'environnent de toutes parts ne sont pas encore centrés, ni ramenés tous à l'endroit où ils viendront tous converger, c'est-à-dire aux pôles de la figure. La figure était donc en quelque sorte monocentrique, car on peut avec grande vraisemblance considérer l'écheveau où se trouve tout l'élément nucléinien comme le centre de la grande irradiation, dont nous n'avons à cet endroit dessiné qu'une petite partie. Pour en avoir une idée plus nette, nous nous permettrons de renvoyer le lecteur à la figure 87, *T*, du *Triton taeniatus*, dont il a été question plus haut.

Nous trouvons ce centrage accompli et le fuseau dans tout son épanouissement dans l'œuf de la FIG. 24. La figure remplit tout l'ilot cytoplasmique.

que, qui se trouve au pôle de l'œuf. Le fuseau est ovale, les pôles sont légèrement arrondis et toutes les fibrilles paraissent converger vers les pôles de la figure. Les asters qui partent des deux pôles rayonnent sur tout son pourtour, mais c'est surtout dans la direction de l'équateur que les rayons sont le plus puissants. Ils s'étendent si loin, qu'ils dépassent parfois en divergeant le plan équatorial, pour traverser et s'entrecroiser avec ceux qui viennent de l'autre pôle dans une direction opposée.

Le fuseau de la FIG. 24 de *Diemyctilus* est une copie presque complète de ceux que nous avons trouvés chez les tritons et représentés en 1898, fig. 86, 87, 90.

La FIG. 22 est un peu plus âgée et un peu plus avancée; nous remarquons, en effet, que les enclaves ont envahi le caryoplasme beaucoup plus que dans la FIG. 24; elles touchent le pôle inférieur de la figure, et le pigment se tasse au pôle supérieur. On n'aperçoit plus les rayons astériens qui rayonnaient autour des pôles, ils sont dissipés; seuls les rayons qui se dirigent vers l'équateur et qui constituent la *Mantelschichte* des auteurs subsistent encore, mais ils sont beaucoup moins puissants et moins amples que dans la figure précédente.

Le cytoplasme continue toujours sa marche envahissante; nous en voyons une étape suivante dans les FIG. 25, A, et 25, B, qui représentent deux coupes d'une même figure. Les enclaves et le pigment ont envahi ici tout le tour de la figure; l'aire réticulée, encore très grande dans la FIG. 22, est remplie d'une très grande quantité de granules pigmentaires; les pôles du fuseau se sont effilés et forment un angle aigu; les rayons astériens subsistent encore d'un seul côté du fuseau, à gauche, où ils sont encore très marqués. Les enclaves vitellines commencent à se rapprocher, les plus petites d'abord. On peut se rendre compte exactement du mouvement de ces dernières sur le tour de la FIG. 25, B. Les FIG. 26, 27, 29, sont encore plus avancées dans leur évolution, si nous ne considérons pour le moment que le fuseau qui ressemble beaucoup comme aspect à celui des FIG. 25, A et B. Nous verrons qu'il a les mêmes caractères, pôles effilés à angles aigus, équateur élargi par les fibrilles externes au fuseau; mais en outre, nous remarquons aussi que les enclaves vitellines volumineuses se sont rapprochées en rangs serrés sur toute la périphérie de la figure, tandis que, dans les figures précédentes, elles étaient beaucoup plus clairsemées et de taille beaucoup moindre.

Nous trouvons enfin dans les FIG. 28 et 30 des fuseaux qui ont fait un pas de plus dans leur évolution. Les fibrilles se sont tassées les unes contre

les autres; le fuseau est beaucoup plus dense, il est légèrement rapetissé, ses contours se sont arrondis; les pôles ne sont plus si effilés, ils sont un peu plus aplatis et, dans le plan équatorial, on n'aperçoit plus les filaments astériens qui s'entrecroisaient. Le fuseau forme maintenant un ovale presque parfait.

La forme du fuseau se modifie encore, quand le moment du retour vers les pôles est venu; il s'allonge alors en même temps que les pôles s'aplatissent à nouveau, voir **FIG. 34, 35**.

Evolution des chromosomes.

Mise au fuseau.

Nous avons décrit tantôt, en parlant de l'élaboration de l'élément nucléaire, les diverses formes que les chromosomes peuvent prendre au moment de leur formation. Dans aucune des espèces que nous avons étudiées jusqu'ici, nous n'avons observé une aussi grande variété de formes, ni d'aussi grandes différences dans le degré de leur évolution. Dans les anoures, nous avons signalé une évolution à peu près semblable chez *Rana*. Chez les tritons, au contraire, nous avons observé une régularité plus grande dans la forme et une uniformité presque complète dans les changements qu'ils subissent.

Remarquons d'abord leur forme. Les uns sont presque droits, **FIG. 20, B**; d'autres sont des blocs plus ou moins allongés; d'autres sont en croix, **FIG. 21, a et b**; un autre forme un anneau, **FIG. 20, A**; un très grand nombre ont la forme d'**U** bien régulière; quelques-uns enfin de ces derniers ont subi une seconde courbure; chez d'autres, les branches sont entortillées. On peut à peine trouver deux chromosomes à peu près semblables dans la série des figures que nous avons données de la première figure polaire, si nous considérons chaque figure en particulier. Il n'y a rien dans ce fait qui doive nous étonner beaucoup, puisque nous connaissons leur origine si diverse. C'est bien inutilement donc qu'on rechercherait une ressemblance complète avec les stades analogues de la cinèse des spermatocytes et des cellules-mères du pollen. Nous n'avons pas ici de stade peloton ou spirème; les chromosomes s'individualisent successivement; les **FIG. 20, A, B, C**, en témoignent; ils garderont cette différence d'allure jusqu'à la couronne équatoriale.

Nous aurions donc bien difficile de suivre l'évolution des chromosomes

en considérant leur ensemble dans chaque figure; car dans chacune d'elles, nous retrouvons les formes si différentes du début avec leur manière particulière d'évoluer. Nous croyons donc plus simple de considérer chacune de ces formes les unes après les autres et de les suivre jusqu'au point culminant de leurs métamorphoses, qui est la forme typique de l'**U** de la couronne équatoriale parfaite, FIG. 33.

Nous distinguerons de suite les formes suivantes au moment de la mise au fuseau :

1° Celles qui sont compactes, en boule, en blocs irréguliers, droites ou en croix.

2° Celles qui sont en anneau.

3° Celles qui sont coudées, sans être entortillées.

4° Celles qui sont entortillées.

5° Celles qui sont en **U** dès le moment de la mise au fuseau.

La première catégorie se fixe au fuseau le plus souvent dans le sens de son plus grand axe, ou bien par une de ses extrémités; mais alors la rectification se produit rapidement; c'est ce que l'on peut voir en *a, b, e, f*, FIG. 24, en *c, d*, FIG. 20, *c*, en *a*, FIG. 22.

Les chromosomes qui ont la forme d'anneau peuvent adhérer au fuseau de plusieurs manières, soit par un seul de leur côté, la cavité de l'anneau étant externe au fuseau, FIG. 20, *A*, soit par les deux côtés de l'anneau, la cavité de l'anneau étant située tangentiellement à la surface du fuseau, comme dans la FIG. 30, *d*.

Ceux qui ont subi une double courbure, sans que pour cela les branches formées par la première courbure se soient entortillées, se fixent au fuseau au coude formé par la seconde courbure, FIG. 20, *c, b*.

Ceux qui sont entortillés subissent aussi une seconde courbure et se fixent au fuseau par le coude de cette seconde courbure, FIG. 22, *e*.

Enfin, ceux qui dès le début ont pris la forme d'un **U** avec courbure en un seul point, prennent souvent dès ce moment leur situation définitive à l'équateur du fuseau.

Métaphase.

Reprenons maintenant les unes après les autres ces variétés de chromosomes depuis le moment de leur mise au fuseau et voyons quelle transformation ils subissent jusqu'à la formation de la couronne équatoriale.

Pour nous aider à comprendre leurs mouvements, rappelons-nous : 1° qu'ils sont des éléments vivants; 2° qu'ils sont soumis au sein de la figure à

deux systèmes de forces, les unes propres au fuseau produisant un mouvement de rotation; les autres externes au fuseau proprement dit, émanant des deux pôles et agissant en sens contraire. Ces dernières sont prédominantes pendant la métaphase.

1° *Chromosomes compacts.*

Si la forme du début est une boule, telle qu'on peut en voir dans les FIG. 16, *B*, 17, 20, *C*, *c*, la boule s'allonge un peu, devient ovale et aux extrémités de son petit diamètre apparaissent deux petites protubérances, comme le montre le chromosome *c* de la FIG. 20, *C*. Ces deux protubérances s'allongent aux dépens de la boule et nous donnent la forme *d* de la même figure. Remarquons de suite que la masse médiane est déjà subdivisée en deux masses latérales, séparées par un léger sillon. Ces deux masses latérales s'allongent bientôt pour devenir les ailes de l'oiselet figuré en *e*, en absorbant la substance des deux protubérances verticales, qui ont diminué de volume au fur et à mesure que les horizontales ont augmenté.

Les chromosomes indiqués à la lettre *c*, dans la FIG. 24, ont vraisemblablement la même origine, de même que ceux de la FIG. 28, indiqués par les lettres *b* et *c*.

Ce mouvement s'accroît, les branches horizontales gagnent de plus en plus en volume et nous aboutirons aux formes des chromosomes *c* et *e* de la FIG. 27, situés dans le plan équatorial, ou à celle indiquée par les lettres *c* et *d*, FIG. 29.

Remarquons que les formes initiales sont situées à des niveaux très variables sur le fuseau, parfois même aux extrémités, ex. FIG. 20, *C*, en *d*, et que les branches horizontales, ou ailes des oiselets, sont d'autant plus grandes que les chromosomes sont plus proches de l'équateur du fuseau, FIG. 28, *d*, FIG. 27, *c* et *e*, FIG. 30, *c*, *e*, *f*. L'aboutissement est donc un **U** dans le plan équatorial.

Nous pouvons suivre la même marche des phénomènes sur les quatre chromosomes en croix de la FIG. 22; seulement, dans cette figure la forme initiale *a* dérivait vraisemblablement d'un bâtonnet droit, tel qu'on peut en voir dans la FIG. 20, *B*.

Mais les chromosomes n'ont pas toujours une forme aussi régulière; ils ont parfois la forme de blocs anguleux, que nous avons rencontrée si souvent au stade de la mise au fuseau chez nos tritons européens. Nous

trouvons des blocs semblables dans les FIG. 24, en *a*, *b*, *f*, FIG. 29, *a*, FIG. 25, *A*, *a*, FIG. 20, *c*, *f*.

Ces blocs, quand ils sont fixés au fuseau par un de leurs côtés, s'étirent sur les filaments suivant deux directions. Ceux qui sont représentés en *a* et en *b*, FIG. 24, passeront par la forme *d* de la même figure, ou bien *a* de la FIG. 29. La protubérance arrondie se divisera en deux pour devenir *a* de la FIG. 25, *A*, ou *c* de la FIG. 30, ou *g* de la FIG. 28, pour aboutir, comme les formes précédemment étudiées, à se transformer en **U** dans le plan équatorial. Les chromosomes *b* de la FIG. 25, *A*, et *c* de la FIG. 25, *B*, nous paraissent appartenir à cette catégorie.

2° Chromosomes en anneaux.

Nous devons distinguer pour ceux ci deux modes d'insertion.

a) Ceux qui adhèrent au fuseau par un seul de leurs côtés, comme celui de la FIG. 20, *A*. Nous le retrouvons en *a*, FIG. 25, *B*, avec une forme singulière : le côté interne, inséré sur le fuseau, est étiré et sur le point de se rompre, tandis que le côté externe porte deux protubérances latérales en forme d'aillettes, qui sont le commencement des branches horizontales. La rupture, qui était imminente en *a*, est achevée en *b*, ainsi qu'en témoignent les petits crochets visibles aux extrémités des branches verticales. Celles-ci sont en effet un peu plus longues et plus volumineuses que celles du chromosome *a*, ce qui permet de supposer que la substance du côté primitivement adhérent au fuseau est passée dans l'autre. Les branches horizontales ont aussi augmenté de taille et de volume. Le mouvement commencé s'est continué pour arriver à la forme du chromosome *d* avec quatre branches presque égales, puis à la forme *b* de la FIG. 25, *A*, avec branches horizontales plus longues et plus grosses. Nous croyons devoir donner cette sériation aux chromosomes décrits dans ces deux figures, parce que les lignes de forces indiquées par les fibrilles du fuseau témoignent d'une manière certaine d'une action centrifuge externe à l'équateur.

b) Mais les chromosomes en anneau peuvent présenter deux côtés au lieu d'un pour s'insérer au fuseau. Nous trouvons cet état réalisé dans le chromosome *d*, FIG. 30. L'anneau s'est allongé au point que la cavité médiane a disparu et que les deux côtés sont adhérents. En son milieu, il porte deux protubérances, qui sont les commencements des branches horizontales. Nous les retrouvons agrandies aux dépens des verticales dans la FIG. 28, *a*; il en est de même des lettres *a* et *d* de la FIG. 27. Le résultat de

ce mouvement est obtenu en *g* de la FIG. 30, en *a* et en *b* de la FIG. 32. L'anneau, de vertical qu'il était, est donc devenu horizontal.

3° *Chromosomes coudés deux fois.*

Nous voulons parler de ceux qui, dès le moment de leur formation, ont la forme d'**U**, et dont les branches de l'**U** ont subi en leur milieu une seconde courbure : tel celui de la FIG. 20, *C*, en *b*. Ils s'insèrent au fuseau par le second point de courbure. Mais ils ont parfois subi au moment de l'insertion une division transversale, qui les transforme en une paire de chromosomes-filles. C'est ce que l'on peut voir en *k*, FIG. 21. Quand cette division précoce s'opère, les deux moitiés restent accolées pendant toute la métaphase et se placent immédiatement dans le plan équatorial. On les retrouvera aisément en *a*, en *f* et en *h* de la FIG. 29, et enfin en *b* et en *c* de la couronne équatoriale, FIG. 32.

Mais la division transversale précoce ne se produit pas toujours; au contraire, nous pouvons dire qu'elle survient plutôt rarement. Quand elle ne se produit pas, le chromosome poursuit son évolution dans cet état; nous le retrouvons aisément comme tel ou légèrement modifié à travers toutes les étapes de la métaphase. On peut en voir en *f* et *h*, FIG. 21; en *e*, FIG. 26; en *b*, FIG. 27; en *c*, *d*, *i*, FIG. 32.

Ils se fixent immédiatement à l'équateur de la figure.

4° *Chromosomes entortillés.*

Nous devons, comme pour la catégorie précédente, distinguer l'évolution de ceux qui ont subi une division transversale à leur premier point de courbure et forment un groupe de deux chromosomes bien distincts au moment de la mise au fuseau : tel le chromosome *g* de la FIG. 21. Ce groupe binaire est le seul que nous ayons rencontré de cette forme; nous ne pouvons donc émettre à son sujet que des hypothèses sur la manière dont il évoluera. Selon toute vraisemblance, il se placera au fuseau par son milieu; les deux chromosomes-filles se rectifieront en se superposant sur un même plan pour se placer à l'équateur en prenant la forme d'**U**.

Mais les chromosomes peuvent s'entortiller, sans se rompre à leur premier point de courbure, et se couder encore dans cet état : tels ceux que nous indiquons en *i* et *j*, FIG. 21. Aussitôt placés au fuseau en *y* adhérant par le milieu des deux branches, ils tendent à se dérouler et à faire disparaître leur entortillement. C'est ainsi du moins que nous croyons devoir interpréter

l'état des chromosomes *e*, FIG. 22, et *d*, FIG. 24. La première idée qui vient à l'esprit, c'est qu'on se trouve, en considérant ces deux chromosomes, devant un commencement de retour polaire. Mais, cette idée sera écartée bien vite, si l'on considère : 1° la situation du premier sur le fuseau; il est, en effet, presque contre un pôle de la figure; 2° l'état de la FIG. 24, qui est tout au début de son évolution, dans un ilot protoplasmique encore très grand, et qui présente un système de rayons centrifuges excessivement puissant, qui repousse les deux branches vers l'équateur du fuseau. Ces deux figures, 22 et 24, de même que les figures 25 et 26, sont selon nous en plein achèvement vers la couronne équatoriale.

Cette séparation des deux moitiés par leur milieu n'est qu'une apparence d'éloignement; nous la croyons plutôt produite par le fait du déroulement des chromosomes entortillés et du redressement des deux branches. Ce phénomène serait à son début en *e*, FIG. 22; le déroulement serait achevé en *h*, FIG. 24; en *d*, FIG. 25, *A*, la rectification des deux branches dans le plan équatorial serait plus avancée, ainsi qu'en témoigne la longueur plus grande de la surface d'adhérence, sur les deux extrémités; en *c*, la rectification serait presque complète et l'espace vide entre les deux moitiés du chromosome réduit presque à néant.

Le chromosome de la FIG. 26 a été aussi entortillé; il est certainement en voie de redressement; nous n'avons pu trouver de solution de continuité sur aucune de ces extrémités; nous devons donc conclure qu'il avait au début la forme d'anneau et qu'il s'est néanmoins enroulé sur lui-même.

5° *Chromosomes coudés une seule fois.*

Il reste enfin une dernière catégorie de chromosomes, qui prennent dès le début la forme qu'ils auront dans la couronne équatoriale. Nous en avons dessiné en *a*, FIG. 30; en *a*, FIG. 20, *C*; en *e*, FIG. 25, *A*; en *e* et en *f*, FIG. 32. On peut en voir plusieurs dans la FIG. 31.

Couronne équatoriale.

Nous pouvons présenter au lecteur trois figures de ce stade, aperçues de l'un des pôles du fuseau : ce sont les FIG. 31, 32, 33.

Nous retrouvons dans les deux premières les différentes catégories de chromosomes que nous venons d'étudier et dont nous venons de décrire les transformations. La plupart sont facilement reconnaissables et l'on peut

juger, à leur état actuel, des transformations qu'ils auront eu à subir pour arriver à l'équateur.

Remarquons tout d'abord, si nous considérons la FIG. 32 dans son ensemble, qu'ils ont plus ou moins régulièrement la forme d'**U**, peu importe leur origine, qu'ils soient, simples ou doubles, porteurs d'une ou de deux courbures.

Les deux extrémités des **U** sont presque généralement dirigées vers l'extérieur de la figure, de manière à tourner l'angle qu'elles forment vers l'observateur qui examinerait le fuseau de face. L'endroit coudé est au contraire tourné vers l'intérieur. C'est le cas de tous ceux qui sont situés à la périphérie de la figure. Nous pouvons voir aussi quelques chromosomes au centre et constater qu'à ce moment l'ensemble de leur distribution au sein du fuseau rappelle l'aspect d'une couronne pleine au sens de CARNOY. Trois d'entre eux sont manifestement divisés et constituent des groupes de deux. On peut compter 12 chromosomes. La FIG. 31 nous paraît un peu moins avancée que la FIG. 32, en ce sens que les chromosomes ne sont pas distribués à la périphérie du fuseau d'une manière aussi régulière et que la séparation des deux moitiés n'est indiquée que sur un petit nombre. Nous trouvons la couronne équatoriale typique réalisée dans la FIG. 33. Ici, tous les bâtonnets sont à la périphérie de la figure et ils ont tous la forme régulière d'un **U**. La figure que nous avons dessinée FIG. 33 est certainement une couronne équatoriale pour les raisons suivantes.

1° Nous n'avons pas trouvé dans toute la série des coupes des traces du globule polaire expulsé.

2° L'œuf auquel elle appartient a été trouvé dans le péritoine.

3° Les chromosomes sont notablement plus volumineux que ceux des couronnes équatoriales de la seconde figure et ont à peu près le même volume que ceux des FIG. 29 et 32.

Ceci soit dit pour prévenir l'objection qu'on pourrait nous faire que nous avons sous les yeux une couronne équatoriale de la seconde figure polaire.

Dislocation de la couronne équatoriale.

Nous n'avons pas eu le bonheur d'observer ce stade d'une manière aussi claire que chez les tritons; nous pouvons néanmoins augurer de ce qu'il aurait été par nos FIG. 31 et 32.

Ce point culminant de toute la cinèse est sans contredit reproduit dans la FIG. 33; entre les deux précédentes figures et celle-ci, il n'y a que très peu

de différence, car dans les deux premières, les chromosomes sont arrivés presque tous à la forme d'**U**; il ne leur reste plus qu'à se condenser un peu et à se rectifier pour arriver à se transformer en couronne typique.

Tous les chromosomes ont cette forme et ils l'ont prise en suivant des voies différentes. Quand viendront le moment de la séparation des deux chromosomes-filles et la formation des groupes de deux **U** superposés, on serait fortement porté à croire que tous, en apparence compacts, subissent une division longitudinale. C'est un fait certain qu'il en sera ainsi des chromosomes figurés en *h*, *i*, de la FIG. 31, qui n'ont subi qu'une seule courbure. Elle est déjà réalisée dans les chromosomes *a*, *b* et *i*. La forme particulière de *a* et *b* rappelle des formes que nous avons signalées chez les tritons. Elles dérivent de la division longitudinale de chromosomes tels que ceux de la FIG. 27 indiqués par les lettres *c* et *e* et dont la branche verticale de la croix n'a pas encore été entièrement absorbée par les branches horizontales. C'est le mode de division que subissent les chromosomes compacts de la première et de la seconde catégorie.

Pour les autres, la transformation des groupes de deux **U** superposés n'est que l'achèvement d'une division transversale qu'ils subissent à leur premier point de courbure. Après cette première courbure, les deux moitiés se sont accolées et en quelque sorte soudées; mais c'est là seulement une apparence et, pour devenir indépendantes l'une de l'autre, les deux moitiés n'ont qu'à se séparer par étranglement au premier point de courbure. Ce sera le cas des chromosomes *d*, *e* et *k* de la FIG. 31, de *c*, *e*, *i*, de la FIG. 32.

Ceux qui dérivent d'un anneau transformé, comme *a* et *b* de la FIG. 32 et *c* de la FIG. 31, subiront une double division transversale aux deux extrémités de l'**U**. Nous ne pouvons pas voir dans ce cas l'achèvement d'une division longitudinale; c'est un double étranglement, donc une double division transversale au sens exact du mot.

Une division longitudinale de pareils chromosomes nous donnerait deux anneaux. Nous ne pouvons, dans le cas de *Diemyctilus*, retrouver dans la dislocation de ces anneaux l'achèvement d'une division longitudinale commencée dans la prophase, ainsi que DE SINEY le décrit chez les acridiens. Rien dans nos préparations ne nous autorise à pareille conclusion, vu que le stade spirème n'existe pas dans la maturation des œufs de batraciens.

Enfin, nous trouvons deux groupes bien divisés, aux 4 extrémités bien nettes: ce sont les groupes *i* de la FIG. 31 et *h* et *g* de la FIG. 32. Ceux-ci peuvent avoir les origines les plus diverses; nous sommes cependant porté

à croire qu'ils ont subi une division transversale précoce au moment de la mise au fuseau, parce qu'ils sont, de tous les chromosomes présents dans ces deux figures, ceux qui sont le plus avancés dans leur évolution. Nous en avons figuré de semblables en *h*, FIG. 28, en *h* et en *f*, FIG. 29.

Cette séparation et ce groupement peuvent d'ailleurs remonter très loin; rappelons la figure où les groupes de deux sont déjà très manifestes avant l'apparition du fuseau. Ce mode de groupement vient d'être signalé par P. BOUIN comme étant la règle dans les spermatocytes de *Lithobius forficatus*; il donne à de pareils groupes le nom de *diplosomes*.

Ils peuvent enfin dériver d'une division longitudinale des chromosomes compacts.

Il ne peut donc exister aucun doute sur le fait que les chromosomes s'arrangent en **U** à l'équateur et qu'ils y forment des groupes de 2 superposés soit par une division longitudinale, soit par une division transversale, soit par deux divisions transversales. Nous n'avons pu retrouver chez *Diemyctilus* le stade où tous les chromosomes sont ainsi groupés en groupes de 2 à l'équateur avant l'anaphase; l'existence de ce stade ne peut néanmoins être mise en doute, nous l'avons observé chez les tritons. HELEN KING n'a eu que de pareilles couronnes sous les yeux. Toutes les figures qu'elle donne de la première division polaire sont à ce stade. Puisque nous voyons quelques groupes semblables déjà formés dans les figures de ce stade, il y a motif plausible de croire que tous les chromosomes prendront une pareille disposition. Le temps qu'ils mettront à l'acquérir est variable, comme le moment de leur formation aux dépens des masses de fusion. Ils se différencient les uns après les autres; ils évoluent aussi différemment. Aussi pour que, pendant le retour vers les pôles, tous les chromosomes soient de même forme, pour que leur retour soit synchronique, ils doivent nécessairement s'attendre à l'équateur. Les premiers arrivés, les premiers divisés, sont plus longtemps à l'équateur que les autres.

Les FIG. 31 et 32 appartiennent à ces stades de transition, tous les chromosomes sont à l'équateur et en pleine transformation sous la forme d'**Y**.

Nous trouvons cette transformation et la régularisation de tous les chromosomes de la figure dans la couronne équatoriale à 11 bâtonnets réguliers, FIG. 33. Ceux-ci ont l'aspect compacts, et l'on n'y peut distinguer de traces d'une division quelconque. Cela résulte sans aucun doute d'une agglutination momentanée des branches déjà virtuellement séparées, ou bien de leur superposition régulière dans le plan équatorial.

C'est à ce stade que se produit la séparation en deux moitiés absolument semblables.

Nous n'avons pu la constater chez *Diemyctilus* d'une manière certaine, comme chez *Triton*, *Rana*, comme HELEN KING chez *Bufo lentiginosus*, mais nous nous croyons cependant autorisé à conclure à son existence dans l'espèce que nous étudions. Si elle n'existait pas, nous ne voyons pas de moyen de donner une explication rationnelle aux figures du retour polaire, telles que nous les avons observées.

Nous n'avons d'ailleurs aucune peine à admettre cette agglutination, car elle a été observée dans les cinèses spermatogénétiques par presque tous les auteurs qui ont fait de ce sujet l'objet de leurs recherches les plus récentes.

Il n'y a qu'une seule différence entre les cinèses sexuelles mâles et femelles : ce phénomène d'agglutination, au lieu de s'opérer dans la prophase et avant la mise au fuseau, s'opère dans les cinèses ovulaires pendant la métaphase. C'est donc une simple différence de moment, qui trouve sa raison d'être dans l'absence du stade spirème, dans la rapidité avec laquelle la cinèse s'établit dans l'œuf et dans la diversité de la forme des chromosomes au moment de la mise au fuseau.

La prophase et toute la préparation à la cinèse s'accomplissent lentement et progressivement dans les cellules mâles, tandis que dans l'œuf ces mêmes phénomènes ne durent pas plus d'une à deux heures dans toutes les espèces que nous avons étudiées.

Loin de nous d'ailleurs la pensée de vouloir emprisonner toutes les cinèses sexuelles dans le schéma que nous avons proposé; il s'applique aux espèces que nous avons étudiées spécialement; nous n'avons aucune intention de lui donner dans tous ses détails une portée générale. Nous essayons, au contraire, d'en expliquer les particularités et de les mettre en harmonie avec les observations similaires. Nous sommes trop convaincu de la vérité de la thèse soutenue en 1885 par notre vénéré maître que, dans la cinèse, aucun des phénomènes n'est essentiel, à part celui de la division de la nucléine en deux parties égales.

S'il est certain que, dans la première figure polaire de l'œuf des batraciens, la couronne équatoriale typique existe, il ne s'ensuit nullement qu'elle doive exister partout, même dans les cellules testiculaires de ces espèces animales. MEVES vient de montrer dans les cinèses spermatiques de *Paludina*

rivipara que ce stade, qu'on a toujours considéré comme essentiel, n'y existe même pas (*).

Anaphase.

Élément nucléinien. Les figures que nous présentons au lecteur pour démontrer le retour vers les pôles sont une confirmation qui est aussi d'une grande valeur et qui plaide fortement en faveur de l'existence d'une division à l'équateur de la **FIG. 33** des chromosomes en deux chromosomes-filles superposés.

Remarquons en effet, dans la **FIG. 34**, que tous les chromosomes qui viennent de quitter l'équateur sont absolument égaux, qu'ils forment des **U** à courbure médiane d'une régularité absolue, et surtout qu'ils forment une couronne polaire où les chromosomes sont distribués sur tout le pourtour du fuseau. Ceci indique qu'ils étaient dans une position tangentielle au fuseau à l'équateur de la figure et qu'ils l'ont gardée pendant leur ascension vers les pôles. Dans la couronne qui est proche de la membrane, nous n'avons dessiné que les chromosomes qui se trouvaient sur la face tournée vers l'observateur; il en restait encore quatre visibles dans un plan inférieur, qu'on apercevait en baissant la vis du microscope, situés à la périphérie de la face opposée du fuseau. Nous ne les avons pas dessinés pour laisser plus de clarté à la figure. Le retour est complètement effectué dans la **FIG. 35**; tous les chromosomes, ayant une forme identique à ceux de la figure précédente, sont arrivés au sommet du fuseau. Ils sont très voisins les uns des autres, surtout dans la couronne intérieure de la figure. Au pôle opposé, ils ne sont pas aussi tassés.

Dans la **FIG. 56**, le tassement est devenu une fusion; tous les chromosomes forment maintenant une boule mamelonnée; les mamelons indiquent encore les branches des chromosomes, qui bientôt ne tarderont pas à être résorbées, au fur et à mesure que la masse régularisera ses contours. Il y a

(*) Le hasard amène parfois une suite d'événements singuliers. Quand, en 1885, CARNOY osa émettre cette thèse, révolutionnaire pour l'époque, qu'aucun des phénomènes de la cinèse n'était essentiel, il y eut en Allemagne une grande levée de boucliers. FLEMING n'en maintint pas moins son schéma général de la cinèse, en s'appuyant sur des observations concernant une seule espèce animale. CARNOY en avait étudié et comparé une cinquantaine! Or, voici qu'après 16 ans, la thèse de CARNOY, qui depuis s'est vérifiée pleinement, reçoit dans le laboratoire de FLEMING lui-même une élatante confirmation.

Ce point d'histoire cytologique a certainement un côté piquant, et nous croyons devoir le rappeler pour donner à réfléchir à ceux qui organisent la conspiration du silence autour des observations qui les gênent.

certainement une fusion complète des chromosomes à ce stade de la cinèse chez *Diemyctilus*; car, avec les meilleurs objectifs et la meilleure lumière, il est impossible d'y distinguer quoi que ce soit; la surface apparaît lisse et sans aucune solution de continuité.

Les masses de fusion des FIG. 37 et 38 marquent deux étapes consécutives de l'expulsion du globule polaire et de l'effacement progressif de leurs protubérances.

C'est la première fois que nous observons chez les batraciens la fusion des chromosomes en une seule masse dans la couronne polaire interne. Nous avons figuré souvent cette fusion dans la couronne extérieure, qui passe dans le globule polaire expulsé, mais jamais à ce stade, dans l'intérieur de l'œuf; nous avons cru d'abord à un défaut de fixation imputable à la pénétration lente du fixateur. Mais nous avons constaté que la pénétration à travers la coque muqueuse s'opère presque instantanément. D'autre part, nous avons vu que cette fusion s'opère aussi avant l'apparition des figures; or, à ce moment, les œufs sont libres dans le péritoine et, à ce stade donc, l'action du réactif s'opère directement sur l'œuf, sans aucun intermédiaire. On ne peut, dans ce dernier cas, invoquer un vice de fixation; les causes qui produisent cette fusion interne avant la cinèse ont subsisté pendant toute sa durée et se manifestent donc dans l'intervalle des deux cinèses sexuelles. Cet état d'agglutination et de fusion est donc certainement un stade normal des couronnes polaires.

Plusieurs auteurs ont d'ailleurs signalé ce fait dans ces derniers temps; nous citerons particulièrement EISEN, dans son beau travail sur *Batrachoseps attenuatus*, MONTGOMERY, chez *Peripatus*.

Le fuseau.

Nous avons vu, en étudiant la métaphase, que le fuseau d'abord ovale s'arrondissait et s'élargissait au fur et à mesure que la couronne approchait de son état typique. Pendant cette modification, des filaments astériens très puissants se dirigent aussi vers l'équateur en divergeant et en s'entrecroisant même dans le plan équatorial. Dans l'anaphase, nous retrouvons les modifications dont nous avons déjà parlé dans notre mémoire précédent sur les cinèses polaires des anoures.

Notons d'abord la disparition des filaments astériens de l'équateur. Dans la FIG. 34, on en voit encore des traces; mais la plupart ont disparu, quelques-uns s'entrecroisent encore légèrement. Dans les figures suivantes, on ne retrouve plus aucune trace d'asters.

Une autre modification se produit, c'est l'élongation du fuseau, qui amène naturellement une diminution de la circonférence à l'équateur, en même temps que son aplatissement aux pôles de la figure.

Notons enfin sa diminution en longueur au fur et à mesure que le globule polaire expulsé s'aplatit contre la membrane de l'œuf et s'étire latéralement. On peut suivre ces transformations dans les FIG. 34 à 38.

Notons en passant la présence d'une grande quantité de granules pigmentaires tassés contre la membrane ovulaire et formant un anneau dense autour de l'endroit où se séparera le protoplasme du globule polaire; cet anneau est surtout marqué dans la FIG. 36.

Globule polaire.

L'expulsion du globule polaire s'annonce d'abord par une petite éminence de la couche protoplasmique voisine de la couronne polaire externe, voir FIG. 35.

Dans la FIG. 36, la protubérance est saillante et vient s'écraser contre la membrane ovulaire, tandis que deux sillons latéraux représentent l'aspect d'un étranglement circulaire et gagnent de plus en plus l'un vers l'autre pour opérer l'étranglement du fuseau au tiers environ de sa longueur.

Dans la FIG. 37, cet étranglement est presque terminé; on peut y percevoir encore les filaments du fuseau serrés les uns contre les autres. Le globule polaire a perdu la forme arrondie qu'il avait dans la FIG. 36 et s'est étalé et aplati contre la membrane ovulaire.

Nous assistons enfin dans la FIG. 38 à l'achèvement complet du phénomène; on n'aperçoit plus de traces du fuseau; l'expulsion est accomplie et le globule polaire n'est plus, à vrai dire, un globule: c'est un disque aplati entre le cytoplasme et la membrane de l'œuf.

Les bâtonnets expulsés de l'œuf se fusionnent rapidement, ainsi qu'en témoigne la FIG. 36, où le fuseau est encore bien marqué et où déjà pourtant tous les bâtonnets sont réunis et fusionnés. On trouvera une masse semblable dans le globule entièrement expulsé de la FIG. 44. Mais il n'en est pas toujours ainsi; les bâtonnets peuvent former plusieurs blocs séparés, ainsi qu'on peut le voir dans les FIG. 39 et 43; on retrouve encore alors parfois quelques chromosomes isolés qui ont gardé leur individualité.

Les globules polaires contiennent, à côté de l'élément nucléinien, une grande quantité de granules pigmentaires semés sur le réticulum cytoplasmique, parfois même des enclaves vitellines assez volumineuses.

Ils séjournent le plus souvent au pôle animal, dans la petite fossette qu'ils se sont creusée à la surface de l'œuf, car on les retrouve presque sur tous les œufs arrivés à l'extrémité inférieure de l'oviducte et qui ont presque terminé la seconde cinèse polaire, telles sont les FIG. 43, 44, 45.

Les globules polaires ne sont pas à vrai dire expulsés de l'œuf, ils restent adhérents au cytoplasme ou glissent entre les membranes ovulaires. Tout nous porte à croire qu'ils sont résorbés.

Il nous est arrivé plusieurs fois pourtant de trouver à cet endroit des figures de la première cinèse polaire. Les œufs qui présentaient cette particularité se trouvaient à côté d'autres, qui avaient évolué d'une manière normale; ils auraient été pondus en même temps et, selon toute probabilité, auraient été fécondés au même moment, c'est-à-dire pendant leur passage à travers le cloaque. Nous sommes donc en droit de nous demander si ces œufs auraient expulsé deux globules polaires, et si nous ne nous trouvons pas en présence du fait de l'expulsion d'un seul globule polaire déjà signalé par SOBOTTA chez la souris.

Nous posons seulement la question sans songer à la résoudre; il faudrait pour cela avoir suivi l'évolution de l'œuf après la ponte, ce que nous n'avons pas été en situation de faire.

Ovocyte de second ordre.

Tous les œufs qui ont fourni les figures de ce stade que nous présentons au lecteur ont été trouvés dans le tiers inférieur de l'oviducte, peu de temps donc avant le moment de la ponte. Il nous est arrivé trois fois pourtant de trouver dans le péritoine le premier globule polaire expulsé et la seconde figure polaire déjà très avancée; nous attribuons cette anomalie à ce que ces œufs n'ont pu trouver aussi facilement que les autres leur chemin vers l'entonnoir qui termine l'oviducte dans la région antérieure de la cavité péritonéale et à ce qu'ils auraient été attardés au milieu des anses intestinales; mais ajoutons de suite que c'est une exception, car nous avons seulement trouvé ces trois œufs à ce stade sur une cinquantaine que nous avons extraits du péritoine.

Élément nucléinien.

Reprenons maintenant l'évolution de l'élément nucléinien resté dans l'œuf après l'expulsion du premier globule polaire. Nous avons vu que les chromosomes de la couronne polaire interne se fusionnent normalement en

en une grosse masse homogène. Ce fait nous porte donc à croire qu'il existe chez *Diemyctilus* un temps de repos entre les deux cinèses polaires.

Nous ne pouvons savoir comment, aux dépens de cette masse, les chromosomes de la seconde figure s'individualisent, car nous n'avons pas été assez heureux pour saisir ce stade sur le fait. La FIG. 39 est celle que nous croyons la plus proche du moment de la mise au fuseau, car nous y retrouvons déjà les chromosomes bien distincts, de formes variées et distribués à tous les niveaux du fuseau. Nous ne pourrions émettre sur leur origine que des hypothèses, en nous basant sur nos observations relatives à ce stade pour la première figure. Nous préférons nous en abstenir et constater qu'ils ont la plupart la forme d'**U** et que deux d'entre eux sont manifestement coudés deux fois. Le chromosome *b* est coudé une fois à angle aigu en son milieu et il présente en outre un commencement de recourbement dans chacune de ces deux moitiés. Ce recourbement est accentué dans *a* de la même figure.

Les autres sont distribués sur tout le tour du fuseau les uns contre les pôles, les autres dans les espaces intermédiaires.

Leur situation et leur forme se sont régularisées dans la FIG. 40; ils avoisinent tous l'équateur de la figure, les **U** sont plus ouverts et sur certains d'entr'eux la double courbure est encore manifestement indiquée.

L'arrangement des chromosomes se continue à l'équateur, nous en voyons une étape nouvelle dans la couronne représentée FIG. 42. On y voit 11 chromosomes ayant tous la forme presque régulière d'**U**, les uns sont distribués sur tout le tour de la figure, quelques autres de forme irrégulière sont encore au centre. Les uns sont placés horizontalement dans le plan équatorial, deux autres au contraire ont leurs branches superposées dans le sens vertical.

Nous trouvons enfin, dans la FIG. 41, la couronne équatoriale régulièrement disposée; tous les chromosomes ont abandonné le centre de la figure pour se distribuer sur tout son pourtour; ils n'ont pourtant pas encore leur situation définitive, car ils affectent des positions variées; on les dirait soumis à des mouvements d'oscillations pour chercher à placer les deux branches dans le plan équatorial. Un seul porte en son milieu un indice de division, une fente qui court sur presque toute la longueur du chromosome. Mais est-ce bien une division longitudinale? A première inspection, on serait tenté de le dire; mais si l'on examine de plus près, on remarque à l'une des extrémités deux protubérances arrondies, tandis que pareille disposition ne se trouve pas à l'autre extrémité.

On pourrait donc bien se trouver devant un **U** à double courbure, dont les extrémités se seraient accolées; nous croyons bien qu'il en est ainsi, si nous nous guidons sur la taille et la longueur de certains chromosomes à double courbure au moment où ils s'attachent au fuseau.

Nous avons signalé plus haut, dans la FIG. 39, des chromosomes ayant cette forme. Il est donc bien possible qu'ils puissent conserver cette disposition jusqu'à la couronne équatoriale parfaite.

Est-ce à dire que tous les chromosomes de la figure ont subi les mêmes modifications? Nullement, l'un ou l'autre trop grand a pu subir cette double courbure pour se mettre au niveau des autres; mais il ne s'ensuit nullement que tous se sont recourbés deux fois à angle droit. La forme que la plupart avaient au moment de la mise au fuseau, FIG. 39, indique au contraire clairement qu'ils ont conservé leur forme primitive; c'est pourquoi on pourra parler chez eux de division longitudinale, tandis que pour les autres on devra conclure, au moment de la dislocation de la couronne, à une division transversale.

Bientôt en effet, on observe que les chromosomes placés à l'équateur se dédoublent, et on se trouve devant 10 ou 11 groupes de 2 chromosomes encore adhérents plus ou moins irrégulièrement placés, comme dans la FIG. 44, et enfin entièrement détachés les uns des autres, comme dans les FIG. 43 et 45. Ils n'ont à ce stade aucune propension à s'éloigner de l'équateur, ils sont superposés horizontalement dans le plan équatorial. Cet état des chromosomes est à remarquer dès maintenant, car il indique nettement un état d'équilibre parfait à ce stade, et il montre de plus bien clairement que l'ascension des chromosomes vers les pôles n'est pas due à une contraction des fibrilles du fuseau. Si, en effet, celles-ci exerçaient, comme certains le veulent, des tractions sur les chromosomes, ceux-ci n'étant plus retenus à l'équateur seraient aussitôt entraînés vers les pôles. Or, nous avons observé de nombreux exemples de ce stade parmi les œufs trouvés dans la portion inférieure de l'oviducte, et sur aucun d'eux nous n'avons observé le moindre indice d'un retour vers les pôles. Ce fait indique avec certitude que la seconde couronne équatoriale se maintient pendant un temps assez long dans une position parfaite d'équilibre.

Les chromosomes ont en outre à ce stade une forme particulière: la plupart ont gardé la forme d'**U** superposés, mais il en est d'autres qui ont pris véritablement une forme d'**S**. On peut en voir 2 paires dans la FIG. 43, qui ont manifestement cette forme contournée. Il en est de même FIG. 45, mais

on y remarquera en plus une particularité : c'est que, dans l'intérieur du chromosome, on distingue un grand nombre de granules; sont-ce là les granules élémentaires de l'élément nucléinien? Sont-ce les chromioles observés par EISEN chez *Batrachoseps*? Leur distribution et leur volume ne plaident pas en faveur de pareille assimilation; mais il ne faut pas pourtant oublier que la distribution de la nucléine dans l'élément nucléinien varie d'aspect d'une espèce à l'autre, ainsi que l'a montré CARNOY dès 1885.

Le fuseau.

Nous n'avons pu saisir la formation du fuseau de la seconde figure polaire, c'est-à-dire les stades intermédiaires entre les FIG. 38 et 39. Nous pouvons cependant conclure de ces deux figures que ni centrosomes, ni sphères n'interviennent dans sa formation, puisque ces corps n'existent pas dans la première figure. On peut voir sur la FIG. 38 que le cytoplasme qui entoure la masse de fusion nucléinienne ne contient pas traces de pareilles formations; il s'irradie d'une manière un peu indécise autour de l'endroit où cette masse se trouve, mais on ne peut y découvrir aucun système centré, ni aucun granule spécial. Le stade le plus jeune du second fuseau que nous ayons observé est représenté FIG. 39; il est de petites dimensions, les pôles sont aplatis et presque terminés par une plaque, où les filaments aboutissent sur un même plan. Dans cet état, il ressemble beaucoup à celui que nous avons décrit chez *Ascaris megalcephala* dans les figures analogues. Les pôles ne sont pas centrés, en ce sens qu'on n'y aperçoit pas d'aster et que les filaments n'aboutissent pas au même point. Mais bientôt, ce centrage s'opère, ainsi qu'on peut le voir dans les FIG. 40, 44, 45. Ces fuseaux ressemblent beaucoup à ceux que nous avons décrits chez les anoures; ils sont ovales, dépourvus d'asters, de centrosomes et de sphères, et le pôle est arrondi; nous avons une seule fois observé que les pôles étaient formés par une masse de substance homogène, qu'on prendrait aisément pour une sphère, FIG. 43. Le pôle qui se trouve le plus près de la membrane est occupé par une boule de contours assez réguliers, sur laquelle les filaments du fuseau paraissent venir s'insérer. Le pôle inférieur a un tout autre aspect, la masse solide paraît étoilée et on aperçoit distinctement les filaments se continuer jusqu'au centre de l'aster, car il y a un aster très régulier.

Critique des auteurs.

HELEN DEAN KING.

Nous avons déjà dit plus haut, en parlant de la disparition de la vésicule germinative, dans quelle erreur est tombée l'observatrice américaine, quand elle décrit des nucléoles en résolution pour des chromosomes de la première figure polaire.

Voici comment elle continue son exposé.

Les asters qui accompagnent ces prétendus chromosomes disparaissent entièrement et elle retrouve ces chromosomes beaucoup agrandis sur le fuseau, où ils auraient été attirés par une force inconnue. Ils sont formés de deux rangées de microsomes. Or, pour conserver la théorie de RÜCKERT, - *the rings must therefore undergo a longitudinal splitting at this stage* -; pour que cela puisse se réaliser, il *faut* que chaque anneau représente la fusion de deux chromosomes bout à bout. On trouverait un indice de cette fusion dans deux épaissements médians des anneaux. Après que chaque anneau double s'est placé sur le fuseau, il se brise en quatre morceaux à l'endroit des épaissements, et de cette manière les chromosomes fusionnés pour former les anneaux se séparent et se divisent longitudinalement.

Alors commence la migration du fuseau vers le pôle; pendant cette ascension, il diminue d'ampleur et se raccourcit; les asters disparaissent pendant que le fuseau se déplace et prend une position radiale.

Alors les bâtonnets vus de face paraissent former des tétrades; on aperçoit 4 granules bien distincts; mais c'est seulement une apparence, car quand on les regarde de l'un des pôles, ils ont la forme d'**U** et forment des paires d'**U**, dont les 4 bouts seraient libres. C'est le stade de la couronne équatoriale.

Les œufs trouvés dans la cavité du corps ont douze chromosomes, qui doivent dériver des douze anneaux trouvés d'abord sur le fuseau. L'auteur n'a aucune donnée sur leur transformation; néanmoins, elle entrevoit les modifications suivantes.

Les douze anneaux fixés au fuseau se divisent longitudinalement; il y a donc alors 24 anneaux sur le fuseau. Chacun de ces 24 anneaux se divise à l'endroit épaissi (nœud). Cette division n'est pas transversale, mais réalise une séparation de deux bâtonnets en **U** qui s'étaient accolés bout à bout pour former un anneau!! Il y aurait donc à ce moment 48 demi-anneaux sur le fuseau.

Pendant la migration du fuseau vers la périphérie, une concentration de l'élément nucléinien *doit* s'opérer, car les chromosomes sont diminués de volume. A la suite de cette concentration, il y a une diminution apparente du nombre des chromosomes, car on ne trouve plus à l'équateur que 12 groupes de 2 **U**. Chacun de ces chromosomes *doit* être équivalent à une moitié d'un anneau avant qu'intervienne la division longitudinale, c'est-à-dire qu'il *doit* représenter un des 2 chromosomes originaux de la vésicule germinative, qui se sont fusionnés bout à bout pour former un anneau.

Cette réduction de 48 à 24 peut se concevoir de deux manières : ou bien les deux portions-sœurs du demi-anneau, qui s'étaient séparées complètement dans un des premiers stades, se sont fusionnées de nouveau ; ou bien elles se sont accolées l'une à l'autre, de telle façon qu'il est impossible de les distinguer. Ces changements *doivent* s'opérer très tôt après les premiers stades de la maturation.

L'auteur avoue pourtant que les chromosomes sont très petits, très difficiles à compter et à suivre dans leur évolution ; le matériel d'étude a été insuffisant. Quoiqu'il en soit, elle trouve à la couronne équatoriale un nombre de chromosomes qui n'était certainement pas supérieur à 24. Pendant l'anaphase, les bâtonnets sont doubles quand ils arrivent aux pôles ; c'est donc 12 groupes de 2 qui émigrent aux pôles. La première division polaire sépare donc les 2 chromosomes qui se sont originairement fusionnés pour former un anneau.

Pour la seconde figure, les chromosomes se fusionnent de nouveau et on a 12 chromosomes simples ; mais quand ils sont à l'équateur, on retrouve bientôt les 12 paires, dont les 4 extrémités, vues de face, ont l'aspect de tétrades. Les chromosomes encore séparés ont ainsi la valeur d'un quart d'anneau. La seconde division est donc aussi longitudinale.

Dans cette description (est-ce bien une description) un peu cahotique, il y a une petite part de vérité, mais beaucoup d'a priori et d'hypothèses. L'auteur est visiblement plus préoccupé des théories en cours que de l'explication stricte des faits qu'elle a observés.

Elle confirme nos observations sur les points suivants :

1° Il n'y a ni sphères, ni centrosomes dans les figures polaires de *Bufo lentiginosus*.

2° Le fuseau diminue d'ampleur et les asters s'évanouissent au fur et à mesure que la figure prend une position radiale.

3° Les chromosomes s'arrangent à l'équateur de la première figure polaire sous la forme de 2 **U** superposés.

4° Les chromosomes subissent une seconde division longitudinale à l'équateur de la seconde figure.

Il y a d'autre part un vice d'interprétation pour les fig. 20, 21, 22, 23 : l'auteur y représente des boules à la base des figures irradiantes, et elle ne soupçonne même pas que ces masses nucléolaires fourniraient les éléments de la première figure polaire et formeront les anneaux qu'elle retrouve dans ses fig. 25, 26, 27.

Cette erreur provient de cette idée préconçue que les prétendus chromosomes des fig. 19 et 24, qui sont destinés à disparaître et à subir la résolution granuleuse, doivent se trouver plus tard sur le fuseau.

Partie de cette idée fautive, elle échafaude hypothèse sur hypothèse, sans preuves, sans indice sérieux.

1° L'hypothèse de la fusion de 2 chromosomes en **U** pour former des anneaux, en s'accolant bout à bout. Nous cherchons en vain dans ses figures le moindre indice de pareil phénomène.

Nous savons que ces anneaux dérivent d'un nucléole dont la vacuole centrale s'est agrandie.

2° L'hypothèse d'une division longitudinale des anneaux pour former des paires d'anneaux : ni la fig. 25 ni la fig. 26 ne sont démonstratives à cet égard.

3° L'hypothèse de la division de ces anneaux doubles en 4 fragments, que rien, absolument rien ne justifie. La FIG. 28 représente des groupes de 2 **U** résultant de la division longitudinale des chromosomes de la première couronne équatoriale.

4° L'hypothèse de la soudure de ces 24 anneaux pour en former 12.

L'auteur n'a pas suivi la transformation de ces 12 anneaux doubles dans les 12 chromosomes qu'elle retrouve dans les œufs recueillis dans la cavité du corps.

5° L'hypothèse de la séparation de ces 12 anneaux doubles pour reformer 24 anneaux séparés.

6° L'hypothèse de la rupture de ces 24 anneaux pour reformer les 48 demi-anneaux en se séparant au prétendu point de soudure.

7° L'hypothèse de la concentration de ces 48 demi-anneaux pour fournir 12 groupes de 2 **U**, soit par une fusion, huitième hypothèse, soit par un accollement, neuvième hypothèse.

De plus, l'auteur dessine très mal et représente d'une manière erronée les groupes de 2 qui forment les couronnes équatoriales des fig. 29, 30, 31, 35, 36. Elle s'exprime comme il suit : « The chromosomes in fig. 30 and 31

are in reality dump-bell-shaped loops arranged in pairs, with the angles of the loops turned towards the center of the spindle, the knob-like ends of a pair of chromosomes giving the appearance of a typical tetrad group, when the spindle is cut longitudinally. - Il résulte de ceci que, dans sa pensée, les deux chromosomes sont superposés dans le plan équatorial; cela résulte d'ailleurs aussi de la fig. 37, qui représente une seconde figure équatoriale vue du pôle de la figure.

Or, dans toutes les figures vues de face, les groupes de deux sont dessinés d'une tout autre manière : les deux extrémités qui sont superposées sont reliées ensemble, tandis que ce sont les deux extrémités juxtaposées qui appartiennent au même chromosome-fille. Tels qu'ils sont représentés, les chromosomes-filles sont disposés avec leurs deux extrémités superposées dans un plan axial et juxtaposées dans le même plan, tandis qu'en réalité ils sont superposés dans le plan équatorial. Au lieu donc de réunir ensemble par un pont de substance le point inférieur avec le point supérieur, il aurait fallu réunir les deux points qui sont placés à côté l'un de l'autre.

C'est là une erreur d'observation qu'on doit pardonner à une débutante : mais nous ne pouvons réprimer la suspicion que l'auteur a eu sous les yeux des chromosomes en croix, dont elle n'a pas saisi la forme. Un dernier point nous laisse sceptique, parce que les figures données par l'auteur n'entraînent nullement notre conviction. Il s'agit du retour vers les pôles des chromosomes présentant déjà la seconde division longitudinale, telle qu'on l'a observée chez les liliacées, dans les cellules testiculaires des tritons (JANSSENS), de la salamandre (MEVES), d'*Amphiuma* (MAC GREGOR). L'auteur, dans sa fig. 32, dessine deux chromosomes qui paraissent se diviser sur une de leurs branches, c'est là toute sa preuve. Elle nous paraît tout à fait insuffisante, car les autres chromosomes ne présentent aucune trace de pareille division; on ne la retrouve pas non plus dans sa fig. 33, qui est cependant postérieure, ni même dans sa fig. 34, qui représente la seconde couronne équatoriale.

Nous rappellerons que nous n'avons jamais observé cette seconde division prématurée dans l'œuf chez aucune des espèces que nous avons étudiées et nous avons, croyons-nous, donné de ce stade des figures autrement démonstratives que celles d'HELEN KING.

Nous croyons qu'elle a pris pour un chromosome divisé longitudinalement deux chromosomes voisins. Il est possible qu'il en est de cette division comme HELEN KING le prétend, mais nous devons avouer qu'il nous faudra une démonstration plus complète pour l'admettre.

La description ultra-fantaisiste que l'on vient de lire est un exemple de plus de l'influence néfaste exercée par les travaux de l'école de Fribourg sur les jeunes esprits qui croient trouver un guide dans les belles théories émises à la légère et non établies sur des observations précises. La préoccupation dominante est de chercher dans les faits observés ceux qui sont favorables à ces théories et, pour les expliquer, on ne s'arrête pas à quelques hypothèses. *Cela doit être ainsi*, écrit-on, et l'on s'inquiète fort peu si cela est, pourvu que la théorie le demande. Il est manifeste que, dans le cas présent, c'est l'influence des travaux si superficiels de RÜCKERT sur l'œuf des sélaciens, qui a conduit l'auteur à créer hypothèse sur hypothèse, plutôt que de se borner à une description exacte des faits observés. C'est là une méthode anti-scientifique, contre laquelle nous ne cesserons de protester. Les faits d'abord, les théories ensuite.

Maturation.

On considère généralement comme une loi universelle du développement la réduction numérique des chromosomes dans les cellules sexuelles à la moitié de ce que ce nombre est dans les cellules somatiques. Cette réduction numérique fut constatée par FLEMMING en comparant les cinèses des cellules épithéliales de la salamandre avec les cinèses testiculaires. VAN BENEDEN, HERTWIG et CARNOY montrent d'autre part que les 2 pronucléi de l'œuf d'*Ascaris* contenaient chacun le quart de la nucléine des cellules-mères des ovocytes et des spermatocytes. BOVERI établit alors son schéma de l'ovogénèse et de la spermatogénèse distinguant trois périodes, de multiplication, d'accroissement et de maturation. O. HERTWIG suggéra que le nombre des chromosomes est de n dans les ovogonies et les spermatogonies, qu'il s'élève à $2n$ pendant la période d'accroissement, qu'il se réduit à $\frac{n}{2}$ pendant la période de maturation dans les ovocytes et les spermatocytes de second ordre. D'après ce schéma, la formule $2n$ représenterait donc le chiffre des chromosomes contenus dans les cellules somatiques. Il était donc important de savoir comment et où le nombre n restauré dans les premiers blastomères devenait dans le cycle des divisions successives le nombre $2n$ des cellules somatiques.

BOVERI, en cherchant l'endroit où s'opérait cette réduction numérique, montra que, parmi les blastomères, certains conservaient le nombre de chromosomes de la première segmentation n , tandis que d'autres, après avoir

perdu par résorption une grande partie de leur nucléine, continuaient à se diviser avec un nombre de chromosomes beaucoup plus grand, mais de taille minime, et il conclut que les cellules sexuelles resteront beaucoup plus riches en nucléine que les cellules somatiques, qui se seraient appauvries.

Si l'on essaie de compter le nombre de ces chromosomes minuscules des blastomères (somatiques) de l'*Ascaris*, on trouve un nombre de beaucoup plus élevé que le double du nombre des cellules sexuelles.

Il ressort de ceci que le chiffre des chromosomes des cellules somatiques est chez *Ascaris* beaucoup plus élevé que celui des cellules-mères après la période d'accroissement.

Néanmoins, on se trouve toujours devant un fait, la réduction numérique.

Depuis lors, l'étude des phénomènes de la maturation a consisté à rechercher où et comment se produit cette réduction numérique des chromosomes, et l'on a accordé, dans le phénomène de la maturation, une importance décisive à la quantité de nucléine accumulée et augmentée dans les cellules-mères pendant la période d'accroissement. Les deux divisions de maturation avaient uniquement pour but de ramener le chiffre normal dans les deux pronucléi, en expulsant les trois quarts du nombre des chromosomes. Cette explication fut bientôt démontrée impossible par le fait que, chez certains animaux, la réduction numérique était opérée même avant la période d'accroissement et l'on expliqua les deux cinèses de maturation en disant que, dans le cas où le nombre des chromosomes restait le même aux deux cinèses polaires, il s'opérait alors une réduction des trois quarts de la masse.

L'école de Fribourg, pour défendre la conception de WEISMANN, vint alors compliquer l'étude du phénomène par l'hypothèse d'une réduction qualitative et de la valence différente des chromosomes. Les dernières recherches ont une tendance à chercher la réduction dans un remaniement complet de l'élément nucléinien au stade synapsis.

Cette conception repose surtout sur des recherches faites dans les éléments mâles et l'on n'envisage nullement ce qui se passe dans l'œuf.

Les derniers travaux sur la maturation de l'œuf ont pourtant fait connaître que l'interprétation de la réduction des trois quarts de la masse ne pouvait non plus tenir longtemps. GARDINER vient de montrer que la quantité de nucléine qui entre dans la première figure de segmentation de *Poly-*

charus représente à peine la 500^e partie de la quantité primitive de nucléine; nous avons montré qu'il en est de même dans l'œuf des batraciens, où de 1500 à 2000 nucléoles nucléiniens, 10 à 12 forment les chromosomes de la première figure, alors que l'œuf absorbe le reste. Cet emploi partiel de la nucléine a été en outre constaté par plusieurs auteurs, entre autres par SCHOCKAERT et VAN DER STRICHT chez *Thysanozoon*, par COE chez les échinodermes, mais l'absorption se fait sur une quantité moindre.

L'hypothèse de la réduction des $3/4$ de la masse totale ne tient pas plus que les précédentes devant les faits.

SOBOTA observe d'autre part chez la souris que tantôt un seul globule est expulsé, tantôt deux. KULAGIN annonce que, sous l'influence du jeûne, les insectes n'expulsent plus qu'un seul globule polaire. Le même auteur observe d'autre part que la réduction numérique se produit aussi dans les cellules somatiques des disques imaginaires des insectes.

La conception de la réduction numérique pour expliquer la maturation repose sur la croyance générale à la fixité du nombre des chromosomes dans une même espèce. Or, les observations de la variation de ce nombre deviennent de plus en plus nombreuses. Nous avons constaté pour notre part les chiffres 6 et 7 chez *Bombinator*, 10 à 12 chez *Diemyctilus*, sur des couronnes équatoriales typiques.

Le fait que chez l'*Ascaris* ce nombre peut varier de moitié et que cette réduction numérique peut atteindre tous les éléments du cycle évolutif dans les mêmes proportions, sans toutefois en altérer le rythme, suggère naturellement à l'esprit l'idée qu'il faut en chercher la cause dans une influence générale, agissant sur l'individu entier.

Bref, la réduction numérique telle que les théoriciens la conçoivent se heurte de tous côtés à des faits qu'elle laisse inexplicables et qui la contredisent. Ce fait n'est en somme qu'un des côtés de la question, un des aspects du problème. Il est certes des plus attrayants en raison des phénomènes cinétiques qui permettent sa constatation. Il est lié aux phénomènes d'importance capitale de la division cellulaire; on comprend donc aisément l'engouement général qui a gagné tous les biologistes et les a poussés à s'intéresser uniquement à l'étude de l'élément nucléinien pendant la cinèse. Devant les résultats contradictoires auxquels on est arrivé, n'est-on pas en droit de se demander avec KULAGIN, si cette recherche exclusive de la solution du problème, dans une seule direction, ne nous a pas fait négliger

d'autres sources d'informations importantes, d'autres manifestations vitales essentielles, dont l'étude eut été fructueuse? L'élément nucléinien est un facteur prédominant dans la vie cellulaire certes, mais il n'est pas tout dans la cellule. La cinèse est une phase décisive de la vie cellulaire, mais elle est bien courte à côté des autres périodes, beaucoup plus longues, qu'on a laissées systématiquement de côté.

L'étude de ces périodes d'accroissement nous a révélé, pendant ces états qu'on qualifie si improprement de stades de repos, des manifestations vitales brusques et nombreuses. Il faut bien en convenir, on s'est laissé éblouir par les rayons astériens et hypnotiser par le chiffre fatidique des groupes quaternes, et l'on a oublié que tous ces phénomènes sont intimement liés à la nutrition cellulaire et à son accroissement. Pourtant, les cellules sexuelles sont primitivement identiques entre elles; c'est seulement au cours de leur évolution que leurs cytoplasmes et leurs noyaux ont acquis des caractères morphologiques et chimiques différents. Or, on s'est jusqu'ici peu soucié de cette évolution pour s'appliquer presque uniquement à l'étude du dénouement rapide d'une action préparée de longtemps. On ne sait rien ou peu de chose de l'influence exercée par la nutrition et l'alimentation de l'individu sur le développement des éléments sexuels, à part les travaux de MAUPAS, NUSSBAUM, LENSSEN et quelques autres entrepris dans un but tout spécial, l'étude de la parthénogénèse et la détermination des sexes. Ces recherches ont montré pourtant que les actions les plus diverses, telles qu'une alimentation abondante, la lumière, la chaleur, exercent une influence profonde sur le développement des éléments sexuels pour diriger leur évolution vers l'un ou l'autre sexe, et l'on ne s'est jamais demandé quelle action ces mêmes facteurs pourraient avoir sur le développement d'une cellule sexuellement différenciée.

La déhiscence de l'œuf, la ponte et les circonstances dans lesquelles elles se produisent ont-elles été étudiées? Une pléiade de biologistes à la suite de ROUX ont abordé l'étude des grands problèmes de l'ontogénie par la méthode expérimentale; les noms de DRIESCH, HERBST, LOEB, MORGAN, BATAILLON, resteront liés pour toujours au développement de cette méthode féconde, dont les résultats ont cent fois plus de valeur que les conceptions nuageuses de WEISMANN et de ses élèves. Appliquée d'abord à l'étude des premiers stades embryonnaires, on en est venu à l'employer maintenant à l'étude de la maturation de l'œuf, et les résultats surprenants auxquels on est arrivé dans ces derniers temps font entrevoir des solutions inattendues,

et ouvrent le champ à une foule de recherches. Les seuls travaux de LOEB ont fait faire à la question un plus grand pas que tous les travaux entrepris depuis 15 ans sous l'empire des théories de VAN BENEDEN, BOVERI, WEISMANN. Il faudra désormais prendre ces expériences comme base de toute théorie de la maturation et de la fécondation.

Pour rester dans la même voie, étudions donc la maturation en nous posant les questions suivantes : chez les batraciens, le régime alimentaire a-t-il une influence :

- 1° Sur le moment de la maturation,
- 2° Sur la morphologie de l'élément nucléinien?

1° Influence de l'alimentation sur le moment de la maturation.

Rappelons d'abord pour mémoire quelques faits connus.

Le développement de l'œuf est parallèle à la croissance de l'individu, il augmente de volume au fur et à mesure que l'individu grandit ; cela dure jusqu'à l'état adulte. Il survient alors une période de suralimentation qui se manifeste par la mise en réserve de matériaux nutritifs, qui se localisent dans les ovaires et dans les lobules graisseux qui leur sont voisins.

Cette mise en réserve se produit alors tous les ans en vue de l'hibernation. L'œuf est donc un aliment de réserve, qui sert habituellement à la nutrition de l'embryon pour la reproduction de l'espèce, mais qui peut servir aussi à l'individu qui le porte. Il arrive, en effet, fréquemment que celui-ci, dans des conditions difficiles de nutrition, emploie les matériaux vitellins qui y sont accumulés, par une espèce d'autophagisme physiologique. Il suffit, pour se convaincre de ce fait, de soumettre quelques grenouilles à l' inanition pour observer, après quelques semaines, la dégénérescence des œufs et leur absorption rapide par l'organisme. On peut faire la même constatation sur les polyclades qu'on retient en captivité, et nous avons de bonnes raisons de penser que les glandes annexes d'un grand nombre d'animaux inférieurs, et qu'on nomme habituellement vitellogènes, sont tout bonnement des amas d'œufs dégénérés et fusionnés, qui, n'ayant pas été employés pour la reproduction, sont réabsorbés par l'individu. L'influence de l'alimentation se manifeste chez certains êtres par la détermination du sexe : tout le monde connaît l'exemple des pucerons et les belles expériences de MAUPAS, NUSSBAUM, LENSSEN sur *Hydatina senta*.

Mais revenons à nos batraciens.

Rana temporaria pond au printemps dès les premiers jours de chaleur, *Bufo vulgaris* pond à la même époque quelques semaines plus tard. Chez ces espèces, la durée de la vie ovarique de l'œuf est de deux ans, la ponte s'opérant au commencement de la troisième année. Aussitôt après la ponte, l'état de l'ovaire est le suivant : il contient plusieurs espèces d'œufs pour les pontes subséquentes, les plus volumineux devant être pondus l'année suivante.

Aussitôt après la ponte et dès que la température le leur permet, *Rana temporaria* et *Bufo vulgaris* quittent leur retraite hibernale et vivent en grande partie sur terre. Leur régime alimentaire est surtout carnivore et insectivore et, pendant tout le printemps, l'été et l'automne, ils chassent l'une le jour, l'autre la nuit, ce qui leur procure une suralimentation qui retentit naturellement sur le développement des organes génitaux, si bien qu'à l'approche de l'hiver, l'ovaire remplit presque toute la cavité péritonéale et que les lobules graisseux ont acquis un volume proportionné. Les animaux hibernent et si, après l'hiver, on examine une femelle, on constate la disparition presque complète des lobules graisseux; ils ont servi à l'alimentation pendant la période hibernale. Les œufs ont continué à se développer, mais très légèrement; ils ont atteint leur volume de maturité. La ponte s'opère en une fois, après une longue période de jeûne.

Les tritons sont autrement constitués; ils ont une vie aquatique plus longue et, pendant le temps qu'ils passent dans l'eau, ils pondent plusieurs fois, mais le nombre des œufs expulsés est moindre. Quand on examine une femelle, dès les premiers jours du printemps, les œufs sont encore loin de la maturité. On reconnaît, parmi les œufs les plus volumineux de trois volumes différents, ceux qui sont destinés à être pondus dans le courant de l'année.

Chaque ponte se compose de 30 à 40 œufs, qui tombent successivement de l'ovaire. La ponte s'effectue à des époques variables d'après la température ambiante. Nous avons vu pondre dès la fin de mars et en avril, aux environs de Louvain, quand le printemps était précoce. Si l'hiver se prolonge, la ponte est retardée jusqu'à la fin d'avril; à une altitude plus élevée, 500 à 600 mètres, dans les Ardennes Belges, elle est plus tardive encore, nous l'avons observée en juillet. Le moment de la ponte et de la maturation de l'œuf est donc en connexion intime avec la température ambiante. Pendant les premiers temps de la résurrection de la vie, dans les mares où ils vivent, les tritons trouvent donc dans l'eau une alimentation abondante; c'est surtout pendant cette période que se produit le grand

accroissement de l'œuf. Comme ils vivent surtout dans les fossés, dans les mares, qui se dessèchent aussitôt que le temps sec arrive, leur proie ne tarde pas à se faire plus rare; les larves d'insectes, phryganes et autres, qui sont leur nourriture habituelle, arrivent à leur état adulte, et ils ne trouvent plus dans l'eau une alimentation suffisante pour nourrir les œufs qui se sont développés entretemps; la maturation se déclare et, fait curieux, chez tous les individus d'un même habitat en même temps.

Nous avons souvent constaté ce fait; la maturation était en pleine activité dans une mare à peu près desséchée, alors que dans une mare voisine, qui contenait une plus grande quantité d'eau, elle n'avait pas encore commencé. La conclusion à tirer de ces faits est que, chez les tritons, l'époque de la maturation est en connexion intime avec la température et l'alimentation de l'individu, car elle se produit quand l'alimentation devient insuffisante. Après la ponte, les tritons sortent de l'eau, leur vie est exclusivement terrestre et pendant ce temps les organes génitaux se développent lentement.

Nous avons en outre étudié deux espèces, *Salamandra maculosa* et *Alytes obstetricans*, qui dans les Ardennes belges pondent vers la fin du mois de juin ou le commencement de juillet. Ces animaux sont, comme on sait, vivipares, la fécondation est interne et très difficile à observer.

Nous avons donné ailleurs une esquisse du développement de l'œuf et nous en avons conclu que, depuis le début de son développement, l'œuf au moment de la déhiscence est âgé de cinq ans. La femelle fécondée porte ses petits dans les oviductes depuis le mois de juillet jusqu'au mois de mars-avril de l'année suivante, époque à laquelle elle va les déposer dans les sources des petits ruisseaux. Quand à cette époque on ouvre une femelle, on reconnaît déjà aisément les œufs de la ponte prochaine : ils sont volumineux, ils ont un peu plus de la moitié du volume qu'ils atteindront au moment de la ponte. Pendant toute la durée du printemps et le commencement de l'été, ils seront donc soumis à une période de grand accroissement. Cette période est liée à l'alimentation abondante que trouve l'animal pendant ces saisons, qui sont chez nous très humides. Or, la salamandre vit presque exclusivement de vers de terre, de mollusques, qui sortent de leurs retraites surtout après la pluie. Elle chasse, en effet, le plus souvent le soir des jours de pluie. Elle sort alors des anfractuosités des roches ou des murailles, où elle est cachée, et s'aventure au dehors. Il est inutile de la rechercher par un temps sec. Pour surprendre la fécondation à l'état de liberté, nous avons fait cinq années consécutives un séjour dans les Ardennes

et nous avons fait les constatations suivantes. Aussi longtemps que les jours pluvieux sont fréquents, on trouve facilement les salamandres pendant le mois de juin; mais survienne une période de sécheresse qui dure 10 à 15 jours, il est impossible de les trouver, elles ne sortent plus. L'œuf est volumineux, il est tout prêt pour la fécondation avant cette période de temps sec, la vésicule germinative est au pôle supérieur de l'œuf presque contre la membrane. Il est évident que les animaux souffrent de la faim pendant ce temps, car quand il survient une averse suffisamment abondante, ils sortent aussitôt de leurs retraites, même le jour, ce qu'ils font très rarement. Mais la faim presse, car tous à ce moment ont l'estomac vide. Un grand changement s'est opéré entretemps dans les organes génitaux : la déhiscence s'est produite avec la fécondation et l'on trouve des embryons qui varient d'âge de 8 à 10 jours dans les deux oviductes.

Alytes obstetricans a le même régime alimentaire que *Salamandra maculosa* et pond à peu près à la même époque; nous n'avons pas suivi d'aussi près les phénomènes de la maturation dans cette espèce, mais les observations déjà nombreuses que nous avons faites nous autorisent à conclure qu'elle est soumise aux mêmes influences.

Il ressort de ces faits que, chez les espèces que nous venons d'étudier, l'époque de la maturation de l'œuf est liée au régime alimentaire de l'animal et qu'elle suit toujours une période de jeûne.

Pendant un séjour que nous avons fait à la station zoologique de Naples, nous avons fait en outre des observations qui concordent parfaitement avec celles que nous venons de mentionner. Nous avons vu la ponte s'opérer chez les espèces suivantes de mollusques nudibranches : *Aplysia*, *Pleurobrachia*, *Tethys leporina*, *Doris papillosa*, *Janus cristatus*, *Coryphella*, etc.; chez les polyclades suivants : *Thysanozoon brocchi*, *Prosthecæreus vittatus*, *Jungia aurantiaca*, *Proceros velutinus*, *Stylochus napolitanus*, etc.

Il suffisait de conserver ces animaux dans les aquariums pendant quelques jours et de leur supprimer toute nourriture pour voir aussitôt la ponte se produire.

On est tout naturellement porté à penser que ces êtres, qui abritent dans leur corps des hôtes qui commencent à devenir gênants et dont les appétits sont aiguisés par le jeûne prolongé auxquels ils sont soumis, les expulsent sans tarder. Qu'est-ce après tout qu'un œuf dans le corps de l'individu, si ce n'est un parasite qui s'accroît toujours aux dépens de celui qui le nourrit? Aussi longtemps que la femelle, par une suralimentation,

peut subvenir à ses besoins, il s'accroît et augmente de volume; mais il arrive un moment où elle ne suffit plus à cette tâche, et aussitôt les œufs, dont les besoins s'accroissent en proportion de leur volume et de leur nombre, se trouvent dans une situation critique. Survient une crise de jeûne pour l'individu, la maturation se déclare. Ce qui revient à dire que l'œuf lui-même, souffrant de cet état d'inanition, voit l'économie de sa vie et de son accroissement complètement bouleversée. Au lieu de recevoir des matériaux nutritifs par l'intermédiaire du sang, c'est l'individu affamé qui lui réclame ceux qu'il a accumulés. Il existe donc à un moment donné une véritable lutte de l'œuf contre l'individu qui le porte. Quel est l'état des deux combattants, de quelles forces disposent-ils? Si nous consultons les résultats obtenus par la cytologie expérimentale, nous trouverons une explication rationnelle de beaucoup de faits qui sont à première vue très embarrassants.

Rappelons tout d'abord les résultats concordants obtenus par LOEB et DRIESCH qui, en étudiant la division cellulaire sous l'influence de la déshydratation, ont démontré que les limites de coagulation du noyau sont beaucoup plus étendues que celles du protoplasme. Pour une certaine température, l'activité nucléaire peut subsister seule. MORGAN et HERTWIG constatent peu de temps après, dans les œufs soumis aux solutions de NaCl, une inertie profonde du cytoplasme. L'arrêt de la division protoplasmique est obtenue par DRIESCH en diluant l'eau de mer, par ZIEGLER au moyen de la compression.

Dans un autre ordre d'idées, LOEB et BUDGETT voient les membranes nucléaires disparaître, quand on diminue la quantité d'oxygène ou quand on la supprime.

BATAILLON, en soumettant des œufs de grenouille pris dans l'utérus à l'influence de solutions salines ou sucrées, montre une fois de plus l'arrêt du cytoplasme, tandis que le noyau continue à se diviser, et il arrive à cette conclusion que, dans certaines limites et dans certaines conditions naturelles ou provoquées, le plasma ovulaire peut passer par des alternatives d'hydratation et de déshydratation. Il existerait donc entre l'œuf ovarien et l'œuf mûr une différence sensible dans la pression osmotique, qui serait due à la perte de certains matériaux.

Il se demande si, dans les cas de fécondation, dans les cas des disques imaginaux des insectes, les deux divisions nucléaires ultimes et typiques ne correspondraient pas à un maximum de concentration protoplasmique;

si les conditions de nutrition défavorables (état semi-asphyxique) n'auraient pas quelques rapports avec le changement physique du milieu extérieur. Ne pourrait-on pas également l'invoquer pour la division dite réductrice des éléments sexuels?

Il ajoute ensuite avec beaucoup d'à propos la phrase suivante. - Les
 - simples hypothèses directrices, unilatérales et provisoires, ont du moins
 - l'avantage de sérier les données acquises et d'orienter nos investigations.
 - Valent-elles moins que ces brillants édifices créés de toutes pièces en
 - dehors de l'expérience et destinés à crouler sous son premier choc? «

Elles valent beaucoup mieux et elles seules devraient être permises en sciences naturelles, qui sont essentiellement d'observation. Les hypothèses émises par BATAILLON sont pleinement justifiées, ainsi que nous allons le montrer.

Cet état semi-asphyxique est réalisé sans aucun doute chez *Rana* et *Bufo*, espèces qui pondent dès le premier jour de leur sortie de l'hibernation; il a existé pendant tout l'hiver. Quand les animaux étaient en terre, l'oxydation du sang a été ralentie dans des proportions considérables, puisqu'elle s'accomplissait par la peau, la respiration pulmonaire étant entièrement suspendue. L'œuf a, pendant cette vie latente, subi aussi une déshydratation lente, puisqu'il a réagi contre cette action par la construction d'une membrane épaisse, comparable à la coque des protozoaires qui s'enkystent pour résister à la dessiccation. Cet état très accentué déjà passe à l'état aigu par le fait de l'accouplement. Quiconque a observé l'accouplement chez ces deux espèces connaît l'intensité de l'appétit sexuel des mâles et la fureur avec laquelle ils se disputent les femelles. C'est une bataille continuelle, soit pour les saisir, soit pour les conserver quand ils sont accouplés. Ils saisissent les femelles sous les aisselles et les serrent entre leurs bras avec une telle violence, qu'il faut employer une traction très forte pour les séparer. Les pouces du mâle enfoncés dans le creux de l'aisselle, empêchent presque complètement les poumons de se dilater. Les contractions musculaires brusques et répétées surchargent le sang d'une grande quantité d'acide carbonique, qui ne parvient même plus à être expiré, tant le travail de désassimilation qui se produit en ce moment est intense. L'inspiration est empêchée par l'embrassement spasmodique du mâle et toute oxygénation arrêtée. Les conditions d'asphyxie réalisées artificiellement par LOEB et BUDGETT existent donc à l'état naturel pendant l'accouplement des anoures. Les mêmes effets se produisent d'ailleurs rapidement, la membrane du

noyau se résorbe sous l'action du cytoplasme chargé d'acide carbonique; les phénomènes de la maturation commencent après quelques heures d'accouplement, et la ponte s'opère en une fois. Cette action dissolvante ne se manifeste pas seulement à l'intérieur de l'œuf, mais aussi sur le follicule ovarique, qui se brise, et la déhiscence générale de tous les œufs mûrs se produit presque simultanément.

Le phénomène se complique chez les urodèles, chez lesquels l'accouplement ne se produit pas. L'influence de l'état asphyxique se concevrait encore chez *Salamandra*, où il y a accouplement; mais nous croyons que, chez cette espèce, la déshydratation joue aussi un grand rôle, puisque, comme nous l'avons dit plus haut, la maturation des produits sexuels se produit toujours pendant une période de sécheresse. Chez *Diemyctilus*, il y a aussi un accouplement prolongé, qui se produit dans l'eau; l'action déshydratante ne se conçoit pas fort bien; il faudrait donc dans cette espèce reconnaître une influence prépondérante à l'état asphyxique et à l'alimentation. Nous avons décrit, au commencement de ce mémoire, comment le noyau se contracte pour expulser l'enchylème hyalin qui remplit ses mailles. On peut voir dans cette concentration le résultat de la résistance de l'œuf à l'asphyxie.

Chez les tritons, l'accouplement ne se produit pas; la déhiscence ovulaire n'est pas simultanée, mais successive; la ponte s'opère dans l'eau; l'influence des deux facteurs, asphyxie et déshydratation, ne se conçoit pas aussi bien que dans les espèces précédentes. Peut-être faut-il la chercher dans l'accroissement de la densité du milieu, dans lequel ils vivent au moment de la maturation. Nous avons dit, en effet, plus haut que ces espèces pondent dans de petites mares qui se dessèchent pendant l'été. Au fur et à mesure que l'évaporation se poursuit sous l'influence du soleil, la densité de l'eau augmente et celle-ci se charge d'une quantité croissante de sels organiques et inorganiques. C'est là une simple hypothèse, que nous avançons sans lui accorder une trop grande importance. Chez ces espèces, il paraît plus probable que l'influence de l'alimentation et du jeûne est prépondérante; et nous sommes plus porté à admettre que l'œuf, ne recevant plus du sang les aliments nécessaires à son accroissement, digère la paroi folliculaire à l'endroit où le pôle animal se trouve en contact avec le follicule. Cette action rend mieux compte, nous semble-t-il, du fait de la déhiscence successive, en ce sens qu'elle s'applique mieux à chaque œuf en particulier.

Quoi qu'il en soit, il est bien prouvé, par l'étude comparative que nous venons de faire, que ces trois facteurs : alimentation insuffisante, état asphyxique, déshydratation, exercent sur la marche de la maturation une action profonde; et si celle-ci ne nous donne pas une explication complète des phénomènes qui accompagnent la maturation, elle nous aidera beaucoup plus à la comprendre que les belles théories qu'on a jusqu'ici inventées pour l'expliquer.

Remarquons enfin que les individus mâles étant soumis aux mêmes influences que les femelles, l'évolution du testicule est absolument parallèle à celle de l'ovaire. La maturation des produits sexuels s'accomplit à peu près à la même époque, dans les deux sexes, chez un grand nombre d'espèces; cela est surtout vrai pour celles dont la maturation se produit en été : *Salamandra*, *Alytes*. Nous ne pouvons entrer dans le détail de la question, nos observations sur ce sujet étant trop incomplètes. L'étude du testicule, à ce point de vue comparé, demande à être faite. Une chose est toutefois certaine, c'est que les deux cinèses de maturation s'accomplissent aussi dans un temps très court.

2° Action de l'alimentation sur la morphologie de l'élément nucléinien.

Après avoir constaté que l'alimentation exerce une influence décisive sur le moment de la maturation, entrons plus avant dans la question et demandons-nous quelle action elle peut avoir sur les modifications si variées et si importantes que subit l'élément nucléinien pendant cette période.

Pour asseoir notre démonstration sur une base solide, rappelons brièvement l'état de nos connaissances sur le rôle physiologique qu'il joue dans la cellule.

Il y a plus de 25 ans que CLAUDE BERNARD soutenait déjà que le noyau était dans la cellule l'organe principal de l'assimilation et des synthèses organiques, tandis que le cytoplasme était plutôt le siège de la désassimilation. Les recherches de chimie physiologique ont précisé les vues de CLAUDE BERNARD, et l'on est venu aujourd'hui à pouvoir dire, en se basant sur la composition chimique de ces deux éléments, qu'il existe, suivant l'expression de WILSON, *un contraste défini et constant entre le noyau et le cytoplasme*, le noyau renfermant des acides spéciaux, nucléiniques, et leurs combinaisons

formant ce qu'on appelle la nucléine, tandis que le protoplasme contient surtout des nucléo-albumines, des globulines, des vitellines. On a précisé encore davantage : KOSSEL, MATTHEWS, CHITTENDEN prétendent que la nucléine joue le rôle principal dans toutes les synthèses organiques, qu'elle est le centre de formation de tous les matériaux nutritifs, qu'elle modifie et règle tous les échanges nutritifs de la cellule.

Mais on a constaté aussi des variations de la forme et de la quantité de la nucléine contenue dans le noyau, en se basant surtout sur le pouvoir colorant de cette substance. On a vu ce pouvoir diminuer pendant les périodes intenses d'activité cellulaire, puis réapparaître aussitôt que cette activité cesse. On cite comme points extrêmes de cette variation, d'une part le spermatozoïde mûr, cellule dont l'accroissement est suspendu, contenant le maximum d'acide nucléinique, d'autre part la spermatogonie ou le spermatocyte pendant la période d'accroissement. Dans le premier cas, l'élément nucléinien est une masse compacte homogène; dans le second, il est granuleux et éparpillé dans tout le noyau.

K. PETER (1898) a émis à ce sujet des idées très originales en étudiant les cellules testiculaires. Rappelant les travaux de GILSON, BORN et RÜCKERT, il montre que le noyau change d'aspect pendant les diverses périodes de la division et qu'il prend une part très active à la nutrition cellulaire. Il conclut que plus la nucléine se trouve sous la forme granulaire, plus le noyau est actif; plus l'élément nucléinien est volumineux, moins son activité est grande. Quand la nucléine se rassemble en un corps unique et se condense dans une masse compacte, le pouvoir nutritif et élaborateur du noyau peut être considéré comme nul. Il donne deux exemples de cet état compact, la tête du spermatozoïde et le boyau nucléinien pendant la cinèse. PETER croit que, dans cet état, la cellule a perdu toute possibilité de se nourrir elle-même et de se modifier au point de vue structural. C'est pourquoi le spermatozoïde doit se mettre en rapport avec une autre cellule qui le nourrit. Ce rôle serait dévolu dans le testicule aux éléments à petits noyaux ovalaires, dont la nucléine est très finement granulée. Les spermatocytes et les spermatogonies éprouveraient le même besoin; elles auraient aussi besoin d'un matériel nutritif venu du dehors, car leur nucléine est disposée en amas volumineux et irréguliers. Ces cellules nourricières à l'état granuleux possèdent d'ailleurs aussi un nucléole volumineux, qui rappelle celui de l'œuf et y joue un rôle important dans la nutrition. La conception de PETER nous paraît très juste pour ce qui regarde le spermatozoïde et le boyau nucléi-

nien pendant la cinèse, mais elle ne nous paraît pas aussi exacte pour le cas des spermatogonies et des spermatocytes en voie d'accroissement. Ces cellules à ce stade sont les homologues de l'œuf qui s'accroît. Or, qu'avons-nous observé dans ce dernier? La nucléine, à l'état compact dans les nucléoles nombreux qui remplissent l'œuf, joue au contraire son plus grand rôle assimilateur pendant que ceux-ci sont homogènes. C'est dans cet état qu'ils s'accroissent. Ce sont les vrais organes d'assimilation du noyau. Quand ils arrivent à maturité, ils tombent en granules, se résolvent en la grande variété de figures que l'on connaît; ces granules manifestent au contraire un état de la nucléine intimement lié à un processus de désassimilation. Pareils processus se rencontrent dans les cellules testiculaires en voie d'accroissement. Dans ces cellules, les organes assimilateurs seraient ces amas irréguliers et volumineux, dont parle PETER et que JANSSENS vient de décrire aussi dans les auxocytes du triton, ou encore ces nucléoles nucléiniens volumineux et nombreux comme les chromoplastes que EISEN décrit dans le testicule de *Batrachoseps*. Ces corps compacts, en se résolvant pendant la désassimilation, remplissent ces cellules de granules. Ceux-ci sont certes l'indice, l'expression d'une activité cellulaire intense, mais nous pouvons dire avec autant de raison que l'activité cellulaire est aussi grande, peut-être plus grande, pendant l'assimilation, quoique pourtant l'élément nucléinien soit compact pendant cette période.

Nous pensons donc que la proposition émise par PETER l'a été d'une manière trop absolue. Elle s'applique très justement aux états compacts de l'élément nucléinien qu'on observe pendant les périodes de crises, qu'il traverse lors de la cinèse ou de la transformation en spermatozoïde. Ces états critiques de la vie cellulaire, nous les avons rencontrés et décrits longuement lors des phénomènes de la maturation de l'œuf. Nous rappellerons ces états particuliers de la fusion des nucléoles en masses volumineuses au moment de la disparition de la vésicule germinative, la fusion des granules et blocs de tout genre pour la formation des chromosomes de la première cinèse polaire. Ces états sont assimilables, en effet, à celui du stade peloton dans les cellules en cinèse. Même pendant ces états critiques, on ne peut dénier à l'élément nucléinien un certain pouvoir assimilateur. Ces états se manifestent dans l'œuf pendant l'asphyxie ou le jeûne, pendant que la femelle lutte contre l'individu qu'elle porte. On peut concevoir qu'il en est de même dans les cinèses testiculaires. Aussi longtemps que l'élément nucléinien a reçu du sang des matériaux oxygénés et légèrement alcalins, un travail continu

d'assimilation et de désassimilation s'est opéré dans le noyau. Mais les produits de désassimilation s'accumulant dans le cytoplasme et le sang pendant ces périodes d'inanition et d'asphyxie, ne lui fournissant plus que des matériaux chargés d'acide carbonique, les acides du noyau ne trouvent plus à se combiner et s'accumulent dans l'élément nucléinien. Surviennent une crise, la cinèse se déclare. Ainsi considérée, la cinèse ne serait plus, comme on l'a toujours cru, l'expression la plus élevée de la vie cellulaire et de l'accroissement, mais au contraire une lutte contre la mort. Les expériences si intéressantes que LOEB (98) a instituées sur les œufs d'*Arbacia* et de *Fundulus* fournissent une sorte de confirmation aux idées que nous venons d'émettre. Étudiant l'action de l'oxygène sur les synthèses organiques, il en arrive à conclure que l'action combinée de l'oxygène et des traces d'alcali donne une activité plus grande à la croissance. Les acides, au contraire, auraient une influence inverse, parce qu'ils retarderaient toutes les oxydations.

Ces considérations nous amènent à nous demander si l'on ne fait pas erreur dans l'interprétation qu'on donne habituellement de la formation du stade spirème. On décrit toujours le phénomène comme il suit. Pendant la période d'accroissement, la nucléine est distribuée dans tout le noyau sous la forme de granules; quand le moment de la cinèse approche, en vue d'une répartition égale de l'élément nucléinien, ces granules se condensent et forment un filament continu. Est-ce bien ainsi qu'il faut considérer les choses? Nous ne le croyons pas, et notre opinion se base sur nos observations de l'évolution de l'élément nucléinien dans l'œuf. On peut comparer, en effet, les phénomènes de la cinèse dans les cellules testiculaires avec les cinèses ovulaires et l'évolution du peloton avec l'évolution des nucléoles nucléiniens de l'œuf. Or, qu'avons-nous observé? Au milieu de l'infinité des granules qu'on trouve éparpillés dans le caryoplasme, un nombre très restreint d'entre eux, enrobant une petite portion de réticulum plastinien, forment la souche d'une nouvelle génération nucléolaire. Ces granules, en s'agglutinant, deviennent des petits nucléoles compacts, qui s'accroissent plus ou moins rapidement en volume. Cet accroissement se produit toujours à la périphérie du noyau, jusqu'au moment où, ayant atteint leur volume de maturité, ils se rendent au centre de l'œuf pour se désagréger et y subir les résolutions si variées qui les ramènent à l'état de granules, c'est-à-dire à l'état de particules élémentaires de l'élément nucléinien. Cette résolution est toujours précédée d'une vacuolisation des nucléoles, et les cinèses ovulaires sont toujours précédées d'un stade assez

prolongé de vacuolisation du caryoplasme. De tous les autres granules qui remplissaient les mailles du réseau, un nombre très restreint subsiste donc. Et quand survient le stade critique de la maturation, ce petit nombre seulement s'agglutine pour donner les masses de fusion, d'où les chromosomes se différencieront; tous les autres se dissolvent et sont absorbés par le cytoplasme.

L'évolution de l'élément nucléinien suit une marche absolument identique dans les cellules mâles.

Les spermatogonies et les spermatocytes, pendant leur période d'accroissement, sont gorgés de granules nucléiniens. Aussi longtemps que dure cette période, les blocs nucléiniens et les nucléoles nucléiniens fournissent ces granules comme produits de désassimilation, mais quand la période de maturation approche, les processus d'oxydation cessent et la fabrication se ralentit. Quand la cinèse se prépare, on voit apparaître sur le réseau une ou deux rangées de granules, d'abord très petits, qui s'agglutinent bientôt pour former un ou deux filaments homogènes très fins; ceux-ci grossissent pour devenir le peloton ou les chromosomes de la figure cinétique.

Tous les granules que contenait le noyau ne sont donc pas utilisés, une grande partie se dissout et passe par osmose dans le cytoplasme. Celui-ci enlève progressivement tous les produits de désassimilation de l'élément nucléinien. L'assimilation, au contraire, étant ralentie, le caryoplasme se nettoie rapidement de tous les granules qui n'ont pas été employés à l'ébauche du filament nucléinien, qui plonge maintenant dans un enchylème hyalin dépourvu de granules. L'apport des matériaux nutritifs, progressivement ralenti, amène peu à peu le boyau nucléinien vers la source d'où lui venait la nourriture, c'est-à-dire vers le cytoplasme, et il s'étale contre la face interne de la membrane, comme le font les nucléoles dans l'œuf pendant leur période d'assimilation. Mais bientôt cet enchylème hyalin se charge d'acide carbonique, ralentit les combinaisons avec les acides nucléiniques, qui s'accumulent de plus en plus au fur et à mesure que le peloton grossit; survienne la période critique, la division se produit, une nouvelle cellule se forme, et l'élément nucléinien, qui a retrouvé dans le cytoplasme des matériaux nutritifs avec lesquels ses acides nucléiniques peuvent se combiner, subit une résolution granuleuse et reprend son activité synthétique.

Dans les cinèses de maturation, cet état dure plus longtemps que dans les

cinèses ordinaires, en raison de la durée plus longue de la période critique, asphyxie, inanition, déshydratation, qui empêche l'élément nucléinien de reprendre sa forme granuleuse; c'est pourquoi il n'existe pas entre les cinèses de stade qu'on appelle si improprement de repos, et c'est pourquoi les deux cinèses se succèdent si rapidement.

Ces considérations trouvent une pleine confirmation dans les faits que rapportent RICHARD HERTWIG à propos d'*Actinosphaerium*. Il a observé que, chez les individus affamés, la nucléine se condense en une masse unique, tandis qu'au contraire, chez les animaux abondamment nourris, l'élément nucléinien est éparpillé dans tout le noyau sous la forme de granules.

Les exemples nombreux de fusion des nucléoles au moment de la maturation de l'œuf, que nous avons figurés dans toutes les espèces par nous étudiées, sauf chez *Bufo*, peuvent être interprétés de la même manière. Celui que nous venons de signaler chez *Diemyctilus* est des plus frappants. Rappelons la FIG. 18 et les couronnes polaires de la première cinèse sexuelle; elles sont typiques.

N'est-ce pas à une cause analogue qu'il faudrait rapporter les stades si variables récemment décrits de synapsis? Ces états singuliers du noyau, que certains voudraient interpréter comme des états pathologiques, attribuables à des défauts de fixation, ne se produiraient-ils pas physiologiquement sous des influences analogues? Nous posons seulement la question, c'est à l'expérimentation qu'il appartient de la résoudre.

Quoi qu'il en soit, il ressort à toute évidence des faits que nous avons fait connaître que, pendant la période de maturation, l'œuf est une cellule affamée.

Mais, répondra-t-on, l'œuf est rempli de matières alimentaires; pourquoi ne les utilise-t-il pas?

On peut répondre à cette objection que tout protoplasme qui élabore ne peut utiliser les produits de son élaboration, sans que les circonstances habituelles de sa vie ne soient changées. Ne peut-on comparer l'œuf, l'élément nucléinien, les nucléoles, aux cellules de levure qui se développent sur un moût? Elles assimilent les sucres, s'en nourrissent et rejettent de l'acide carbonique et de l'alcool. Les proportions des produits de désassimilation augmentant progressivement dans le milieu, le développement diminue et finit par s'arrêter complètement. C'est là un processus inhérent à tout protoplasme vivant. Pourquoi n'en serait-il pas de même des éléments du noyau?

Ne pourrait-on comparer l'œuf à maturité avec les infusoires tombés en

sénescence et dire que le cytoplasme et le noyau, quoique se trouvant plongés dans des milieux nutritifs abondants, s'y sont tellement habitués, que leur assimilation se trouve ralentie et devient même impossible, d'où la nécessité d'un rajeunissement et d'une conjugaison. L'état d'oscillation continuelle de la composition chimique de ces deux éléments, l'acidité variable du noyau vis-à-vis de l'alcalinité du sang n'étant plus suffisante, toute assimilation nouvelle s'arrête. La fécondation apporterait à l'œuf une quantité suffisante d'acide nucléinique pour rétablir cette différence et provoquer ainsi de nouveaux échanges chimiques entre le noyau et le cytoplasme.

Considérées à ce point de vue, la maturation de l'œuf et les divisions qui l'accompagnent seraient des tentatives de l'œuf pour restaurer, au moyen de ses éléments propres, cet antagonisme nécessaire à la vie. Ce serait, comme l'a suggéré STRASSER (99), une sorte de régénération, de retour à l'état embryonnaire, d'une cellule spécialement différenciée, mais non d'une manière suffisante pour l'empêcher de se reproduire encore par division indirecte, comme les autres cellules du corps. Ces divisions auraient toutefois un caractère spécial en raison de la quantité des produits de désassimilation qui s'y sont accumulés pendant la période d'accroissement. Mais toute division cellulaire est une conséquence de l'accroissement et survient après une période d'élaboration. Pourquoi l'œuf et les cellules-mères s'accroissent-ils sans division? Et tout d'abord, peut-on dire que l'œuf s'accroît sans se diviser? On peut dire tout au plus qu'il ne se produit pas de division totale du cytoplasme et du noyau; mais peut-on en dire autant des nucléoles? On ne peut dire que l'œuf s'accroît sans cinèse, car nous avons vu que chaque résolution nucléolaire est assimilable en tous points à une cinèse. Les nucléoles nucléiniens, nous l'avons prouvé à profusion, sont de véritables noyaux avec leurs éléments essentiels. Il est beaucoup de noyaux de cellules somatiques qui n'ont pas une structure aussi complexe ni aussi typique. Ils se comportent, dans leur accroissement et leur désassimilation, d'une manière absolument identique à celle de l'élément nucléinien des cellules somatiques. Une seule différence existe, c'est que dans ces dernières la résolution granuleuse de l'élément nucléinien se produit à l'intérieur de la membrane d'un noyau nouveau.

Dans l'œuf, les noyaux nouveaux ne reforment plus de membrane nouvelle, la membrane primitive s'agrandit. La vésicule germinative est un vaste syncytium, où de petits noyaux s'accroissent et se multiplient avec tous les caractères essentiels de la cinèse.

La question qui se pose naturellement alors est celle-ci : pourquoi le

noyau ne se divise-t-il pas dans l'ovaire. L'explication suivante n'est-elle pas très vraisemblable?

Les cellules sexuelles, en raison de leur situation spéciale dans l'organisme, se trouvent placées dans des conditions exceptionnellement favorables de nutrition. Leur alimentation est toujours riche. Leur accroissement n'est pas empêché par les cellules avoisinantes, car les organes génitaux sont en général situés au milieu de tissus lâches, où la circulation du sang est particulièrement abondante.

Le noyau ne se trouve pas dans la situation critique que traverse toute cellule en cinèse, pendant laquelle toute assimilation est suspendue.

Cette suspension s'est reportée sur un élément plus interne de la cellule, l'élément nucléinien, le nucléole. C'est dans ces éléments que les synthèses nouvelles se localisent. L'état asphyxique qui, dans les cellules somatiques, entraîne la cinèse et la division totale du cytoplasme et du noyau, ne se produit pas dans l'œuf. S'il se produit, il n'atteint jamais un degré suffisant pour provoquer ni la plasmocinèse, ni la caryocinèse, mais suffisant pourtant pour la nucléocinèse. Dans le testicule au contraire, les conditions d'alimentation auraient été insuffisantes, au moment où les organes génitaux se sont différenciés.

Cette conception trouve un appui dans les faits suivants : on peut déterminer, en variant l'alimentation, la production des mâles ou des femelles chez les hyménoptères, chez les pucerons ; on peut, par une alimentation plus ou moins abondante, provoquer la parthénogénèse chez les rotifères. BORN a pu obtenir un pourcentage plus élevé d'individus femelles en nourrissant abondamment les têtards de batraciens, tandis que la proportion des mâles était plus élevée quand l'alimentation était insuffisante.

Nous pourrions encore citer d'autres faits analogues. De leur ensemble, il résulte que les cellules femelles seraient placées dans les meilleures conditions d'assimilation, tandis que les cellules mâles se formeraient plutôt chez les individus dont l'alimentation aurait été insuffisante.

Cette conception de l'œuf nous ferait entrevoir pourquoi les cellules embryonnaires évoluent plutôt dans une direction que dans une autre ; pourquoi les ovocytes s'accroissent sans se diviser, tandis que les spermatoctes se divisent ; l'accroissement chez ces derniers serait arrêté par un défaut d'aliment ; pourquoi, pendant une période de la croissance de l'individu, les cellules sexuelles sont indifférentes, tandis qu'elles se différencient quand la période de suralimentation survient.

L'œuf doit donc être considéré comme une cellule à accroissement continu, dont la division totale a été sans cesse retardée par une alimentation abondante.

Les recherches récentes de cytologie expérimentale justifient pleinement cette conception. Que font en somme tous les expérimentateurs qui retardent artificiellement la plasmodiérèse de l'œuf en segmentation? Ils lui fournissent des aliments pour se nourrir, ou bien ils empêchent la désassimilation rapide d'une cellule affamée. Les solutions alcalines, salées, sucrées, provoquent, disent ils, une paresse du cytoplasme, tandis que le noyau conserve son activité. On pourrait dire avec plus de raison, nous semble-t-il, que le cytoplasme est au contraire très actif, parce qu'il assimile les éléments nutritifs qu'on lui fournit. On permet à l'œuf de retrouver pendant un certain temps un régime analogue à celui auquel il était soumis dans l'ovaire.

Nous disons analogue, car on n'est jusqu'ici parvenu à empêcher le noyau de se diviser. Qui sait si, en fournissant à l'œuf des aliments plus complets que les solutions salines trop simples, dans lesquelles on les plonge habituellement, on ne parviendrait pas à les conserver en vie et les voir s'accroître sans division ou disparition de la vésicule germinative?

Aussi bien dans le phénomène normal de la maturation que dans les expériences de parthénogénèse expérimentale, l'œuf se trouve placé dans des conditions particulières de vie, qui changent radicalement le régime habituel de sa nutrition. Il subit pendant son passage à travers les organes annexes un remaniement complet, simplement mécanique, de tous ses éléments. Il doit rouler, s'insinuer entre les viscères, le long des villosités de l'oviducte. Pendant son passage à travers le péritoine, il doit résister contre l'absorption et la déshydratation. Dans l'oviducte, l'action déshydratante de la mucine est plus forte encore.

La substance muqueuse sécrétée par l'oviducte est douée d'un pouvoir déshydratant intense; il suffit, pour s'en convaincre, de placer un œuf de batracien, entouré de sa coque muqueuse, dans l'eau pour voir cette dernière se gonfler instantanément, absorber de l'eau et augmenter énormément de volume. Cette action se fait d'ailleurs manifestement sentir sur l'œuf, car la couche la plus interne des enveloppes se ramollit bientôt et devient presque liquide, à tel point que l'œuf est très mobile à l'intérieur de la coque au moment de la segmentation. L'eau qui a ramolli cette couche interne est extraite de l'œuf. Le pouvoir absorbant et déshydratant des produits muqueux est bien connu.

Ces actions mécaniques, cette concentration du plasma provoquent à elles seules les cinèses de maturation. La fécondation intervient pour continuer par une action semblable, ainsi que nous allons le voir.

Fécondation.

Nous avons déjà, en 1897, protesté contre la trop grande importance qu'on a accordée à l'élément nucléinien dans la fécondation. Nous avons montré que le cytoplasme organisé du spermatozoïde n'est pas absorbé par l'œuf comme un aliment, mais qu'il se mélange avec le réticulum plastinien de l'œuf et continue à vivre aussi bien que le noyau. Nous en avons conclu que la fécondation est l'union de deux cellules, noyau à noyau, protoplasme à protoplasme, en une individualité nouvelle et capable de développement.

Notre manière de voir a trouvé un écho dans le mémoire de KULAGIN (98), qui reconnaît aussi une influence au mélange du cytoplasme spermatique. Après avoir comparé la fécondation et la conjugaison des protozoaires, il en arrive à cette conclusion que la fusion de deux individus peut être aussi bien considérée comme l'absorption de l'un par l'autre. La pénétration d'un spermatozoïde dans l'œuf des métazoaires peut être également considérée comme un processus de nutrition. C'est un individu cellulaire qui en absorbe un autre.

Ce que nous venons d'exposer dans le chapitre précédent justifierait ces conclusions. Nous les croyons cependant trop radicales, car elles semblent indiquer que l'auteur admet la destruction de l'un par l'autre.

Il est certain que, dans la fécondation, les deux cellules qui se rencontrent sont affamées et ont été soumises toutes deux à une période de jeûne prolongé. Cette période a été particulièrement longue pour le spermatozoïde, chez lequel tout accroissement a été arrêté depuis très longtemps. Il a continué de vivre dans le testicule d'abord, où il est resté en rapport avec les cellules nourricières; mais arrivé dans le spermiducte, on peut dire que sa ration alimentaire a été réduite. L'état dans lequel se trouve son élément nucléinien prouve d'ailleurs que sa puissance d'assimilation est ralentie. Quand donc ces deux éléments se trouvent en présence, il est bien possible que l'œuf, plus fort que le spermatozoïde, l'absorbe complètement, le digère et s'en nourrisse. Cela dépendra, si l'on veut, de son appétit. C'est ainsi qu'on trouverait une explication plausible du fait signalé par IWANZOFF,

qui nourrit des œufs d'oursins avec du sperme et qu'on pourrait comprendre les cas de polyspermie signalés chez les batraciens par MICHAELIS. Ces cas exceptionnels font ressortir néanmoins l'admirable harmonie qui préside à la fécondation dans le phénomène normal et le degré de précision réalisé régulièrement dans les différences qui existent entre le spermatozoïde et l'œuf, quand un seul élément mâle suffit à la fécondation.

Il apporte des caractères paternels spécialement localisés sur les éléments nucléiniens, mais il apporte aussi dans l'œuf un enchyème chargé de substances chimiques qui lui servent de nourriture.

Il transporte des caractères héréditaires certes, mais il a aussi, croyons-nous, une action plus immédiate : il sert à l'œuf pendant la segmentation. Il lui fournit, comme l'a suggéré LOEB, des substances catalytiques qui permettent à l'élément nucléinien ovulaire d'utiliser les aliments accumulés pendant la période d'accroissement. Il modifie ce milieu et cette masse que l'œuf affaibli ne parvenait pas à diviser, aussi longtemps qu'il était livré à ses propres forces. Il restaure cet état antagoniste du noyau vis-à-vis du cytoplasme, qui lui permet d'assimiler ce produit de désassimilation. Il est en effet très riche en acides nucléiniques, son enchyème est chargé de nucléoalbumines. Ces substances réagissent sur le cytoplasme ovulaire, qui peut cette fois se mettre tout entier en mouvement et se diviser d'une manière totale. Pour LOEB, cette action serait surtout déshydratante, elle changerait les processus chimiques de la nutrition.

Toutes les recherches de parthénogénèse expérimentale de LOEB, WILSON, DEWITZ, TICHOMIROF, KULAGIN, viennent appuyer cette thèse, en montrant qu'on peut provoquer artificiellement cet état particulier de l'œuf en segmentation, qui le ramène par une série de cinèses successives à l'état de cellules embryonnaires équivalentes entre elles pour former une morula.

Cette idée émise par STRASSER nous paraît très juste ; elle est corroborée par les expériences de tous ceux qui sont parvenus à provoquer le développement de blastomères isolés et par les observations si intéressantes de MARCHAL sur *Encyrtus*.

Cet animal pond un seul œuf qui se développe, mais les cellules, au lieu de constituer un seul embryon, se dissocient pour donner de petites morules, qui plus tard s'organiseront en une centaine d'embryons.

L'idée de STRASSER est en somme la contrepartie de celles que nous avons émises plus haut, en considérant l'œuf des batraciens comme un syncytium contenant une foule de petits noyaux accumulés dans la vésicule

germinative, et les résolutions nucléolaires comme des cinèses rudimentaires.

La segmentation jusqu'au stade de morula n'est qu'un travail de répartition d'une masse protoplasmique volumineuse en autant de cellules qu'il y avait de nucléoles dans l'œuf. Ce serait un phénomène analogue à la division de la masse dans l'œuf, dont on a retardé la segmentation, mais non la division nucléaire. Chacun des noyaux reprend plus tard la portion de la masse totale qui lui revient. Dans l'œuf, pendant sa vie d'accroissement, la division du noyau, ainsi que celle du cytoplasme, a été empêchée, mais les nucléoles se sont multipliés. La série de divisions rapides qui se produit pendant la segmentation divise l'œuf en un grand nombre de cellules, dont le noyau n'est pas plus volumineux qu'un nucléole nucléinien au cours de la période d'accroissement.

Notre conception de l'œuf cadre aussi très bien avec les vues si intéressantes que vient d'émettre HERTWIG à la suite d'une étude comparée de la reproduction chez les protozoaires.

Il fait ressortir que, chez ces êtres, fécondation et reproduction sont des choses absolument distinctes, qui peuvent coexister, mais qui n'ont entre elles aucun rapport essentiel. La fécondation n'active pas la reproduction; au contraire, dans un grand nombre de cas, elle la retarde. Quand elle se produit, elle est soumise à un ensemble de circonstances qui varient avec les conditions de la vie, d'après les espèces. Il en conclut que, dans la reproduction sexuelle de métazoaires, il faut voir la continuation de la manière de reproduction des protozoaires. Les êtres multicellulaires constituent une communauté, qui s'est formée par une série de divisions cellulaires innombrables précédées d'un acte de fécondation.

Les cellules somatiques possèderaient un pouvoir énorme de multiplication, tandis que les cellules sexuelles différenciées des autres auraient perdu plus tôt leur pouvoir de division. Les divisions de maturation seraient la dernière expression de ce pouvoir.

Les termes de reproduction sexuelle et asexuelle seraient impropres, car les observations de la fécondation se multiplient tous les jours chez les protozoaires. L'auteur croit qu'elle est générale. D'autre part, le schéma qu'on donne actuellement laisse la parthénogénèse de côté; on ne l'explique que par la perte d'un état sexuel antérieur. HERTWIG trouve plus logique de dire que la parthénogénèse est la continuation de la reproduction sans intervention de la fécondation, comme cela se voit généralement chez les proto-

zoaires. Les relations nécessaires entre le noyau et le cytoplasme pour la reproduction auraient été produites par un autre moyen. Il voit la contrepartie de la parthénogénèse dans le fait qu'un spermatozoïde fécondant un fragment ovulaire sans noyau peut provoquer le développement.

Nous avons montré que, dans la fécondation et la maturation de l'œuf des batraciens, les phénomènes qui s'y déroulent sont comparables à ceux que HERTWIG rappelle dans les protozoaires, à savoir que la fécondation retarde l'accroissement. Dans l'œuf, l'accroissement est arrêté par la maturation, par la période critique qu'il traverse, par son passage dans le péri-toine, l'oviducte. L'œuf proteste contre les actions absorbantes et déshydratantes de ces milieux en se fabriquant une membrane épaisse assimilable en tous points à la membrane kystique des protozoaires.

Nous avons montré que les œufs sont des cellules privilégiées que l'alimentation empêche de se diviser. Mais nous n'admettons avec HERTWIG qu'ils perdent le pouvoir de se diviser. Dans l'œuf, ce pouvoir continue d'une manière ininterrompue dans le noyau et les nucléoles. Les divisions de maturation ne sont pas la dernière expression de ce pouvoir; c'est la résurrection à l'état typique d'un phénomène qui, au cours de l'accroissement de l'œuf, n'est jamais parvenu à son complet achèvement, et qui retrouve dans les circonstances spéciales de la maturation des conditions qui ne s'étaient plus reproduites depuis son état d'ovogonie.

L'œuf peut retrouver cet état spécial sans intervention de la fécondation. On se trouve alors devant la parthénogénèse, sous des influences variées : chaleur, nutrition, respiration.

Individualité des pronucléi.

Nous venons de recevoir de EDWIN CONKLIN (1901) une courte note, dans laquelle il annonce qu'il a retrouvé chez *Crepidula* l'évolution absolument séparée des deux pronucléi, qui conserveraient pendant un temps très long leur individualité. L'auteur rappelle les observations de HAECKER et RÜCKERT chez *Cyclops*, celles de HERLA et ZOJA chez *Ascaris*. Les observations de ces auteurs semblent confirmer l'hypothèse de BOVERI que, dans toute cellule dérivant d'un œuf fécondé, une moitié des chromosomes est d'origine paternelle, l'autre d'origine maternelle. Les faits qui se passent lors de la segmentation de *Crepidula* sont en effet identiques à ceux que les

auteurs prénommés ont observés. Les deux pronucléi ne se fusionnent pas; les groupes de chromosomes restent séparés pendant leur évolution sur le fuseau; les deux groupes reforment dans les premiers blastomères deux petits noyaux, qui restent longtemps distincts, mais finissent par se fusionner en un certain point de leur surface de contact, tout en restant bilobés. Ces phénomènes ont été décrits par BOVERI, HERLA, ZOJA, chez l'*Ascaris*.

Nous avons aussi étudié l'*Ascaris* et les résultats auxquels nous sommes arrivés sont tout autres que ceux de ces auteurs et ne permettent pas à CONKLIN de s'appuyer sur le cas de l'*Ascaris* pour maintenir l'individualité absolue des deux pronucléi. Nous avons, en effet, constaté les faits suivants.

1° La conjugaison de deux pronucléi peut être produite chez l'*Ascaris* avant la première segmentation et aboutit souvent à la formation d'un stade spirème typique avec boyau nucléinien typique.

2° Quand les chromosomes de la première et de la seconde segmentation se dirigent vers les pôles de la figure, les deux moitiés s'entrecroisent de telle façon que, quand le noyau bilobé se forme, il y a dans chacun des lobes une extrémité du chromosome paternel à côté du chromosome maternel. Les deux chromosomes-filles se divisent transversalement et de chaque côté du noyau, on trouve deux chromosomes, l'un paternel, l'autre maternel. Pour se convaincre du fait, nous renvoyons à notre mémoire de 97 sur l'*Ascaris*, et nous prions de considérer nos figures 9, 10, 11, 12, 14, 15, 26, 29.

Ceci démontre que, du fait que certains noyaux sont bilobés, il ne s'ensuit nullement qu'un lobe soit maternel, l'autre paternel. Au surplus, les noyaux finissent par se fusionner après chaque cinèse et les chromosomes y subissent une résolution granuleuse, toutes les figures de CONKLIN le démontrent; les lobes du noyau s'effacent et les granules de nucléine se répandent dans tout le noyau et se mélangent entre eux. Les noyaux de *Crepidula* subissent des mouvements très étendus de renversement, de torsion, que CONKLIN a étudiés d'une manière très exacte. Comment pourrait-on concevoir que les granules élémentaires, qui sont si abondants, ne se mélangent pas pendant ces mouvements? Il faudrait alors admettre qu'ils ont la propriété de choisir le côté du noyau où ils doivent retourner! C'est donc là une hypothèse très belle en théorie, mais que les faits ne démontrent nullement. Il est possible qu'il en soit ainsi, mais jusqu'à présent la démonstration de l'hypothèse de BOVERI n'est pas faite.

Les critiques que nous venons de faire s'appliquent donc aussi aux

idées de MONTGOMERY (1901), qui prétend que la copulation du chromosome maternel avec le chromosome paternel s'opèrerait dans le stade synapsis.

Centrosome.

Dans notre précédent travail, nous avons entretenu le lecteur de l'attitude de BOVERI au sujet de notre mémoire sur l'*Ascaris*. Nous avons pensé que le public scientifique apprécierait à leur juste valeur les procédés incorrects de FÜRST et aurait compris, en jetant un coup d'œil sur notre chapitre des méthodes, la confiance qu'il faut accorder à de pareilles observations. Nous avons eu tort, paraît-il, de ne pas relever immédiatement cet oubli des égards que l'on se doit entre personnes poursuivant le même but, la recherche de la vérité; car certains ont interprété notre silence comme une défaite. Tel est WILSON dans la dernière édition de son beau livre sur la cellule. Il se montre sceptique vis-à-vis des résultats auxquels nous sommes arrivés, parce que FÜRST les contredit. Après avoir résumé notre manière de voir sur l'origine nucléolaire du centrosome, il s'exprime comme il suit :

« Au surplus, ces résultats sont totalement opposés à ceux de VAN BENEDEN, BOVERI, VON ERLANGER et KOSTANECKI et SIEDLECKI sur le même objet, et ils sont contredits de la manière la plus formelle par FÜRST; ils doivent donc être reçus avec un certain scepticisme. Le travail de KOSTANECKI et SIEDLECKI démontre la division du centrosome spermatique dans l'*Ascaris*, comme l'a décrit BOVERI et, quoiqu'il soit possible que les centrosomes-filles puissent disparaître pendant une courte période (ainsi qu'on l'a décrit depuis chez quelques mollusques), il n'y a aucun fondement pour en tirer la conclusion que CARNOY en déduit. Quiconque est familiarisé avec l'objet ne peut réprimer le soupçon que CARNOY et LEBRUN ont confondu les centrosomes avec les nucléoles, mais de nouvelles recherches pourront seules fixer ce point ».

Remarquons d'abord que, si nous étions arrivés aux mêmes résultats que nos devanciers, il eut été inutile de publier les nôtres.

Nous avons exposé longuement les raisons que nous avons fait valoir pour rejeter les interprétations des auteurs, dont les observations sont antérieures aux nôtres. Nous n'avons rien à y ajouter et nous nous permettrons d'y renvoyer le lecteur. On y trouvera que la conclusion que nous avons tirée est pleinement justifiée.

Reste le mémoire de FÜRST, qui est postérieur au nôtre et a été manifestement inspiré par BOVERI pour nous réfuter. Nous avons vu que le mémoire de FÜRST ne peut inspirer aucune confiance à ceux qui ont un peu la connaissance de l'objet et nous en avons montré les raisons; nous n'y reviendrons plus. Nous devons cependant nous étonner que WILSON, qui prétend connaître l'objet, ait donné la préférence aux méthodes de FÜRST sur les nôtres. Nous avons pourtant procédé d'une tout autre façon; nous avons critiqué les méthodes employées par nos devanciers et dénoncé leurs défauts, puis nous avons démontré l'avantage du nouveau fixateur que nous avons employé.

FÜRST et BOVERI, au contraire, sans tenir compte des moyens employés par ceux qu'ils prétendent contrôler, en reviennent à une technique que les premiers observateurs eux-mêmes, opérant il y a bientôt vingt ans, ont trouvée à cette époque tout à fait insuffisante!!

Il faut en convenir franchement, WILSON nous a habitué à plus de sens critique.

Nous croyons que WILSON n'a pas lu notre travail, sinon il aurait mentionné avec l'impartialité qui le caractérise : 1° la découverte, que nous avons annoncée dès 1891, de la présence des centrosomes dans les cinèses polaires; 2° les raisons que nous avons fait valoir contre KOSTANECKI; 3° il n'aurait pas cité l'*Ascaris* parmi les espèces animales, chez lesquelles la continuité du centrosome a été maintenue.

Nous avons été les premiers à montrer que, même sur l'objet qui a servi à les établir, les théories de BOVERI étaient insoutenables. Les événements nous ont donné raison au-delà de toute espérance, puisque WILSON, après avoir constaté que l'hypothèse de BOVERI est une hypothèse à priori, écrit ce qui suit : - Indeed, it is in this very field that some of the most - convincing evidence against the persistence of the centrosome has been - produced. -. Plus loin, après avoir passé en revue la longue liste des auteurs qui ont vu disparaître les ovocentres, il ajoute : - These conclu- - sions, if correct, place in a new light the disappearance of the egg centro- - some; for this process would thus seem to be of the same nature as the - disappearance of the sperm centrosomes, and both BOVERI's theory of - fertilisation and general hypothesis of the permanence of the centrosome - would receive a serious blow -. Au sujet des sphères, il s'exprime comme il suit, p. 323 : - Later researches have conclusively shown that the attrac- - tion sphere cannot be regarded as a permanent organ, since in many cases - it desintegrates and disappears -.

WILSON tient cependant malgré tout cela à la permanence du centrosome, et il cherche un moyen de concilier la théorie de BOVERI avec les observations qui la contredisent. Il s'appuie sur les observations de COE, qui prétend avoir vu réapparaître les centrosomes à l'endroit même, où ils avaient disparu. Ils auraient simplement perdu leur pouvoir de coloration pendant une période critique, et la substance des premiers réapparaîtrait dans les seconds. C'est, à notre avis, vouloir prouver une hypothèse par une autre hypothèse, qui n'est pas plus vraisemblable que la première. Il conclut néanmoins qu'il faut retenir la substance de la théorie de BOVERI tout en *abandonnant la forme morphologique trop simple*, que l'auteur lui avait donnée à l'origine.

Cette conclusion ne nous déplaît nullement, car elle reconnaît implicitement l'exactitude de toutes nos critiques. Nous nous sommes élevé contre l'importance de ces prétendues découvertes, sphères attractives et centrosomes, comme éléments *figurés permanents* de la cellule. C'est surtout à raison de leur morphologie qu'on leur a attribué un rôle actif dans les cellules, comme point d'insertion, comme filaments contractiles, etc.

En vertu de leur prétendue permanence morphologique, FLEMMING a célébré leur apparition comme la plus grande découverte cytologique depuis la découverte du noyau. Tout cela s'est évanoui devant des observations précises et correctes, et l'on est obligé de se rabattre aujourd'hui sur leur influence comme corps chimique, ce qui concorde absolument avec l'interprétation que nous en avons donnée dès le premier jour.

Nous n'avons nullement confondu nucléoles et centrosomes, nous les avons identifiés, nous avons montré qu'ils sont une seule et même chose chez l'*Ascaris*.

Ces observations ont été corroborées depuis par les travaux de GERARD et SCHOKAERT chez les polyclades.

La continuité morphologique étant reconnue fautive, on veut maintenant introduire la continuité substantielle. On ne dit nullement de quelle nature est cette substance. Est-elle solide, liquide? Si elle est solide, elle sera figurée; alors restera à prouver comment, après avoir perdu son pouvoir de coloration (car elle traverserait une période critique), elle retrouverait ce pouvoir. Si elle se liquéfie ou se dissout, les difficultés augmenteront encore. Restera-t-elle fixe, se combinera-t-elle avec les albumines du cytoplasme? Après avoir subi toutes les métamorphoses d'une désassimilation, se reformera-t-elle aux dépens de ses composants sans une synthèse nou-

velle? Ce sera assurément un chapitre nouveau et intéressant dans l'histoire de la chimie biologique, que d'observer une substance qui, au gré des observateurs, entre en désassimilation, puis aussitôt après réassimile ses produits, pour garder finalement la même composition chimique. Toutes ces hypothèses compliqueront donc singulièrement le phénomène au lieu de le simplifier. Et tout cela pourquoi; pour tâcher de conserver à la théorie de BOVERI un semblant de raison!! Nous devons bien avouer que cela ne nous paraît pas une raison suffisante, ni une absolue nécessité. Les expériences de BATAILLON (1901) démontrent à toute évidence qu'il faut rejeter comme pathologiques les observations de BOVERI et de ses élèves sur l'*Ascaris*. BATAILLON a, en effet, retrouvé des embryons mobiles développés après un séjour de *six mois* dans la liqueur de FLEMMING. Il a de plus montré que si, par une déshydratation progressive, on retarde la vie du protoplasme, tandis que le noyau continue son développement, il en résulte des troubles évidents dans la segmentation. Ce résultat confirme ceux auxquels LOEB et DRIESCH sont arrivés, en montrant que les limites de coagulation du noyau sont plus étendues que celles du protoplasme. Pour une certaine teneur en eau et pour une certaine température, l'activité nucléaire peut persister seule.

Ces expériences si démonstratives font comprendre maintenant pourquoi il a été trouvé des centrosomes, des sphères attractives, persistant d'une cinèse à l'autre. Dans ces œufs, soumis aux fixateurs déshydratants, l'action du cytoplasme est retardée; il ne réagit plus à l'excitation du nucléole qui sort du noyau. Celui-ci continue son développement, tandis que le nucléole, jeté dans le cytoplasme loin du noyau, s'y désagrège lentement en provoquant un aster loin de la membrane nucléaire. *Or, quand on tue les œufs instantanément, on voit toujours l'aster se produire autour du centrosome, aussitôt qu'il a franchi la membrane du noyau.* Quand l'activité du protoplasme est retardée, il est donc bien possible que les centrosomes aient été conservés jusqu'à une division prochaine. Il est bien possible que le spermocentre subsiste jusqu'au stade des pronucléi, pour la bonne raison que dans ces œufs l'action du cytoplasme est paralysée.

CONCLUSIONS.

Nous pouvons résumer les résultats auxquels nous sommes arrivé dans les propositions suivantes.

Chez Diemyctilus,

1° La maturation s'annonce par la résolution filamenteuse, puis granuleuse, des nucléoles nucléiniens et par l'expulsion du noyau d'un enchylème abondant, qui lui donnait un aspect vacuoleux.

2° Un petit nombre des nucléoles résistent à la destruction pour se fusionner en une ou plusieurs masses spongieuses.

3° De ces masses, les chromosomes de la première figure se forment au nombre de 10, 11 ou 12, les uns après les autres.

4° Il en résulte qu'au moment de la mise au fuseau tous les chromosomes sont à des stades différents d'évolution.

5° Ils conservent ces formes variées pendant toute la durée de la métaphase, pour aboutir à former à l'équateur de la première couronne polaire une couronne d'**U** réguliers.

6° Il en résulte que la division des chromosomes à l'équateur peut être longitudinale ou transversale, suivant la forme qu'ils avaient au début de la cinèse.

7° L'anaphase se produit synchroniquement et les chromosomes-filles sont de configuration uniforme.

8° Les chromosomes restés dans l'œuf se fusionnent en une seule masse; ce phénomène est normal.

9° Les chromosomes subissent à l'équateur de la seconde figure une division longitudinale et restent pendant longtemps divisés dans le plan équatorial.

10° La vésicule germinative disparaît en donnant naissance à des grandes figures irradiantes.

11° Un endroit spécial du noyau se différencie pour donner le premier fuseau avec ses asters.

12° Il n'y a ni sphères attractives ni centrosomes dans les cinèses polaires.

13° Les asters sont des formations passagères, qui disparaissent avant l'anaphase.

14° Les globules polaires sont de véritables cellules; il est possible qu'un seul soit expulsé.

15° L'œuf est une cellule dont la division totale a été retardée par une alimentation continue, jusqu'à une période critique qui est la maturation.

16° Cette alimentation continue a provoqué un accroissement ininterrompu, au moyen de processus d'assimilation et de désassimilation dont le noyau a été le siège principal.

17° Ces processus s'accompagnent de phénomènes en tous points assimilables à la cinèse. On peut donc considérer l'œuf des batraciens comme un syncytium contenant un grand nombre de petits noyaux, les nucléoles.

18° L'état critique de la maturation est consécutif à une période de jeûne, de semi-asphyxie et de déshydratation du cytoplasme.

19° Cette période est le commencement d'un retour de l'œuf vers l'état embryonnaire, qui se manifeste par la possibilité de cinèses complètes et la production des cinèses sexuelles.

20° Ces cinèses sont inégales dans l'œuf en raison de la trop grande abondance des produits de désassimilation.

21° Pendant la maturation et la segmentation, tout accroissement est suspendu.

22° L'œuf mûr est une cellule affamée qui lutte contre la mort; le spermatozoïde est une cellule affamée qui cherche un aliment.

23° Le spermatozoïde porteur des caractères paternels intervient activement dans la segmentation pour permettre à l'œuf une division totale, changer le rythme de la nutrition de celui-ci et lui permettre d'utiliser ses produits de désassimilation.

24° La réduction numérique des chromosomes est peut-être provoquée par l'état critique de l'œuf pendant la maturation.

BIBLIOGRAPHIE.

- 1883 *Bambecke (van)* : Contribution à l'histoire de la constitution de l'œuf.
I. Rapport médiateur de la vésicule germinative avec la
périphérie du vitellus; Archives de Biologie, IV.
- 1901 *Bataillon, E.* : La pression osmotique et les grands problèmes de la
biologie; Arch. f. Entwickl. der Organismen, Bd. 11,
Heft 1.
- 1901 » : Étude expérimentale sur l'évolution des batraciens;
Arch. f. Entwickl. der Organismen, Band 12, Heft 4.
- 1894 *Born* : Die Structur des Keimbläschens in Ovarialei von *Triton
taeniatus*; Arch. f. micr. Anat., Bd. XLIII.
- 1900 *Bouin, P.* : Étude sur les variations du processus mitotique;
XIII^e Congrès international de médecine, Paris.
- 1901 *Bouin, P. et Collin, R.* : Mitoses spermatogénétiques chez *Geophilus linearis*;
Anat. Anzeiger.
- 1897 *Boveri* : Zellenstudien; Jenaisch. Zeitschr., Heft 1.
- 1901 » : Zellenstudien; Jenaisch. Zeitschr.
- 1885 *Carnoy, J. B.* : La cytodierèse chez les arthropodes; La Cellule,
t. 1, fasc. 2.
- 1897 *Carnoy, J. B. et Lebrun, H.* : La vésicule germinative et les globules polaires chez
les batraciens (Salamandre et Pleurodèle); La Cel-
lule, t. XII, fasc. 2.
- 1897 » : La fécondation chez *Ascaris megaloccephala*; La Cellule,
t. XIII, fasc. 2.
- 1898 » : La vésicule germinative et les globules polaires chez
les batraciens (Axolotl et Triton); La Cellule, t. XIV,
fasc. 1.
- 1899 » : Les globules polaires des urodèles (*Triton taeniatus*,
alpestris, *cristatus*); La Cellule, t. XVI, fasc. 2.
- 1900 » : La vésicule germinative chez les batraciens (Anoures);
La Cellule, t. XVII, fasc. 2.
- 1901 *Conklin, Edw.* : The individuality of the germ nuclei during the clea-
vage of the egg of *Crepidula*; Biological Bulletin,
vol. II.

- 1892 *Driesch, H.* : Die Verminderung des Furchungsmaterial und ihre Folgen; Arch. Entwickl. Mech.
- 1896 » : Betrachtungen über die Organisation des Eies und ihre Genese; Ebenda.
- 1900 *Eisen, G.* : The spermatogenesis of *Batrachoseps*; Journ. of Morphology, vol. XVII.
- 1893 *Fick, R.* : Ueber die Reifung und Befruchtung des Axolotleies; Leipzig.
- 1899 » : Mitteilungen über die Reifung bei Amphibien; Verhandl. der anatom. Gesellsch.
- 1898 *Fürst, Ed.* : Ueber Centrosomen bei *Ascaris megalocéphala*; Arch. f. microsc. Anat., Band 52.
- 1898 *Gardiner, Edw.* : The grow of the ovum. Formation of the polar bodies etc. in *Polycharus caulatus*; Journ. of Morph., XV.
- 1901 *Gérard, Oct.* : L'ovocyte de premier ordre de *Prostheceraus vittatus*; La Cellule, t. XVIII.
- 1890-94 *Gilson, G.* : La soie et les appareils séricigènes; La Cellule, VI et X.
- 1899 *Grégoire, V.* : Les cinèses polliniques chez les liliacées; La Cellule, t. XVI.
- 1899 *Gregor, Mac* : The spermatogenesis in *Amphiuma*; Journal of Morphology, vol. XV.
- 1899 *Hertwig, R.* : Mit welchem Recht unterscheidet man geschlechtliche etc.; Sitzungsberichte der Gesellsch. f. Morphol. und Physiol. in München, Heft II.
- 1898 » : Kerntheilung, Richtungskörper, etc. von *Actinosphaerium*; Abh. K. Bay. Acad. Wissensch., XIX.
- 1900 *Herbst, C.* : Ueber das Auseinandergehen von Furchung und Gewebzellen, etc.; Mittheil. zool. Station Neapel, 9.
- 1882 *Iwakawa* : The genesis of the egg in Triton; Quaterly Journal, vol. XXII.
- 1901 *Janssens* : La spermatogénèse chez les tritons; La Cellule, t. XIX, 1.
- 1897 *Iwanzoff, N.* : Ueber die physiologische Bedeutung des Processes der Eireifung; Bull. Soc. Imp. des Natur. de Moscou, n° 3.
- 1901 *King, Helen Dean* : The maturation and fertilization of the egg of *Bufo lentiginosus*; Journal of Morphol., vol. XVII, 2.
- 1898 *Kulagin, N.* : Ueber die Frage der geschlechtlichen Vermehrung bei der Thieren; Zool. Anzeiger, XXI.
- 1891 *Lebrun, H.* : Recherches sur l'appareil génital femelle de quelques batraciens; La Cellule, VII.
- 1892 » : Les centrosomes dans l'œuf de l'*Ascaris megalocéphala*; Anat. Anzeiger, VII.
- 1901 » : Les globules polaires des anoues; La Cellule, XIX.

- 1898 *Lenssen, G.* : Contribution à l'étude du développement et de la maturation des œufs d'*Hydatina senta*; La Cellule, t. XIV.
- 1899 *Loeb, G.* : On the nature of the process of fertilization and the artificial production, etc.; Amer. Journal of Physiol.
- 1900 » : On the artificial production of normal larvæ; American Journal of Physiology.
- 1894 » : Ueber die Grenzen der Theilbarkeit der Eisubstanz; Pflüger's Archiv, 59.
- 1898 *Marchal, P.* : Un exemple de dissociation de l'œuf de l'*Encyrtus fuscicollis*, etc.; C. R. Soc. Biolog., 10.
- 1901 *Meves, Fred.* : Ueber die sog. wurmförmigen Samenfäden von *Paludina*, etc.; Verhand. der anatom. Gesellschaft, Bonn.
- 1891 *Maupas, M.* : Sur le déterminisme de la sexualité chez *Hydatina senta*; C. R. Acad. Paris.
- 1897 *Michaelis, M.* : Die Befruchtung des Tritoneies; Arch. microsc. Anatom., XLVIII.
- 1900 *Montgomery, Th.* : The spermatogenesis of *Peripatus*, etc.; Zool. Jahrb., Band 14, Heft 2.
- 1901 » : A study of the chromosomes of the germ cells.
- 1896 *Morgan* : The production of artificial astrosphæres; Arch. Entw.-M., III, 2.
- 1897 *Nussbaum, M.* : Die Entstehung des Geschlechts bei *Hydatina senta*.
- 1898 *Osterhout, J. V.* : Problems of heredity; The University Chronicle.
- 1901 *Schockaert* : L'ovogénèse chez *Thysanozoon Brocchi*; La Cellule, t. XVIII.
- 1887 *Schultze* : Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung, etc.; Arch. microsc. Anat.
- 1899 *Strasser, H.* : Regeneration und Entwicklung; Jena.
- 1900 *Wilson, Edm.* : The cell in development and inheritance.

EXPLICATION DES PLANCHES.

Les figures ont été dessinées à la chambre claire avec les grossissements suivants : AA ou l'object. apochromat. 1,30 de ZEISS, multiplié par les oculaires compensateurs 4, 6, 12.

Diemyctilus torosus.

PLANCHE I.

FIG. 1. Œuf ovarien. Ilot central d'un noyau avant la déhiscence; au centre, nucléoles ayant subi la résolution filamenteuse. Gross. : AA \times 4 comp.

FIG. 2. Même œuf que le précédent. Nucléoles en résolution. Gross. : 1,30 \times 12 comp.

FIG. 3. Œuf du même âge que le précédent. Les filaments provenant des nucléoles résolus subissent la désagrégation granuleuse. Gross. : AA. \times 4 comp.

FIG. 4. Un seul des filaments de la figure précédente subit la désagrégation granuleuse. Gross. : AA \times 12 comp.

FIG. 5. Noyau d'un œuf mûr quelques heures avant la déhiscence. Il est vacuoleux d'un côté; de l'autre côté, il s'est contracté et a expulsé une couche homogène d'enchylème hyalin. Gross. : AA \times 12.

FIG. 6. Même stade que le précédent; l'exsudat occupe toute la face supérieure du noyau. Gross. : AA \times 6.

FIG. 7. Même stade que le précédent; section du noyau perpendiculaire à l'axe; l'exsudat entoure le noyau de toutes parts. Gross. : AA \times 4.

FIG. 8. Même stade que le précédent; l'exsudat s'est accumulé sur le côté gauche du noyau. Gross. : AA \times comp.

FIG. 9. Même stade que le précédent; l'exsudat s'est accumulé à la face inférieure du noyau; il est déjà creusé de grandes lacunes. Gross. : AA \times 4 comp.

FIG. 10. Même stade que le précédent; l'exsudat est entièrement traversé et rempli de vacuoles et de lacunes remplies d'enchylème liquide. Gross. : AA \times 4 comp.

FIG. 11. Dans cet œuf, l'exsudat s'est entièrement détaché du noyau; il occupe le pôle inférieur de l'œuf; il est attaqué sur tout son pourtour par le cytoplasme ovulaire qui le digère. Le noyau diminué de volume est au pôle supérieur. Gross. : AA \times 4 comp.

FIG. 12. Un noyau d'un œuf, au même stade que les précédents, diminué de volume, très dense. L'exsudat a été résorbé. Gross. : AA \times 4 comp.

FIG. 13. Noyau et couche d'enchylème exsudé et coagulé, remplie de vacuoles et d'espaces lacunaires qui indiquent sa dissolution prochaine. Gross. : AA \times 12.

FIG. 14. Partie centrale d'un noyau vacuolisé; immédiatement avant la déhiscence, tous les nucléoles se sont résolus et dissous, sauf ceux qu'on aperçoit dans la figure. Gross. : 1,30 \times 6.

FIG. 15. Œuf tombé dans le péritoine. La membrane a disparu; le caryoplasme est vacuoleux dans la portion inférieure du noyau; la plage fusoriale est nettement dessinée et renferme les masses provenant des nucléoles qui ne se sont pas désagrégés. Gross. : 1,30 \times 4 comp.

PLANCHE II.

FIG. 16 A. Pôle supérieur d'un œuf trouvé dans le péritoine. La vésicule germinative est en train de disparaître; un petit îlot protoplasmique contient les derniers nucléoles. Gross. : AA \times 6 comp.

FIG. 16 B. Un segment de la figure précédente pris avec 1,30 \times 4. La plage fusoriale est nettement délimitée et rayonnante. Les chromosomes sont des blocs de formes variées.

FIG. 17. Œuf trouvé dans le péritoine. La plage fusoriale est rayonnante; les chromosomes ont déjà la forme qu'ils prendront pour se fixer au fuseau. En haut, à gauche, une boule de nucléine destinée à disparaître. Gross. : 1,30 \times 4 comp.

FIG. 18. Œuf ovarien. Masse de nucléine occupant le centre d'un noyau en train de disparaître. Gross. : 1,30 \times 12 comp.

FIG. 19. Œuf trouvé dans le péritoine. Trois masses spongieuses résultant de la fusion des nucléoles occupent le centre d'une belle figure irradiante. Gross. : 1,30 \times 4 comp.

FIG. 20 A. Œuf du péritoine. Fuseau en formation au centre d'une figure irradiante. Nucléine sous la forme de masses irrégulières. Gross. : 1,30 \times 12 comp.

FIG. 20 B. Œuf trouvé dans le péritoine. Ilot réticulé occupant le centre d'une figure irradiante; le fuseau n'est pas formé; les chromosomes sont en partie différenciés; une masse irrégulière compacte doit encore se diviser. Gross. : 1,30 \times 12 comp.

FIG. 20 C. Œuf trouvé dans le péritoine. Fuseau en formation dans l'îlot protoplasmique; *a, b, c, d, e, f*, chromosomes en voie d'évolution. Gross. : 1,30 × 12 comp.

FIG. 21. Œuf trouvé dans le péritoine. Fuseau coupé obliquement; tous les chromosomes qui se trouvaient sur deux coupes ont été dessinés. *a, b, c, d, e, f, i, j, k*, chromosomes en évolution. Gross. : 1,30 × 12 comp.

FIG. 22. Œuf du péritoine. Fuseau bien formé; 5 chromosomes seulement ont été dessinés. Îlot protoplasmique encore très grand. Gross. : 1,30 × 12 comp.

FIG. 23. Boule au milieu des enclaves. Gross. : 1,30 × 6.

FIG. 24. Œuf du péritoine. Première figure en plein épanouissement. Asters puissants. *a, b, c, d, e, f, g, h*, chromosomes évoluant vers l'équateur. Gross. : 1,30 × 12.

PLANCHE III.

FIG. 25 A et B. Œuf trouvé dans le péritoine. Fuseau coupé; les deux figures représentent tous les chromosomes situés sur le fuseau. Tout le caryoplasme est envahi par les granules de pigment et des enclaves de petite taille. Chromosomes évoluant vers la couronne équatoriale. Gross. : 1,30 × 12.

FIG. 26. Œuf trouvé dans la portion supérieure de l'oviducte; fuseau typique. Chromosomes presque tous arrivés à l'équateur. Enclaves volumineuses entourant le fuseau. Gross. : 1,30 × 12 comp.

FIG. 27. Œuf trouvé dans la portion inférieure de l'oviducte; fuseau typique. Chromosomes de formes variées; tous à l'équateur. Enclaves entourant la figure. Gross. : 1,30 × 12 comp.

FIG. 28. Œuf trouvé dans le péritoine. Fuseau petit n'ayant plus d'asters. Chromosomes distribués irrégulièrement sur le fuseau. Gross. : 1,30 × 12 comp.

FIG. 29. Œuf trouvé dans la portion inférieure de l'oviducte; fuseau typique. Chromosomes à divers degrés d'évolution. Gross. : 1,30 × 12 comp.

FIG. 30. Œuf trouvé dans la portion supérieure de l'oviducte. Chromosomes à l'équateur; formation de la couronne; asters disparus. Gross. : 1,30 × 12 comp.

FIG. 31. Œuf trouvé dans le péritoine. Couronne équatoriale vue de haut. La division des chromosomes s'indique sur plusieurs d'entre eux. Gross. : 1,30 × 12 comp.

FIG. 32. Œuf trouvé dans la portion inférieure de l'oviducte. Couronne équatoriale vue de haut. Division réalisée sur presque tous les chromosomes. Gross. : 1,30 × 12 comp.

FIG. 33. Couronne équatoriale typique provenant d'un œuf trouvé dans le péritoine. Gross. : 1,30 × 12 comp.

PLANCHE IV.

FIG. 34. Œuf trouvé dans la partie moyenne de l'oviducte. Première figure. Retour des chromosomes vers les pôles. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 35. Œuf trouvé dans l'oviducte. Couronnes polaires. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 36 Œuf de la portion moyenne de l'oviducte. Expulsion du premier globule polaire. Chromosomes fusionnés. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 37. Œuf de l'oviducte. Expulsion du premier globule polaire avec restes du fuseau. Chromosomes fusionnés. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 38. Œuf de la portion moyenne de l'oviducte. Globule polaire expulsé. Chromosomes fusionnés en une seule masse. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 39. Œuf de la portion inférieure de l'oviducte. Formation du second fuseau. Chromosomes éparpillés à tous les niveaux de la figure. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 40. Œuf de la portion inférieure de l'oviducte. Fuseau régulier. Chromosomes se rapprochant de l'équateur. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 41. Œuf de la portion inférieure de l'oviducte. Seconde couronne équatoriale vue de haut. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 42. Œuf de la portion inférieure de l'oviducte. Même stade que le précédent. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 43. Œuf de la portion inférieure de l'oviducte. Seconde figure. Couronne équatoriale vue de face avec groupes de 2 chromosomes. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 44. Œuf de la portion inférieure de l'oviducte. Groupes de 2 à l'équateur d'une seconde figure. Un globule expulsé. Gross. : 1,30 X 12 comp.

FIG. 45. Seconde figure avec groupes de 2. Chromosomes qui montrent les granules élémentaires. Chromosomes ondulés. Gross. : 1,30 X 12 comp.

TABLE DES MATIÈRES.



Introduction	9
Méthodes	10

OBSERVATIONS PERSONNELLES.

État de l'ovaire	14
État de l'œuf	14
Disparition de la vésicule germinative	19
Élaboration des éléments de la figure	28
Élément nucléinien	28
Le fuseau	34
Ovocyte de premier ordre	35
Évolution du fuseau	36
Évolution des chromosomes	38
Mise au fuseau	38
Métaphase	39
1 ^o Chromosomes compacts	40
2 ^o Chromosomes en anneaux	41
3 ^o Chromosomes coudés deux fois	42
4 ^o Chromosomes entortillés	42
5 ^o Chromosomes coudés une seule fois	43
Couronne équatoriale	43
Dislocation de la couronne équatoriale	44
Anaphase	48
Élément nucléinien	48
Le fuseau	49
Globule polaire	50
Ovocyte de second ordre	51
Élément nucléinien	51
Le fuseau	54
Critique des auteurs	55
Maturation	59
1 ^o Influence de l'alimentation sur le moment de la maturation	63
2 ^o Action de l'alimentation sur la morphologie de l'élément nucléinien	70
Fécondation.	79
Individualité des pronucléi	82
Centrosomes	84
Conclusions	88
Bibliographie	91
Explication des planches	95

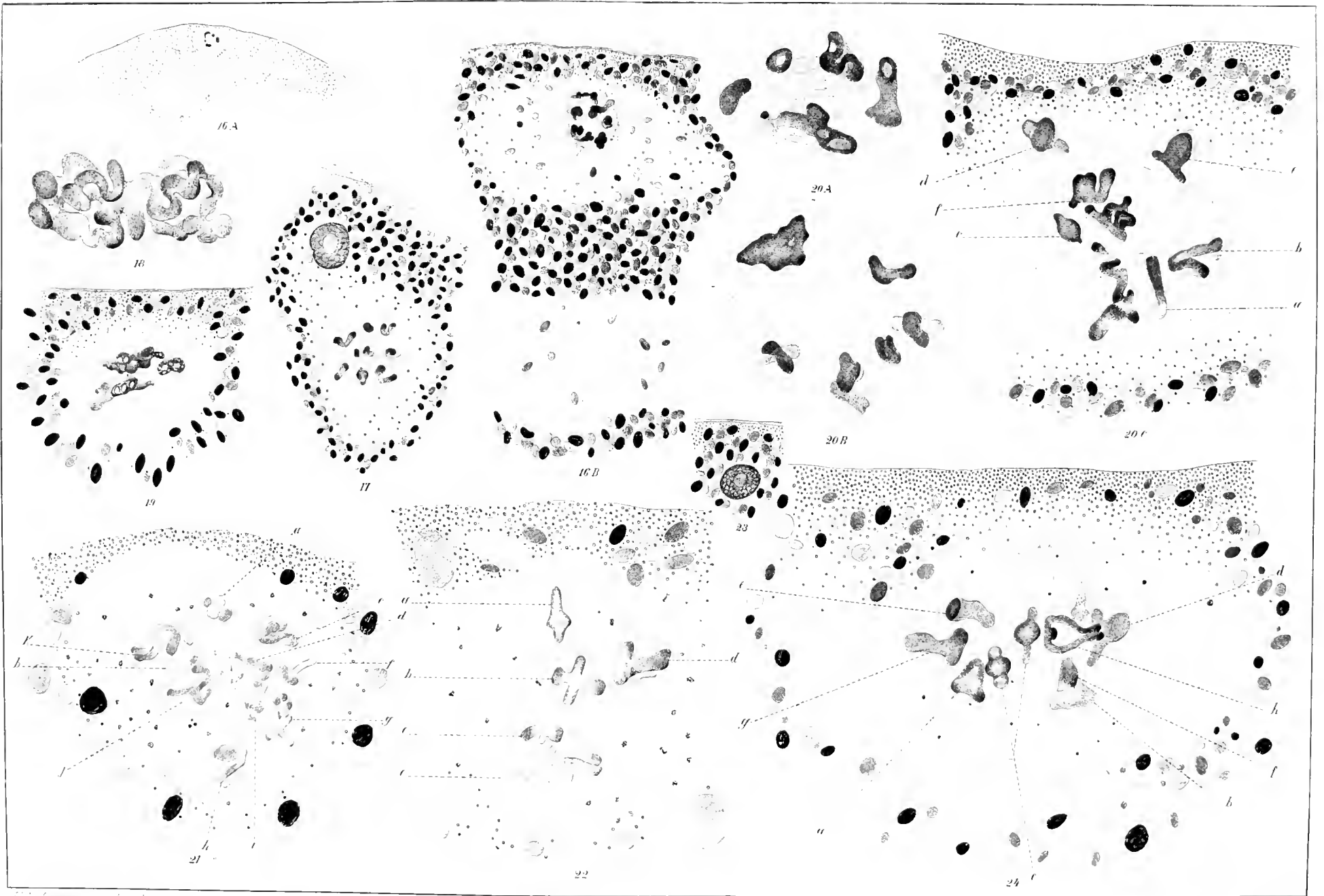
Diomyctilus borealis.

Planche I



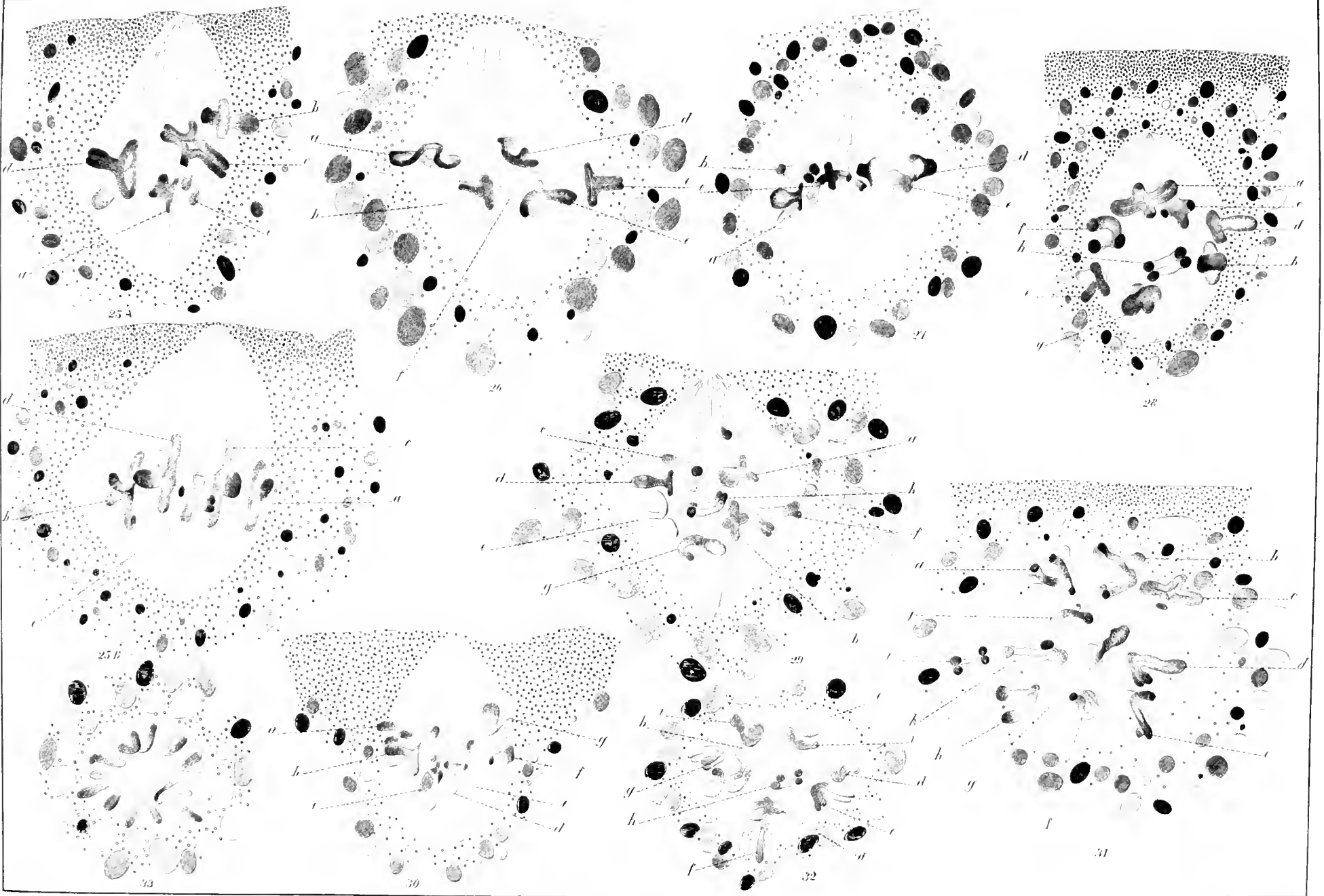
Diomyctilus leucostus

Plaque II.



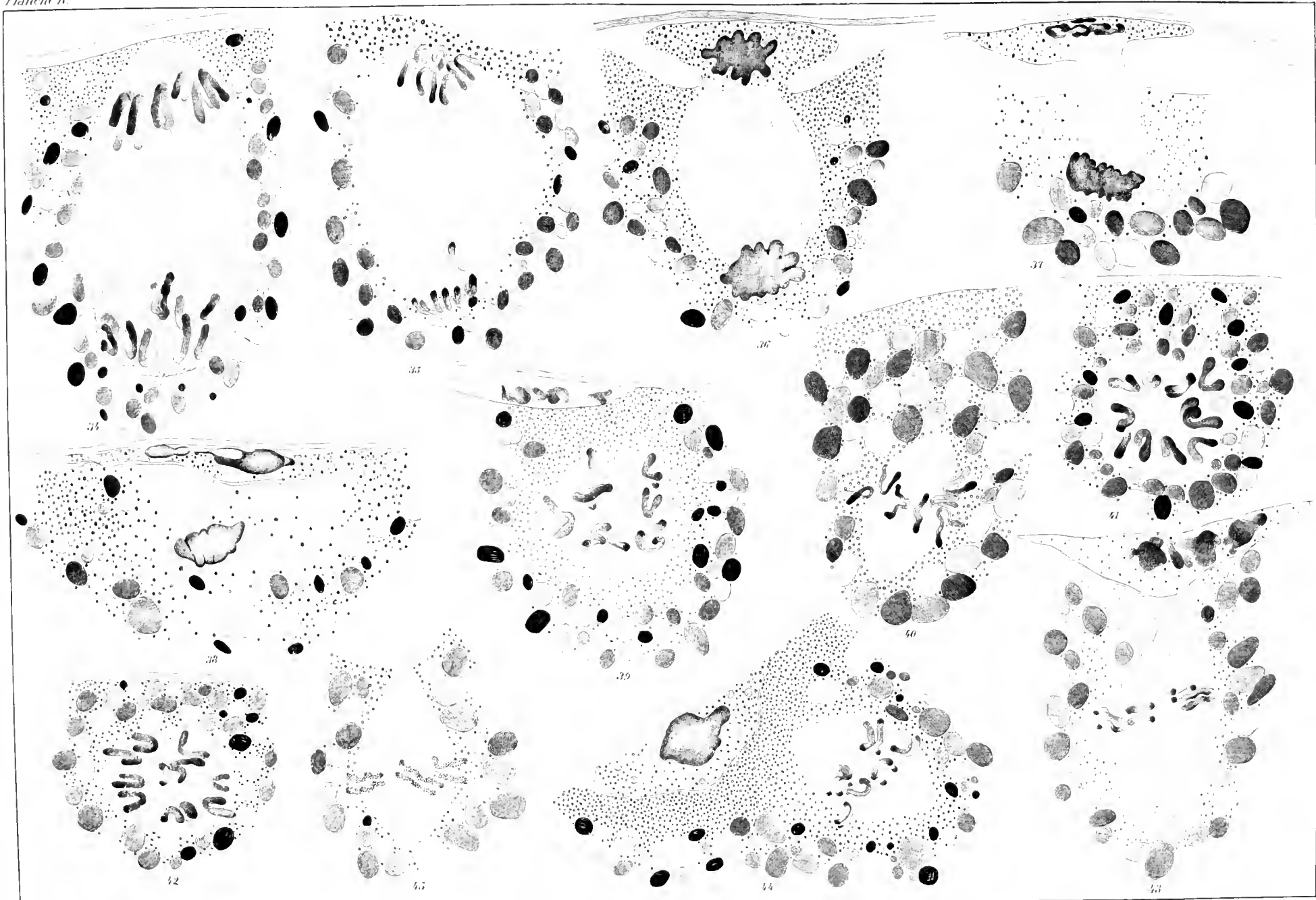
Diemyscelitus terosus.

Plaque III



Dinomytilus borealis.

Planche II.



L' O V O G É N È S E

CHEZ LE

THYSANOZON BROCCHI

(DEUXIÈME PARTIE)

PAR

Rufin SCHOCKAERT

ASSISTANT A L'INSTITUT CARNOY A LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 20 avril 1962.)

L'Ovogénèse chez le *Thysanozoon brocchi*

(DEUXIÈME PARTIE)

INTRODUCTION.

Dans notre travail de 1901 sur *l'Ovogénèse du Thysanozoon brocchi*, nous avons étudié la maturation à partir des ovocytes les plus jeunes jusqu'à la formation du premier fuseau de direction inclusivement. Nous nous étions réservé, pour un mémoire ultérieur, l'étude de l'expulsion des globules polaires et de la première segmentation. Comme premier complément de ce travail, nous offrons aujourd'hui au lecteur le fruit de nos recherches sur l'expulsion des globules polaires et sur la réduction.

Il n'entre pas dans le cadre de la présente publication de citer et de discuter les diverses opinions émises à ce sujet : nous nous bornerons à celles des auteurs qui ont étudié les planaires; nous ne recourons aux idées d'autres auteurs que dans le cas où elles seraient de nature à éclairer la question dans l'objet qui nous occupe.

Les auteurs qui, les premiers, ont étudié les cinèses de maturation de l'ovocyte chez les planaires, VON KLINCKOWSTRÖM, FRANCOU et VAN DER STRICHT, sont d'accord pour admettre une division réductionnelle, qu'ils placent à la seconde cinèse. HÆCKER, dans son compte rendu de 1899 (p. 167), cite, comme un fait d'une importance capitale, cette concordance parfaite de trois auteurs qui, tout en étudiant indépendamment l'un de l'autre, sont arrivés au même résultat.

Une lecture attentive de leurs travaux montre cependant que l'accord n'est que dans les conclusions : les raisons alléguées à l'appui de leur thèse paraissent, à des degrés variables, insuffisantes pour entraîner une conviction. C'est d'ailleurs, comme nous le verrons plus tard, l'opinion de VAN NAME, qui a repris, dans la suite, le même sujet.

Résumons brièvement leurs observations.

VON KLINCKOWSTRÖM (97) décrit, dans l'ovocyte non pondue du *Prostheceræus vittatus*, deux espèces de chromosomes : les uns ont la forme d'un bâtonnet irrégulier, présentant une fente longitudinale qui leur donne l'aspect d'un anneau étiré et à branches épaisses; les autres ont la forme d'un poignard. Dans les œufs pondus, on retrouve ces anneaux et ces - dolchförmige Gebilde -, ainsi que des bâtonnets, en forme de crochet ou de lancette, dérivant des premiers. La première cinèse sépare, dans les bâtonnets en forme de crochet ou de lancette, deux moitiés d'aspect absolument semblable. L'auteur en conclut qu'elle est longitudinale ou équationnelle.

À la seconde figure, on trouve des chromosomes en forme de bâtonnets courts et minces et des chromosomes quadrangulaires ou cruciformes. La deuxième division doit être réductionnelle ou transversale, parce que les segments restés dans l'œuf se transforment immédiatement, après cette division, en pronucleus femelle. L'auteur n'en donne pas d'autre preuve. Il semble donc admettre a priori une division transversale.

Dans ses mémoires bien connus de 96 et 98, le professeur FRANCOTTE décrit dans l'ovocyte de plusieurs polyclades un filament moniliforme qui donne naissance à des anneaux chromatophiles. En 96, comme l'a fait remarquer VAN DER STRICHT (97, p. 383), il n'a pas donné des détails précis sur la genèse de ces anneaux. En 98, il a été plus explicatif. Les anneaux dérivent du fendillement longitudinal des tronçons chromatophiles issus de la segmentation du filament moniliforme. Par suite de l'écartement de ces branches, ils subissent diverses modifications, qui donnent naissance à des formes multiples de chromosomes, semblables aux groupes quaternes de VOM RATH (95). En s'appuyant sur les travaux de VOM RATH et aussi sur - les raisonnements que VON KLINCKOWSTRÖM a formulés pour le *Prostheceræus vittatus* -, FRANCOTTE admet que la première division est équationnelle ou longitudinale, et la seconde réductionnelle ou transversale, bien qu'il n'ait pas suivi le sort des chromosomes pendant le passage de la première figure à la seconde.

Nous ne voulons pas nous étendre longuement sur les points faibles des observations de VON KLINCKOWSTRÖM et de FRANCOTTE, ni sur le caractère incertain et douteux de leurs conclusions. Il ressort assez clairement du court exposé qui précède que celles-ci ne reposent pas sur des faits probants observés dans les objets mêmes de leurs recherches, mais uniquement sur des ressemblances avec d'autres observations, qui sont d'ailleurs discutées elles-mêmes; en outre, l'étude détaillée que nous ferons plus loin de la réduction chez le *Thysanozoon* mettra mieux en relief les divers points qui

n'ont pas été suffisamment élucidés par les auteurs en question. Nous nous bornerons à citer ici l'appréciation que d'autres auteurs ont formulée au sujet de ces travaux.

VAN DER STRICHT (97, p. 432), après avoir reproduit l'opinion de VON KLINCKOWSTRÖM touchant la réduction, ajoute : - Toutefois l'auteur n'a point démontré cette thèse et des doutes semblent persister dans ses conclusions. - D'après le même auteur, ce n'est qu'en se fondant sur les travaux de VOM RATH que FRANCOTTE est arrivé à des conclusions analogues.

VAN NAME (99, p. 286) dénie même explicitement toute valeur probante aux observations de FRANCOTTE et de VON KLINCKOWSTRÖM. Parlant de la soi-disant division transversale des chromosomes de la seconde figure, il ajoute : - Neither KLINCKOWSTRÖM or FRANCOTTE give any evidence in support of this conclusion, upon which, nevertheless they base their schemes of the distribution of the chromatin in the egg and the polar bodies. -

Il est donc hors de doute que ces auteurs n'ont pas apporté de solution au problème de la réduction : leurs recherches ne peuvent servir de base à aucune conclusion définitive.

VAN DER STRICHT (97) a fait une étude plus détaillée de la genèse et de l'évolution des chromosomes dans les cinèses de maturation. Il part de bâtonnets indivis, issus de la segmentation du filament nucléinien épaissi et devenu homogène. Ces bâtonnets se fendillent longitudinalement en formant des anneaux primaires, et la première division sépare les deux moitiés longitudinales de ces anneaux primaires modifiés : elle est donc longitudinale. L'auteur a ensuite rattaché les formes des bâtonnets de la seconde figure à celles des bâtonnets de la première. A la première anaphase, les moitiés longitudinales des anneaux primaires ont la forme d'une anse ou d'un **V**, dont les deux branches sont parfois accolées. Elles se retrouvent comme telles à la seconde figure et y subissent une division à leur angle : celle-ci est donc transversale.

Bien que VAN DER STRICHT ait donné de la réduction des explications plus complètes que celles de ses devanciers, nous croyons utile, tout en nous réservant de discuter ses observations à la lumière de nos propres recherches, de faire dès maintenant quelques remarques à leur sujet, pour mettre mieux en relief l'état de la question.

¹⁰ VAN DER STRICHT ne figure pas le stade de filament nucléinien épais et homogène précédant l'individualisation des neuf chromosomes. Or, nos propres observations nous ont montré que cette étape de l'évolution du

filament nucléinien a une importance capitale dans le phénomène de la réduction. La valeur des deux moitiés des chromosomes de la première figure en dépend tout entière.

2° L'auteur décrit, dans la première couronne équatoriale, une forme de bâtonnet différente de la forme habituelle. Les deux moitiés longitudinales des anneaux primaires, au lieu de former un anneau secondaire, ne restent unies que par une de leurs extrémités; les deux portions divergentes sont dirigées vers les pôles de la figure. Cette forme de bâtonnet ne peut rentrer dans le schéma de l'auteur. En effet, pour pouvoir se diviser transversalement à la dernière figure, les deux moitiés de ces segments bipartites devraient subir une inflexion de façon à former une anse en forme de **V**. Or, l'auteur ne parle ni d'un recourbement, ni de la division, à la seconde figure, de cette forme de bâtonnet. C'est là une lacune qui, vu la fréquence de la forme de bâtonnet en question, mérite d'être signalée.

3° Tout le raisonnement de l'auteur pour prouver le sens transversal de la dernière division repose sur l'existence exclusive, lors du premier retour polaire, de **V** ou d'anses simples, qui doivent se couper à leur angle à la seconde cinèse. Or, comme nous le verrons plus tard, nos figures nous ont montré à la première anaphase d'autres formes qui ne rentrent pas dans son schéma. Nos explications, d'après lesquelles la dernière division est une division longitudinale, vont rendre compte de nos propres figures et en même temps de celles de VAN DER STRICHT.

Quant à VAN NAME (99), qui plus récemment a étudié la maturation chez deux autres planaires, il n'a pu tirer de ses recherches des conclusions *sûres* au point de vue de la réduction. D'après ses propres paroles, il n'a pu que soupçonner, dans la première figure, l'axe longitudinal des masses arrondies et ovalaires, dans lesquelles se sont contractés les chromosomes (p. 278); dans la seconde, il n'a pu rattacher le sens apparemment transversal de la deuxième division des chromosomes à une division antérieure (p. 285).

Des quelques considérations qui précèdent, il ressort clairement que la question de la réduction n'a pas reçu de solution péremptoire dans les planaires.

Les recherches de nos devanciers, tout en aboutissant à des conclusions concordantes, ont manifestement été incomplètes et ne paraissent pas les établir sur des arguments décisifs.

Aussi une nouvelle contribution à l'étude de la réduction ne sera pas inutile : elle complètera les travaux des auteurs cités et en comblera les lacunes. Bien que souvent nous soyons en désaccord complet avec des observateurs distingués, nous ne craignons pas d'exposer nos opinions, convaincu que tout effort tenté dans le but d'apporter quelque lumière à une question aussi obscure que celle de la réduction peut revendiquer un certain mérite, qui, pour n'être pas aussi brillant que celui des grandes théories, n'en est pas moins réel.

Nous diviserons notre travail en trois parties.

La première comprendra l'évolution du filament nucléinien depuis les ovogonies jusqu'à la formation des chromosomes inclusivement. Nous avons jugé utile de répéter, au moins en partie, ce que nous avons déjà exposé dans notre premier travail, dans le but de réunir en un tout complet l'histoire entière du filament nucléinien. Cette étude est absolument nécessaire pour élucider la valeur des chromosomes, en nous permettant de les rattacher à une forme antérieure de l'élément nucléinien.

La deuxième et la troisième partie comprendront l'étude de la division des chromosomes dans les deux cinèses de maturation, ainsi que l'expulsion des globules polaires.

Méthodes. Voir notre premier travail.

CHAPITRE I.

Histoire de l'élément nucléinien jusqu'à la formation des chromosomes inclusivement.

ART. I. *Anses ovogoniales.*

Pour faire une étude approfondie de l'élément nucléinien de l'ovocyte, il serait indispensable de connaître l'histoire des ovogonies à leur dernière division. Cette connaissance fournirait peut-être des données très importantes au point de vue de l'étude de la réduction. Malheureusement, nous n'avons pas observé les divisions ovogoniales. Malgré les recherches les plus minutieuses, nous n'avons pu découvrir des figures cinétiques dans les massifs des éléments les plus jeunes, qui constituent le point de départ et l'origine des ovocytes. Dans ces massifs, on observe trois sortes de noyaux, d'aspect et de volume bien différents et se suivant dans une succession parallèle à l'étape de leur évolution. Les noyaux les plus petits sont semblables aux cellules folliculaires que nous avons décrites dans notre mémoire de 1901 : ils sont dépourvus d'un nucléole et renferment un filament nucléinien granuleux et mince. A côté de ces noyaux, on en trouve d'autres qui sont un peu plus grands que les premiers ; ils renferment un filament nucléinien assez épais, non granuleux et pelotonné sur lui-même d'une façon si serrée que l'étude en semble impossible. Nous n'avons pas figuré ces deux sortes de noyaux et d'ailleurs nous ne nous en occuperons pas. Ce qui nous intéresse le plus, ce sont les noyaux qui suivent les premiers : ils ont un aspect tout différent, FIG. 42, PL. IV, et se trouvent immédiatement au-devant des jeunes ovocytes à forme caractéristique, FIG. 44. Les cellules qui les renferment semblent donc se transformer directement en ovocytes ou plutôt constituent la première forme de l'ovocyte après la dernière division des ovogonies, qui probablement a eu lieu à une époque antérieure à la date de la fixation de nos matériaux. Ce sont ces noyaux que nous prendrons comme point de départ de notre étude sur l'élément nucléinien de l'ovocyte chez le *Thysanozoon*.

La FIG. 42, *a* et *b*, PL. IV, représente deux de ces noyaux. Nous y voyons diverses anses nucléiniennes de longueur très variable. Les unes

décrivent une courbe contournant presque tout le pourtour du noyau; d'autres, au contraire, ne décrivent qu'une courbe très petite. Leurs extrémités sont toutes dirigées vers un pôle du noyau. Dans certaines coupes, on trouve, à la périphérie du noyau, un bâtonnet chromatophile aplati, *x*, à extrémités effilées, qui se continuent avec le pourtour du noyau, *a* et *c*.

Lorsque, dans les ovocytes très jeunes qui suivent immédiatement cette forme de noyau, nous avons découvert notre filament lisse (1900-1901), nous avons porté toute notre attention sur le bâtonnet *x* en question : nous croyions que peut-être l'on pourrait y trouver l'origine de l'élément nouveau que nous venions d'observer. Néanmoins, nos recherches ont été vaines : nous n'avons pu en découvrir la signification ni la destinée : aussi nous ne nous en occuperons pas davantage.

Nous croyons que les anses nucléiniennes dont nous venons de parler, FIG. 42, dérivent de la dernière division des ovogonies : aussi, nous les avons qualifiées du nom d'*anses ovogoniales*. Dans les préparations peu décolorées, ces anses semblent pleines, à structure non granuleuse; elles présentent alors l'aspect des tronçons de la FIG. 39, *a*, de notre premier mémoire et de la FIG. 1, *a*, de VAN DER STRICHT; dans les meilleures préparations, au contraire, elles paraissent constituées d'une double rangée de granules fortement tassés les uns contre les autres, FIG. 42, *a* et *b*.

Il serait intéressant de connaître le nombre de ces anses ovogoniales : la question de la réduction pourrait y trouver un élément de solution.

VAN DER STRICHT dit, pour citer ses propres paroles, qu'il n'est pas arrivé à compter le nombre des chromosomes propres aux cellules-filles résultant de la dernière division des ovogonies (p. 379).

Nous ne savons pas si le professeur de Gand a observé cette division, mais la première étape ovulaire qu'il représente dans sa fig. 1, *a*, où « un ovule (*a*) est au stade de la mitose (spirem-fille) », semble correspondre à celle représentée par notre FIG. 42. Or, nous avons examiné très attentivement ces sortes de figures et, dans ces derniers temps, nous avons pu y compter deux fois neuf anses ovogoniales; toutefois, le plus souvent, nous n'en avons trouvé que six, sept ou huit. Le nombre des anses dans tel ou tel noyau peut naturellement varier suivant que le rasoir a enlevé une ou plusieurs anses. Toujours est-il que ce nombre se rapproche de neuf et ne le dépasse jamais. Nous pouvons donc admettre que les anses sont au nombre de neuf. Toutefois, nous n'avons pu figurer toutes les anses ovogoniales d'un même noyau, pour ne pas compliquer le dessin.

Nous pouvons rapprocher nos FIG. 42, *a* et *b*, de la fig. 63 de MONTGOMERY (1900), où l'auteur américain représente deux futurs spermatocytes de *Peripatus*. On y voit des anses semblables aux nôtres : elles sont formées, pense l'auteur, par la soudure des chromosomes deux à deux, lors de l'anaphase de la dernière division spermatogonale, fig. 63.

D'autre part, VAN DER STRICHT a observé, dans les spermatogonies du *Thysanozoon*, le nombre normal de chromosomes des cellules somatiques, c'est-à-dire dix-huit. Nous pouvons en conclure que les ovogonies en renferment également dix-huit. Dès lors, si notre FIG. 42 représente bien la télophase d'une dernière division ovogonale, il faudrait admettre, à l'exemple de MONTGOMERY, que les neuf anses qui s'y observent proviennent de la soudure deux à deux des chromosomes ovogoniaux.

Nos FIG. 42, *a* et *b*, font aussi songer aux fig. 32 et 34 de JANSSENS (1901), qui représentent le stade du « bouquet parfait » dans les auxocytes.

Toutes les anses y sont également tournées vers un pôle et elles sont de même en nombre réduit par rapport au nombre normal des bâtonnets des cellules somatiques.

En outre, elles sont réunies par leurs bouts libres, particularité que nous avons observée assez souvent nous-même chez le *Thysanozoon* pour quelques-unes de ces anses, FIG. 42, *a*, *o*.

Il y a toutefois une différence notable entre les figures de JANSSENS et les nôtres. Le stade du « bouquet parfait » chez le *Triton* a été, en effet, précédé d'un stade de synapsis, pendant lequel l'élément nucléinien a formé un magma indéchiffrable (voir aussi JANSSENS 1902, p. 133.)

Nous sommes plutôt porté à admettre, par analogie avec les figures de MONTGOMERY, que nos FIG. 42, *a* et *b*, représentent bien la télophase de la dernière division ovogonale, où les anses nucléiniennes résultent directement de la soudure, à un bout et parfois aux deux bouts, des chromosomes ovogoniaux.

ART. II. Désagrégation des anses ovogoniales et accroissement de l'orocyte.

Au stade des anses ovogoniales à extrémités recourbées vers un pôle du noyau, FIG. 42, *a* et *b*, en succède un autre, qui est caractérisé par la dislocation de l'espèce de bouquet formé par les anses, FIG. 42, *c*. Celles-ci se sont dégagées les unes des autres et sont éparpillées d'une façon irrégulière dans toute l'aire du noyau. La structure granuleuse et l'indice de la division longitudinale des anses ovogoniales persistent encore.

Dans notre travail précédent, nous nous sommes demandé quelle signification il fallait attribuer à cette espèce de dédoublement des anses nucléiniennes primitives. Nous avons émis à ce sujet deux hypothèses : ou bien, cette division serait le début de la division longitudinale que montrera plus tard le filament nucléinien ou les chromosomes avant l'expulsion du premier globule polaire (*) [RÜCKERT (93), GRIFFIN (99)]; ou bien elle n'a aucun rapport avec une division primaire ou secondaire des bâtonnets des deux fuseaux de direction [HÆCKER (92)]. Nous avons cru pouvoir écarter la première hypothèse. En effet, les anses ovogoniales ne persistent pas comme telles pour constituer les chromosomes de la première figure; elles ne se partagent pas non plus en deux filaments-sœurs, qui constitueraient chacun une portion du filament nucléinien, origine immédiate des chromosomes, mais elles se désagrègent, d'une façon difficile à démêler, en un nombre indéterminé de tronçons et d'amas nucléiniens, où il n'y a plus de trace d'une division longitudinale. Elles subissent un remaniement total, pendant et après lequel on ne peut déceler aucune relation de forme et de structure de l'élément nucléinien entre le début et la fin de l'accroissement de l'ovocyte. Cette assertion découle naturellement de la comparaison des FIG. 42, *a*, *b*, *c*, d'une part, et des FIG. 43, *a* et *b*, d'autre part. Ces figures sont voisines les unes des autres dans un même massif d'ovocytes et la transformation des premières pour acquérir la forme des secondes semble se faire sans aucun stade intermédiaire. La FIG. 43, *b*, présente encore une formation, *x*, très semblable au filament *x* des FIG. 42, *a* et *c*, ce qui, d'après nous, constitue une preuve du passage direct de ces dernières aux FIG. 43, *a* et *b*.

MONTGOMERY (1900, 1901) défend dans la spermatogénèse une opinion tout opposée à la nôtre au sujet des anses nucléiniennes primitives. D'après lui, les anses spermatogoniales persistent comme telles dans les spermatozytes et gardent toute leur individualité. D'après nous, au contraire, les anses ovogoniales se désagrègent et se défont totalement, de sorte que, entre ces anses et le filament nucléinien granuleux qui s'en dégage, on ne peut plus découvrir la moindre liaison de forme.

La remarque qui précède nous fait toucher un des points les plus importants de la réduction, que nous voulons indiquer en passant. D'après MONTGOMERY, la réduction de nombre se fait lors du passage de la sperma-

(*) A cette époque, nous croyions, en nous fondant sur l'opinion de VAN DER STRICHT, que les deux moitiés des chromosomes de la première figure étaient dues à la division longitudinale d'un chromosome primitivement simple. Aujourd'hui, comme nous le dirons plus loin, nous n'admettons plus cette opinion.

togonie au spermatocyte par suite de la soudure bout à bout de deux chromosomes spermatogoniaux qui gardent leur individualité : les chromosomes des spermatocytes sont par conséquent bivalents. La première division sexuelle, qui séparera l'une de l'autre les deux portions des chromosomes bivalents, effectuera la réduction de nombre qui n'était qu'apparente à la prophase de cette division.

Nos FIG. 42, *a* et *b*, ressemblent beaucoup aux figures que MONTGOMERY prend comme base de son interprétation de la réduction; nos anses ovogoniales ont le même aspect que les anses spermatogoniales de MONTGOMERY. Toutefois, nous n'avons pas les éléments nécessaires pour trancher la question dans le sens de MONTGOMERY. D'une part, n'ayant pas observé les divisions ovogoniales, nous ne connaissons pas la relation qui existerait entre les chromosomes ovogoniaux et les anses ovogoniales des ovocytes. Ce n'est que par analogie que nous pouvons admettre la soudure bout à bout des chromosomes ovogoniaux pour former les anses ovogoniales. D'autre part, nous ne croyons pas, d'après ce que nous avons dit antérieurement, que les anses ovogoniales persistent comme telles et individualisées pour former plus tard les chromosomes. Aussi, nous hésitons à voir dans la soudure des chromosomes ovogoniaux le mécanisme de la réduction décrit par MONTGOMERY, puisque nous ne voyons aucune relation entre la forme des anses ovogoniales et celle du filament nucléinien et des chromosomes auxquels il donne naissance.

Après cette courte digression, revenons en à l'étude de l'accroissement de l'ovocyte.

Parmi les amas irréguliers de nucléine issus de la désagrégation des anses ovogoniales, on en trouve habituellement un qui se distingue des autres par un volume plus grand, FIG. 43, *b*. Nous l'avons appelé *amas nucléolaire*, parce qu'il va bientôt constituer le nucléole caractéristique des jeunes ovocytes (p. 48 de notre premier mémoire).

Nous ne saurions décider si, à ce moment, FIG. 43, *a* et *b*, il y a dans le noyau une *charpente chromatophile* disposée sous forme de réticulum. Nous y voyons déjà, il est vrai, des travées de granules juxtaposés, que l'on peut poursuivre sur une certaine longueur, ce qui pourrait faire croire à l'existence de plusieurs filaments isolés; mais d'autre part, il est difficile de dire si, à l'endroit où deux filaments se croisent, il y a anastomose ou simple superposition. Le dessin peut difficilement rendre l'aspect que présente l'élément nucléinien à ce stade, mais nous avons reçu l'impression qu'il n'y a pas de véritable *réseau chromatophile*.

A mesure que les amas et les tronçons nucléiniens issus de la dislocation et de la désagrégation des anses ovogoniales diminuent en nombre et en volume, il se dégage nettement dans le noyau ovulaire un fin filament nucléinien, formé de granules ou de disques plus ou moins réguliers, FIG. 44. Ce filament semble donc se constituer par la juxtaposition des granules qui dérivent d'une désagrégation complète des tronçons et amas nucléiniens plus compacts, issus eux-mêmes de la désagrégation des anses ovogoniales. Comme VAN DER STRICHT l'a déjà fait remarquer, on trouve à ce moment dans le noyau de nombreux granules isolés : ceux-ci sont surtout abondants à la périphérie de la vésicule germinative et quelques-uns dépassent même la membrane nucléaire et s'engagent dans le protoplasme, où ils concourent à l'élaboration du vitellus nutritif (*).

Le noyau perd de la sorte une partie notable de la nucléine qu'il a obtenue lors de la dernière division des ovogonies. Comme nous l'avons déjà signalé (p. 43 de notre premier mémoire), on a voulu attribuer à cet exode de nucléine un rôle important dans le phénomène de la réduction numérique des chromosomes dans les cinèses ovulaires. On l'a même désigné sous le nom de réduction caryogamique [LAMEERE (90) et VAN BAMBEKE (93)].

Nous avons déjà discuté cette question. Nous croyons que cette réduction quantitative n'a aucun rôle à remplir vis-à-vis de la réduction numérique. En effet, pendant l'accroissement de l'ovocyte, la quantité de la nucléine va augmenter considérablement : la nucléine est une substance que la cellule emmagasine et travaille lors de son activité, et on comprendrait difficilement que la perte d'une certaine quantité de cette substance que le noyau subit au début de son accroissement puisse faire sentir son influence à travers les multiples transformations que l'élément nucléinien a encore à effectuer jusqu'au moment de la formation des chromosomes. Plus loin, nous donnerons une raison plus péremptoire pour rejeter l'influence d'une réduction quantitative dans le phénomène de la réduction numérique. Nous croyons donc pouvoir affirmer que la réduction numérique ne s'opère pas pendant la phase d'accroissement de l'ovocyte.

Après sa constitution aux dépens des fragments ovogoniaux, le filament nucléinien granuleux occupe toute l'aire du noyau, hormis une petite zone entourant le nucléole, qui vient d'acquérir sa forme caractéristique :

(*) Divers auteurs admettent l'intervention de fragments nucléiniens sortis du noyau dans la formation des enclaves vitellines du protoplasme, notamment BLOCHMANN (84), SCHARFF (88), VAN BAMBEKE (95), VAN DER STRICHT, FRANCOU (98), etc.

c'est l'espace de EIMER signalé par VAN DER STRICHT. Cette particularité disparaît bientôt et alors le filament nucléinien remplit par ses multiples circonvolutions tout l'espace nucléaire. Il nous semble continu à ce stade, car on peut poursuivre diverses portions sur une longueur assez considérable; les tronçons plus courts sont dus à la section du rasoir à travers les multiples contours d'un filament pelotonné. Remarquons toutefois que, sur une coupe, on ne peut pas affirmer avec une certitude absolue la continuité du filament.

Entre les circonvolutions de l'élément nucléinien, on ne voit guère de filaments incolores ou caryoplasmiques, FIG. 45; mais le noyau est rempli par des filaments fortement colorés et granuleux et répartis d'une façon uniforme dans toute son étendue. Les disques ou granules sidérophiles sont devenus plus épais et plus réguliers; ils sont tous arrangés en file : nulle part, il n'y a des grains nucléiniens isolés : le noyau ne présente pas l'aspect sombre et foncé, qui s'observe souvent à un stade ultérieur par suite de la diffusion d'une partie de la nucléine, mais toutes les circonvolutions du filament se dessinent nettement dans le noyau. Le filament est au maximum de son développement et l'ovocyte s'approche du stade de l'apparition des centrosomes.

ART. III. *Désagrégation d'une partie du filament nucléinien.*

Au stade que nous venons d'esquisser rapidement, c'est-à-dire au stade de la formation et de l'accroissement du filament nucléinien, fait suite un stade de la plus haute importance : celui de la désagrégation de certaines portions du filament nucléinien.

Dans la FIG. 45, il n'y a guère dans le noyau ni lignes maîtresses ni granules isolés; dans les FIG. 46 et 47, au contraire, on voit que certaines portions du filament nucléinien n'ont pas subi un accroissement aussi considérable que les autres; elles sont formées de granules plus minces et souvent plus espacés; en outre, on y voit des filaments à structure granuleuse, mais peu colorés, ainsi qu'un grand nombre de granules épais disséminés d'une façon irrégulière dans toute l'étendue du noyau. Au milieu de ces éléments tranchent des tronçons plus épais du filament nucléinien, dont les granules tassés les uns contre les autres présentent en certains endroits une division dans le sens de la longueur du filament. Ce sont ces tronçons qui vont persister pour donner plus tard naissance aux chromosomes. Les granules isolés dérivent de la désagrégation des portions plus minces du filament nucléinien.

Après cette désagrégation, le nombre des tronçons persistants est notablement diminué : il suffit, pour s'en convaincre, de comparer les FIG. 44 et 45 aux FIG. 46 et 47. Chose importante à signaler, les extrémités des tronçons sidérophiles épais se continuent avec un filament plus mince ou incolore, qui garde pourtant un aspect granuleux ou hérissé. C'est là une preuve que les filaments incolores ne sont que des portions du filament primitif qui, en se désagréant, ont perdu leur nucléine. C'est cette partie de la nucléine ovulaire que nous avons appelée *nucléine résiduelle*, parce qu'elle ne participe pas à la formation des chromosomes. Par sa diffusion, la nucléine résiduelle communique parfois au noyau une teinte foncée et sombre, au milieu de laquelle il est difficile d'étudier le contenu nucléaire. Nous croyons que c'est cette diffusion qui a donné aux fig. 5, 6, 7, 10, de VAN DER STRICHT ce fond sombre, sur lequel on ne parvient pas à distinguer l'élément nucléinien.

Les portions minces du filament et les granules chromatophiles isolés se défont de plus en plus et finissent par disparaître. Par le fait même, les tronçons persistants se mettent plus en évidence, FIG. 48, *a* et *b* : ils s'épaississent tout en conservant leur structure granuleuse et tranchent nettement au milieu d'un fond de filaments incolores ; ceux-ci décrivent des circonvolutions semblables à celles du filament nucléinien continu et participeront plus tard à la formation du fuseau, lorsque les centrosomes, qui ont déjà produit les deux asters, exerceront leur activité à l'intérieur du noyau. A ce stade, les filaments incolores s'orientent entre les deux centres, FIG. 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 11, et portent de fins microsomes dérivés de la nucléine résiduelle. Lorsque le fuseau est entièrement constitué, toute trace de la nucléine résiduelle a disparu, FIG. 12, 13, etc. Nous ne parlerons pas davantage ici de la formation du fuseau ; nous l'avons décrite d'une façon assez détaillée dans notre premier mémoire.

Remarquons que, lors de la désagrégation partielle du filament nucléinien, il se passe dans l'ovocyte une seconde réduction quantitative analogue à celle qui se fait au début de l'accroissement par le fait du passage de fragments nucléiniens dans le protoplasme. Cette réduction quantitative consiste en ce qu'une partie notable de la nucléine ovulaire, c'est-à-dire la nucléine résiduelle, ne se transmet pas, vers la fin de l'accroissement, à la première figure pour prendre part à la constitution des chromosomes. Dans notre premier travail, nous avons déjà signalé cette particularité ; à ce sujet, nous avons cité quelques auteurs qui ont décrit le même phénomène ailleurs : GARDINER (98), KORSCHIELT (95), VAN BENEDEN et JULIN (84), HEIDENHAIN

(94), RÜCKERT (93), FOL (79), TODARO (93), WILSON (95), etc. Plus récemment, KING (1901) a émis la même opinion.

Nous ne croyons pas devoir ajouter à cette seconde réduction quantitative plus d'importance qu'à la première au point de vue de la réduction numérique des chromosomes : elle n'a que faire dans l'explication de ce phénomène. Nous verrons, en effet, que l'une des deux divisions, notamment la première, est transversale (*): le nombre de chromosomes de la première figure est donc normal, c'est-à-dire dix-huit; mais il est masqué par suite de la segmentation incomplète du peloton et par conséquent la réunion de deux chromosomes deux à deux : c'est une « *Scheinreduction* » (HÆCKER) ou une « *pseudoréduction* » (RÜCKERT). Nous ne voyons donc pas quelle signification la non-participation d'une partie de la nucléine ovulaire à la formation des bâtonnets pourrait avoir au point de vue de la réduction numérique, si celle-ci n'est qu'*apparente*.

Dans notre premier mémoire, nous avons insisté sur la division longitudinale des tronçons persistants du filament nucléinien ovulaire : cette division débiterait par le clivage des granules dans le sens de la longueur des tronçons. Or, un examen fait avec un meilleur éclairage nous a montré que cette division n'est pas si évidente que nous l'avions cru d'abord, au moins à son début : l'accolement de quelques granules isolés peut parfois faire croire à une division des granules d'un même filament. Toutefois, après la désagrégation d'une partie du filament nucléinien et la mise en évidence des lignes maîtresses, la division longitudinale d'un tronçon unique est très évidente dans certaines préparations. Les FIG. 48, *b*, et 49 en sont des exemples. On y voit des tronçons assez longs formés d'une double rangée de granules réunis deux à deux par une ligne moins colorée.

Dans ces tronçons, les granules-filles se trouvent l'un vis-à-vis de l'autre et ont généralement la même forme et le même volume : cette particularité indique qu'il y a eu division des granules d'un filament simple et non pas accolement de deux filaments voisins. Nous n'avons pas le moindre doute à cet égard.

Cette division longitudinale ne s'observe pourtant pas dans tous les ovocytes qui sont au même stade que celui des FIG. 48, *b*, et 49. Il est difficile d'expliquer la cause de cette variabilité. Nous pouvons répéter avec VAN DER STRICHT (p. 367) que, tout en ayant recours à la même technique, on peut obtenir des préparations très variables au point de vue de la netteté

(*) Plus loin, nous préciserons la portée de cette expression.

et de la clarté de certains détails parfois d'une importance capitale. Quoi qu'il en soit, il est certain que les tronçons persistants du filament nucléinien présentent souvent une division longitudinale évidente, FIG. 48, *b*, et 49.

Sans avoir des notions bien précises sur la signification de cette division, nous la croyions alors en rapport avec la division longitudinale que VAN DER STRICHT avait décrite dans les chromosomes de la première figure. Nous nous basions d'ailleurs sur le schéma généralement admis dans la spermatogénèse et les divisions de maturation dans les végétaux et dans les batraciens. Aujourd'hui, pour le dire dès maintenant, nous savons que ce n'est pas une division longitudinale qui donne naissance aux deux moitiés des chromosomes de la première figure. Si la division longitudinale du filament nucléinien dont nous parlons maintenant doit sortir son effet au cours des cinèses de maturation, ce ne pourra se faire que pour la préparation des chromosomes-filles de la seconde figure. Ceux-ci, en effet, comme nous le verrons, doivent leur formation à une division longitudinale.

ART. IV. *Condensation et fusion bout à bout des tronçons persistants du filament nucléinien.*

Nous avons décrit, dans le précédent article, comment certaines portions du filament nucléinien se désagrègent en granules isolés et comment ceux-ci disparaissent par une fonte progressive au fur et à mesure que le fuseau se forme. Si, comme nous le croyons, le filament a été continu avant sa désagrégation, FIG. 45, il semble naturel qu'après ce phénomène il ne pourra plus montrer cette continuité : il sera fragmenté en un certain nombre de tronçons, qui ne seront plus en relation l'un avec l'autre. Les FIG. 48, *a* et *b*, et 49 montrent qu'il en est bien ainsi. On y voit plusieurs de ces tronçons répartis d'une façon irrégulière dans toute l'étendue du noyau. Il nous semble évident qu'on ne peut les rattacher à un filament continu, qui aurait été sectionné en plusieurs points par le rasoir.

On peut se demander si cette fragmentation ne constitue pas le phénomène ultime de l'évolution du filament nucléinien, c'est-à-dire la formation des chromosomes. Les portions ainsi persistantes auraient déjà la valeur de chromosomes et ne devraient plus, pour acquérir leur forme définitive, que se raccourcir, s'épaissir et égaliser leurs contours en perdant leur structure granuleuse. Nous croyons que cette interprétation n'est pas admissible. En effet, lorsqu'on compte, dans toutes les coupes successives d'un même ovocyte, les différents tronçons persistants du filament nucléinien, on en trouve tantôt plus de neuf, tantôt moins; même en prenant en considération

la multiplication accidentelle de ces tronçons par la section du rasoir, on constate que leur nombre est très inconstant. En outre, nous avons observé, comme nous allons le voir, que le filament nucléinien doit passer encore par une étape particulière avant de donner naissance aux chromosomes. Cette étape est caractérisée par la condensation et la fusion bout à bout des tronçons persistants : elle est représentée par les FIG. 1, 2, 3, PL. I; 50, *a* et *b*, 51, PL. IV. Nous y voyons un filament assez épais et homogène et ne possédant plus la structure granuleuse de l'étape précédente, FIG. 48, *a*, 48, *b*, et 49. La transition entre ces deux étapes est représentée par la FIG. 1, *a'*, *b'*, *c'*, où l'on observe un filament homogène, il est vrai, dans toute son épaisseur (c'est-à-dire non constitué par des granules juxtaposés), mais dont les contours hérissés trahissent pourtant une structure granuleuse antérieure. Nous disons - *un filament* -, sans nous occuper pour le moment de la question de savoir s'il s'agit ici d'un filament continu ou bien d'un filament plus ou moins fragmenté.

Dans notre mémoire de 1901, nous avons cru observer une division longitudinale en certains endroits du filament *épaissi*. Ce n'était, d'après nous, que la persistance de la division longitudinale dont nous avons parlé plus haut, présentée à un stade antérieur par certains tronçons du filament nucléinien à structure encore granuleuse. Aujourd'hui, nous devons remarquer que, dans nos nouvelles FIG. 3, 50, 51, il n'y a pas d'apparence d'une division longitudinale et que, dans les FIG. 1 et 2, que nous avons déjà données dans notre premier travail (*), nous n'oserions pas affirmer sûrement l'existence d'un fendillement longitudinal dans le filament nucléinien.

On voit, il est vrai, à certains endroits, une ligne claire au milieu du filament, mais nous la considérons maintenant comme un effet de réfraction, d'autant plus que, dans d'autres figures au même stade, on ne trouve pas de division.

Il semble donc que la division longitudinale du filament granuleux des FIG. 49, 48, *b*, disparaît à la suite de l'épaississement et de la condensation de ce dernier. Cette particularité a d'ailleurs peu d'importance : dans un grand nombre d'objets étudiés par les biologistes les plus distingués, la division longitudinale du filament nucléinien, très évidente à certains moments, se masque et ne s'observe plus à un stade ultérieur.

Quant à la disposition du filament nucléinien condensé, nous constatons que, dans les FIG. 1, 2, 3, 50, *b*, il s'est ramassé en quelque sorte sur

(*) Notons d'ailleurs que le graveur y avait un peu exagéré l'indice d'une division longitudinale que nous y avions cru observer.

lui même : alors que, au stade de la désagrégation de certaines portions du filament granuleux, les tronçons persistants se trouvaient éparpillés sans disposition spéciale dans toute l'aire nucléaire, FIG. 47. 48, *a*, 48, *b*, l'élément nucléinien se trouve maintenant ramassé en une zone assez restreinte du noyau. Dans les FIG. 1 et 2, ses parties constituantes sont encore assez lâchement réunies; dans les FIG. 3. 50, *b*, 51, au contraire, elles sont plus rapprochées les unes des autres : elles y forment des pelotes formées d'un filament apparemment continu et plus ou moins entortillé.

La première question qui se présente à l'esprit est celle de savoir quelle est la signification de ce filament condensé, par rapport aux tronçons qui ont persisté après la désagrégation de certaines portions du filament nucléinien granuleux. Deux hypothèses sont possibles : dans la *première*, deux portions voisines du filament condensé, FIG. 1, *d*, *a'*, *b'*, 2, *a*, *b*, et 3, constitueraient deux filaments sœurs issus de la division longitudinale du filament granuleux; ces filaments-sœurs, en s'écartant l'un de l'autre, formeraient, dans la FIG. 1, *d*, *a'*, *b'*, deux tronçons plus ou moins parallèles, dans la FIG. 2, *a* et *b*, une anse dont les deux branches se sont croisées, et dans la FIG. 3, *a*, deux filaments entortillés l'un autour de l'autre. Dans la *seconde hypothèse* au contraire, toute portion du filament condensé des FIG. 1, 2, 3, 50, *b*, proviendrait du filament granuleux comme tel, qui se serait condensé et qui serait devenu homogène en égalisant ses contours, et par conséquent les tronçons parallèles qu'on remarque dans ces figures ne proviendraient pas d'une division longitudinale du filament granuleux, mais représenteraient des portions transversales de ce filament en train de s'accoler. Il n'y a pas à sortir de ces deux hypothèses.

Or, la première nous semble inadmissible pour deux raisons.

1° La division longitudinale des tronçons granuleux persistants est, d'après nos dernières observations, loin d'être constante.

2° Dans la première hypothèse, on devrait observer l'écartement progressif des deux moitiés longitudinales d'un même tronçon granuleux, aboutissant à former deux filaments distincts, plus ou moins parallèles ou entrelacés. Or, malgré de nombreuses recherches minutieuses, nous n'avons jamais rencontré cette étape d'un écartement graduel des moitiés jumelles. Notre peloton homogène se rattache *directement* au filament granuleux. On comprendrait difficilement d'ailleurs comment les deux longues portions du filament de la FIG. 2 pourraient dériver de la division d'un filament simple en deux filaments sœurs.

Ajoutons qu'un simple examen comparatif de ces figures fait naître l'impression que le filament condensé n'est que le filament granuleux devenu homogène.

Si nous nous étendons longuement sur cette question qui ne semble pas pouvoir souffrir l'ombre d'un doute, c'est qu'elle est de la plus haute importance : c'est d'elle, en effet, pour le dire dès maintenant, que dépendra la signification qu'il faut attribuer à la première cinèse de maturation.

Après avoir établi que le filament condensé ne représente que le filament granuleux devenu homogène, étudions comment, des FIG. 47, 48, *a*, 48, *b*, où plusieurs tronçons encore granuleux sont éparpillés dans toute l'étendue du noyau, on en arrive aux FIG. 1, 2, 3, 50, 51, *a*, où un filament nucléinien homogène décrit de *longues* circonvolutions en forme de pelotes, en s'entortillant sur lui-même. C'est là une question assez difficile à résoudre. Elle n'a pas encore été, à notre connaissance, proposée pour l'étape de l'ovogénèse que nous étudions pour le moment.

Le point capital qui doit nous guider dans notre interprétation, c'est que dans les dernières figures les segments nucléiniens sont beaucoup plus longs que dans les premières : il suffit de comparer les segments *a* et *b* de la FIG. 2 aux divers tronçons des FIG. 48, *a*, 48, *b*, 47 et 49.

Les FIG. 3 et 50, *b*, sont encore plus démonstratives : on y voit des espèces de pelotons formés d'un long filament continu et entortillé sur lui-même.

Ces deux sortes de figures se rencontrent côte à côte dans une même préparation et, à en juger d'après l'aspect général que présentent les ovocytes aux deux stades, elles doivent se suivre à peu d'intervalle. Si donc certains tronçons du filament nucléinien condensé, abstraction faite de quelques segments plus courts dus à la section du rasoir, sont notablement plus longs que les tronçons persistants du stade de la désagrégation du filament nucléinien granuleux, il faut admettre que les derniers se sont fusionnés bout à bout. Quelque étrange que paraisse le phénomène, nous croyons pourtant devoir l'admettre : l'explication que nous en donnons découle naturellement de nos figures. Cette soudure bout à bout se rapproche d'ailleurs de ce que RÜCKERT (93, p. 502) décrit chez les Sélaciens : - offenbar ist er (le peloton) durch die kettenartige Vereinigung der Chromosomen entstanden. - Remarquons toutefois que les deux cas en question sont bien différents : chez les Sélaciens, ce sont les chromosomes dérivés de la dernière division des ovogonies qui se fusionnent; chez le *Thysanotoxon*, au contraire, ce ne sont pas les chromosomes ovogoniaux, mais

certains tronçons persistants du filament nucléinien désagrégé en partie; dans le premier cas, c'est au début de l'accroissement, dans le second, c'est à la fin de l'accroissement que se fait la soudure des tronçons nucléiniens; et, dans les deux cas, ceux-ci ont une valeur bien différente.

Ici, nous pouvons nous demander si la soudure des tronçons nucléiniens persistants donne naissance à un filament condensé continu. C'est là une question dont la solution offre les plus grandes difficultés, résultant de ce que nous devons étudier ce filament dans des coupes minces. La section du rasoir peut diviser le filament plus ou moins pelotonné en plusieurs tronçons, qui seront répartis dans deux ou trois coupes. Il est alors le plus souvent très difficile, même impossible, de reconstituer la figure. KORSCHULT (95, p. 577) s'est heurté à la même difficulté.

Dans notre premier travail, nous croyions que, avant la formation des chromosomes, l'élément nucléinien se condensait en un peloton continu, bien que certaines figures, FIG. 1 et 2, montrassent quelques tronçons isolés. Ceux-ci nous semblaient trop peu nombreux et on pouvait les poursuivre sur une longueur trop grande pour qu'ils pussent posséder la valeur d'un seul chromosome : aussi, nous les attribuions à la section du rasoir.

Nous devons avouer que nous avons été peut-être trop exclusif alors. En effet, il est possible et même probable que certains tronçons du filament condensé, FIG. 1, *c*, *b*, *a'*, FIG. 2, *c*, ont déjà la valeur de chromosomes définitifs, car ils ont absolument la même forme que certains chromosomes bien individualisés de la FIG. 7, *a*, *f*. Mais si les FIG. 1 et 2 ne sont pas suffisantes pour faire admettre un peloton continu, elles ne prouvent pas non plus le contraire, puisque ces figures pourraient représenter un peloton en train de se segmenter. Nous pouvons en dire autant d'autres figures. Ces sortes d'images ne s'observent pas fréquemment : nous ne les avons rencontrées qu'une dizaine de fois. Nous pouvons en conclure que la forme du filament condensé et homogène ne persiste pas longtemps. SELENKA (81, p. 49) a fait une constatation analogue pour l'ovocyte du *Thysanozoon diesingi*.

La FIG. 50, *a* et *b*, représente tout l'élément nucléinien d'un même ovocyte. En *a*, on voit un chromosome isolé, absolument semblable au chromosome *a* de la FIG. 7; en *b*, on voit une pelote serrée formée d'un filament épais et homogène, dont on peut aisément poursuivre toutes les circonvolutions. Il est certain que cette espèce de peloton doit encore, en se segmentant, donner naissance à plusieurs chromosomes.

Dans la FIG. 3, tout l'élément nucléinien s'est condensé en deux pelotes. En *a*, on voit un filament entortillé sur lui-même; en *b*, on ne distingue pas nettement toutes les circonvolutions du filament nucléinien. Nous ne sommes pas loin ici d'un peloton continu : ces deux pelotes n'auraient-elles pas pu être en continuité l'une avec l'autre?

Quoi qu'il en soit, il nous semble impossible d'affirmer ou de nier d'une manière absolue l'existence d'un peloton continu avant la formation des chromosomes. Cela a d'ailleurs peu d'importance; ce qui demeure acquis, c'est que les pelotes *a* et *b*, FIG. 3, 50, *b*, 51, *a*, ont été formées par la soudure bout à bout des tronçons persistants du filament granuleux après sa désagrégation partielle et que ce sont ces pelotes qui doivent, en se segmentant, donner naissance encore à *plusieurs chromosomes*. La présence de quelques chromosomes déjà individualisés n'infirme en aucune façon cette manière de voir.

Il importe maintenant d'étudier le mécanisme de la segmentation du filament condensé et homogène ou, ce qui revient au même, la formation des chromosomes. C'est ce que nous allons faire dans l'article suivant.

ART. V. *Formation des chromosomes.*

Le phénomène de la genèse des chromosomes aux dépens du filament nucléinien condensé et homogène constitue une des questions les plus importantes que nous ayons à élucider. C'est de son interprétation que va dépendre la valeur qu'il faut attribuer aux deux moitiés des chromosomes à la première métaphase; c'est donc elle qu'il nous donnera la clef de l'interprétation du sens de la première cinèse.

Les divers auteurs qui ont étudié les planaires n'ont pas donné de détails bien amples au sujet de cette question : toutes leurs observations peuvent se résumer dans les faits suivants. - Le noyau ovulaire renferme d'abord un réseau chromatique; de ce réseau naît un filament granuleux qui se segmente en un nombre déterminé de chromosomes. - En outre, les figures qu'ils donnent à l'appui de leur description ne sont pas démonstratives; elles ne montrent pas toutes les étapes intermédiaires dans l'évolution du filament nucléinien. Cette sobriété de détails peut s'expliquer par les nombreuses difficultés que présente l'étude de l'accroissement ovulaire en général et par la rareté des figures précédant immédiatement la formation des chromosomes. Longtemps aussi, nous avons été arrêté devant ces difficultés. Ce n'est qu'à force de patience et grâce aussi à quelques heureuses

préparations renfermant des ovocytes arrivés à la fin de leur période d'accroissement, que nous croyons avoir abouti à des résultats plus complets et, par conséquent, plus démonstratifs que ceux de nos devanciers.

Pour ne pas entrer dans des discussions trop divergentes, nous ne nous attacherons spécialement qu'aux observations de VAN DER STRICHT.

Après avoir décrit dans le noyau un filament nucléinien granuleux, le savant professeur de Gand ajoute (p. 370) : - Le filament nucléinien s'épaissit, se raccourcit. Il devient épais et homogène; en même temps il s'étrangle et se résout en neuf tronçons chromatiques plus ou moins irréguliers -..... C'est là toute la description que l'auteur donne de la formation des chromosomes.

Remarquons d'abord que nous avons observé dans le noyau un phénomène intéressant qu'aucun des auteurs précités n'a signalé, nous voulons dire la désagrégation partielle du filament nucléinien le réduisant à un certain nombre de tronçons isolés; ensuite, nous avons conclu, d'après des figures très démonstratives, à une soudure bout à bout des tronçons persistants, qui donne naissance à un peloton plus ou moins continu. Lors de cette soudure, le filament se condense et devient homogène en perdant sa structure granuleuse. Pour ce qui regarde ce dernier point, nous sommes d'accord avec VAN DER STRICHT. Malheureusement, celui-ci n'a pas figuré cette étape intéressante : à sa planche II, on trouve, d'une part, des ovocytes renfermant un filament nucléinien encore nettement granuleux et mince, fig. 12, 13, 14, 15; et, d'autre part, des ovocytes où les chromosomes sont déjà bien individualisés, fig. 16, 16', 17, 18; mais on n'y voit pas de stades présentant un filament épaissi et homogène qui, en s'étranglant, pourrait donner naissance à neuf chromosomes. Nos FIG. 2, 3, 50, b, 51, a, comblent cette lacune. Nous y voyons manifestement un filament condensé et homogène. Il n'est pas douteux que ce soit lui qui, en se segmentant, va donner naissance aux chromosomes.

Il s'agit maintenant d'étudier le mécanisme de cette segmentation. Pour éviter toute équivoque ultérieure, il est bon de rappeler quelle est la signification du filament épais et homogène par rapport au filament granuleux. - Toute portion du *filament homogène*, isolée ou plus ou moins parallèle à une autre, représente, non pas une des moitiés longitudinales apparues précédemment dans le filament granuleux, mais une portion transversale du filament granuleux lui-même, où la division longitudinale a disparu par suite de la condensation qu'il a subie. -

Pour étudier la question importante de la segmentation, nous croyons utile d'invertir dans notre description l'ordre des faits. Nous examinerons d'abord à quoi elle aboutit, en décrivant les chromosomes au moment où ils viennent de s'individualiser.

Un coup d'œil sur les FIG. 6, 7, 8, 9, qui représentent les chromosomes à leur première apparition, permet de constater que ceux-ci peuvent se ramener à trois formes principales. Ces formes sont :

1° celle d'un anneau, c'est-à-dire de deux branches réunies par leurs bouts, FIG. 6, *a*, 7, *a, b*, 8, *a*, 50, *a* ;

2° celle de deux branches plus ou moins parallèles et soudées l'une à l'autre par une seule de leurs extrémités, FIG. 6, *b, c*, 9, *a, b, d*, 51, *c* ;

3° celle d'un bâtonnet à deux branches en continuité l'une avec l'autre par une de leurs extrémités et s'écartant l'une de l'autre par l'extrémité opposée, FIG. 7, *c, f*, 9, *c*.

Voyons donc comment ces trois formes de chromosomes prennent naissance aux dépens du filament nucléinien condensé et homogène.

Deux hypothèses sont possibles.

1° Le filament homogène pourrait se segmenter de distance en distance en donnant neuf tronçons simples, qui constitueraient chacun un chromosome. Ces tronçons se raccourciraient et se fendilleraient en deux branches jumelles. Dans cette supposition, les deux branches voisines d'un même chromosome, FIG. 7, *a*, 6, *a, b, c*, 8, *a*, 9, *b, a*, etc., résulteraient donc de la division longitudinale d'un segment primitivement simple et indivis.

Les branches sœurs pourraient se comporter alors de trois façons différentes : 1° elles pourraient rester unies l'une à l'autre à leurs deux extrémités de façon à former un anneau ; 2° elles pourraient se séparer l'une de l'autre à l'une de leurs deux extrémités, tout en restant plus ou moins parallèles ; 3° les extrémités libérées pourraient s'écarter l'une de l'autre de façon à former soit une anse à branches croisées, FIG. 2, *c*, 7, *f*, 9, *c*, soit un bâtonnet plus ou moins allongé, FIG. 7, *c*.

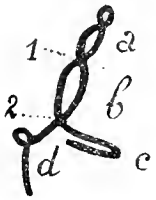
Les deux points de cette hypothèse, c'est-à-dire division longitudinale d'un segment simple et modification ultérieure de la forme qui en résulte, se retrouvent pour les grandes lignes dans la description que FRANCOTTE, VAN DER STRICHT, VAN NAME, ont donnée de la formation et de l'évolution des chromosomes de la première figure.

2° La deuxième hypothèse que l'on peut faire au sujet de la formation des bâtonnets est la suivante : le filament nucléinien homogène et plus ou

moins pelotonné, FIG. 2, 3, 50, *b*, 51, *a*, pourrait se segmenter de façon à ce que deux portions plus ou moins parallèles ou entortillées se coupent au même niveau ou en un point symétrique. Pour plus de clarté, considérons le fragment *b'* du filament nucléinien homogène, FIG. 1. Si la segmentation se fait à l'endroit où les deux branches se croisent, on aura, d'une part, un anneau semblable à l'anneau *a'* de la FIG. 1 et aux anneaux *a* des FIG. 6 et 8, et d'autre part, un bâtonnet à deux branches plus ou moins divergentes. Si, dans le fragment *a* de la FIG. 2, la segmentation se fait au niveau du croisement des deux branches, nous aurons à droite de ce point un bâtonnet à deux branches parallèles, semblable aux bâtonnets *b*, *c*, FIG. 6, *a*, *b*, *d*, FIG. 9, etc. Si, dans le fragment *b* de la FIG. 2, la segmentation se fait sur les deux branches croisées, à gauche et à égale distance du point de croisement, nous aurons un bâtonnet semblable au bâtonnet *f*, FIG. 7, auquel on peut naturellement assimiler la forme de bâtonnet *e*, FIG. 7, et *c*, FIG. 9, où les deux branches sont très écartées l'une de l'autre par une de leurs extrémités.

Pour la facilité de l'exposé, nous avons pris comme point de départ de notre explication les FIG. 1, 2, où le filament condensé n'est pas encore ramassé en un peloton serré comme dans les FIG. 3, 50, *b*. On comprend néanmoins que, dans ces dernières, la segmentation puisse se faire en des endroits analogues à ceux que nous avons indiqués dans les premières et produire des formes de chromosomes semblables à celles que nous venons d'expliquer.

Le schéma suivant sera très utile pour nous faire mieux comprendre. Il reproduit le filament nucléinien homogène avec les divers modes de pelotonnement qui se trouvent dans nos FIG. 1, 2, 3, 50, *b*. Si le filament se segmente en 1 et en 2, il donnera naissance à trois formes de chromosomes, qui se retrouvent dans diverses figures.



Le segment *a* constituera un anneau ayant la même forme que les chromosomes *a* des FIG. 7 et 59, où les deux branches sont croisées de façon à constituer un 8.

Le segment *b* sera entièrement semblable aux chromosomes *a'*, FIG. 1, *a*, FIG. 6, *b*, FIG. 7, *a*, FIG. 8, qui forment des anneaux plus réguliers.

La forme du segment *c* se retrouve dans les bâtonnets *b*, *c*, FIG. 6, *a*, *b*, *d*, FIG. 9, qui sont formés de deux branches parallèles réunies par une extrémité.

Le segment *d* sera l'homologue des formes de chromosomes *c*, FIG. 2, *c*, FIG. 9, *e, f*, FIG. 7, *a, b, c*, FIG. 1 (*).

D'après cette explication, les trois formes principales de chromosomes seraient toutes primitives : il n'y aurait pas, contrairement à ce qu'admettent tous nos devanciers, une forme initiale unique, notamment la forme d'anneau primaire, qui en se modifiant donnerait naissance aux deux autres formes, mais toutes les trois existeraient d'emblée après la segmentation du filament.

Il résulte encore de notre seconde hypothèse que les chromosomes issus de la segmentation du peloton seraient constitués de deux portions différentes du filament condensé et homogène et par conséquent du filament nucléinien granuleux, vu que le premier n'est que le second transformé. Leurs deux branches seraient dues, non pas à la division longitudinale d'un segment simple, mais à l'accolement, à la juxtaposition de deux fragments transversaux du filament nucléinien.

Ce sont là les deux seules hypothèses possibles au sujet de la segmentation du filament nucléinien : ou bien, les deux branches des chromosomes résultent de la division longitudinale d'un segment simple du filament nucléinien; ou bien, elles constituent deux portions transversales et indépendantes de ce filament.

Laquelle des deux explications faut-il admettre?

Nous croyons devoir rejeter la première, parce que, d'une part, on ne peut invoquer aucune preuve en sa faveur, et parce que, d'autre part, nous avons des raisons positives à l'appui de la seconde.

La première hypothèse, admise par tous les auteurs qui ont étudié avant nous les planaires, ne repose sur aucune figure démonstrative : dans aucun de leurs travaux, on ne trouve une figure représentant le filament épais et homogène qui constitue le stade intermédiaire entre le filament granuleux et la première forme des chromosomes. Dans le travail de VAN DER STRICHT, se rapportant, comme le nôtre, au *Thysanozoon*, nous ne trouvons aucune transition entre les fig. 13, 14 et 15, représentant un fin filament granuleux, et la fig. 11, montrant déjà des bâtonnets individualisés et raccourcis. Rien ne permet de conclure que les masses très irrégulières de la fig. 11, qui constitueraient des bâtonnets simples, dérivent

(*) Lorsque, il y a au moins deux ans, nous avons fait le dessin 1, nous n'avons pu analyser complètement cette image. Un examen plus minutieux nous y a fait découvrir les formes de bâtonnets *a, b, c*. Nous les avons dessinées isolément, mais le graveur en a un peu exagéré les dimensions.

simplement de l'épaississement et du raccourcissement d'une portion du filament granuleux bien mince encore des fig. 13, 14 et 15. On peut en dire autant des figures de FRANCOU et de VAN NAME. Quant à VON KLINGKOWSTRÖM, il ne trouve pas de stade peloton et décrit six segments très irréguliers formés d'emblée aux dépens de la nucléine éparpillée sous la forme de granules : il peut donc bien moins encore que les auteurs précédents préciser la valeur des deux moitiés des chromosomes de la première figure.

Si les auteurs qui ont admis la première hypothèse au sujet de la segmentation du filament nucléinien n'ont apporté aucun fait probant en sa faveur, nous même, nous n'avons trouvé dans nos figures aucun élément qui puisse la faire admettre.

Bien que nous ayons observé la division longitudinale du filament nucléinien granuleux déjà épaissi, FIG. 48, *b*, 49, et que nous croyions à son existence dans le peloton homogène, nous n'avons pu nous faire à l'idée que ce serait cette division longitudinale qui donnerait naissance aux deux branches des chromosomes de la première figure. Depuis trois ans déjà, nous avons observé des images semblables à nos FIG. 1 et 2, précédant immédiatement des figures, telles que 6 et 7, où les chromosomes viennent de se constituer; mais comme nous étions imbu de l'idée que les deux moitiés des chromosomes définitifs résultaient de la division longitudinale des tronçons simples du filament nucléinien, nous ne pouvions nous représenter le passage des FIG. 1 et 2 aux FIG. 6 et 7. C'est cette difficulté qui nous a arrêté bien longtemps dans nos recherches et qui a fait retarder la publication de nos observations sur l'expulsion des globules polaires et la première segmentation. Nous la croyons insurmontable.

En effet, les deux branches des chromosomes des FIG. 6 et 7 sont aussi épaisses que le filament homogène, FIG. 1, 2, 3, 50, et nous ne comprenions pas comment dans des figures qui, à en juger d'après l'aspect général de l'ovocyte, se suivent à un si court intervalle, les tronçons du filament homogène avaient pu s'épaissir assez pour donner naissance à deux portions aussi épaisses qu'eux-mêmes. Des figures nouvelles sont venues donner raison à nos hésitations et à nos doutes et nous ont mis définitivement sur la voie de la seconde interprétation du filament nucléinien homogène. Considérons, par exemple, la FIG. 50, PL. IV. Nous y voyons en *b* un filament épais, plus ou moins pelotonné; dans la coupe suivante du même œuf, *a*, nous voyons un bâtonnet individualisé, présentant la même forme que les bâtonnets, *a*, FIG. 7, et *a*, FIG. 8. Il est évident que le filament entortillé, *b*,

et le chromosome individualisé, a , sont au même stade de développement, puisqu'ils appartiennent à un même ovocyte. Or, les deux branches dont est formé le chromosome a sont aussi épaisses que le filament non encore segmenté b . On ne peut donc pas admettre que ces deux branches dérivent de la division longitudinale d'une portion simple du filament homogène.

La FIG. 3, d'une part, et les FIG. 8, 9, d'autre part, qui se trouvent sans aucun doute à des stades très voisins l'un de l'autre, ne sont pas moins démonstratives. On comprendrait difficilement comment une portion simple du filament homogène, FIG. 3, puisse s'être épaissie suffisamment pour donner naissance, en se clivant longitudinalement, à deux branches aussi épaisses qu'elle-même.

Examinons aussi les figures que VAN DER STRICHT propose comme exemple de la formation d'un anneau par le fendillement incomplet d'un segment simple. Dans sa fig. 20, - on voit deux anneaux en voie de formation par fissuration longitudinale, au niveau de leur partie médiane; les bouts terminaux des deux segments chromatiques restent encore fusionnés, indivis. - (p. 383.)

Nous croyons que l'explication que l'auteur donne de cette figure n'est pas admissible. En effet, à la juger d'après le dessin, les bouts terminaux encore indivis ne sont pas plus épais que les branches déjà séparées : comment pourraient-ils donc, en se fendillant longitudinalement, donner naissance à deux branches aussi épaisses qu'eux-mêmes? En outre, la courbe du côté opposé au bout encore indivis est si régulière qu'on pourrait difficilement l'attribuer à la fissuration incomplète d'un segment primitivement simple. D'après nos propres figures, elle s'explique de la façon la plus aisée : c'est une anse formée primitivement par le filament nucléinien homogène. L'extrémité indivise correspondrait aux deux bouts de l'anse superposés.

Nous pourrions en dire autant de sa fig. 18 : la fente qui sépare les deux branches des bâtonnets, aa et b , n'est pas due à la division longitudinale d'un segment primitivement indivis, mais elle n'est que l'espace séparant deux portions parallèles du filament homogène, qui a formé une anse à l'endroit où VAN DER STRICHT place une fissuration incomplète d'un segment simple.

Il nous semble résulter de ce qui précède que la première hypothèse que nous avons émise au sujet de la segmentation du filament nucléinien homogène n'est pas soutenable : les auteurs qui l'ont admise n'ont apporté

aucun fait probant en sa faveur et nous-même nous avons prouvé son impossibilité. Il ne nous reste donc qu'à admettre la seconde. Nous n'avons plus à y revenir : nous en avons donné un exposé assez clair et assez détaillé, lorsque nous l'avons mise en regard de la première. Elle repose sur un ensemble de figures dont la suite naturelle ne peut pas être mise en doute. Nous allons voir maintenant de plus près comment elle seule nous permet de rattacher sans le moindre artifice, au peloton homogène, les diverses formes de chromosomes que l'on observe dans un même ovocyte, immédiatement après la segmentation de ce peloton.

Considérons, par exemple, nos FIG. 6 et 7, qui sont particulièrement intéressantes à ce point de vue. Elles représentent deux coupes d'un même ovocyte, qui sont d'une beauté remarquable; le dessin ne peut que faiblement en rendre l'aspect. Ces deux figures renferment en tout neuf chromosomes; on peut, en effet, considérer les tronçons *d*, *d*, comme appartenant à un seul bâtonnet, sectionné en deux portions par le rasoir. La constatation des neuf bâtonnets constitue un fait d'une importance capitale : elle nous met à l'abri d'une objection qui considérerait le bâtonnet *a*, FIG. 7, comme équivalent à deux chromosomes encore accolés.

Nous voyons dans ces figures les trois formes de bâtonnets dont nous avons parlé plus haut : un anneau simple, FIG. 6, *a*, 7, *b*, et un anneau en forme de 8, FIG. 7, *a*; des bâtonnets à deux branches parallèles réunies par une extrémité, FIG. 6, *b* et *c*, et des bâtonnets à deux branches s'écartant l'une de l'autre, tout en étant réunies par une extrémité, FIG. 7, *e*, *f*. Or, aucune disposition particulière du fuseau naissant ne peut expliquer cette diversité des formes chromosomales. Nous en concluons que ces diverses formes existent d'emblée lors de la segmentation du filament nucléinien homogène.

VAN DER STRICHT, au contraire, admet une forme de chromosomes initiale unique : celle d'un anneau primaire.

Celui-ci donne naissance à d'autres formes par suite de l'écartement de ses deux branches.

Nous devons remarquer que, dans les figures du savant professeur de Gand, on rencontre rarement des anneaux primaires. Aussi, on comprend difficilement comment les chromosomes de sa fig. 17, qu'il considère comme issus de la segmentation du filament nucléinien homogène (p. 379), dérivent tous d'un anneau primaire, puisque dans cette figure il n'y a pas un seul anneau. Nous même, nous n'avons jamais observé plus de deux, trois ou quatre anneaux dans une même figure représentant les ovocytes où les chromosomes

viennent de se constituer, FIG. 6, 7 et 8. À côté de ces anneaux, il y a déjà les deux autres formes dont nous avons parlé et qui sont bien différentes. Aussi, il nous semble évident que les diverses formes de chromosomes existent d'emblée. Cette conclusion est d'autant plus légitime qu'elle découle naturellement de la deuxième interprétation que nous avons proposée au sujet de la segmentation du filament nucléinien homogène et que nous avons prouvée être la seule admissible.

Il n'y a que les FIG. 4 et 5 que l'on pourrait à la rigueur invoquer à l'appui de l'opinion de VAN DER STRICHT et des autres auteurs au sujet d'une forme initiale unique des chromosomes. Ces figures représentent probablement (*) deux coupes d'un même ovocyte et renferment neuf chromosomes, qui la plupart semblent formés de deux branches accolées. On pourrait admettre, d'une part, que les deux branches dérivent de la division longitudinale d'un chromosome primitivement indivis, et d'autre part, que tous les chromosomes ainsi formés auraient d'abord la forme d'anneau par suite de la fissuration incomplète aux deux bouts d'un segment simple; la fissuration se complétant à une des extrémités produirait les anneaux primaires ouverts de VAN DER STRICHT.

À ces deux suppositions, nous répondons d'abord que les deux figures en question appartiennent à un ovocyte qui présente le premier indice de dégénérescence que nous avons signalé dans notre premier mémoire et que VAN DER STRICHT a déjà décrit en 99, nous voulons dire une zone d'une substance amorphe entourant complètement l'ovocyte. Un ovocyte pareil, comme on en rencontre beaucoup d'ailleurs, ne peut donc pas servir de base à une interprétation sûre. Aussi, toutes nos autres figures ont été prises d'ovocytes irréprochables au point de vue de leur conservation et de leur aspect général.

Ensuite, les raisons que nous avons exposées plus haut pour prouver que les deux branches des chromosomes de la première figure représentent deux portions transversales du filament nucléinien homogène conservent toute leur valeur malgré les FIG. 4 et 5 : elles pourraient même s'appliquer à ces deux figures. La conclusion essentielle à dégager de tout cela, c'est que les deux branches des chromosomes ne dérivent pas de la division longitudinale d'une portion simple et épaissie du filament nucléinien. Notre but en

(*) Nous disons probablement, parce que l'une des coupes a été détruite en grande partie lors de la coloration, de sorte que les points de repère pour retrouver deux coupes correspondantes d'un même ovocyte sont plus ou moins incertains. Toutefois, la forme et la disposition de l'une des coupes ovocytaires par rapport à l'autre se correspondent assez bien pour qu'on puisse les attribuer toutes les deux à un même ovocyte.

dessinant les FIG. 4 et 5 a été de montrer combien les conclusions de nos devanciers, qui n'ont pas observé le stade intermédiaire entre le filament nucléinien granuleux et la première forme de chromosomes, ont été rationnelles. Si l'on ne rencontre pas des figures telles que nos FIG. 1, 2, 3, 50, 51, il est naturel d'admettre que les chromosomes des FIG. 4 et 5 constituent des portions simples et épaissies du filament nucléinien homogène en train de se diviser. Il n'y a que l'étude comparative de ces diverses figures et des FIG. 6, 7, 8, 9, qui puisse donner la clef de la solution, telle que nous l'avons exposée.

Quant à la deuxième question, notamment l'existence d'une forme annulaire initiale, quelle que soit la signification de ces anneaux, les FIG. 4 et 5 (*) ne permettent pas de la trancher à cause de l'état de dégénérescence de cet ovocyte. Nous devons donc avoir recours à des figures plus nettes et moins douteuses, telles que FIG. 6, 7, 8, 9, 50, a, 51, c. Or, comme nous l'avons déjà expliqué plus haut, ces figures prouvent plutôt l'existence d'emblée des trois formes de chromosomes et s'accordent pleinement avec l'interprétation que nous avons donnée de la segmentation du filament nucléinien condensé et homogène. Aussi, bien que celle-ci aille à l'encontre des idées généralement reçues dans l'ovogénèse et qu'elle soit en désaccord avec les faits les mieux établis ailleurs, nous ne craignons pas de la proposer, non seulement comme la plus probable, mais comme la seule conciliable avec l'ensemble de nos figures et par conséquent avec la réalité. Elle modifiera complètement la conception du processus de la réduction chez le *Thysanozoon brocchi* et probablement aussi chez les planaires en général. Nous sommes d'autant plus porté à adopter cette opinion que GÉRARD (1901) a observé dans une autre planaire, notamment le *Prosthecercus vittatus*, une espèce de peloton homogène semblable à celui que nous avons décrit chez le *Thysanozoon* et qui doit se segmenter en six chromosomes. C'est le stade du *peloton lâche*. Le filament nucléinien y a perdu sa structure granuleuse ou moniliforme et présente un indice de division longitudinale; il s'est ramassé au voisinage du nucléole en dessinant un petit nombre d'anses évidemment continues entre elles (p. 163). Malheureusement, l'auteur n'a pu en étudier la segmentation. Nous ne doutons pas, à en juger d'après les préparations que M. GÉRARD a eu l'obligeance de nous montrer, que la segmentation du peloton ne s'y fasse d'après le même mécanisme que chez le *Thysanozoon*. Espérons que des recherches nouvelles seront entreprises

(*) Remarquons que nous avons même dessiné ces figures d'une façon plus claire qu'elles ne le sont en réalité.

dans ce sens. La découverte de la vérité dépend souvent de quelques bonnes préparations qui montrent un stade parfois très passager de l'évolution de tel ou de tel élément cellulaire. Si nous croyons avoir pu donner une interprétation rationnelle et satisfaisante de la formation des chromosomes, c'est grâce à la découverte des FIG. 1, 2, 3, 50, 51, qui représentent la dernière étape du filament nucléinien et l'origine des chromosomes. Si nos devanciers avaient eu la chance de les observer, nous ne doutons pas qu'ils y eussent trouvé, comme nous, la clef de l'explication qu'il convient de donner de la première phase de la réduction chez les planaires.

Pour terminer le présent article, nous tenons à rapprocher nos figures touchant la segmentation du filament nucléinien homogène de quelques figures données par KORSCHULT (95) dans son mémoire sur *Ophryotrocha puerilis*. Cet auteur décrit dans ses fig. 70-74 un filament nucléinien continu et à contours lisses, présentant parfois un indice de division longitudinale, fig. 74 et 75. Ce filament se fragmente en quatre segments très longs, fig. 76-78, qui se raccourcissent et ont la forme soit d'une anse à branches parallèles ou entortillées, fig. 79, soit d'un bâtonnet à peu près droit ou présentant une légère inflexion médiane, fig. 80 et 81. Ces segments subissent finalement une division longitudinale.

Quand on compare les fig. 70-74 de KORSCHULT avec nos FIG. 2, 3, 50 b et 51, on est frappé de la grande ressemblance qu'il y a entre ces deux sortes de figures au point de vue de la disposition du filament nucléinien. De part et d'autre, celui-ci présente des portions plus ou moins parallèles ou entortillées. La division longitudinale que KORSCHULT y découvre dans sa fig. 74 nous semble être l'effet d'un parallélisme parfait de deux portions voisines du filament. De plus, la segmentation du filament donne naissance dans les deux cas à des chromosomes dont la forme présente la plus grande ressemblance (comparez les fig. 77-82 à nos FIG. 6, 7, 9, etc.). Aussi, nous sommes porté à croire que, au point de vue de la genèse des chromosomes, il y a un rapprochement à faire entre *Ophryotrocha* et le *Thysanozoon*. Néanmoins, comme les résultats auxquels KORSCHULT est arrivé au point de vue de la réduction sont différents des nôtres et que nous n'avons pas eu l'occasion d'étudier par nous-même l'ovogénèse chez *Ophryotrocha*, nous n'attribuons à ce rapprochement que la valeur d'une simple supposition : nous n'entrerons pas dans des discussions à ce sujet. Il nous suffit d'avoir appelé l'attention sur la grande ressemblance qu'il y a entre quelques figures de KORSCHULT et les nôtres, sans nous étendre sur les conclusions qu'on pourrait en déduire.

CHAPITRE II.

Première cinèse polaire.

ART. I. *Forme définitive des chromosomes de la première figure de maturation.*

Après avoir étudié la genèse des chromosomes de la première figure, il nous reste à passer en revue les diverses transformations qu'ils subissent avant d'acquies leur forme définitive.

Cette étude est de la plus haute importance. Il ne suffit pas de connaître la valeur des deux branches qui les constituent au moment de leur formation : il faut en plus étudier le mécanisme d'après lequel les chromosomes se disposent pour permettre à la première cinèse de séparer ces deux branches en vue du premier retour polaire.

Les opinions les plus divergentes ont été émises à ce sujet et ont beaucoup embrouillé la question de la réduction. Toutefois dans ces dernières années, on a donné des explications plus complètes des différentes formes des chromosomes sur le fuseau. On les a attribuées à des insertions différentes des fibres fusoriales sur les deux branches plus ou moins parallèles qui constituent chaque chromosome. Ces explications se retrouvent surtout dans les travaux de GRÉGOIRE (99), de STRASBURGER (99), de JANSSENS (1901) et de DE SINETY (1901).

D'après ces auteurs, si les fibres fusoriales s'insèrent au milieu des chromosomes, les deux branches vont s'écarter l'une de l'autre, en restant unies par leurs extrémités et en formant des anneaux ou des ellipses, qu'on peut considérer comme constitués par des V opposés l'un à l'autre par leurs extrémités.

Si l'insertion est subterminale, les deux branches, étant attirées plus d'un côté que de l'autre, vont se séparer du côté le plus proche du point d'insertion. Pendant qu'elles s'écarterent l'une de l'autre, leurs extrémités libérées s'incurvent en forme de crochet, tandis que leurs deux autres bouts restent accolés.

Si, en troisième lieu, l'insertion est terminale, les deux branches seront attirées vers leur pôle respectif par une de leurs extrémités; elles s'écarteront l'une de l'autre sans s'incurver et formeront un bâtonnet tout droit. La première cinèse sépare donc les deux branches qui constituaient les chromosomes. Et les formes diverses de ceux-ci à la métaphase s'expliquent par la diversité de leur point d'insertion. Nous renvoyons volontiers

au schéma intéressant que DE SINETY (1900) donne de ces différents modes d'insertions (Pl. IV, fig. 148).

Les explications que VAN NAME (p. 279) donne des modifications des anneaux primitifs de l'*Eustylochus* rentrent également, à part quelques particularités, dans ce schéma

VAN DER STRICHT décrit diverses modifications de la forme primitive des chromosomes, qui pourraient de même rentrer dans le schéma que nous venons d'exposer, mais il n'en indique pas les causes : il les décrit simplement sans les rattacher à des insertions différentes des fibres fusoriales sur les chromosomes. Comme nous l'avons déjà dit, il prend comme point de départ des bâtonnets ou segments épais, où aucune trace de fendillement n'est encore visible (p. 383). Ceux-ci, par *fissuration longitudinale*, incomplète à leurs extrémités, donnent naissance à un anneau primaire. Cet anneau primaire se transforme de la façon suivante. 1^o) A un des pôles, les deux branches de l'anneau se séparent et s'écartent, puis leurs extrémités libérées s'infléchissent et se refusionnent en produisant un anneau secondaire; toutefois l'écartement des anses-filles pourrait se faire, dit l'auteur, l'anneau restant fermé (p. 385). La signification de l'anneau secondaire est toute différente de l'anneau primaire. En effet, les extrémités des segments-sœurs fusionnés ne se trouvent pas, comme dans l'anneau primaire, aux deux pôles, mais au milieu de leur longueur. 2^o) Parfois, la refusion des branches libérées à un bout ne se fait pas et leurs bouts libres sont dirigés vers le pôle correspondant de la figure. 3^o) Parfois, l'anneau secondaire prend la forme d'un bâtonnet épais par suite de l'accolement et de la fusion de ses deux branches.

D'après cette explication, quelle que soit la forme des bâtonnets, la division que ceux-ci subissent, à la première métacinèse, au milieu de leur longueur, aura la valeur d'une division équationnelle ou longitudinale.

Sans nous occuper, pour le moment, de la valeur qu'il faut attribuer aux deux branches des chromosomes, nous dégageons du résumé qui précède le fait que VAN DER STRICHT n'a observé à la couronne équatoriale de la première figure que deux formes essentielles de chromosomes : celle d'*anneaux secondaires*, dont les branches sont parfois accolées et fusionnées l'une à l'autre, et celle de *bâtonnets longs et droits*, dont les deux extrémités sont dirigées vers les pôles.

Étudions maintenant, d'après nos propres figures, les transformations que les chromosomes subissent après leur genèse. Pour faire cette étude, nous croyons utile d'intervertir encore une fois, dans notre description,

l'ordre des faits. Nous parlerons d'abord des formes que possèdent les chromosomes dans les œufs pondus, au moment où ils vont subir la première cinèse.

Dans nos figures qui représentent cette étape, nous pouvons distinguer non pas deux, mais trois formes essentielles de chromosomes, qui retrouveront leurs formes correspondantes au premier retour polaire.

1° On y trouve d'abord des ellipses ou des anneaux plus ou moins réguliers, qu'on peut considérer comme formés de deux **V** opposés par leur base, Pl. II, FIG. 14, *b*; 16, *d*; 17, I, *b*, II, *a*, *c*, *d*; IV, *e*; V, *a*, *b*; VI, *b*, *c*. Parfois, la lumière de l'ellipse est réduite à une simple ligne ou même ne s'aperçoit plus du tout par suite du rapprochement des deux branches des **V**, FIG. 17, I, *c*. Ces formes de chromosomes se retrouvent dans les fig. 25 et 30 de VAN DER STRICHT et les fig. 9 et 10 de VAN NAME.

2° La deuxième forme est constituée par des bâtonnets plus allongés, dont les deux extrémités sont incurvées en forme de crochet, soit du même côté, FIG. 14, *a*, 16, *b*, 17, III, *c*, V, *e*; soit du côté opposé, FIG. 17, II, *b*, IV, *d*. Cette variété se retrouve dans les fig. 6, *B*, *a*, et *C*, *a*, de VON KLINCKOWSTRÖM et les fig. 9 et 41 de VAN NAME. VAN DER STRICHT, au contraire, n'a pas décrit cette forme à ce stade, bien qu'il la reproduit dans ses fig. 27 et 32.

3° La troisième forme est celle de bâtonnets très longs et droits, ne présentant pas d'inflexion ou de courbure appréciable, FIG. 16, *c*, 17, III, *d*, VI, *a*, 18, *a*. Cette forme a été observée par VAN DER STRICHT, fig. 30, et par VON KLINCKOWSTRÖM, fig. *B*, *c*.

Des trois formes de chromosomes définitifs, celle à deux crochets est la plus fréquente : les FIG. 14, 15 et 16 en fournissent la preuve. Il nous est même arrivé de ne rencontrer que cette forme dans des ovocytes pondus arrivés au stade de la métacinèse. Aussi, comme nous le verrons plus loin, la forme correspondante du premier retour polaire est de même la plus fréquente.

Étudions d'abord les bâtonnets en forme *d'anneaux*.

Abstraction faite de la valeur des deux **V** qui les constituent, nous admettons pour leur genèse l'insertion médiane des fibres fusoriales sur les deux branches des anneaux primitifs, FIG. 6, *a*, 7, *a*, 8, *a*, etc. Si les deux branches s'écartent l'une de l'autre, tout en restant unies par leurs extrémités, elles formeront des anneaux dont l'équateur représente le long axe de l'anneau primitif; les deux pôles de celui-ci se trouvent donc au niveau de l'équateur de l'anneau définitif.

Il est vrai que, dans certaines figures, il est difficile de dire si l'on a à faire à des anneaux primaires ou à des anneaux secondaires. Voyons, par exemple, les anneaux *d*, FIG. 11; *a*, *b*, FIG. 12; et *e*, FIG. 13, qui appartiennent tous à des œufs non pondus. Rien ne permet de conclure quelle est leur signification. Il en est de même des anneaux, *d*, FIG. 16, et *b*, *c*, FIG. 17, VI, trouvés dans des œufs pondus. Dans d'autres figures, au contraire, on observe quelques particularités qui permettent de conclure qu'ils ont été formés d'après le processus que nous venons d'indiquer, FIG. 14, *b*; FIG. 17, II, *a*, *c*, *d*; IV, *e*; V, *b*. Ces anneaux présentent au niveau de leur équateur une légère encoche ou parfois une nodosité, indice de la transformation d'un anneau primaire. Remarquons toutefois que cette encoche ou cette nodosité ne se trouve le plus souvent que sur une des branches, FIG. 14, *b*; 17, II, *a*, *c*, IV, *e*; et fig. 25 *b'*, *b''*, de VAN DER STRICHT. D'après cet auteur (p. 384), c'est l'endroit où s'est opérée la fusion secondaire des branches qui s'étaient primitivement séparées à une de leurs extrémités pour s'infléchir et se refusionner ensuite. Nous devons faire remarquer avec VAN NAME (p. 281) que la refusion des bouts des segments séparés antérieurement est peu probable. Là où on les trouve réunis, il est plus facile d'admettre qu'ils n'ont pas été séparés. Rien ne permet d'ailleurs d'expliquer le mécanisme d'après lequel les deux branches des segments *aa*, fig. 16; *c*, *b*, fig. 17, *d*, fig. 18 (VAN DER STRICHT), qui auraient été séparées l'une de l'autre, se rapprocheraient ensuite pour se refusionner.

Nous croyons pouvoir expliquer plus facilement l'espèce de soudure que l'on remarque soit sur l'une des branches, soit sur les deux branches des anneaux de la couronne équatoriale. Considérons le schéma ci-joint, analogue à celui que nous avons ajouté à notre interprétation de la segmentation du filament nucléinien homogène. Si la segmentation se fait en 1 et 2, nous aurons deux anneaux, *a* et *b* : les deux pôles de *b* sont formés par la fusion ou l'accrolement des extrémités de ses branches; le pôle gauche de *a* a la même signification, mais le pôle droit représente la courbure du filament nucléinien, qui, à cet endroit, forme une anse. La première forme se retrouve dans notre FIG. 1, *a'*; la seconde, dans la fig. 20 de VAN DER STRICHT. Si l'écartement des deux branches des anneaux *a* et *b* se fait par suite de la traction des fibres fusoriales insérées en leur milieu, l'anneau *a* présentera l'aspect des anneaux *a*, *c*, *d*, II, *e*, IV, FIG. 17, et *b'*, *b''*, fig. 25, de VAN DER STRICHT : une seule des branches montre une espèce de soudure, l'autre représentant l'anse formée



primitivement par la courbure du filament nucléinien; l'anneau *b*, au contraire, présentera la soudure au milieu des deux branches, indice de l'accellement des deux extrémités de ces deux branches, FIG. 14, *b*, FIG. 17, V, *b*.

VAN DER STRICHT (p. 384) admet, comme autre modification des chromosomes, la formation de bâtonnets en forme de 8, par suite de la fusion, non entre elles, mais avec le filament nucléinien voisin, des extrémités libres des segments d'un anneau ouvert secondaire.

Cette interprétation est basée également sur le rapprochement de branches écartées antérieurement. Aussi, nous pouvons lui opposer la remarque que nous avons faite plus haut avec VAN NAME; en outre, nous retrouvons les chromosomes en forme de 8 immédiatement après la segmentation du filament nucléinien, FIG. 7, *a*, et FIG. 50, *a*, et comme nous l'avons dit antérieurement, leur formation s'explique de la façon la plus simple d'après l'interprétation que nous avons proposée au chapitre I.

A côté des chromosomes en forme d'ellipses plus ou moins régulières, on rencontre assez souvent d'autres formes, qui, tout en présentant un aspect différent, peuvent pourtant s'y rattacher. Ce sont des bâtonnets en forme de croix, FIG. 17, I, *a*, IV, *b*. Cette forme nous semble due à l'écartement tardif des deux branches d'un anneau primitif, qui se sont plus ou moins accolées. La FIG. 17 en fournit la preuve. En I, *d*, nous voyons un bâtonnet épais et court, présentant une mince fente longitudinale : de chaque côté, il y a un léger soulèvement dirigé vers les deux pôles dans le sens des fibres fusoriales de la figure : c'est le début de l'écartement des deux branches de l'anneau primitif; en I, *a*, et IV, *b*, la portion attirée vers les pôles est déjà plus grande et donne au bâtonnet l'aspect d'une croix ou d'un poignard. Des figures semblables ont été décrites par FRANCOU, VON KLINCKOWSTRÖM, VAN DER STRICHT (p. 386) et VAN NAME, fig. 9, 10 et 43.

Les nodosités médianes des FIG. 17, I, *a*, IV, *b*, correspondent, d'après nous, à l'endroit où les extrémités des deux branches de l'anneau primitif sont encore fusionnées sur une certaine étendue. Si l'écartement se poursuit, nous aurons un anneau à deux branches rapprochées et fusionnées et présentant au milieu deux nodosités plus petites que dans la forme précédente, FIG. 17, I, *c*.

La signification de cette dernière forme est la même que celle des anneaux plus caractéristiques, FIG. 14, *b*, 17, I, *b*; II, *a*, *c*, *d*; IV, *c*; V, *a*, *b*. Dans les deux cas, la ligne équatoriale représente le long axe des anneaux primitifs, FIG. 6, *a*, 7, *a*, 8, *a*, dont les deux branches se sont infléchies en leur milieu pour former deux **v** réunis l'un à l'autre par leurs extrémités.

Nous croyons pouvoir en dire autant des anneaux *d*, FIG. 16, *b* et *c*, FIG. 17, VI : bien que ceux-ci ne montrent aucun indice de cette signification, vu leur ressemblance parfaite pour le reste avec les autres anneaux, il n'y a aucune raison pour ne pas leur attribuer la même signification.

Étudions en second lieu les chromosomes à deux crochets. Leur forme s'explique de la façon la plus simple : elle est le résultat de l'insertion subterminale des fibres fusoriales sur les bâtonnets en forme d'anneau ou de deux branches plus ou moins parallèles que l'on rencontre déjà dans les ovocytes, où la segmentation du filament homogène vient de se faire.

Considérons, par exemple, les bâtonnets *a*, *b*, *d*, FIG. 9; *b*, FIG. 6, formés de deux branches réunies par une extrémité. Si les fibres fusoriales s'attachent entre le milieu et l'extrémité libre des deux branches, cette extrémité libre va s'infléchir pendant l'écartement des deux branches, en formant une anse ou un crochet, dont la longueur peut naturellement varier d'après l'endroit d'insertion des fibres fusoriales. Il en résultera des chromosomes, tels que *b* et *a*, FIG. 11, *f*, FIG. 12, *a* et *c*, FIG. 13, et aussi *c*, fig. 17, *d*, fig. 18, de VAN DER STRICHT, qui, dans les deux sortes de figures, appartiennent à des œufs non pondus. Cette forme se retrouve dans les œuf pondus, FIG. 14, *a*, 15, *a*, 16, *b*, 17, III, *c*, V, *e* : elle est une conséquence naturelle de l'ascension des bâtonnets vers les pôles : sous son influence, le bâtonnet est devenu droit et le point de réunion des deux branches primitives se trouve au milieu de sa longueur. Toutefois, par suite de l'insertion subterminale des fibres, la partie recourbée et libre de chaque branche sera plus petite que chacune des parties redressées et unies ; elles ne pourront donc plus venir l'une à la rencontre de l'autre pour se fusionner au milieu du bâtonnet, à moins d'admettre que les bouts libres soient attirés ultérieurement l'un vers l'autre et que l'anse coule ou glisse sur les fibres fusoriales, ce qui n'est pas explicable. Cette considération rend peu probable et même impossible la formation d'anneaux secondaires par la rencontre et la fusion des deux anses des bâtonnets *c*, fig. 17, et *d*, fig. 18, de VAN DER STRICHT. Nous l'avons déjà fait remarquer d'ailleurs, lorsque nous avons dit, avec VAN NAME, que les extrémités des deux branches chromosomales, une fois séparées, ne se refusionnent plus ultérieurement.

Dans l'explication qui précède, nous avons pris comme point de départ des bâtonnets à deux branches plus ou moins parallèles et réunies par une extrémité. On comprend qu'un anneau tel que *a*, FIG. 6; *b*, FIG. 7; *a*, FIG. 8, pourrait également donner naissance à la forme de bâtonnet à double crochet.

Par suite de l'insertion subterminale des fibres du fuseau, les deux branches se sépareront du côté où elles subissent la plus grande traction, en formant un bâtonnet semblable aux premiers.

Après avoir étudié le processus général de la formation des bâtonnets à double crochet, examinons quelques particularités qu'ils présentent souvent et qui doivent avoir leur raison d'être.

En premier lieu, nous voyons que la partie des chromosomes couchée sur le fuseau est tantôt bien régulière sur toute sa longueur, FIG. 13, *a*, 14, *a*, *c*, 15, *a*, *b*, 16, *b*, 17, II, *b*, IV, *d*, V, *e*, et que tantôt elle présente en son milieu une nodosité, FIG. 13, *d*, FIG. 16, *e*, *a*, 17, III, *a*. Cette particularité a été d'ailleurs observée par VAN NAME dans une autre planaire. S'il faut donner à ce détail une explication, nous croyons pouvoir la trouver dans la forme des chromosomes lors de leur formation. Considérons d'une part les chromosomes *d* de la FIG. 9. Si les deux branches s'écartent l'une de l'autre pour donner un bâtonnet simple et allongé, celui-ci ne présentera en son milieu aucune nodosité ou aucune irrégularité, parce que ce milieu correspond à l'anse régulière du bâtonnet primitif. Considérons d'autre part les bâtonnets *c* de la FIG. 9 et *f* de la FIG. 7, dont les deux branches forment une espèce de nœud, ainsi que le bâtonnet *a* de la FIG. 9, dont les deux branches ne forment pas, par leur extrémité inférieure, une anse régulière, mais sont accolées sans former une courbe. On comprend que, après l'écartement des deux branches, la trace de ces deux particularités puisse persister sous la forme d'une nodosité.

Une seconde particularité consiste en ce que les crochets sont dirigés tantôt du même côté, FIG. 14, *a*, 16, *b*, *e*, 17, III, *c*, V, *e*; tantôt du côté opposé, FIG. 13, *a*, *d*; 17, II, *b*, IV, *d*. Elle a été observée par VAN NAME, fig. 9, 36, 41.

Cette particularité peut s'expliquer par une disposition spéciale des branches chromosomales. Prenons d'une part les bâtonnets *a* et *d* de la FIG. 9 : si les fibres fusoriales s'attachent au côté externe des deux branches (en considérant comme côtés internes ceux qui se regardent), celles-ci s'infléchiront du même côté pendant leur écartement. Considérons d'autre part le bâtonnet *c*, FIG. 9, au milieu duquel il y a une espèce de nœud : si l'insertion se fait à droite de la branche inférieure et à gauche de la branche supérieure, comme il semble d'ailleurs le plus naturel, l'inflexion se fera en sens contraire et les crochets seront dirigés du côté opposé. Si, dans ce dernier cas, il y a au milieu du bâtonnet une nodosité, FIG. 13, *d*, nous aurons les bâtonnets en forme d'un *f* italique de VAN NAME (p. 279).

La troisième forme de chromosomes à la couronne équatoriale de la première figure est celle de *bâtonnets droits, très longs* et ne présentant aucune inflexion appréciable, FIG. 16, *c*, 17, V, *c*, VI, *a*, 18, *a*. Cette forme peut s'expliquer par l'insertion terminale des fibres fusoriales. Considérons les bâtonnets *b*, FIG. 6, *b*, *d*, FIG. 9, etc., formés de deux branches réunies l'une à l'autre à une de leurs extrémités par une courbe ou une anse régulière. Si les fibres fusoriales s'insèrent aux bouts libres des branches, elles attireront ceux-ci vers les pôles de façon à produire un bâtonnet droit et approximativement deux fois plus long que les anneaux. Les bâtonnets *c*, FIG. 6, et *e*, FIG. 17, I, représentent le début de cette attraction des extrémités libres vers les pôles; le bâtonnet *c*, FIG. 11, en représente une étape plus avancée. Toutefois, comme nous croyons que, lors de la segmentation du filament nucléinien homogène, il y a déjà des bâtonnets plus ou moins allongés, FIG. 7, *e*, 9, *c*, ceux-ci pourraient acquérir de suite, sans autre transformation qu'un léger redressement, leur forme définitive.

Dans les deux dernières formes, c'est-à-dire dans les bâtonnets à deux crochets et dans les bâtonnets droits et longs, le point de réunion des deux branches des chromosomes primitifs, ou bien le sommet de l'anse formée par elles, FIG. 6, *c*, *b*, 7, *e*, *f*, 9, *a*, *b*, *d*, *c*, etc., se trouvera comme dans la première forme, au milieu des chromosomes définitifs correspondants. Si la première division s'achève au milieu de ceux-ci, elle séparera les deux branches primitives l'une de l'autre en vue du premier retour polaire.

ART. II. *Valeur de la première division.*

Le processus, d'après lequel nous avons expliqué les diverses formes définitives des chromosomes de la première figure, est conforme à ce que GRÉGOIRE et STRASBURGER ont observé dans les plantes et à ce que JANSSENS et DE SINETY ont décrit chez les animaux.

Dans les deux cas, le résultat des transformations des chromosomes sera de disposer leurs deux branches sur le fuseau de telle façon que la première division, se faisant au milieu des trois formes différentes de chromosomes, sépare toujours les deux branches l'une de l'autre (*).

Toutefois, le point de départ de ces auteurs est bien différent du nôtre. D'après eux, les deux branches qui forment les chromosomes primitifs sont le résultat de la division longitudinale que subit le filament nucléinien bien avant sa segmentation. La première division est donc longitudinale.

(*) Contrairement à ce que BELJEF (1898) et DIXON (1895 et 1901) ont admis dans les plantes.

D'après nous, au contraire, les deux branches des chromosomes, quelle que soit leur forme, ne dérivent pas de la division longitudinale du filament nucléinien, mais constituent deux portions différentes ou transversales de ce filament comme tel : c'est ce que nous avons prouvé au chapitre de la segmentation du filament nucléinien. Dès lors, si la première division sépare ces deux branches, elle aura la valeur d'une division transversale. La segmentation du filament nucléinien homogène a donné naissance à des chromosomes doubles : le nombre normal de chromosomes, c'est-à-dire dix-huit, existe donc lors de cette segmentation, mais il est masqué par la réunion des chromosomes deux à deux; c'est la première cinèse qui sépare ceux-ci et constitue le complément de la segmentation antérieure du filament nucléinien homogène : elle a donc la valeur d'une division transversale. Cette conclusion découle naturellement, d'une part, de notre étude de la segmentation du filament nucléinien et, d'autre part, de notre étude des transformations des chromosomes primitifs.

Les auteurs qui ont étudié les planaires sont arrivés à une conclusion tout opposée : d'après eux, la première division est longitudinale ou équationnelle. Cette conclusion est la conséquence naturelle de la signification qu'ils attribuent aux deux branches des chromosomes primitifs. Ils les considèrent, du moins FRANCOTTE, VAN DER STRICHT et VAN NAME, comme issues de la division longitudinale de chromosomes indivis, qui constituent une portion simple du filament nucléinien. Si la première division sépare ces deux branches, d'après le mécanisme que nous avons déjà expliqué et qui correspond, pour les grands traits, à l'explication qu'en donnent les auteurs cités, on sera en droit de conclure que la première division est équationnelle.

Toutefois, comme le point de départ de ces auteurs n'a été nullement prouvé par eux et que d'autre part nous avons prouvé le contraire, leur conclusion au sujet de la valeur de la première division n'est pas acceptable. Pour le répéter encore une fois, *chez le Thysanozoon, les chromosomes-filles de la première cinèse de maturation sont dus à une division transversale.*

Mais hâtons-nous de faire une remarque importante pour définir et préciser la portée de cette conclusion. Nous voulons seulement signifier par là que la première cinèse sépare deux tronçons transversaux du *peloton homogène et par conséquent du peloton granuleux.*

La théorie réductionnelle de WEISMANN suppose plus que cela : elle implique la division transversale *des chromosomes que l'ovocyte a hérités des orogonies.* Or, comme nous l'avons répété plusieurs fois, nous n'avons

pas pu découvrir le lien qui rattache notre peloton granuleux aux chromosomes des ovogonies.

S'il était démontré que les propriétés diffèrent dans les diverses régions du peloton, on pourrait conclure que notre première division est réductionnelle, puisqu'elle distribue à l'ovocyte de second ordre d'une part et au globule polaire d'autre part des tronçons transversaux du peloton. Mais cette réduction ne présente pas l'ampleur de celle de WEISMANN.

Mentionnons ici un travail très intéressant à notre point de vue et publié par Miss KING, élève du professeur MORGAN (1901). L'auteur américain décrit dans l'œuf de *Bufo lentiginosus* douze paires de chromosomes : dans les cellules somatiques, le nombre de bâtonnets est vingt-quatre. L'auteur fait deux suppositions au sujet de la réduction de vingt-quatre bâtonnets à douze paires de chromosomes dans l'ovocyte, sans toutefois se prononcer ni pour l'une ni pour l'autre. D'une part, si l'arrangement en paires des chromosomes est dû à une division longitudinale de filaments nucléiniens simples, alors il doit y avoir eu réduction de nombre avant que la division longitudinale ne se soit faite. D'autre part, s'il n'y a pas eu de division longitudinale, mais seulement un accouplement de filaments isolés, alors le nombre normal de chromosomes est déjà présent au stade actuel de la maturation, - and the reduction to one-half the normal number must come in the *second* polar division - (p. 306).

Avant de faire des rapprochements entre les observations de KING et les nôtres, nous voulons faire remarquer que, dans la phrase que nous venons de citer en entier, il y a, si nous avons bien compris, une inexactitude, sans aucun doute d'ordre typographique, qui a échappé à l'auteur. Si, à la première figure, on trouve le nombre normal de chromosomes, mais accouplés deux à deux, et si la première division sépare, comme l'admet d'ailleurs KING, les deux chromosomes appairés, il est évident que ce n'est pas à la seconde division, mais bien à la *première*, que se fait la réduction, d'autant plus que l'auteur américain décrit une division longitudinale à la seconde figure.

Après cette remarque, nous pouvons comparer les observations de KING aux nôtres. Nous avons déjà dit plus haut que nous n'avons pas pu établir un rapport entre la division longitudinale des anses ovogoniales et la division longitudinale du filament nucléinien qui donne naissance aux chromosomes de maturation. À ce point de vue, nous ne pouvons pas nous prononcer dans le sens de la première supposition de KING. Nous croyons toutefois

qu'il n'y a aucun rapport entre ces deux phénomènes, parce que les anses ovogoniales se désagrègent et se défont totalement et qu'une quantité notable de nucléine qui en résulte est éliminée du noyau pendant l'accroissement de l'ovocyte. Quant à la seconde supposition de KING, elle est entièrement conforme à l'interprétation que nous avons faite de la segmentation du filament nucléinien homogène. Les deux branches des chromosomes de la première figure, FIG. 6, 7, 8, 9, constituent deux portions isolées du filament nucléinien, qui se sont accouplées. Ce sont ces deux portions qui, à la première métacinèse, se séparent en vue du premier retour polaire.

ART. III. *Premier retour polaire; division longitudinale des chromosomes-filles.* (*)

Nous avons étudié jusqu'ici la partie essentielle de la première figure, notamment les transformations des chromosomes et la valeur de la première division. La troisième partie n'est pourtant pas moins intéressante : elle nous permettra d'élucider la valeur de la deuxième cinèse.

Ce qu'il y a à faire remarquer d'abord, c'est que, dès que la première division s'est opérée, les chromosomes-filles auxquels elle donne naissance se raccourcissent notablement. Il suffit pour s'en convaincre de comparer les chromosomes *a*, *b*, FIG. 15; *b*, *c*, FIG. 16; *b*, FIG. 17, II; *e*, FIG. 17, V, etc., à leur forme correspondante *b*, FIG. 18. Les FIG. 19, *a*; 19, *b*, en constituent également des preuves. Ce raccourcissement est comparable au retrait que subissent les deux moitiés d'une corde élastique, après que celle-ci s'est brisée par suite d'une traction exercée à ses deux bouts.

Pendant le retour polaire, il s'opère dans les chromosomes-filles un phénomène de la plus haute importance, qui donne naissance à trois formes correspondant aux trois formes de la métaphase. Nous avons vu que, dans la première figure, on observe des anneaux, des chromosomes à deux crochets et des chromosomes allongés et droits. Par leur division à l'équateur, ils donneraient naissance à deux anses en forme de **v**, à deux bâtonnets recourbés en crosse à une de leurs extrémités, et à deux bâtonnets droits. Dans les trois cas, chaque chromosome est formé de la moitié des chromosomes primitifs avant la mise au fuseau, ou, ce qui revient au même, à un tronçon du filament nucléinien homogène.

Nous n'avons observé qu'une de ces formes comme telles, notamment

(*) Il est à peine nécessaire de faire remarquer que nous appelons chromosomes-filles les deux tronçons plus ou moins parallèles qui constituent chaque chromosome, quelle que soit leur origine.

deux bâtonnets en forme de crosse, FIG. 18, *b*. Toutefois, ces trois formes se retrouvent dans nos diverses figures représentant le retour polaire, FIG. 19, *a*; 19, *b*; 20, *a*; 20, *b*; 21 et 22, mais avec une certaine modification, qui ne peut être qu'une division longitudinale. Examinons attentivement ces figures. En *a* et *b*, FIG. 20, *a*, nous avons un **v** double; en *c*, *c'*, *c''*, *c'''* et *c''''*, FIG. 19, *a*, en *a* et *b*, FIG. 21, et en *a*, FIG. 22, nous avons des **v** à queue, formés de deux branches, dont l'une est dédoublée et dont l'autre, plus courte, est simple; en *a*, FIG. 19, *a*, en *c*, FIG. 19, *b*, en *c*, FIG. 20, *a*, et en *c*, *d*, FIG. 21, nous avons des simples.

Il n'y a qu'une division longitudinale qui puisse produire ces formes : les **v** doubles dériveraient de **v** simples; les **v** à queue, d'un bâtonnet à crochet dont la grande branche s'est divisée en deux et forme le **v**, et dont la petite branche ou le crochet est encore indivise et forme la queue du **v**; les **v** simples, d'un bâtonnet simple qui se serait fendillé à l'extrémité tournée vers l'équateur du fuseau. Dans les trois cas, c'est une division longitudinale d'une moitié des chromosomes de la première figure.

La preuve en est précisément dans cette concordance parfaite, d'une part, entre les trois types du retour polaire et, d'autre part, entre les trois formes résultant de l'insertion variable des bâtonnets de la première figure au fuseau.

On ne peut faire intervenir ici, pour expliquer les formes de l'anaphase, l'hypothèse d'un recourbement graduel des chromosomes pendant leur ascension polaire, hypothèse proposée au début par les botanistes, STRASBURGER (88), GUIGNARD (91), et maintenant abandonnée par la grande majorité des auteurs. En effet, il faudrait dans cette hypothèse, admettre que le **v** à queue et les **v** doubles seraient produits par le rabattement à leur angle de chromosomes à insertion médiane. Or, ce rabattement est inconcevable, surtout dans le cas de **v** doubles. De plus, on ne pourrait pas, dans cette hypothèse, rencontrer des chromosomes tels que *a* et *b*, FIG. 21, dans lesquels un futur **v** à queue ne montre deux branches de **v** que sur une petite étendue. Il est évident, dans ces chromosomes *a* et *b*, que la longue branche subit un commencement de division longitudinale.

VAN DER STRICHT n'admet au premier retour qu'une forme de chromosome : celle - d'une véritable anse, correspondant à la moitié de chaque anneau - (p. 414); parfois cependant, cette anse est le résultat de la séparation des deux branches accolées d'un bâtonnet homogène. Au milieu de celui-ci, il apparaît - une fente longitudinale incomplète, qui n'est que la

réapparition de l'interstice, qui séparait primitivement les deux branches de l'anse chromatique. * Nous devons faire remarquer que si, à la couronne équatoriale, il y a trois formes de bâtonnets, ceux-ci auront leur forme correspondante au premier retour polaire. VAN DER STRICHT a vu ces formes : il figure des bâtonnets en forme d'anneau, en forme de bâtonnets droits et longs, fig. 25, et des bâtonnets à deux crochets, fig. 27 et 32. Toutefois, il ne parle que d'une seule forme de bâtonnet au retour polaire.

On concevrait difficilement comment des bâtonnets en forme de crosse pourraient former une anse ou un **v** à branches égales : il faudrait supposer que le crochet du bâtonnet coule sur les fibres fusoriales jusqu'à atteindre la même longueur que la grande branche. Ce serait là une supposition toute gratuite que rien ne légitimerait. Il en est de même des deux moitiés des bâtonnets longs et droits. Pour former un **v**, l'insertion terminale des fibres devrait se déplacer pour devenir médiane et l'extrémité du bâtonnet tournée vers les pôles devrait s'infléchir vers l'équateur. Ce serait là encore une explication non motivée. Aussi, l'auteur ne parle pas de ces deux sortes de bâtonnets. Cette lacune est d'autant plus regrettable que les bâtonnets en question, surtout les bâtonnets en forme de crosse, sont beaucoup plus fréquents que les chromosomes en forme d'anneau. Si la division de ces formes de bâtonnets se faisait de la même manière que pour les bâtonnets en forme d'anse ou à branches fusionnées, cette division ne pourrait être que longitudinale, puisqu'elle se ferait suivant la longueur des bâtonnets. Nous croyons que la fente que VAN DER STRICHT voit apparaître d'abord à l'extrémité du segment tournée vers l'équateur du fuseau et qui se propage graduellement vers l'autre extrémité pourrait bien être la division longitudinale que subissent les deux moitiés des bâtonnets à double crochet *b*, FIG. 18, et les deux moitiés résultant de la division transversale des bâtonnets longs et droits *c*, FIG. 16, *a*, FIG. 18, *a*, FIG. 17, VI. Cette division longitudinale donnerait naissance d'une part à des **v** à queue et d'autre part à des **v** simples. Il n'y a pour le dire encore une fois qu'une division longitudinale qui puisse expliquer les trois formes de bâtonnets que montrent nos FIG. 19, *a*, 19, *b*, 20, *a*, 21 et 22.

Toutefois, si nous n'avons que ces dernières figures, nous n'oserions pas encore affirmer d'une manière absolue cette opinion. A ce stade, en effet, les chromosomes ne sont pas toujours des plus nets; souvent même, beaucoup de bâtonnets ont une forme indéfinissable que nous n'avons pu reproduire dans nos figures. On pourrait nous objecter d'ailleurs que les prétendus

v doubles et les **v** à queue résultent de l'accolement ou de la fusion partielle de deux bâtonnets voisins, d'autant plus que nos figures en question, ne montrant pas neuf bâtonnets dans chaque couronne polaire, ne permettent pas d'y contrôler si les **v** doubles ou les **v** à queue ont la valeur d'un ou de deux chromosomes. Il est vrai que, par un examen attentif des diverses coupes d'un même ovocyte, nous avons pu y compter assez souvent neuf bâtonnets, même en considérant les **v** doubles et les **v** à queue comme un seul bâtonnet; mais vu la forme indéchiffrable que présentent parfois certains chromosomes, nous ne nous sentions pas à l'abri de toute objection. Aussi, bien que ces figures et l'explication qu'elles nous suggéreraient pussent seules combler la lacune du travail de VAN DER STRICHT dont nous avons parlé et rendre compte de la diversité des formes de chromosomes de l'anaphase, qui doivent correspondre aux trois formes de chromosomes de la première couronne équatoriale, nous avons hésité pendant un certain temps à nous prononcer définitivement. Mais la découverte de la FIG. 20, *b*, qui présente le même aspect que la fig. 36 du savant professeur de Gand, est venue dissiper toutes nos hésitations et confirmer ce que nous entrevoyions déjà dans nos autres figures. Étudions minutieusement cette figure.

Dans la couronne polaire destinée au premier globule, on compte dans la même coupe neuf chromosomes; dans l'autre couronne, on ne compte que sept bâtonnets, mais la coupe suivante du même ovocyte montre encore deux autres chromosomes que nous avons dessinés dans la même figure: c'est le bâtonnet *b* à forme caractéristique et le bâtonnet à droite de *b*, que l'on ne peut pas analyser. Il n'en reste pas moins vrai que, dans les deux couronnes polaires, il y a neuf chromosomes et que leur forme et l'explication que nous en donnons ne puissent être mises en doute du chef d'un accolement ou d'une fusion éventuelle de deux chromosomes voisins.

Dans cette figure, on voit les trois formes de chromosomes dont nous avons parlé et souvent on observe la même forme en deux points symétriques des deux couronnes.

Nous y voyons deux **v** doubles, *e, e*; plusieurs **v** à queue, *c, c, b, b*, etc., et quatre **v** simples, *a, a, f, f*. Les formes *b, b*, montrent le début de la division de la longue branche d'un bâtonnet en forme de crosse: la longue branche est déjà divisée en deux à son extrémité tournée vers l'équateur de la figure; en *d, d*, cette division est complète et les deux bâtonnets qui en résultent ont la même forme que la crosse primitive, *b*, FIG. 18.

En *a*, *a*, nous avons un bâtonnet court et droit à deux branches encore accolées, et un bâtonnet dont les deux branches sont écartées et forment un **v** simple. D'après VAN DER STRICHT, cette fente constitue une division longitudinale apparente et correspond à la réapparition de l'interstice primitif qui séparait les deux branches de l'anse nucléinienne issue de la division d'un anneau et qui est parfois effacé à la suite de leur accollement ou de leur fusion. Si cette division s'achève à la seconde figure, au niveau de la partie recourbée ou à l'angle du **v**, elle aura la valeur d'une division transversale. D'après nous, au contraire, c'est une véritable division longitudinale séparant en deux branches parallèles la moitié d'un bâtonnet long et droit de la couronne équatoriale, *a*, FIG. 18; *c*, FIG. 16, *a*, FIG. 17, VI, etc. En effet, c'est la seule façon d'expliquer la formation d'un **v** à la couronne polaire aux dépens des bâtonnets longs et droits de la couronne équatoriale, dont VAN DER STRICHT n'a pas donné l'évolution ultérieure; en outre, il n'y a qu'une division longitudinale des bâtonnets en forme d'anse ou de crosse qui puisse expliquer la formation d'un **v** double et d'un **v** à queue, que nous observons dans nos diverses figures. Nous n'avons pas le moindre doute à ce sujet.

Qu'on ne dise pas que la fente que l'on voit dans les chromosomes des FIG. 19, *a*; 19, *b*; 20, *a*; 20, *b*; 21 et 22, ne constitue pas une division longitudinale véritable, mais qu'elle est le fait de l'accumulation de la nucléine à la périphérie des chromosomes. Il suffit de voir nos figures et surtout notre FIG. 20, *b*, pour être convaincu que les deux branches des chromosomes-filles sont bien individualisées et résultent d'une division longitudinale véritable.

Dans notre description, nous n'avons pas tenu compte de la dimension des chromosomes. Celle-ci est, il est vrai, parfois très différente et pourrait donner lieu à des objections que nous ne voulons pas analyser en détail. Il nous suffit de faire remarquer que la grandeur des chromosomes peut varier énormément d'un chromosome à l'autre. Aussi, la plupart des auteurs n'y attachent pas d'importance. Ce qui constitue le point capital, c'est la forme qu'ils affectent et c'est pour pouvoir expliquer les différentes formes que nous avons observées que nous avons été amené à admettre une division longitudinale des chromosomes-filles de la première figure. Cette conclusion ne nous semble pas pouvoir être mise en doute du fait de certaines différences de dimensions des divers bâtonnets.

La division longitudinale des chromosomes à l'anaphase de la première figure ne présente d'ailleurs rien d'extraordinaire. Quelle que soit la forme

des chromosomes, qu'ils soient droits ou incurvés en forme de crosse ou d'anse, ceux-ci correspondent toujours à une portion du filament nucléinien primitif. Or, nous savons déjà que souvent celui-ci présente une division longitudinale, FIG. 48, *b*, 49.

Nous ne sommes pas d'ailleurs le seul à admettre une division longitudinale des chromosomes à l'anaphase de la première figure. En dehors des botanistes : GUIGNARD (99), STRASBURGER (90) GRÉGOIRE (99), nous pouvons citer divers auteurs qui l'ont observée dans les spermatocytes, notamment : FLEMMING (87), MEVES (97), Mc. GRÉGOR (99), EISEN (99), KINGSBURY (99), Mc CLUNG (1900) JANSSENS (1901) et DE SINETY (1901). (*) Nous pouvons citer aussi tous les auteurs qui admettent une première division réductionnelle et en même temps l'apparition, dès la première cinèse, de la division longitudinale qui servira pour la seconde : PAULMIER (97), SCHAFFNER (1901), MONTGOMERY (1900 et 1901). (**) Récemment encore, Miss KING vient d'interpréter de la même façon que nous des figures très semblables aux nôtres, observées à la première anaphase de l'ovocyte de *Bufo lentiginosus*, ce qui constitue un fait très favorable à notre manière de voir.

La plupart des auteurs que nous venons de citer ont observé que la division longitudinale des chromosomes-filles apparue à la prophase de la première figure et destinée à la seconde cinèse disparaît ensuite pour réapparaître plus tard. Ne pourrait-on pas rapprocher de ce phénomène ce que nous avons observé chez le *Thysanozoon*? La division longitudinale des chromosomes-filles à l'anaphase de la première figure ne serait-elle pas la réapparition de la division longitudinale qu'ont présentée antérieurement les tronçons persistants du filament nucléinien primitif?

Dans la description qui précède, nous avons étudié des figures qui représentent l'anaphase de la première cinèse polaire et où l'on observe nettement trois formes de chromosomes. Mais à mesure que ceux-ci rapprochent des pôles, leur forme devient moins nette : ils se tassent les uns contre les autres et finalement on ne peut plus distinguer leur forme, FIG. 22, 23, 24, 25. JANSSENS dit à la page 81 (1901) que l'aspect bifide des bouts libres de

* Dans une note préliminaire actuellement sous presse à l'*Anatomischer Anzeiger*, un ami de laboratoire, M. P. LERAT, décrit une semblable division dans les ovocytes de *Cyclops*.

(*) NICHOIS (1901, p. 923) admet de même une première division réductionnelle et pense que la seconde est équationnelle, contrairement aux observations de RUCKERT et de VOM RATH.

deux filaments enroulés laisse deviner la seconde division longitudinale. Nous voyons quelque chose de semblable dans nos figures. On n'y aperçoit plus, il est vrai, la division longitudinale des chromosomes; mais ce qui ici même en constitue encore une indication, c'est que dans quelques préparations nous avons pu compter plus de dix-huit bouts libres. S'il n'y avait que neuf anses ou neuf **V** simples, on pourrait *tout au plus* voir dix-huit bouts. S'il y en a plus de dix-huit, c'est que certaines anses sont divisées longitudinalement et forment des images semblables à *b, b*, FIG. 20 *b*; *a, b*, FIG. 20 *a*; *a, b*, FIG. 21; *a*, FIG. 22, etc., que nous avons proposées comme preuve de la division longitudinale des bâtonnets à l'anaphase de la première figure.

Ici, nous pouvons faire une remarque au sujet du fuseau. Dans notre premier mémoire, nous espérions pouvoir, en étudiant le retour polaire de la première figure, trancher la question de l'existence ou de la non-existence de filaments rétracteurs ou *Zugfasern* au milieu des fibres bipolaires. Nous devons avouer que nous n'y sommes pas parvenu. Lors de l'anaphase, le nombre des fibres bipolaires ne semble pas diminué et le fuseau a la même ampleur qu'auparavant, FIG. 22, 23, 24, 25. On comprend toutefois que la disparition, au milieu du fuseau, de quelques filaments rétracteurs ne puisse guère s'apercevoir. Nous croyons, d'après ce que nous avons dit de l'insertion des fibres fusoriales, que le contact de ces fibres ou au moins de quelques-unes d'entre elles avec les bâtonnets n'est pas seulement un simple accollement, mais constitue une véritable attache pour ces fibres.

ART. IV. *Formation du premier globule polaire.*

Nous n'allons pas nous étendre longuement sur cette question. Ce qui nous importait surtout dans notre étude du problème de la réduction, c'était le mode de répartition des chromosomes dans les deux globules polaires. VAN DER STRICHT a d'ailleurs longuement décrit la formation de ces derniers.

Comme nous l'avons vu dans notre premier mémoire, le centrosome se décolore difficilement dans les œufs non pondus, FIG. 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12. Quand on parvient à le décolorer, on y aperçoit au centre un granule irrégulier, corpuscule central ou centriole. (*) La partie décolorée, couche médullaire de VAN BENEDEN ou centrosphère, a une structure amorphe claire, FIG. 13.

(*) Remarquons qu'à la p. 120 de notre mémoire de 1901, il y a une faute d'impression qui nous a échappé lors de la correction. Le centriole peut être considéré comme le corpuscule primitif qui se *dégagerait* et non pas qui se *désagrègerait* au milieu de la centrosphère.

Dans les œufs pondus, le centriole est le plus souvent dédoublé, FIG. 14. Les FIG. 16 et 21 constituent apparemment des exceptions. Toutefois, il est possible que la coupe ait enlevé un des deux centrioles. Parfois, on trouve à côté d'eux des granules plus petits, FIG. 14 et 15. Comme VAN DER STRICHT l'a déjà fait remarquer, les deux centrioles se trouvent le plus souvent sur le trajet d'une ligne plus ou moins perpendiculaire à l'axe du fuseau, FIG. 20 a, 22, 23, 24, 25. Ils ne sont entourés d'aucune irradiation particulière. Dans les œufs pondus, la centrosphère a une structure réticulée; ses contours sont souvent frangés, FIG. 19 a, et à sa périphérie, on trouve un grand nombre de microsomes, qui servent d'attache aux rayons astériens. La zone plus claire ou zone corticale, entourant la centrosphère dans les œufs non pondus (voir Pl. I), ne s'observe pas dans nos préparations d'ovocytes pondus.

Les diverses particularités qui précèdent sont communes aux deux centrosomes.

Avant la ponte des ovocytes, il est difficile de dire quel centrosome est destiné à être éliminé avec le premier globule polaire; mais immédiatement après la ponte, il y a un des pôles de la figure qui se rapproche de la périphérie; les enclaves sont repoussées et les rayons astériens qui se trouvent dans la direction du fuseau se mettent immédiatement en contact avec la périphérie de l'ovocyte. A cet endroit, on observe souvent une dépression, FIG. 18. Nous ne savons quelle est la destinée de ces rayons: toujours est-il qu'ils disparaissent et que le centrosome périphérique vient toucher immédiatement la membrane ovulaire et se continue avec elle sans démarcation précise, FIG. 19 a, 19 b, 20 a, 20 b. Bientôt, nous ne savons par quel mécanisme, le centrosome fait saillie lui-même, FIG. 22, 23. Cette saillie devient plus grande et s'étrangle circulairement, FIG. 24, 25. Fait important à signaler, c'est le centrosome tout seul qui forme cette saillie: la forme et la structure sont absolument les mêmes dans les deux.

Nous croyons utile d'attirer principalement l'attention sur ce fait: nous n'avons jamais vu d'autres portions que le centrosome extrêmement développé prendre part avec les chromosomes à la constitution du premier globule polaire. D'autre part, FRANCOTTE (97, p. 48), dans un animal tout à fait voisin du *Thysanozoon*, le *Prostheceracus vittatus*, a observé la division du premier globule polaire. Il a même pu, dans un cas, observer le phénomène capital de la fécondation efficace d'un globule polaire par un spermatozoïde. Nous ne trouvons pas dans le mémoire de FRANCOTTE de données touchant

la participation des divers éléments de l'ovocyte à la constitution du globule polaire; mais étant donné ce que nous venons de décrire dans le *Thysanozoon*, on pourrait se demander s'il n'y a pas dans les observations de FRANCOTTE une confirmation des vues que nous avons exposées dans notre premier mémoire au sujet de la nature de la centrosphère, tendant à considérer celle-ci, non pas comme un organe *sui generis*, mais comme une portion différenciée du contenu cellulaire, qui se dépose autour du corpuscule primitif.

Dès que la saillie centrosomique est bien limitée, les chromosomes, groupés ensemble, s'engagent dans cette saillie, FIG. 25, tout en restant unis à la couronne polaire interne par les fibres fusoriales : le premier globule polaire est ainsi constitué. Le pédicule formé par les fibres fusoriales s'allonge et s'étrangle de plus en plus, FIG. 25, 26 : quelques rares fibres fusoriales persistent et parfois l'on croirait y découvrir une espèce de plaque cellulaire, FIG. 27. Ce serait là probablement le corpuscule intermédiaire de VAN DER STRICHT, qui est formé par le rapprochement et la fusion des filaments connectifs (p. 419). Finalement, le pédicule se brise et le premier globule polaire se trouve libéré, FIG. 31, 33 a, 35 a. Pendant un certain temps, on y observe les deux centrioles, FIG. 23, 27, 31, mais bientôt ceux-ci disparaissent. Les chromosomes restent parfois plus ou moins isolés, FIG. 35 a, mais le plus souvent, ils se ramassent en un magma indéchiffrable. Ils sont plongés dans un fin réticulum, dont la structure est identique à celle des centrosomes avant la formation du premier globule. Nous n'avons jamais observé, comme FRANCOTTE et VON KLINCKOWSTRÖM, la division cinétique du premier globule polaire.

ART. V. *Couronne polaire restant dans l'œuf.*

Les chromosomes du pôle interne de la figure s'arrangent de la même façon que ceux du pôle externe : ils se mettent immédiatement en contact avec le centrosome interne, mais n'y pénètrent pas. Ils restent un certain temps tassés les uns contre les autres, ce qui pour le moment ne permet pas de distinguer leur forme. VAN DER STRICHT affirme que, - après l'expulsion du premier globule polaire, les segments nucléiniens, toujours au nombre de neuf, ne rentrent point au repos. -

C'est là certes le cas le plus général. Cependant, nous avons observé plusieurs fois la transformation de la couronne polaire interne en un noyau vésiculeux, FIG. 26, 28, 29. Les segments s'y sont désagrégés en granules et

forment une espèce de noyau renfermant un filament nucléinien granuleux. Nous y avons même observé parfois un petit nucléole. Les segments nucléiniens peuvent donc rentrer en un certain repos. Nous ne savons si le filament nucléinien de ces noyaux se serait transformé en chromosomes pour prendre part à la seconde figure. Toujours est-il que les ovocytes qui présentent cette particularité offrent le même aspect que les œufs, où les chromosomes ne rentrent pas au stade de repos et passent directement à la deuxième figure, FIG. 28 et 30.

CHAPITRE III.

Seconde cinèse polaire.

ART. 1. *Formation de la seconde figure.*

Après l'expulsion du premier globule polaire, la deuxième figure ne tarde pas à se former. VAN DER STRICHT a observé - des cas, où il n'existe qu'un seul corpuscule à l'intérieur de la couche médullaire de l'ovocyte de second ordre..... Ce corpuscule s'allonge sous forme de bâtonnet très colorable, aux extrémités duquel on voit apparaître, de chaque côté, un corpuscule central. Les deux sont reliés par un pont intermédiaire, l'ébauche du futur fuseau central - (p. 421). Nous n'avons jamais observé ce mode de division d'un corpuscule unique. Au stade dont nous parlons, nous ne voyons qu'un seul corpuscule assez irrégulier, FIG. 13 et 50, et à un stade plus avancé, nous en voyons deux. Toutefois, avant la formation de la seconde figure, les centrioles ne sont entourés, dans nos préparations, de quelque irradiation que ce soit, FIG. 24 et 27. Cet état des centrioles du pôle interne ne persiste pas longtemps après l'expulsion du premier globule. Bientôt, ils deviennent les centres immédiats de nouvelles irradiations, FIG. 28, 30. Les fibres qui réunissent les deux centrioles nous semblent dues simplement à la rencontre des irradiations qui en partent de tous côtés; elles ne paraissent pas se former aux dépens du corpuscule central et ne préexistent pas comme un pont intermédiaire ou ébauche du futur fuseau central, puisque, avant leur activité, les centrioles, déjà notablement distants l'un de l'autre, ne sont entourés d'aucune irradiation. Les fibres bipolaires se forment donc d'emblée, en même temps que les fibres astériennes. C'est là d'ailleurs l'opinion la plus accréditée actuellement. L'exis-

tence d'une centrodosome de HEIDENHAIN (94) ou d'un Centralspindel dans le sens de HERMANN est mise en doute par beaucoup d'auteurs [MAC FARLAND (97), JANSSENS (1901), BOUIN et COLLIN (1901), etc.].

A mesure que les centrioles s'entourent de nouvelles irradiations, ils s'éloignent l'un de l'autre, FIG. 30, et arrivent à deux pôles opposés de la centrosphère primitive, qui garde encore sa couronne de microsomes, FIG. 31, et qui s'est plus ou moins allongée. A ce moment, les fibres bipolaires ou fusoriales occupent toute la centrosphère primitive. Elles semblent s'être formées aux dépens du réseau de la centrosphère. CONKLIN (1901, p. 282) a observé le même phénomène dans la sphère qui reste dans l'œuf de *Crepidula* après l'expulsion du premier globule polaire.

MAC FARLAND croit que les rayons de la deuxième figure sont tous de nouvelle formation, mais qu'ils se forment avant que les portions externes des irradiations de l'ancien aster aient entièrement disparu. Nous croyons que cette opinion peut s'appliquer à l'ovocyte du *Thysanozoon*. Il suffit, pour s'en convaincre, de jeter un coup d'œil sur nos FIG. 28 d'une part et 31 d'autre part. Dans la première, à côté des irradiations nouvelles, il y a encore des irradiations anciennes, qui aboutissent à la périphérie de la centrosphère; dans la seconde, les irradiations anciennes aboutissant à la centrosphère ont toutes disparu et toutes les irradiations actuelles aboutissent aux deux centrioles. VAN NAME (p. 285), au contraire, admet que les rayons astériens du pôle interne de la première figure persistent en partie comme rayons de la deuxième figure.

Quant à la structure des deux nouveaux centres d'irradiation, nous sommes heureux de pouvoir confirmer l'opinion de VAN DER STRICHT, qui considère le centriole ou corpuscule central comme le centre d'insertion des fibres astériennes et fusoriales de la deuxième figure. Dans nos figures aussi, - on voit les filaments d'abord très pâles, plus distincts ensuite, traverser la couche médullaire (de l'ancienne sphère) pour s'insérer sur le corpuscule central. - Celui-ci n'est pas entouré d'une centrosphère et, contrairement aux observations de MAC FARLAND (97), BOVERI (1901), etc., doit être considéré comme le centre producteur et le centre d'insertion des fibres de la deuxième figure. Nos FIG. 24, 27, d'une part et les FIG. 28, 30, 31, 32, d'autre part en constituent une preuve évidente. Dans ces deux sortes de figures, les centrioles ont sensiblement le même volume et ne sont pas entourés d'une centrosphère.

Toutefois, quand la deuxième figure est complètement achevée, les

corpuscules polaires augmentent de volume, FIG. 33 a, 34, 55; dans la FIG. 53, nous avons même cru observer une espèce de centrosphère renfermant un centriole et deux autres petits granules; mais cela n'empêche pas que, au début de la figure, les centrioles aient été le centre producteur et le centre d'insertion des fibres astériennes et fusoriales. C'est là l'opinion que nous avons déjà défendue dans notre premier mémoire.

Ici, nous pouvons signaler un détail intéressant.

Nous avons observé deux fois la division du corpuscule externe de la deuxième figure, FIG. 54. Cette division donne naissance à une figure tripolaire. Les deux centrioles qui en résultent sont également le centre de deux systèmes d'irradiations. Entre les centrioles, celles-ci, en se rencontrant, forment une espèce de fuseau. Nous ne savons pas quelle importance il faut attribuer à cette particularité et quelle signification elle pourrait avoir. Toutefois, comme, à notre connaissance, la division du corpuscule externe de la deuxième figure n'a pas encore été décrite, nous avons cru intéressant de la signaler.

Voyons maintenant la *disposition* de la seconde figure. Comme VAN DER STRICHT l'a déjà fait remarquer, la ligne réunissant les deux centrioles est plus ou moins perpendiculaire à la direction du premier fuseau, FIG. 24, 27, 30; mais dès le début de la formation de la deuxième figure, cette direction change: l'axe du second fuseau subit une rotation graduelle, qui le met à peu près dans la même direction par rapport à l'ovocyte que celui du premier fuseau, FIG. 31, 32, 33 a. Le fuseau s'allonge et atteint à peu près le même volume que le premier. Nous n'en dirons pas davantage pour ne pas répéter ce que VAN DER STRICHT a décrit longuement dans son mémoire bien connu. Nous commencerons immédiatement l'étude plus intéressante des chromosomes.

ART. II. *Forme et disposition des chromosomes.*

Dès la constitution de la seconde figure, les chromosomes, groupés encore ensemble dans la FIG. 30, se dégagent les uns des autres, FIG. 31, 32, et viennent se ranger sur le fuseau naissant. Leur disposition est d'abord irrégulière: ils sont éparpillés à la périphérie du fuseau, FIG. 33 a, 33 b, mais ils ne tardent pas à pénétrer à l'intérieur de celui-ci, FIG. 34, 36.

Pendant cette pérégrination, les chromosomes affectent la même forme que celle du premier retour polaire. On y trouve des anses ou des V doubles FIG. 31, 3, 34, 1, 37, 1 et 2, 40, 3 et 5, 41, 1 et 2, etc.; des V à queue, c'est-à-

dire des bâtonnets dont une des branches a subi une division longitudinale et dont l'autre est encore plus ou moins indivise, FIG. 33 *a*, 3, 33 *b*, 1 et 2, 32, 1 et 2; et en troisième lieu, des **V** simples, FIG. 31, 1 et 2, 33 *b*, 3 et 4, 33 *a*, 1 et 4.

Parfois encore, on trouve des formes qu'on ne peut pas préciser. Les figures où les trois formes caractéristiques sont très claires sont toutefois assez nombreuses pour permettre d'en tirer des conclusions sûres. Nous avons même reproduit plus de ces figures qu'il ne serait nécessaire. Nous y avons tenu, pour qu'on ne puisse pas nous objecter d'avoir conclu d'une première figure venue.

VAN DER STRICHT, comme nous l'avons déjà dit, ne décrit qu'une seule forme de chromosomes à la deuxième figure. Cette forme est constituée par une anse ou un **V** qui dérive, dit l'auteur, de la division médiane d'un anneau de la première figure, ou d'un bâtonnet homogène, dont les deux branches étaient accolées et qui se fendille suivant sa longueur. Quelle que soit leur provenance, les anses de la deuxième figure représentent une moitié recourbée en **V** des chromosomes-filles primitifs. La division que ces anses subissent, à la seconde figure, à leur angle, bien qu'en apparence elle soit longitudinale, aurait la valeur d'une division transversale.

Nous avons déjà prouvé, en parlant du premier retour polaire, que cette interprétation n'est pas acceptable. Nous devons pourtant ici prévenir une objection.

Le savant professeur de Gand écrit, p. 429, que, lorsque - la division transversale est achevée, on obtient deux bâtonnets courts et minces, qui au début sont plus ou moins parallèles. Plus tard, ils peuvent devenir plus irréguliers, s'infléchir sous forme de crochets ou même d'anse (fig. 48) -. D'après ce qui précède, on pourrait nous objecter que les bâtonnets en forme d'anse, FIG. 36 *a*, 1 et 2, 36 *b*, 4, 38, 1, 2, 3, etc., etc., sont dus à un recourbement des bâtonnets droits issus de la division à son angle d'un **V** simple.

Cette objection aurait une certaine valeur, si nous n'avions observé ces formes d'anses ou de crochets qu'au stade de la couronne équatoriale de la deuxième figure, où la séparation des deux chromosomes-filles est en train de se faire. Heureusement, nous avons pu suivre ces anses depuis la première anaphase : à la fin de celle-ci, le tassement des chromosomes empêche de voir ces formes; mais immédiatement après la dispersion des bâtonnets sur la deuxième figure, on les retrouve avec le même aspect.

Nos FIG. 31, 33 *b*, 33 *a*, 32, 34, montrent non seulement des **V** ou des anses simples à deux branches parallèles, mais aussi des **V** doubles et des **V** à crochets. On ne peut donc pas considérer ces deux dernières formes comme le résultat d'un recourbement ultérieur des bâtonnets droits issus de la division à son angle d'un **V** simple.

ART. III. *Valeur de la seconde division.*

Il nous reste à prouver que les deux moitiés longitudinales des chromosomes du premier retour polaire se séparent à la deuxième métacinèse.

Avant que les chromosomes de la deuxième figure ne se placent à l'équateur du fuseau, les deux moitiés sont, il est vrai, déjà bien individualisées, mais le plus souvent elles sont encore plus ou moins réunies. On y voit accolés soit deux **V**, FIG. 34, 1, 37, 1, 2, 40, 3, 41, 1, 2, soit deux bâtonnets en forme de crosse ou à crochet, FIG. 37, 3, 40, 2 et 7, 41, 6, etc., soit deux bâtonnets droits, FIG. 34, 2 et 5, 40, 1, 41, 4, etc. Parfois, les deux moitiés des chromosomes sont croisées et engendrent les figures cruciformes observées par VAN DER STRICHT, FRANCOTTE et VON KLINCKOWSTRÖM, FIG. 36 *b*, 1 et 2, 40, 6, 35 *b*, 1 et 3. Mais ces deux moitiés ne tardent pas à se séparer. Il en résulte soit deux **V**, FIG. 36 *a*, 1, 38, 3, soit deux bâtonnets à crochet, FIG. 36 *a*, 5, 36 *b*, 4, 35 *a*, 1 et 3, 39, 1, 55, 3, soit deux bâtonnets droits, FIG. 36 *b*, 3, 55, 1.

D'après ce qui précède, nous nous croyons en droit d'affirmer que c'est bien la division longitudinale apparue à la première anaphase qui produit les chromosomes-filles de la seconde cinèse. Ajoutons que c'est d'après ces données seules que l'on peut expliquer l'évolution des trois formes de bâtonnets de la première figure.

Nous croyons donc avoir établi clairement la relation de la deuxième division à la première. Les figures sur lesquelles nous nous sommes basé nous semblent pleinement démonstratives et ne peuvent donner lieu au moindre doute, contrairement à ce que VAN NAME a insinué au sujet de celles de VAN DER STRICHT : « AS VAN DER STRICHT appears to have done with some degree of certainty » (p. 286). Nous pouvons d'ailleurs appeler à l'appui de notre manière de voir les nombreux travaux qui, dans ces dernières années surtout, ont établi l'existence d'une division longitudinale à l'anaphase de la première figure dans les cinèses de maturation, tant chez les animaux que chez les végétaux. Les observations de KING sont particulièrement intéressantes à ce point de vue. C'est, en effet, cet auteur qui, le

premier, a prouvé l'existence de ce phénomène dans *les ovocytes*. Avant d'avoir pris connaissance de ce travail, nous avons abouti au même résultat pour le *Thysanozoon*. Aussi, lorsque nous avons reçu de la part de Miss KING un exemplaire de son travail, nous nous sommes empressé de lui faire savoir que, dans un prochain mémoire, nous aurions l'occasion de confirmer sa manière de voir. Nous croyons avoir pleinement réussi par le présent travail à accomplir notre promesse.

ART. IV. *Second retour polaire.*

Le second retour polaire ne présente rien d'intéressant. Les deux bâtonnets-filles se trouvent disposés au niveau de l'équateur avec leur forme caractéristique, FIG. 35 a, PL. III, FIG. 55, PL. IV. En remontant aux pôles, ils conservent la même forme. On y trouve des bâtonnets en forme de V, des bâtonnets à crochet ou en forme de crosse et des bâtonnets droits, FIG. 57. Lorsqu'ils ont atteint les deux pôles, leur forme est moins nette, mais comme l'a déjà dit VAN DER STRICHT, ils subissent un allongement, un étirement, accompagné d'un amincissement, FIG. 58.

ART. V. *Formation du second globule polaire.*

Le centrosome du pôle externe, avant la seconde anaphase, est généralement arrondi et plus grand que le centrosome interne, FIG. 33 a, 34, 55. Nous ne pouvons rien affirmer de positif au sujet de sa structure intime. Dans la FIG. 38, nous voyons, il est vrai, une espèce de centrosphère, mais sur la coupe même, la figure est tellement vague qu'il est difficile de se prononcer. Dans beaucoup d'ovocytes au stade de la métacinèse et de l'anaphase, on ne trouve plus de centrosome et, de même que VON KLINCKOWSTRÖM, nous ne pouvons soupçonner son existence antérieure que par la convergence des rayons astériens et fusoriaux en un point, FIG. 35 a, 57, 58. Nous croyons qu'il a entièrement disparu : on n'en trouve d'ailleurs plus de trace ultérieurement. Au niveau de la couronne polaire externe, il se fait un soulèvement de la paroi ovulaire, FIG. 53. Les rayons astériens y persistent encore en partie. Les chromosomes, tassés les uns sur les autres, s'engagent dans la saillie, qui se pédiculise, FIG. 56. Les rayons astériens ont disparu dans cette figure : mais on y voit encore un faisceau de filaments comme reste du fuseau. Dans la préparation même, ce détail est bien plus net qu'il ne l'est indiqué dans la figure. Le pédicule s'amincit, FIG. 52, et finalement se brise, FIG. 60. Les chromosomes se transforment en une masse irrégulière,

où on ne peut plus reconnaître leur forme. Particularité intéressante à signaler et naturelle d'ailleurs, le second globule est notablement plus petit que le premier. A ce moment, on ne trouve de trace du centrosome dans aucun des deux globules.

ART. VI. *Couronne polaire restant dans l'œuf.*

Le centrosome du pôle interne de la figure est généralement aplati et plus petit que le centrosome externe, FIG. 34, 54, 55. Une fois cependant, nous avons cru y observer une espèce de centrosphère renfermant trois granules, FIG. 53. Mais, encore une fois, nous n'osons rien affirmer au sujet de sa structure intime. Comme le centrosome externe, il ne tarde pas à disparaître, FIG. 35 a, 57, 53. Lorsque les chromosomes sont arrivés au pôle, les rayons astériens ne convergent même plus vers un seul point. Nous pouvons dire avec MAC FARLAND (p. 244) : - In keinem Falle habe ich bei den Schlussstadien der zweiten Richtungstheilung ein Eicentrosoma finden können. -

Dans les FIG. 58, 52, 56, 60, nous avons dessiné les ovocytes avec tous leurs détails. La zone ovulaire entourant la figure est dépourvue d'enclaves et présente une structure nettement réticulée : le dessin ne peut guère en rendre la finesse. Les rayons astériens sont en continuité avec ce réseau. Quant le second globule est expulsé, les rayons astériens diminuent de nombre, FIG. 52, 56, 60; mais les traces de l'aster persistent longtemps après l'expulsion du globule : elles ne disparaissent que quelque temps avant l'apparition des centrosomes de segmentation.

Les chromosomes se tassent également ici les uns contre les autres et ne tardent pas à se transformer en noyau ou pronucleus ovulaire. Ils deviennent granuleux, FIG. 56, et toute la couronne polaire interne se transforme en un noyau irrégulier et multilobé, FIG. 52 et 59. Nous ne saurions dire s'il y a autant de vésicules ou de lobes qu'il existe de chromosomes, comme l'a décrit VAN DER STRICHT. La FIG. 59, c et b, représente les pronuclei femelles des FIG. 52 et 60, dessinés à un grossissement plus fort. On y voit un filament nucléinien granuleux décrivant de nombreuses circonvolutions et issu de la désagrégation des chromosomes, FIG. 56, 59 a. Nous ne pouvons en donner ici une description plus détaillée.

Avant de terminer, nous voulons appeler l'attention sur la FIG. 60 : elle est vraiment admirable. Elle représente une coupe unique d'un même ovocyte et renferme tous les éléments intéressants qu'on peut trouver au stade où

se trouve cet ovocyte. On y voit les deux globules polaires, le pronucleus femelle, *n. ov.*, avec les restes de l'aster, et le noyau spermatique, *n. sp.*, qui renferme un nucléole clair et un filament nucléinien granuleux. Les pronuclei sont plongés dans un réseau cytoplasmique d'une finesse extrême.

Lorsqu'on compare cette figure, ainsi que les FIG. 56, 52, 58, qui sont également d'une beauté remarquable, aux fig. 53, 54, 55, 56, de VAN DER STRICHT, qui représentent des stades analogues, on est frappé de la grande différence de ces deux sortes de figures. Les figures du professeur de Gand montrent, en effet, des sphères attractives évidentes, alors que dans nos figures, qui sont pourtant d'une fixation et d'une coloration parfaites, il n'y a jamais rien de semblable. VAN DER STRICHT ne l'a d'ailleurs pas vue partout à la deuxième figure, car - il peut se faire, dit-il, que la sphère attractive perde de sa netteté au point de vue de sa délimitation, fig. 44, 46 (p. 422). - Ailleurs encore, il dit (p. 368) : - on obtient des séries de coupes, où les corpuscules centraux du second fuseau de maturation se colorent très bien, tandis qu'on ne parvient pas à faire apparaître les mêmes éléments au niveau du premier fuseau, et *inversement*. - A quoi faut-il attribuer cette différence si grande? Il serait malaisé de le dire. Mais si nos FIG. 52, 56, 57, 58, 60, peuvent à la rigueur, vu la persistance des fibres astériennes, faire songer à une sphère attractive ovulaire, il n'en est pas de même des ovocytes où les deux pronuclei sont déjà rapprochés l'un de l'autre et se disposent à la fusion préparatoire à la première segmentation. Alors, on ne voit plus de trace d'un aster ou d'une sphère quelconque et, si nous pouvons déjà faire connaître l'impression que nous ont fait naître nos figures, nous dirions que les corpuscules de segmentation semblent apparaître *de novo* et produire de nouveaux asters sur place. En tout cas, l'aster ovulaire n'est pour rien dans l'apparition des sphères de segmentation. Avant de nous lancer dans notre future profession médicale, nous espérons encore avoir le loisir d'élucider les phénomènes intéressants de la première segmentation.

CONCLUSIONS.

Pour faciliter au lecteur l'étude de nos observations, nous croyons utile de réunir en un résumé succinct les faits principaux que nous croyons avoir établis au cours de ce travail.

Chapitre I. — Histoire de l'élément nucléinien jusqu'à la formation des chromosomes inclusivement.

ART. I. Les ovocytes les plus jeunes renferment probablement neuf anses nucléiniennes. Ces anses dérivent de la dernière division ovogoniale et sont peut-être formées par la soudure, deux à deux, des dix-huit chromosomes ovogoniaux lors de l'anaphase de cette division.

ART. II. Les anses ovogoniales présentent un indice de division longitudinale. Celle-ci n'est pourtant pas l'apparition précoce de la division longitudinale, que montrent plus tard les bâtonnets d'une des figures de maturation. En effet, ces anses ne persistent pas comme telles, mais elles se désagrègent et se défont totalement, de sorte que, entre ces anses et le filament nucléinien granuleux qui s'en dégage, on ne peut découvrir la moindre liaison de forme. Il en résulte que la théorie de MONTGOMERY au sujet de la réduction ne semble pas applicable à l'ovocyte du *Thysanozoon*.

Pendant que s'élabore le filament nucléinien par la juxtaposition des granules dérivés de la désagrégation des anses ovogoniales, une certaine quantité de la nucléine ovulaire émigre dans le protoplasme. Cette réduction quantitative n'a aucun rapport avec le phénomène de la réduction numérique des chromosomes.

ART. III. Après l'apparition des centrosomes, le filament nucléinien se désagrège en partie et donne naissance à des granules isolés qui se résolvent et ne participent pas à la formation des chromosomes (*nucléine résiduelle*). Les tronçons qui persistent après cette désagrégation partielle présentent souvent une division longitudinale. Cette division semble être en rapport avec la division longitudinale que présenteront les chromosomes à l'anaphase de la première figure et qui prépare les chromosomes-filles de la seconde figure.

ART. IV. Pendant que la nucléine résiduelle disparaît par une fonte progressive, les *tronçons persistants* du filament nucléinien se fusionnent

en une espèce de peloton, ramassé en une zone assez restreinte du noyau. Ce peloton perd la structure granuleuse du filament nucléinien et masque, en se condensant, la division longitudinale qui s'observe antérieurement. Toute portion du peloton condensé *homogène* provient du filament granuleux comme tel et non pas d'une division longitudinale de ce filament.

ART. V. Les chromosomes de la première figure sont formés de deux branches. Tantôt, celles-ci sont réunies l'une à l'autre par leurs deux extrémités et forment un anneau; tantôt, elles ne sont fusionnées que par une de leurs extrémités, tout en restant plus ou moins parallèles; tantôt, elles sont en continuité l'une avec l'autre par une de leurs extrémités et s'écartent l'une de l'autre par l'autre extrémité. Ces trois formes de chromosomes existent d'emblée après la segmentation du filament nucléinien homogène. Les deux branches qui les constituent ne dérivent pas de la division longitudinale d'un chromosome primitivement simple, mais elles constituent deux portions transversales du *filament nucléinien homogène*. En effet, celui-ci ne se segmente pas de distance en distance en donnant neuf tronçons simples qui constitueraient chacun un chromosome simple et qui se cliveraient ensuite suivant leur longueur, mais il se fragmente de façon à ce que deux portions plus ou moins parallèles se coupent au même niveau ou en un point symétrique. Ce sont alors ces deux portions voisines et transversales du peloton homogène qui constituent un seul chromosome.

Chapitre II. — Première cinèse polaire

ART. I. A la métaphase de la première figure, on trouve trois formes de chromosomes : des anneaux ou des ellipses, des bâtonnets recourbés en crochet à leurs deux extrémités et des bâtonnets longs et droits. Ces trois formes sont dues à l'insertion différente des fibres fusoriales sur les deux branches qui constituent les chromosomes lors de leur genèse. Si l'insertion est médiane sur les anneaux primaires, nous aurons à la métaphase des anneaux secondaires tout différents des premiers; si l'insertion est subterminale sur les deux branches des chromosomes primitifs, nous aurons des bâtonnets plus ou moins allongés, dont les deux extrémités sont recourbées en forme de crochet; si l'insertion est terminale, nous aurons des bâtonnets longs et droits ne présentant aucune inflexion.

ART. II. La première division se fait au milieu des trois formes différentes de chromosomes et sépare par conséquent l'une de l'autre les deux

branches des chromosomes primitifs. Comme celles-ci ne sont pas dues à la division longitudinale d'un chromosome primitivement simple, mais constituent deux portions transversales du filament nucléinien homogène, la première cinèse s'accompagne d'une division transversale.

ART. III. Les chromosomes-filles résultant de la division au milieu de leur longueur des trois formes de bâtonnets de la première figure subissent, à la première anaphase, une division longitudinale, qui donne naissance, soit à des **V** doubles, soit à des **V** à queue, soit à des **V** simples. Les **V** doubles dérivent des chromosomes-filles à insertion médiane; les **V** à queue, des bâtonnets à crochet, dont la grande branche s'est clivée longitudinalement et forme le **V**, et dont la petite branche ou le crochet est encore indivis et forme la queue du **V**; les **V** simples dérivent des bâtonnets droits, qui se sont fendillés à leur extrémité tournée vers l'équateur du fuseau.

ART. IV. Le premier globule polaire est formé exclusivement par la *centrosphère* périphérique et les chromosomes du pôle externe. Dans notre mémoire de 1901, nous avons émis l'opinion que la *centrosphère* est due à l'accumulation et à la différenciation du contenu cellulaire autour du corpuscule primitif, agent producteur de l'aster. Étant donné que le premier globule polaire est une cellule complète qui peut se diviser et même, dans les planaires, être fécondée (FRANCOTTE), nous trouvons dans l'origine centrosphérique du premier globule la confirmation de notre opinion touchant la nature de la *centrosphère*.

ART. V. Les chromosomes restant dans l'œuf après l'expulsion du premier globule se tassent les uns contre les autres, en masquant la forme qu'ils possédaient à la première anaphase.

Chapitre III. — Seconde cinèse polaire.

ART. I. Les deux centrioles comme tels, c'est-à-dire non entourés d'une *centrosphère*, constituent les centres producteurs et les centres d'insertion des fibres de la seconde figure. Ils sont le point de départ de deux nouveaux asters et sont reliés l'un à l'autre par un petit fuseau formé exclusivement dans la *centrosphère* par la rencontre des irradiations nouvelles. Ce fuseau ne préexiste pas sous la forme d'une *centrodesmose* ou d'un *Centralspindel* de HERMANN.

ART. II. Pendant que le second fuseau de maturation ainsi formé s'accroît, les chromosomes se séparent les uns des autres et réapparaissent avec la forme qu'ils avaient au stade de la première anaphase. Le centriole périphérique se divise parfois en deux corpuscules qui engendrent deux asters. Il en résulte une figure tripolaire.

ART. III. Les deux moitiés longitudinales des chromosomes-filles de la première anaphase se séparent l'une de l'autre à la seconde métaphase. Les chromosomes-filles de la seconde cinèse de maturation sont dus par conséquent à une division longitudinale.

ART. IV. A la seconde anaphase, on observe des bâtonnets en forme de **v**, des bâtonnets en forme de crosse et des bâtonnets droits.

ART. V et VI. Les centrosomes de la seconde figure disparaissent avant la formation du second globule. Les chromosomes qui restent dans l'œuf se transforment en un noyau vésiculeux multilobé, près duquel il n'y a aucune trace d'une sphère ovulaire.

En terminant ce mémoire, nous sommes heureux de présenter nos sincères remerciements à Messieurs les professeurs JANSSENS et GRÉGOIRE pour les bienveillants encouragements et les conseils éclairés qu'ils n'ont cessé de nous prodiguer pendant tout le cours de nos recherches.

BIBLIOGRAPHIE.

- 98 *Belajeff* : Ueber die Reductionstheilung des Pflanzenkernes; Ber. d. deutsch. botan. Gesell., Bd. XVI, Heft 2.
- 84 *Blechnann, F.* : Ueber eine Metamorphose der Kerne in der Ovarial-eiern und den Beginn der Blastodermbildung bei den Ameisen; Verhandl. nat.-med. Ver. Heidelberg, III.
- 1901 *Bouin et Collin* : Contribution à l'étude de la division cellulaire chez les Myriapodes; Anat. Anz., Bd. XX, n^o 5 und 6.
- 1901 *Boveri, Th.* : Zellen-Studien Heft 4 : Ueber die Natur der Centrosomen; Jena.
- 1901 *Conklin, Edw. G.* : Centrosome and Sphere in the Maturation, Fertilization and Cleavage of *Crepidula*; Anat. Anz., Bd. XIX.
- 95 *Divon* : On the Chromosomes of *Lilium longilorum*; Proc. of the Roy. Irish Ac., vol. 3.
- 1901 *Id.* : On the first mitosis of the spore-mother-cells of *Lilium*; Notes from Botanical School of Trinity College, Dublin.
- 99 *Eisen* : Spermatogenesis of *Batrachoseps*; Journ. of Morph., September.
- 87 *Flemming* : Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 29.
- 79 *Źol, H.* : Rech. sur la fécond., etc.; Mém. Soc. phys. et d'hist. nat. de Genève, t. XXVI.
- 97 *Francotte, P.* : Recherches sur la maturation, la fécondation et la segmentation chez les Polyclades; Mém. cour. publiés par l'Ac. des sciences de Belg., t. 55.
- 98 *Id.* : Id.; Arch de zool. expér. et gén., 3^e série, t. VI, n^o 2.
- 98 *Gardiner, Edw.* : The growth of the ovum, formation of the polar bodies, and the fertilization in *Polychærus caudatus*; Journ. of Morph., vol. XV, n^o 1.
- 1901 *Gérard, Oct.* : L'ovocyte de premier ordre du *Prosthoceraus vittatus*; La Cellule, t. XVIII, 1^r fasc.
- 99 *Grégoire, V.* : Les cinèses polliniques chez les Liliacées; La Cellule, t. XVI, 2^e fasc.
- 99 *Griffin, B. B.* : Studies on the maturation, fertilization and cleavage of *Thalassema* and *Zirphœa*; Journ. of Morph., vol. XV, n^o 3.

- 99 *Guignard* : Sur la formation du pollen et la réduction chromatique dans le *Naias major* : Comptes Rendus de l'Ac. des Sc., janvier.
- 92 *Häcker*, I. : Die Eibildung bei *Cyclops* und *Cantocamptus*; Zool. Jahrb., Abth. f. Anat. u. Ontog. der Thiere, Bd. 5, 2. Heft.
- 99 *Id.* : Die Reifungserscheinungen; Erg. der Anat. u. Entwick., Bd. VIII.
- 99 *Id.* : Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre.
- 94 *Heidenhain*, M. : Neue Untersuchungen über die Centrakörper und ihre Beziehung zum Kern und Zellenprotoplasma; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 43.
- 1901 *Janssens*, F. A. : La spermatogénèse chez les tritons; La Cellule, t. XIX, 1^r fasc.
- 1902 *Id.* : Die Spermatogenese bei den Tritonen nebst einigen Bemerkungen, etc.; Anat. Anz., B. XXI, n^o 5.
- 1901 *King*, H. D. : The maturation and fertilization of the egg of *Bufo lentiginosus*; Journ. of Morph., vol. XVII, n^o 2.
- 99 *Kingsbury*, B. F. : The reducing divisions in the spermatogenesis of *Desmognathus fusca*; Zool. Bull., V. 2. (D'après *Wilson* : The Cell, 1901.)
- 97 *Klinckowström*, A. v. : Beiträge f. Kenntn. der Eireifung und Befruchtung bei *Prostheceraeus vittatus*; Arch. f. mikr. Anat., B. 48
- 95 *Korschelt*, E. : Ueber Kernteilung, Eireifung und Befruchtung bei *Ophryotrocha puerilis*; Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 60.
- 90 *Lameere*, A. : Études sur la reproduction II. Recherches sur la réduction karyogamique; Bruxelles.
- 99 *Mac Clung*, C. E. : A peculiar nuclear element in the male reproductive cells of Insects; Zool. Bull., V. 2.
- 97 *Mac Farland*, F. M. : Celluläre Studien an Mollusken-Eiern; Zool. Jahrb., Abth. f. Anat. u. Ontog. der Thiere, Bd. X.
- 99 *Mac Gregor* : The spermatogenesis of *Amphiuma*; Journ. of Morph., XV.
- 97 *Meves*, Fr. : Ueber die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von *Salamandra maculosa*; Arch. f. mikr. Anat., 48.
- 1900 *Montgomery jr.*, Ph. D. : The spermatogenesis of *Peripatus*; Zool. Jahrb., Abth. f. Anat. und Ontog. der Thiere, B. XIV, Heft 2.
- 1901 *Id.* : A Study of the Chromosomes of the germ cells of metazoa; Trans. of Amer. Phil. Soc., vol. XX.
- 1901 *Nichols*, L. : The spermatogenesis of *Oniscus asellus*; The American Naturalist, XXXV, n^o 419, Nov.
- 99 *Paulmier*, F. C. : The spermatogenesis of *Anasa tristis*; Journ. of Morph., XV, Supplément.

- 93 Rückert, J. : Die Chromatinreduction bei der Reifung der Sexualzellen; Ergebn. d. Anat. u. Entwickl., Bd. III.
- 1901 Schaffner : A Contribution to the life-history of *Erythronium*; Botanical Gazette.
- 1900 Schockaert, R. : Nouvelles recherches sur la maturation de l'ovocyte de premier ordre du *Thysanozoon Brocchi*; Anat. Anz., B. 18, n° 1.
- 1901 Id. : Nieuwe onderzoekingen over de rijpwording van het ei van *Thysanozoon Brocchi*; Handelingen van het vierde Vlaamsch natuur- en geneeskundig Congres van Brussel.
- 1901 Id. : L'ovogénèse chez le *Thysanozoon Brocchi* (Première partie); La Cellule, t. XVIII, 1^{re} fasc.
- 81 Selenka, E. : Ueber eine eigenthümliche Art der Kernmetamorphose; Biol. Centralbl., B. 1.
- 99 Strasburger : Histologische Beiträge, VI.
- 93 Todaro, Fr : Sopra lo sviluppo della Seps chalcides; Ricerche Lab. Anat. Roma, vol. 3, fasc. 1.
- 93 van Bambeke, Ch. : Contributions à l'histoire de la constitution de l'œuf. II. Élimination d'éléments nucléaires dans l'œuf ovarien de *Scorpana scrofa L.*; Bull. Ac. r. des Sc. de Belg., 63^e année, 3^e série, t. XXV, n° 4, et Arch. de Biol., t. XIII.
- 84 van Beneden et Julien : La spermatogénèse chez l'*Ascaris megalocéphala*; Bull. de l'Ac. r. des Sc. de Belg., 3^e série, t. VII.
- 97 van der Stricht, O. : La formation des deux globules polaires et l'apparition de spermocentres dans l'œuf de *Thysanozoon Brocchi*; Arch. de Biol., t. XV.
- 99 Id. : Étude de plusieurs anomalies intéressantes lors de la formation des globules polaires; Livre jubilaire dédié à Charles Van Bambeke, etc.
- 99 van Name, W. G : The maturation, fertilization and early development of the Planarians; Trans. of the Connect. Ac., vol X.
- 95 vom Rath : Neue Beiträge zur Frage der Chromatinreduction in der Samen- und Eicirife; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 46.
- 95 Wilson, Ed. B. : Archoplasm, centrosome and chromatin in the Seaurchin egg; Journ. of Morph., vol. XI, n° 2.

EXPLICATION DES FIGURES.

Nos figures ont été dessinées au prisme de NACHET, avec l'objectif apochromatique à immersion homogène de distance focale 2 et d'ouverture numérique 1,30 de ZEISS, et avec l'oculaire 8 ou 12. Faisons toutefois remarquer qu'il y a une cause d'erreur dans l'appréciation de la grandeur de nos figures d'après ce grossissement. Nous nous sommes, en effet, servi, pour le dessin, de deux pupitres ayant une hauteur différente. Il en résulte que des figures de même grandeur dessinées au même objectif et au même oculaire présentent dans le dessin des dimensions inégales. Toutefois, la forme des éléments cellulaires que nous avons étudiés n'en reste pas moins la même partout et c'est surtout sur cette forme que nous avons basé nos explications.

PLANCHE I.

Œufs non pondus.

FIG. 1. Coupe renfermant, avec celle de la FIG. 2, tout l'élément nucléinien de l'ovocyte au stade de la formation des chromosomes. Les portions *a*, *b*, *c*, dessinées isolément peuvent déjà représenter des chromosomes. Les portions *a'*, *b'*, *c'*, appartiennent à un autre ovocyte et montrent, par leurs contours irréguliers, la transition entre le filament nucléinien granuleux et le filament nucléinien condensé et homogène.

FIG. 2. Longues portions du filament homogène, qui doivent encore se segmenter en plusieurs chromosomes.

FIG. 3. Le filament nucléinien homogène forme deux pelotes, décrivant un certain nombre de circonvolutions, peu claires en *b*, mais très apparentes en *a*.

FIG. 4 et 5. Deux coupes d'un même ovocyte. Dessin plus clair que ne l'est la préparation même. Les chromosomes y semblent formés de deux portions plus ou moins parallèles et réunies en anse. Cette figure serait insuffisante pour élucider la question de la formation des chromosomes.

FIG. 6 et 7. Deux coupes d'un même ovocyte : figure admirable de netteté. Fuseau d'origine nucléaire en voie de formation. En considérant *d*, *d*, comme appartenant à un même chromosome, on y compte neuf bâtonnets. Ceux-ci sont formés de deux portions du filament nucléinien homogène réunies, soit par leurs deux bouts en formant des anneaux, *a*, *a*, soit par un de leurs bouts.

FIG. 8, 9, 10. Trois coupes d'un même ovocyte : mêmes formes de chromosomes; la portion nucléinienne, *a*, FIG. 10, est difficile à interpréter. La membrane nucléaire est encore intacte et le spermatozoïde, *sp.*, a déjà pénétré jusque dans la figure.

FIG. 11. Fuseau formé exclusivement dans le noyau; nucléine résiduelle disséminée sous la forme de granules sur les fibres fusoriales. Mise au fuseau des chromosomes : leurs deux portions sont différemment attirées vers les pôles.

FIG. 12. Fuseau bien constitué; la nucléine résiduelle a disparu. Chromosomes sous la forme d'anneaux, *a*, *b* et *d*, dont on ne peut préciser la signification; en *c*, on voit deux bouts réunis au milieu du chromosome; en *e*, on a un chromosome allongé, et en *f*, un chromosome à deux crochets.

FIG. 13. Première figure achevée dans un ovocyte prêt à être pondu. A gauche, le centrosome est entièrement décoloré; le centriole *y* est bien évident; à droite, le centriole est encore entouré d'une zone plus sombre. Le spermatozoïde se trouve dans la figure, *sp.* Les chromosomes ont leur forme définitive : *d*, chromosome à double crochet et nodosité médiane; *e*, chromosome en forme d'anneau; *a*, chromosome à deux crochets sans nodosité médiane; *b*, chromosome en forme d'anneau.

PLANCHE II.

Œufs pondus.

FIG. 14 et 15. Deux coupes d'un même ovocyte. Centrioles et autres granules dans les centrosomes. Diverses formes de chromosomes : *b*, FIG. 14, anneau, à l'équateur duquel on voit la réunion des deux branches primitives; *a*, *c*, *a*, *b*, chromosomes allongés et à crochets; *d*, FIG. 15, division médiane d'un chromosome qui a la valeur soit d'un anneau secondaire, soit d'un bâtonnet allongé, dont les deux moitiés séparées se seraient divisées longitudinalement.

FIG. 16. Centriole unique et trois formes de chromosomes : anneau, *d*; chromosomes à deux crochets, *b*, *e*, *a*; chromosome allongé et droit, *c*.

FIG. 17. Diverses formes de chromosomes qu'on peut rapprocher des trois types précédents et qui ont été prises dans plusieurs préparations.

FIG. 18. Bâtonnet allongé, *a*, et bâtonnet à deux crochets, *b*, mais raccourci après sa division médiane.

FIG. 19 *a*. Pôle externe arrivé à la périphérie de l'œuf; centrosomes frangés, à structure réticulée et renfermant deux centrioles placés perpendiculairement à la direction du fuseau. Chromosomes-filles au début de l'anaphase et dérivés de la division médiane de chromosomes à deux crochets. La longue branche subit une division longitudinale, tandis que la courte branche ou le crochet est encore simple. Il en résulte une espèce de **V** à queue.

FIG. 19 *b*. Même forme en *a* et *b*; en *c*, il y a un **V** simple.

FIG. 20 *a*. **V** double, *a*, dérivé de la division longitudinale d'un **V** simple; **V** à queue, *b*; **V** simple, *c*.

FIG. 20 *b*. Figure très importante et la plus démonstrative que nous ayons trouvée. La couronne polaire externe renferme neuf chromosomes; l'interne n'en renferme que sept, mais dans la coupe suivante on trouve les deux autres. Nous les avons dessinés tous dans une même figure. Dans cette figure, on trouve trois formes de chromosomes : des **V** doubles, *e*, *e*; des bâtonnets à crochet, dont la grande branche est déjà divisée longitudinalement, *c*, *c*, *b*, *b*; en *d*, *d*, les bâtonnets à crochets sont entièrement divisés en long et ont donné naissance à deux bâtonnets à crochet; en *a*, *a* et *f*, on a en troisième lieu des **V** simples à deux branches plus ou moins parallèles. Pour pouvoir admettre un même processus de division pour tous les chromosomes, on doit considérer les **V** simples comme formés par la division longitudinale des deux moitiés transversales d'un bâtonnet droit et allongé, qui s'est raccourci après la première métacinèse.

FIG. 21. Bâtonnets à crochet dont la longue branche est divisée longitudinalement, *a*, *b*; **V** simples, *c*, *d*.

FIG. 22. Le centrosome périphérique commence à faire saillie en vue de la formation du premier globule polaire; *a* et *b*, chromosomes à crochets, dont la longue branche est divisée longitudinalement. Au pôle interne, les chromosomes sont tassés les uns contre les autres et ont atteint le centrosome; celui-ci présente une couronne de microsomes.

FIG. 23. Le centrosome périphérique fait une saillie plus grande que dans la figure précédente. Les chromosomes, tassés les uns contre les autres, sont appliqués contre les centrosomes.

PLANCHE III.

Oeufs pondus.

FIG. 24. Même disposition que dans la figure précédente, mais la saillie centrosomique est plus grande et s'étrangle circulairement. Les centrioles, placés perpendiculairement à la direction du fuseau, se trouvent nus, sans trace d'irradiations ou de « Centralspindel », au milieu du réticulum centrosomique.

FIG. 25. Saillie centrosomique plus grande et pédiculisée. Dans le pédicule, on voit les fibres fusoriales.

FIG. 26. Le pédicule du globule polaire est très aminci et renferme des traces du fuseau. Les chromosomes de la couronne polaire interne se sont transformés en un noyau irrégulier, renfermant un réticulum et des granules nucléiniques. Les chromosomes du globule polaire forment une masse informe. A côté de celle-ci, on trouve deux granules, qui sont peut-être les centrioles en voie de disparition.

FIG. 27. Globule polaire pédiculisé et renfermant une masse nucléinienne informe. Le centrosome interne renferme deux centrioles encore inactifs.

FIG. 28. Les deux centrioles du centrosome interne s'entourent d'irradiations, tandis que les anciennes irradiations astériennes aboutissent encore à la couronne de microsomes du centrosome. Les chromosomes ont formé un noyau au repos. Le noyau spermatique, *n. sp.*, déjà bien formé, renferme quatre nucléoles et une espèce de filament nucléinien.

FIG. 29. Noyau issu de la transformation des chromosomes de la couronne polaire interne.

FIG. 30. Les deux centrioles se sont écartés assez loin l'un de l'autre; celui de droite a atteint la périphérie du centrosome et constitue le centre de toutes les irradiations de ce côté; celui de gauche n'a pas encore atteint la périphérie centrosomique et, à côté des irradiations nouvelles qui y aboutissent, il persiste encore d'anciennes irradiations astériennes. Entre les deux, on voit des fibres bipolaires, simulant un « Centralspindel » et formées par la rencontre des irradiations nouvelles. Au bas de la figure, on voit le noyau spermatique.

FIG. 31. Les deux centrioles occupent les deux extrémités du centrosome de la première figure, qui s'est allongée et possède encore sa couronne de microsomes. Les fibres bipolaires formant le futur fuseau occupent toute l'étendue du centrosome; les irradiations des deux asters aboutissent toutes de part et d'autre aux deux centrioles. Dans la figure, on trouve un chromosome en forme de **V** double, 3, et deux chromosomes en forme de **V** simple, 1 et 2.

FIG. 32. Figure un peu plus avancée que la précédente; le fuseau s'est allongé et la couronne de microsomes, limite du centrosome de la première figure, a disparu. Les chromosomes 1 et 2 sont formés de deux branches recourbées à une de leurs extrémités et dérivées de la division longitudinale d'un bâtonnet à crochet.

FIG. 33 *a*. Figure plus avancée encore. Les centrioles sont un peu plus grands que précédemment et ont des contours irréguliers. Cette figure renferme, ainsi que la FIG. 33 *b*, deux formes de chromosomes.

FIG. 34. Deuxième figure presque achevée. Le centriole externe est arrondi, l'interne est un peu aplati. On voit des chromosomes formés de deux **V**, 1 et 4, et des chromosomes formés de deux branches droites, 2, ou recourbées, 3, 5.

FIG. 35 *a*. Deuxième figure ayant acquis son volume maximum; les centrosomes ne se voient pas. Noyau spermatique compact, *n. sp.* Couronne équatoriale où les chromosomes-filles se séparent.

FIG. 35 *b*. Diverses formes de chromosomes.

FIG. 36, *a* et *b*. Couronnes équatoriales d'une même figure renfermant neuf chromosomes. Les chromosomes filles y sont en voie de séparation. En *a*, 1 et 2, ils ont la forme d'un **V**; en *a*, 3 et *b*, 3, on a deux branches droites et parallèles; en *a*, 5 et *b*, 4, on a deux bâtonnets à crochet; en *b*, 1 et 2, les deux branches sont croisées et engendrent de cette façon une figure cruciforme.

FIG. 37. Couronne équatoriale où les deux chromosomes-filles ne sont pas encore séparés. On y voit les trois formes de chromosomes.

FIG. 38. Séparation des chromosomes-filles de la deuxième figure.

FIG. 39. Chromosomes-filles séparés, recourbés la plupart en crochet. En *a* et *b*, on a, à une certaine mise au point, l'aspect des groupes quaternes des auteurs; mais en abaissant la vis micrométrique, on constate que les quatre granules formés par les bouts des deux branches sont reliés par la partie médiane de ces branches.

FIG. 40 et 41. Chromosomes de la deuxième figure avant leur division complète et présentant les trois formes, c'est-à-dire la forme de **V** ou de deux branches droites et parallèles, la forme de deux branches à crochet et la forme de deux **V** accolés.

PLANCHE IV.

Oeufs non pondus (FIG. 52 exceptée).

FIG. 42, *a* et *b*. Ovocytes les plus jeunes, renfermant probablement neuf anses nucléiniennes, d'origine ovogoniale, à structure granuleuse et présentant un indice de division longitudinale. En *x*, on a un corpuscule aplati énigmatique.

FIG. 42*c*. Les anses nucléiniennes se sont dégagées les unes des autres; *x* = corpuscule aplati énigmatique.

FIG. 43, *a* et *b*. Désagrégation des anses ovogoniales et début de la formation du filament nucléinien granuleux.

FIG. 44. Ovocyte caractéristique du début de la maturation. Protoplasme réticulé renfermant des fragments nucléiniens sortis du noyau. Filament nucléinien granuleux et à structure uniforme. Nucléole coiffé d'une calotte chromatophile et renfermant quelques nucléolules. *Filament lisse*, origine du centrosome.

FIG. 45. Filament nucléinien plus épais et décrivant de nombreuses circonvolutions. *Filament lisse* appliqué contre un nucléole clair.

FIG. 46. Ovocyte où les deux centrosomes viennent d'apparaître sous la forme d'un corpuscule aplati. Le filament nucléinien se désagrège en partie : dans le noyau, on trouve des granules sidérophiles isolés et des portions du filament nucléinien plus minces et en continuité avec les portions plus épaisses.

FIG. 47. Désagrégation plus avancée et mise en relief des tronçons persistants, où l'on trouve par ci par là une indication de division longitudinale.

FIG. 48, *a* et *b*. Deux coupes d'un même œuf. Les tronçons persistants du filament nucléinien sont plus épais et tranchent nettement au milieu de filaments plus ou moins incolores; en 48*b*, ils présentent une division longitudinale manifeste.

FIG. 49. Division longitudinale de quelques tronçons persistants du filament nucléinien. Ces tronçons conservent encore une structure granuleuse.

FIG. 50. *a* et *b*. Deux coupes d'un même ovocyte représentant tout l'élément nucléinien. En *b*, on a, à côté de deux tronçons séparés par le rasoir, un filament nucléinien épais, homogène et entortillé sur lui-même; en *a*, on a, outre trois fragments isolés, un chromosome tout formé, constitué de deux portions réunies en anneau et en tout semblables à une portion quelconque du filament entortillé *b*.

FIG. 51. Noyau au stade de la segmentation du filament nucléinien homogène. En *a*, celui-ci forme une pelote; en *b* et *c*, on voit deux portions plus ou moins individualisées et formées de deux branches semblables à une portion quelconque de la pelote *a*.

FIG. 52. Voir après FIG. 54.

FIG. 53. Centrosome de la deuxième figure plus ou moins aplati et renfermant trois granules. Nous devons pourtant faire remarquer que l'image était très peu claire au microscope.

FIG. 54. Deuxième figure, dont le centrosome interne est aplati et dont le centrosome périphérique s'est dédoublé en deux corpuscules. Ceux-ci sont le centre d'irradiations astériennes et sont reliés l'un à l'autre par quelques fibres. Il en résulte une figure tripolaire.

(Eufs pondus.

FIG. 52. Deuxième figure, montrant les deux globules polaires, dont le second est encore relié à l'ovocyte par un pédicule. Dans les deux, les chromosomes forment une masse informe. Les chromosomes restés dans l'œuf ont formé un noyau bilobé renfermant un fin filament nucléinien, dessiné à un plus fort grossissement dans la FIG. 59*c*. Il n'y a pas de trace d'une sphère ovulaire: on ne voit que quelques rayons astériens convergeant à l'emplacement antérieur du centrosome interne. Le pronucleus femelle est plongé dans un beau réseau cytoplasmique, qui se prolonge entre les enclaves vitellines.

FIG. 55. Deuxième figure au stade de la métacinèse: le centrosome externe est plus volumineux que l'interne. Les chromosomes-filles, qui se disposent au retour polaire, ont ici encore les trois formes: celle d'un bâtonnet droit, 1, celle d'un V, 2, et celle d'un bâtonnet à crochet, 3.

FIG. 56. Deuxième figure au moment de l'expulsion du second globule. La masse nucléinienne de celui-ci est plus petite que celle du premier globule. Astar ovulaire encore puissant, mais sans trace de centrosome ou de sphère. Les chromosomes, ramassés les uns contre les autres, deviennent granuleux.

FIG. 57. Anaphase de la deuxième figure. Pas de sphère ni de centrosome visible. Le premier globule renferme une masse nucléinienne compacte.

FIG. 58. Deuxième figure à la fin de l'anaphase. Fuseau et asters puissants, mais pas d'apparence de sphère ni de centrosome. Les chromosomes occupent les

deux pôles de la figure. Ceux du pôle externe s'engagent dans une saillie, qui va constituer le second globule polaire. Le premier globule se trouve à côté de la saillie.

FIG. 59, *a*. Figure montrant la désagrégation en granules des chromosomes restant dans l'œuf et la formation du pronucleus femelle.

FIG. 59 *b*. Pronucleus femelle de la FIG. 60, dessiné à un plus fort grossissement. Il est multilobé et renferme un fin filament nucléinien granuleux.

FIG. 59 *c*. Voir FIG. 52.

FIG. 60. Figure montrant les deux globules polaires expulsés et les deux pronuclei, *n. ov.* et *n. sp.*, le tout se trouvant dans une même coupe.

TABLE DES MATIÈRES.

	PAGES
Introduction	103

CHAPITRE I.

Histoire de l'élément nucléinien jusqu'à la formation des chromosomes inclusivement.

ART. I. Anses ovogoniales	108
ART. II. Désagrégation des anses ovogoniales et accroissement de l'ovocyte	110
ART. III. Désagrégation d'une partie du filament nucléinien	114
ART. IV. Condensation et fusion bout à bout des tronçons persistants du filament nucléinien	117
ART. V. Formation des chromosomes	122

CHAPITRE II.

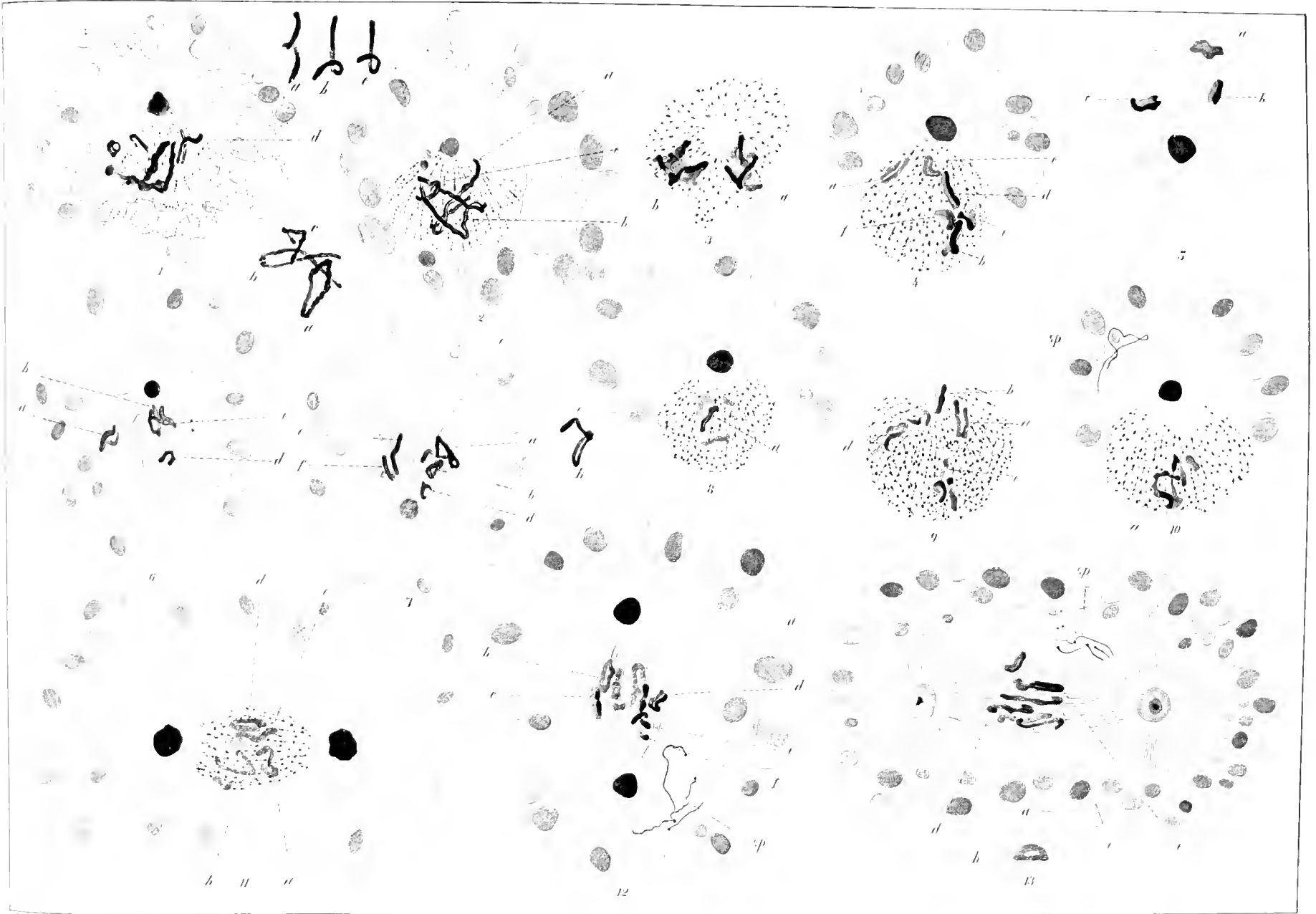
Première cinèse polaire.

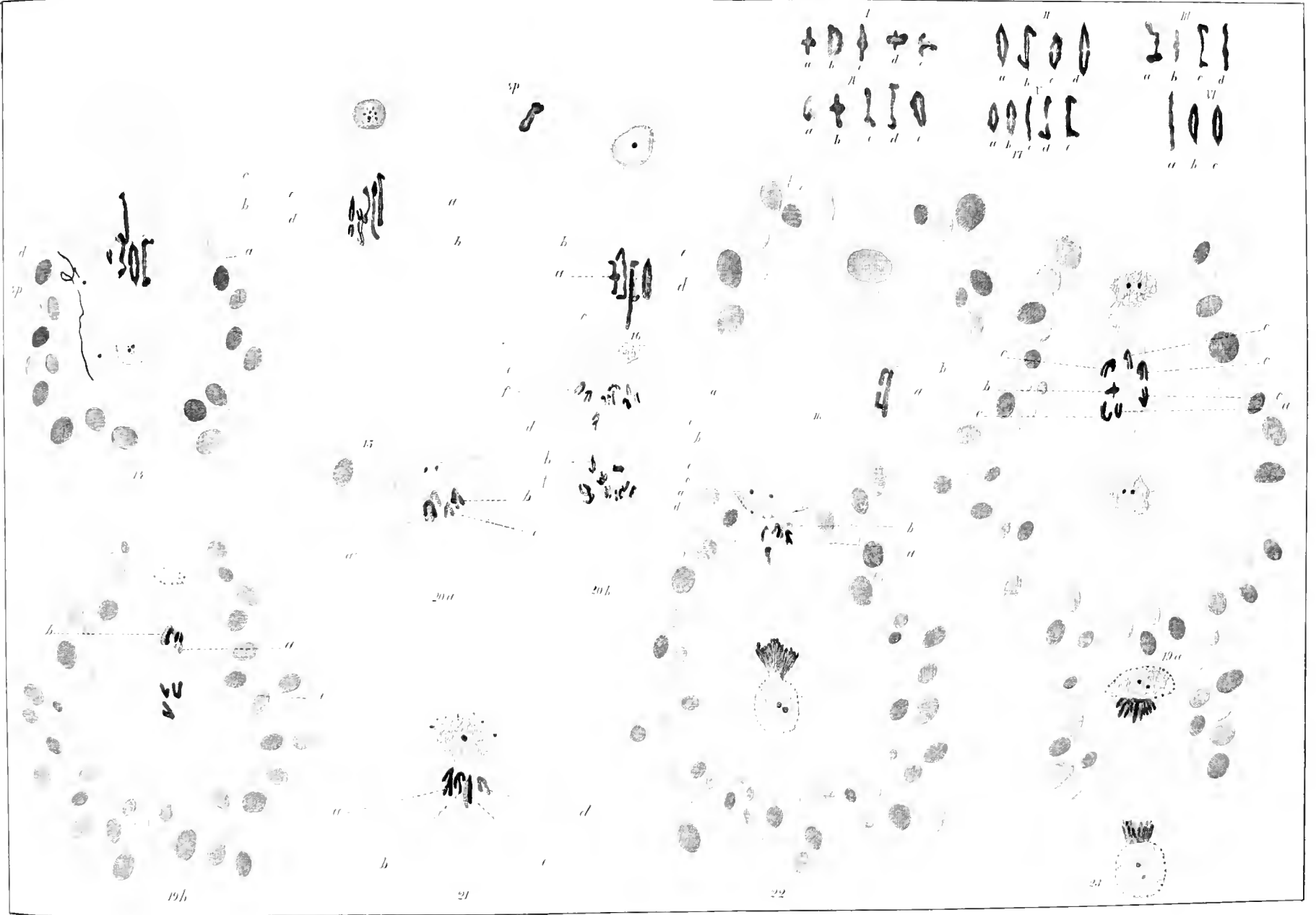
ART. I. Forme définitive des chromosomes de la première figure de maturation.	133
ART. II. Valeur de la première division	140
ART. III. Premier retour polaire; division longitudinale des chromosomes-filles	143
ART. IV. Formation du premier globule polaire.	149
ART. V. Couronne polaire restant dans l'œuf	151

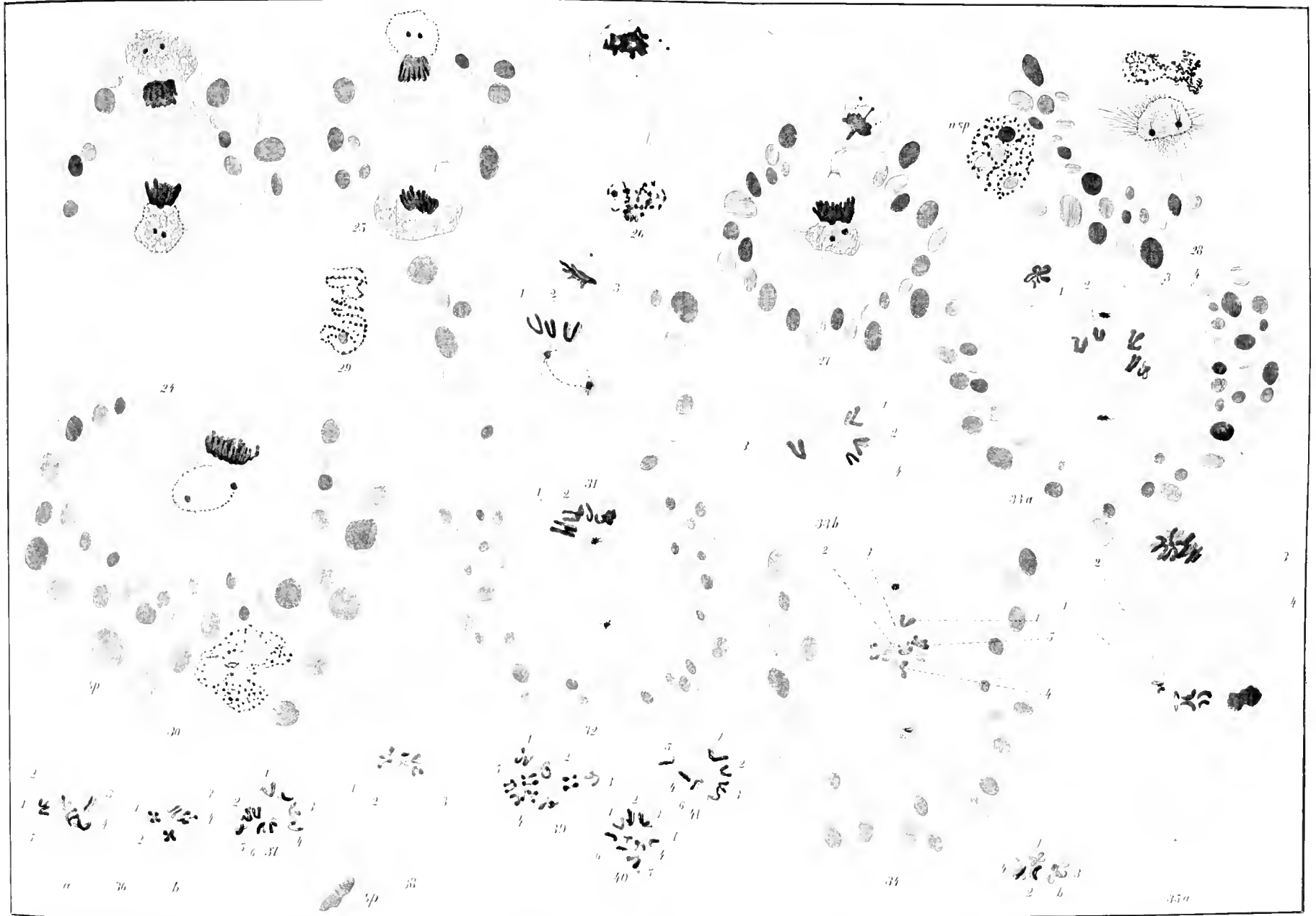
CHAPITRE III.

Seconde cinèse polaire.

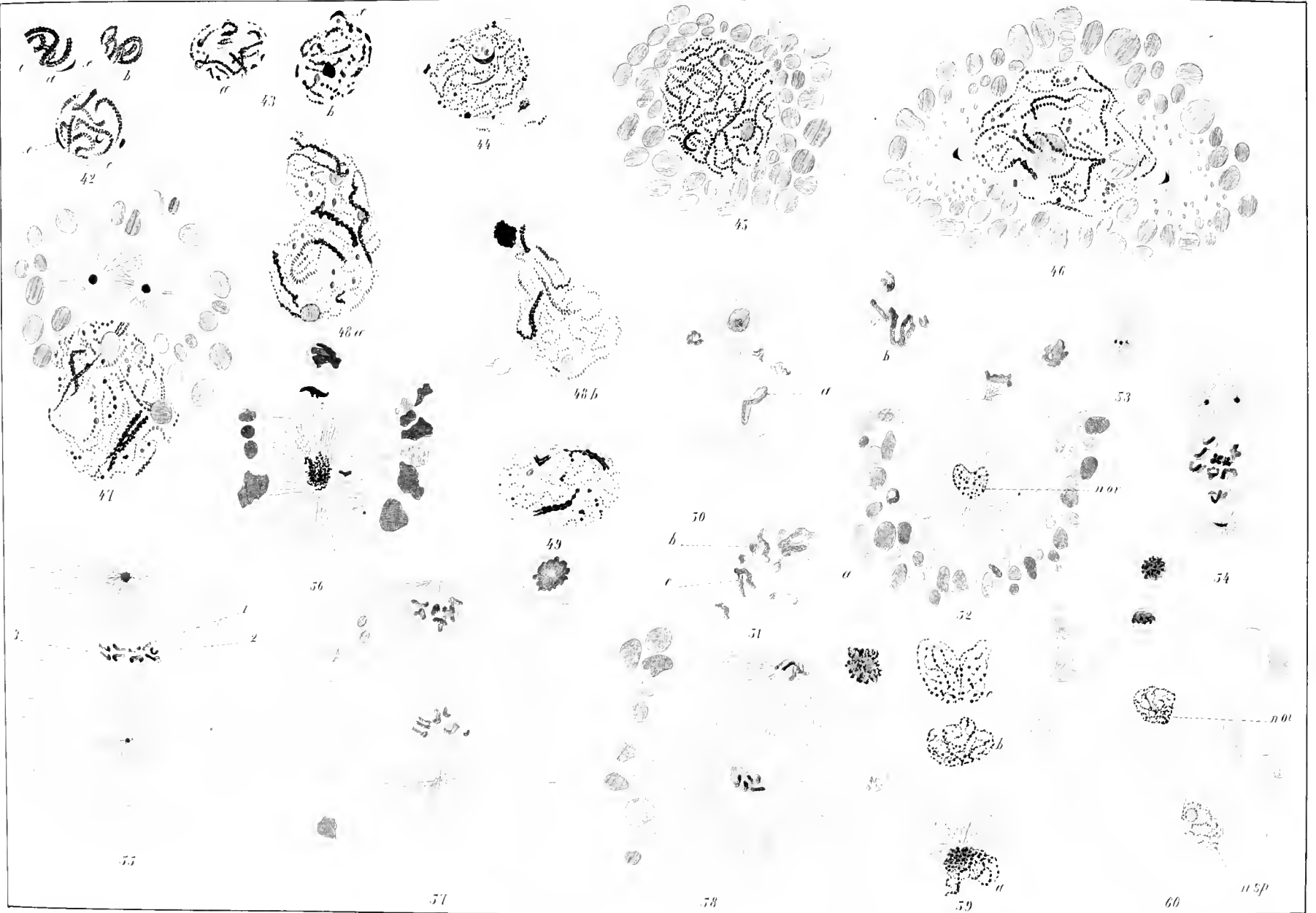
ART. I. Formation de la seconde figure.	152
ART. II. Forme et disposition des chromosomes.	154
ART. III. Valeur de la seconde division	156
ART. IV. Second retour polaire	157
ART. V. Formation du second globule polaire	157
ART. VI. Couronne polaire restant dans l'œuf	158
Conclusions	160
Bibliographie	165
Explication des figures	169













Nouvelles recherches sur le Nebenkern

et la

régression du fuseau caryocinétique

PAR

Arthur BOLLES LEE

(Mémoire déposé le 20 juin 1902.)

NOUVELLES RECHERCHES

SUR

le *Nebenkern* et la régression du fuseau caryocinétique.

INTRODUCTION.

Le lecteur se souvient probablement que, dans un travail maintenant ancien (1), j'ai conclu (p. 256) qu'à la fin de la cinèse - la portion polaire du fuseau subit une dégénérescence pâteuse-granuleuse, qui la transforme dans le corps décrit par certains auteurs sous le nom de *Nebenkern*, par d'autres sous le nom de *sphère attractive* -.

Cette conclusion reposait surtout (op. cit., p. 241) sur ce que le *Nebenkern* - consiste en un paquet de *bâtonnets* ou courts filaments réfringents, enrobés dans une gangue commune de substance hyaline et sans forme propre, c'est-à-dire qu'il a la composition d'un fuseau, s'il n'en a pas la forme -. J'ai décrit en détail la forme et les réactions de ces *bâtonnets* ou filaments, et j'ai trouvé que, d'après l'ensemble de tous leurs caractères, forme, rapports, position, nombre, ils ne pouvaient être autre chose que des filaments de fuseau en dégénérescence.

La logique de cette conclusion me paraît irréprochable. Cependant mes observations souffraient d'une lacune regrettable. Je n'avais pu alors suivre par l'observation directe toute l'histoire des filaments de la portion polaire du fuseau. D'après ce que j'avais pu voir, il semblait (op. cit., p. 238) que - les filaments et la substance hyaline qui les réunit sont englobés momentanément ensemble dans le jeune noyau-fille à la fin de la cinèse -. J'ai ajouté (op. cit., p. 240) : - il est infiniment probable qu'il [le cône fusorial ainsi constitué] sort de cette position pour devenir un *Nebenkern* -.

(1) ARTHUR BOLLES LEE : *Sur le Nebenkern et sur la formation du fuseau dans les spermatoocytes des Helix*; La Cellule, t. XI, 2^{me} fasc., 1896, p. 225.

Mais j'ai expressément reconnu qu'il était impossible d'établir par l'observation ce qu'il devenait - à partir du moment où il est dérobé à notre regard par les chromosomes qui l'enveloppent - (même page). C'est cette lacune d'observation que je viens maintenant combler. Le Nebenkern au sujet duquel j'avais formulé ces conclusions était en première ligne celui des spermatoctes de deuxième ordre, ou *Auxocytes* (1), de l'Escargot. Je n'ai pas réussi depuis, pas plus qu'auparavant, à suivre par l'observation directe les premières origines de cet élément dans les auxocytes, pour le motif que voici. Il s'agirait d'établir par l'observation le sort du pôle de division d'une spermatogonie destinée à ne plus se diviser comme spermatogonie, mais à se transformer en auxocyte avant de se diviser par une cinèse sexuelle avec formation de tétrades. Or, chez les Escargots, il n'existe pas de « zone de croissance », ni aucune marque connue qui nous permette d'affirmer que telle spermatogonie serait en train de devenir auxocyte. On aurait donc beau établir qu'un pôle de spermatogonie devient un Nebenkern, car cela ne suffirait pas pour établir que ce soit là un Nebenkern d'auxocyte : ce pourrait être tout aussi bien un Nebenkern de spermatogonie. D'ailleurs, la structure spéciale des spermatogonies, avec leur noyau énorme, est peu favorable à ce genre de recherches.

En revanche, j'ai réussi à suivre toute l'histoire de la formation du Nebenkern, ou, si l'on veut, de son équivalent, dans deux autres catégories de cellules, — les spermatoctes de deuxième ordre, ou spermatoctes proprement dits, et les spermatides. C'est-à-dire que, dans ces deux sortes de cellules, j'ai pu suivre continuellement le sort de la portion polaire du fuseau, depuis sa formation jusqu'à sa disparition définitive, sans pour ainsi dire la perdre de vue pendant un seul instant; ce qui me met à même d'en décrire l'histoire sans lacune quelconque.

Si j'ai pu arriver à des résultats aussi complets, c'est grâce en grande partie à l'emploi d'un mode de préparation dont je ne m'étais pas servi auparavant. Les pièces sont fixées pendant dix huit heures par le formol

(1) On se rappellera que j'ai suggéré *Les cinèses spermatogénétiques chez l'Helix pomatia*, dans « La Cellule », t. XIII, 1^{er} fasc., 1897, p. 210 « qu'il y aurait peut-être utilité à distinguer par des dénominations plus *distinctives* les deux catégories de cellules qui se divisent selon des cinèses aussi diverses que celles des spermatoctes I et des spermatoctes II. — et de donner aux premières l'appellation d'*Auxocytes*, pour marquer en même temps leur caractère physique et leur rang physiologique. Car évidemment le rôle essentiel de ces éléments, c'est de *croître* beaucoup avant de se multiplier ». Depuis, plus d'un auteur s'est rallié à cette manière de voir et a employé ce terme. En conséquence, je pense que le moment est venu de l'adopter définitivement.

picrique de BOUIN (Acide picrique, sol. sat. aq., 30 parties, Formol, 10, Acide acétique, 2). Les coupes, faites à la paraffine, sont collées sur porte-objets par la méthode de l'eau, et colorées par l'hématoxyline au fer de BENDA. Elles sont décolorées jusqu'à ce que le cytoplasme est devenu clair au degré voulu, et, après avoir été lavées à l'eau, sont colorées à nouveau pendant une minute et demie environ dans une solution à 0.5 pour cent de Sæurefuchsin dans l'eau. Cette deuxième coloration étant d'habitude excessive, on l'atténue en traitant les coupes pendant quelques minutes par de l'eau très faiblement alcaline : la simple eau de source m'a toujours réussi parfaitement. On a comme résultat typique, la nucléine et les -acrosomes- colorés en noir, les filaments du fuseau, les Nebenkerne, et le réticulum cytoplasmique, colorés en rouge. J'ai trouvé que le liquide de BOUIN donne une fixation admirable, très égale, et qu'elle a pour ces recherches le grand avantage d'être éminemment favorable tant à la coloration par l'hématoxyline ferrique qu'à la coloration subséquente par la Sæurefuchsin, ou n'importe quel autre colorant plasmatique qu'on peut désirer employer par la suite. On sait que le liquide de FLEMMING ne se prête pas très bien à ces colorations.

Avant de passer à l'exposé de mes observations, il est nécessaire de dire deux mots concernant la terminologie que j'emploierai.

Il a été question à plusieurs reprises dans des travaux précédents d'un corps hyalin, parfaitement incolore, existant dans les noyaux des spermatogonies, des auxocytes et des spermatocytes. J'ai décrit et figuré (1) ce corps dans les spermatogonies, comme ayant - une figure allongée de fuseau ou de navette, et un aspect brillant et réfringent, qui indique qu'on a devant soi un corps solide et non une vacuole -, et comme étant parfaitement homogène, sans aucune fibrillation ni même aucune striation. Je l'ai décrit dans des termes identiques (ibid., p. 229) pour les auxocytes, et je l'ai figuré pour ces cellules, fig. 30, 50, 51 et 52 du travail cité. Enfin je l'ai décrit (ibid., p. 240) et figuré (fig. 54, 58 et 70) dans les spermatocytes. Je l'ai appelé dans ces descriptions le - corps hyalin -. Nous aurons à nous occuper beaucoup de cet élément par la suite, et comme il me paraît utile de lui donner un nom plus spécifique, je l'appellerai l'*hyaloplaste*.

Il s'est trouvé que l'hyaloplaste est habituellement terminé ou coiffé, pendant la cinèse, par un petit corpuscule qui paraît être toujours de forme conique, assez acuminé, comme une petite épine, fortement colorable par

(1) *Les cinèses spermatogénétiques chez l'Helix pomatia*; La Cellule, t. XIII, 1^{re} fasc., p. 215.

l'hématoxyline au fer. Il est très petit, mesurant au plus 0.5 micron en largeur, le plus souvent pas plus de 0.25, quelquefois moins. Je l'appellerai l'*acrosome*.

Au lieu de l'expression - filaments du fuseau -, employée dans mes travaux précédents, je dirai le plus souvent - rayons du fuseau -, entendant par là les rayons gros qui sont évidemment attachés aux chromosomes, et réservant le nom de - filaments - aux nombreuses fibrilles plus fines qui courent entr'eux.

CHAPITRE I.

Le fuseau des auxocytes et sa régression dans les spermatocytes. Portion polaire.

Les FIG. 1, 2 et 4, représentent des moitiés de la figure achromatique de division des auxocytes au stade de la couronne équatoriale. Elles montrent, je crois, nettement, que cette figure est composée de trois parties principales distinctes : un fuseau, se présentant pour chaque moitié comme un cône à contours convexes; un entonnoir polaire, ou cône antipode, opposé par son sommet au cône fusorial; et, dans l'espace angulaire compris entre ces deux formations, une figure rayonnée par ses bords qui paraît faire partie du réticulum cytoplasmique de la cellule, — l'aster.

Les rayons du fuseau sont larges d'un quart de micron environ à leur base, et ne montrent qu'une diminution à peine perceptible d'épaisseur sur les trois quarts ou plus de leur longueur. Mais, arrivés à une certaine distance, deux ou trois microns par exemple, du pôle, ils s'amincissent brusquement et leurs pointes effilées, étroitement serrées les unes contre les autres, cessent d'être visibles individuellement.

Entre ces rayons, on voit dans beaucoup de fuseaux une quantité innombrable de filaments infiniment fins, courant pour la plupart parallèlement aux rayons, mais reliés entr'eux par des trabécules transversales formant un délicat réticulum. Je n'ai pas dessiné ces filaments, pour ne pas encombrer les dessins.

Ces deux formations, les rayons et les filaments fins, évitent toujours l'axe de la figure, qui se présente en conséquence dans les images heureuses comme un espace cylindrique ou conique plus brillant que le reste du fuseau. Cet espace conduit directement au corpuscule sidérophile, ou acrosome,

qui forme le sommet du fuseau ; il représente, j'en ai la conviction, l'hyaloplaste. Ce que j'ai pu voir de ce corps dans les figures du stade de couronne équatoriale est si vague que je ne puis dire avec certitude quelle forme il a. Mais par analogie avec ce qu'on en voit à d'autres moments de la vie cellulaire, par exemple, dans les FIG. 28 et 29 de ce travail, de même que dans les figures déjà nommées de mon travail *Les cinèses spermatogénétiques*, il paraît extrêmement probable qu'il est fusiforme. Ce qui est certain, c'est qu'il se continue jusqu'au sommet mathématique du fuseau et là se montre coiffé d'un corpuscule conique colorable, — l'acrosome.

Dans la plupart des préparations que je vais décrire, l'acrosome est coloré fortement en noir par l'hématoxyline au fer, tandis que les rayons du fuseau et les filaments fins sont colorés en rouge par la Säurefuchsin, de même que l'aster et l'entonnoir polaire ; mais par toutes les méthodes de préparation l'hyaloplaste demeure absolument incolorable.

Les rayons de l'entonnoir polaire ou cône antipode se distinguent de ceux de l'aster : *a)* en ce qu'ils sont d'habitude plus forts et plus brillants, FIG. 1 et 4 ; *b)* en ce qu'ils n'ont pas d'habitude la même courbure, étant ou bien droits, FIG. 2 et 4, ou bien dessinant des courbes à convexité opposée à celle des rayons de l'aster, FIG. 1 ; *c)* en ce qu'ils s'insèrent sur la membrane cellulaire, FIG. 1, 4, 5, et plusieurs des figures de spermatocytes qui vont suivre, tandis que les rayons de l'aster ne vont pas d'habitude jusqu'à la membrane cellulaire, mais se perdent dans le réticulum cytoplasmique, mêmes FIG. ; et *d)* en ce qu'on peut les poursuivre à travers la masse centrale de l'aster, ou centroplasme, jusqu'à la base de l'acrosome, FIG. 2, 3, 4, ce qui n'est pas le cas pour les rayons de l'aster.

Je considère comme aster le reste de la figure achromatique, après déduction du fuseau et de l'entonnoir polaire. Il consiste en un assemblage de filaments rayonnants, et une masse centrale amorphe ou - centroplasme -, qui n'a pas de structure rayonnante visible.

Les filaments rayonnants sont des filaments ordinaires du réticulum cytoplasmique convergeant vers la masse centrale et se confondant avec elle. Il est facile de constater qu'à proximité de la masse centrale ils sont indivis, et qu'à mesure qu'ils s'en éloignent ils se divisent en des branches anastomosantes qui se continuent sans aucune démarcation avec le réticulum ordinaire du cytoplasme, FIG. 1, par exemple. Ils se distinguent facilement des rayons du fuseau en ce qu'ils ne sont pas lisses et unis comme ceux-ci, mais rugueux et granuleux ; par où je veux dire qu'ils sont ou bien composés d'une substance qui contient des granulations visibles, ou bien

qu'ils se présentent comme des fils très fins parsemés de granulations qui leur sont accolées extérieurement. De plus, ils sont pour la plupart incomparablement plus fins; les rayons du fuseau ont une épaisseur qui peut aller jusqu'à un quart de micron, FIG. 1, 2, 4; mais les filaments cytoplasmiques sont pour la plupart d'une finesse immesurable, mêmes figures. Il est incontestable que dans les préparations que je décris il n'y a rien qui permettrait de considérer le fuseau comme étant seulement une région différenciée de l'aster, comme le font certains auteurs pour d'autres cellules.

La masse centrale ou - centroplasme - consiste en une substance amorphe ou très finement granuleuse, FIG. 1, 2, 3, 4, entourant le point de contact du fuseau et de l'entonnoir polaire. La présence ou l'absence de granulations distinctes dans cette masse me paraît être sans importance, et dépendre surtout du genre de fixation que la cellule a subi. On peut dire, *grosso modo*, que cette masse a une forme sphéroïdale ou discoïde. Mais, pour être précis, il conviendrait d'ajouter que la figure sphéroïdale ou discoïde est interrompue en deux endroits par l'intrusion d'éléments étrangers, à savoir, en bas par le sommet du fuseau, et en haut par le sommet de l'entonnoir polaire. De sorte que, strictement parlant, elle ne figure pas une sphère ou un disque plein, mais un anneau à section conique.

Elle ne possède en elle-même aucune structure rayonnée visible. Les filaments rayonnants de l'aster, arrivés à la surface de la masse centrale, s'y confondent avec elle, et ne peuvent pas être poursuivis plus loin. Aux points de contact des filaments avec la masse centrale, on peut souvent observer que celle-ci est soulevée en autant de petits cônes ou nœuds, qui paraissent plus denses que le reste de la masse; d'où il résulte que la masse centrale paraît plus sombre à l'extérieur qu'à l'intérieur, et cela souvent au point de prendre l'apparence plutôt d'un anneau que d'un disque ou sphère. Mais la fusion de l'ensemble est si complète que rien ne permet de dire si nous sommes en présence d'un assemblage de filaments se confondant en un point en une masse unique, ou d'une masse sphéroïdale émettant des rayons qui se confondent avec les trabécules du cytoplasme. Enfin, la masse centrale ne présente aucun caractère optique qui porterait à lui attribuer la nature d'un corps autonome et indépendant, telle que le suggérerait la dénomination de - centrosome -.

J'ai dit que cette masse est interrompue en deux endroits par le sommet du fuseau et le sommet de l'entonnoir polaire respectivement. Mais je n'entends nullement dire par cela que les rayons de ces deux formations

peuvent être poursuivis *individuellement* jusqu'au centre, c'est-à-dire jusqu'à l'acrosome. Pour le fuseau en tout cas, cela est par la nature des choses tout à fait impossible.

Qu'on veuille bien y réfléchir! L'acrosome est un corps conique large d'un demi-micron tout au plus à sa base. Cette base, de section circulaire, aurait donc un périmètre de 1.57 micron environ. Le fuseau possède 24 rayons. Si tous arrivaient sans se confondre jusqu'à la base de l'acrosome, pour s'y insérer isolément, leurs insertions ne pourraient être séparées les unes des autres que par des espaces mesurant $1.57 \div 24$, soit 0.0654 micron environ. Et comme la limite de résolution pour nos meilleurs objectifs histologiques est de 0.25 micron environ, ces insertions seraient quatre fois trop rapprochées pour être résolubles.

Ce que l'on voit, et ce qui permet d'affirmer que le fuseau d'une part, et l'entonnoir polaire d'autre part, pénètrent dans la masse centropoplasmique, ce ne sont pas des rayons individuellement visibles de ces formations, mais des *contours*. Ainsi, dans les FIG. 2 et 3, nous voyons en bas un espace conique clair, ayant l'acrosome à son sommet, et limité par deux contours. Il y a donc *quelque chose* là qui pénètre jusqu'à l'acrosome; mais il est difficile de dire si c'est le sommet du fuseau tout entier, ou seulement l'hyaloplaste. En haut, nous voyons de même l'entonnoir polaire se continuer par deux contours jusqu'à la base de l'acrosome, l'espace compris entre ces deux contours paraissant vide et tranchant en clair sur le fond coloré de la masse centropoplasmique.

La FIG. 1 nous montre exactement les mêmes particularités. Nous y voyons en bas un espace conique clair, tout à fait semblable à celui de la FIG. 2 et 3, pénétrer jusqu'à l'acrosome; mais il n'est pas possible de dire si les contours qui le limitent appartiennent à l'hyaloplaste ou à des rayons du fuseau.

La FIG. 4 montre apparemment quelque chose de plus. Dans cette image, par exception, les rayons du fuseau sont demeurés colorés en noir par l'hématoxyline, tandis que la masse centropoplasmique, l'entonnoir polaire et les filaments astériens sont colorés en rouge par la Säurefuchsin. On remarquera qu'à gauche le deuxième rayon du fuseau, un peu coudé en haut, se superpose exactement sur le rayon extérieur, fournissant ainsi une ligne plus foncée que celles des rayons isolés. Or, cette ligne foncée se laisse poursuivre nettement jusqu'à la base de l'acrosome. A droite, au contraire, le contour du fuseau n'est pas aussi net et ne peut pas être poursuivi avec

certitude jusqu'à l'acrosome. Au milieu, il y a l'espace clair habituel, limité par deux rayons du fuseau, le troisième et le quatrième à partir de la gauche, et il semble qu'on peut les poursuivre, très effilés, jusqu'à la base de l'acrosome. En examinant attentivement l'image, on constate que la chose serait possible sans porter atteinte à la loi des limites de résolubilité, car ces deux rayons ne sont pas des rayons voisins, puisque des rayons intermédiaires ont été enlevés par le rasoir, et l'écartement des deux rayons figurés est assez considérable pour qu'il soit possible de les poursuivre jusqu'à l'acrosome. Cette image, avec d'autres semblables, me paraît plaider en faveur de l'idée d'une insertion individuelle de chaque rayon sur la base de l'acrosome. Mais je ne la considère nullement comme décisive. Il se peut que ce fuseau ne soit pas couché exactement dans le plan de la préparation, et que son bout plonge légèrement, ce qui pourrait donner lieu à un phénomène de projection optique qui ferait que les rayons en question paraissent atteindre l'acrosome, alors qu'en réalité ils ne le font pas.

En somme, les apparences que j'ai observées peuvent également bien se concilier avec l'hypothèse que les rayons ne se continueraient pas isolés jusqu'à l'acrosome pour s'y insérer chacun pour son compte : mais qu'à une certaine distance au-dessous de l'acrosome, disons un micron environ, ils se fusionneraient réellement en une masse unique étroitement appliquée autour de l'hyaloplaste, auquel ils feraient comme une sorte de collier.

En tout cas, ce qu'il importe de retenir, c'est que d'une façon ou d'une autre le fuseau pénètre dans le centroplasme. Si ses rayons ne le font pas isolément, du moins l'hyaloplaste, qui est l'axe matériel du fuseau, le fait : et l'acrosome, qui occupe le centre approximatif du centroplasme, n'est que la dernière pointe du fuseau, et lui appartient, et ne fait en aucune façon partie du centroplasme.

Telle est, d'après mes observations, la constitution de la figure achromatique d'un auxocyte au stade de couronne équatoriale. Il nous reste à étudier avec un détail suffisant le sort de chacun des trois éléments dont cette figure est composée, à savoir, l'aster, l'entonnoir polaire et le fuseau. C'est ce dernier qui doit nous occuper surtout.

La régression de l'aster. Nous avons distingué dans l'aster deux parties, la masse centrale ou centroplasme, et les filaments rayonnants ou rayons. La masse centrale, déjà souvent si minime au stade équatorial qu'on a de la peine à la reconnaître, ou qu'on ne peut même pas la mettre en évidence du tout, *disparaît entièrement pendant l'anaphase*, c'est-à-dire

pendant l'ascension des chromosomes vers les pôles, et avant leur reconstitution en un nouveau noyau, FIG. 5 et toutes les figures des stades suivants (1).

Le rayonnement astérien disparaît également, je crois, toujours, et ses filaments retournent à l'état de réticulum cytoplasmique ordinaire, FIG. 5. Il est vrai que dans des stades postérieurs on peut trouver autour des pôles des rayonnements cytoplasmiques, même assez puissants, comme par exemple dans les FIG. 18 et 20. Mais je suis porté à regarder ces formations non comme des restes de l'ancien aster, mais comme de nouvelles dispositions étoilées du cytoplasme étiré par la marche des pôles à la surface de la cellule. En tout cas, à partir de l'anaphase il ne reste plus qu'un résidu sans importance de l'aster puissant des stades pré-équatoriaux. Car la régression de l'aster commence bien avant le stade équatorial, et l'aster de ce stade est déjà lui-même très réduit. C'est du reste là je crois un fait très commun et connu de tous.

La régression de l'entonnoir polaire. Cette formation, lorsqu'elle existe, peut se maintenir plus longtemps. Ainsi, on peut la reconnaître pendant l'anaphase, FIG. 5, et peut-être pendant la télophase, et même plus tard, FIG. 19. Mais il se peut qu'ici nous ayons devant nous non les anciens entonnoirs polaires, mais des formations nouvelles, produites par le retrait de la figure, auparavant au contact de la membrane cellulaire, vers l'intérieur de la cellule. Cela serait aussi le cas, et avec plus de probabilité encore, pour les entonnoirs des FIG. 23, 24, 25, 26, 27, 28 et 29. En tout cas, s'il se conserve, ce doit être une circonstance sans importance

(1) La FIG. 6 trouve sa place ici, parce qu'elle représente un pôle pendant l'anaphase. Elle a été dessinée pour deux motifs. D'abord parce qu'elle représente une assez belle image des rayons du fuseau à ce stade, montrant bien le passage du fuseau du stade équatorial à la forme plus serrée des anaphases avancées et des télophases. Puis parce qu'elle montre bien l'aspect que prennent souvent les pôles sous l'influence de certaines fixations mauvaises. On voit que le pôle s'y montre terminé par un corpuscule gros et aplati, presque semi-lunaire, proéminent au-dehors de la membrane cellulaire, et séparé par un espace clair des rayons du fuseau, ou du moins de la région du fuseau où ces rayons sont individuellement reconnaissables. Ce corpuscule représente, il n'y a guère lieu d'en douter, l'ensemble de l'acroosome et du centroplasma, avec peut-être plus ou moins de cytoplasme ordinaire, conglomérés ensemble, et soudés à la membrane cellulaire, par le réactif fixateur. Le matériel duquel cette figure a été tirée avait été fixé par l'acide picro-acétique de BOVERI, et montre en abondance des pôles constitués de cette façon. Ce sont évidemment des artifices de fixation, et le matériel qui contient beaucoup d'images semblables doit être rejeté comme impropre à l'étude. Le liquide picro-acétique de BOVERI m'a du reste donné constamment des résultats semblables, et je pense que c'est un réactif détestable pour la cytologie.

essentielle. Car très souvent il n'existe pas même au stade de couronne équatoriale, le bout du fuseau étant en contact avec la membrane cellulaire. Dans toutes les autres figures de la planche, on voit qu'il n'existe plus, si jamais il a existé.

Le sort de l'hyaloplaste et de l'acrosome. Ces éléments se maintiennent. Pendant l'anaphase, l'hyaloplaste devient souvent très nettement visible, hyalin et parfaitement incolore qu'il est, au milieu de la masse serrée des chromosomes et des rayons fusoriaux colorés. La FIG. 5 donne une bonne idée de son aspect à ce moment. On constate qu'il est encore coiffé d'un acrosome unique, et que celui-ci est logé au centre d'un anneau de petits grains, formé par les bouts des rayons fusoriaux rangés en cercle, l'*anneau polaire*, sur lequel nous aurons à revenir à propos des rayons du fuseau. D'après mes observations, il peut rester indivis et coiffé d'un acrosome unique, jusqu'au stade où les chromosomes se sont détachés du fuseau du côté de l'équateur et se sont groupés dans la formation réniforme caractéristique des nouveaux noyaux, FIG. 11, 10, 14. Mais tôt ou tard il se double et se montre portant deux acrosomes coniques au lieu d'un seul, FIG. 7 et d'autres.

Ce dédoublement peut s'effectuer déjà pendant l'anaphase, comme le montrent les FIG. 7 et 8. Cette première figure représente le pôle d'une cellule située à côté de celle de la FIG. 5, dans la même colonie, et exactement au même stade sous le rapport de la constitution de la couronne polaire. On y voit, au lieu d'un seul corps hyalin cylindro-conique coiffé d'un acrosome, deux corps de cette sorte, en tous points semblables entr'eux, et coiffé chacun d'un acrosome. Ces acrosomes ressemblent en tous points à l'acrosome unique des stades antérieurs. Ils peuvent être plus petits, mais ils ne le sont pas nécessairement. Ainsi, ceux de la FIG. 7 ont environ 0,25 micron de largeur à leur base. Ils sont donc plus petits que l'unique de la FIG. 5, lequel mesure 0,4 micron environ. Mais, ils ont la même taille approximativement que l'acrosome unique de la FIG. 1, lequel a une largeur à sa base de 0,25 micron environ.

Les deux acrosomes de la FIG. 7 sont situés dans un anneau polaire semblable à celui de la FIG. 5, qui est demeuré unique et n'offre aucun indice d'une tendance à se diviser. Je n'ai du reste jamais vu aucun indice de division dans un anneau polaire.

Lorsqu'on se trouve en présence de deux corpuscules là où auparavant il n'y en avait qu'un, on est tenté de penser que le corpuscule unique pri-

mitif, s'est dédoublé. J'ai donc cherché à savoir si les deux acrosomes de ces figures ne proviennent pas de la division de l'acrosome unique des stades antérieurs.

Je n'ai pas réussi. Même dans les meilleures images des stades les plus favorables, je n'ai jamais rencontré ni une apparence d'étranglement, ni une apparence de fission longitudinale de l'acrosome primitif. Je ne puis donc décider si le deuxième acrosome provient de la division du premier, ou s'il naît à côté de lui comme un bourgeon formé sur l'hyaloplaste, lequel se fendrait ensuite en deux branches portant chacune son acrosome.

En tout cas, il me semble que le dédoublement doit avoir lieu au plus tard pendant la télophase, et que dès que les nouveaux noyaux se sont entourés d'une membrane nucléaire, ils possèdent toujours un pôle double.

Lorsque les deux pôles ont été établis, ils s'écartent l'un de l'autre et *cheminent le long de la surface de la cellule* (et non à son intérieur) jusqu'à ce qu'ils sont séparés l'un de l'autre par un arc de 180 degrés. Je dois appeler l'attention du lecteur sur quelques apparences typiques qu'ils présentent pendant que le processus de leur écartement mutuel est en jeu.

Dans la FIG. 14, qui représente les pôles d'une cellule en télophase, au stade de la fig. 11, la membrane nucléaire n'étant pas encore formée, on ne voit qu'un seul acrosome. Cependant, vers le bord de la masse de rayons fusoriaux agglomérés sur laquelle il est porté, on aperçoit (pôle d'en haut) deux plages claires, en tous points semblables à des branches d'hyaloplaste, et orientées sur l'acrosome. Des images pareilles me font penser que l'hyaloplaste peut se fendre avant la formation du deuxième acrosome.

Les FIG. 15, 16, 13, 13, *b*, et 8, montrent toutes une particularité qui me paraît intéressante. Dans toutes, il y a deux acrosomes encore contenus dans l'anneau polaire. Mais tout serrés qu'ils sont dans ce cercle étroit, le premier indice de leur écartement imminent est déjà manifeste; ils regardent dans des directions opposées, celui qui est à droite regardant à droite, et celui qui est à gauche regardant à gauche.

Dans la FIG. 13, *b*, on remarquera que les deux branches de l'hyaloplaste paraissent se croiser, et la FIG. 8 suggère la même idée. Mais dans la FIG. 16, cela ne paraît pas être le cas.

Dans les FIG. 13, 13, *b*, 15, 16, l'anneau polaire paraît être intègre; mais dans la FIG. 8, il paraît être fendu du côté gauche, et l'acrosome de gauche paraît en train de sortir par la fente. On dirait qu'un fait semblable se prépare dans la FIG. 16.

Les FIG. 19 et 21, qui appartiennent à un stade beaucoup plus avancé,

les noyaux étant parfaitement reconstruits, et même en préparation de la nouvelle division, les deux acrosomes se montrent non l'un à côté de l'autre, mais l'un *au-dessus* de l'autre, sur une ligne normale au noyau. Ces images, qui s'observent fréquemment, paraissent indiquer que le deuxième acrosome se forme parfois, sinon toujours, dans l'axe de l'hyaloplaste, au-dessous du premier. Mais il est toutefois possible que ce ne soit là qu'un simple fait de projection optique.

La migration des pôles. Les figures suivantes, jusqu'à la FIG. 29, montrent les pôles séparés pendant leur migration autour de la cellule.

Dans les FIG. 19 et 20, les pôles sont déjà nettement séparés, mais encore contenus dans la masse indivise de rayons fusoriaux agglomérés, qui leur fait comme un manteau commun.

Dans les FIG. 21 et 22, l'écartement des pôles est un peu plus considérable, et l'on voit que la masse auparavant unique de rayons fusoriaux montre un commencement de division en deux parties, dont chacune entoure l'un des pôles.

La FIG. 18 montre que les deux pôles, déjà fortement écartés l'un de l'autre, sont bien toujours à la surface de la cellule : car l'on voit que leurs acrosomes émergent même au-dehors de la membrane cellulaire. Il en est de même pour la cellule de la FIG. 17, qui est au même stade. Car ici le pôle inférieur, marqué *p. i.*, qui peut paraître dans le dessin comme s'il était à l'intérieur du cytoplasme, est en réalité à sa surface, et n'est que projeté optiquement sur le cytoplasme, parce qu'il se présente en vue polaire et non en profil.

Dans la FIG. 23, les deux pôles sont séparés par un arc de 90 degrés, et dans la FIG. 24 par un arc de 180 degrés. Dans ces deux figures, les pôles ne sont pas situés en contact avec la membrane cellulaire, mais au-dessous, au fond d'entonnoirs polaires peu profonds. Je suis assez porté à attribuer ces apparences à un artifice de préparation, à une contraction de l'hyaloplaste provoquée par la fixation, et non à la contraction physiologique que nous allons décrire pour les stades subséquents. Mais en tout cas, qu'ils soient en réalité pendant la vie en contact avec la membrane cellulaire ou non, ils sont toujours au moins situés *à la surface du cytoplasme*.

Toutes les apparences que j'ai observées dans les stades que nous venons de passer en revue concordent à conduire à la conclusion que la marche des pôles est déterminée par l'écartement des deux branches de l'hyaloplaste qui les portent, qui s'ouvrent progressivement comme les

branches d'un compas ou d'une paire de ciseaux. A aucun stade, on ne distingue entre les deux acrosomes aucune formation dans le genre d'une - centrodesmose - ou - fuseau central -, dont la croissance en longueur pourrait servir à déterminer leur écartement.

On remarquera que la division et la migration des pôles ne se font pas exactement *pari passu* avec les changements qui se produisent dans les noyaux. La suite des changements des noyaux est donnée par les FIG. 5, 8, 11, 13, 15 à 20, et 23 à 29. La FIG. 5 est une anaphase, et la FIG. 8 une anaphase plus avancée, les chromosomes en couronne polaire, mais intègres. Les FIG. 11 et 13 sont des télophases, les chromosomes commencent à se réunir en un réseau ou spirème, mais la membrane nucléaire n'est pas formée. Dans les FIG. 15 à 18, la membrane est formée, les chromosomes se sont réunis en un réseau, et le fond du noyau est devenu sombre. Les noyaux se sont donc parfaitement reconstruits (il n'y a pas de nucléoles, voyez plus loin, p. 209), et ce stade représente le stade de repos de ces cellules. Dans les FIG. 19 et 20, nous sommes en prophase de la division à venir; le fond du noyau commence à s'éclaircir et un spirème à se former. Dans la FIG. 23, ce spirème ou peloton de division est plus évident. Dans les FIG. 24 et 25, les nouveaux chromosomes se sont montrés, et en 28 et 29, ils sont presque achevés. Cependant nous voyons, FIG. 5 et 7, que pendant l'anaphase le pôle peut être indivis ou déjà dédoublé. Il en est de même des FIG. 11 et 13. Dans la FIG. 15, la migration des pôles n'a pas encore commencé, tandis que dans la FIG. 18, qui est au même stade par rapport au noyau, elle est déjà très avancée. Par contre, dans les deux FIG. suivantes, 19 et 20, qui sont beaucoup plus avancées en ce qui regarde les noyaux, la migration a à peine commencé.

La descente des pôles. A partir du moment où la cellule est devenue oppositipolaire, FIG. 24, les pôles commencent à *descendre de la surface de la cellule vers le noyau*.

Dans la FIG. 25, cette descente s'est effectuée à moitié. On y remarquera que les deux branches opposées de l'hyaloplaste sont devenues plus nettement visibles qu'auparavant, et qu'elles présentent des contours plus accusés. Il paraît impossible de ne pas admettre qu'elles se sont condensées en se contractant, et que c'est cette contraction qui amène la descente des pôles.

La FIG. 26 montre le même phénomène.

Dans la FIG. 27, les deux branches de l'hyaloplaste sont presque ren-

très dans le noyau, leurs contours se confondent avec le sien, et les petites proéminences qu'elles déterminent à chaque pôle lui donnent la forme d'un citron.

Dans les FIG. 28 et 29, l'hyaloplaste est entré entièrement dans le noyau, sauf les deux acrosomes qui demeurent encore visibles juste en dehors du contour de la membrane nucléaire.

Dans ces trois figures, le cytoplasme a commencé à rayonner autour des pôles en formant des asters.

Dans la FIG. 29, l'hyaloplaste, qui, de même que dans la figure précédente, se laisse distinguer au milieu des chromosomes fortement serrés contre lui, s'est contracté encore davantage, et a déterminé au pôle supérieur une *dépression de la membrane nucléaire*. Ces images sont très communes et très nettes.

A ce stade fait suite immédiatement celui de la couronne équatoriale. Sa figure achromatique est composée, comme le montre la FIG. 30, exactement comme celle des auxocytes par où nous avons commencé.

La régression des rayons du fuseau. Ces éléments se maintiennent pendant les télophases, et, plus ou moins altérés, à travers la période de repos des noyaux-filles, et à travers les prophases de la division à venir. Cependant, à partir de l'anaphase, ils entrent dans un processus de régression manifeste.

Le premier indice visible de cette régression consiste, d'après mes observations, dans la formation des *anneaux polaires* mentionnés plus haut.

Nous avons vu qu'au stade équatorial ces rayons cessent d'être individuellement visibles un peu au-dessous de l'acrosome, de sorte qu'il est impossible de dire s'ils s'insèrent sur la base de cet élément, ou si, sans jamais l'atteindre, ils se terminent plus bas en un cercle faisant collier autour de l'hyaloplaste. Or, à partir de l'anaphase, cette dernière disposition devient manifeste.

A ce moment, dans les cellules convenablement préparées, le faisceau de rayons fusoriaux se présente non comme un cône acuminé, comme dans les FIG. 1, 2, 4, mais comme un cône tronqué, FIG. 5 et 7. On y voit que les rayons se terminent nettement en un cercle situé autour de l'acrosome ou des acrosomes, et un peu au dessous d'eux. La FIG. 5 montre que ce cercle est composé d'un petit nombre, en ce cas sept ou huit, de petits grains fortement colorés par l'hématoxyline au fer, et se continuant avec les rayons fusoriaux, qui s'y insèrent. La FIG. 7 montre que les grains ont

perdu leur individualité, et se sont fusionnés en un anneau assez uni qui ne montre plus que des traces de sa composition granuleuse. L'étude de semblables images montre, à n'en pas douter, que ces grains sont de nature à se fusionner latéralement avec facilité.

Le nombre de grains dont se compose un anneau polaire est petit, de six à huit d'habitude : je crois que je n'en ai jamais pu compter plus de neuf. Mais il ne saurait, je crois, y avoir de doute qu'ils sont réellement, au début, toujours au nombre de 24, un pour chaque rayon du fuseau; et qu'ils ne sont pas autre chose que les bouts rétractés et épaissis de ces rayons.

Dans les bonnes images, on voit souvent très bien qu'ils ne sont pas sphériques, mais fusiformes, FIG. 15 et 16, et qu'ils ne sont pas situés entre les rayons, mais que chacun d'eux constitue bien véritablement la terminaison d'un rayon ou d'un groupe de rayons. Ils sont en un mot sous tous les rapports semblables aux microsomes colorables qui se forment sur les filaments de la portion équatoriale du fuseau pour y constituer la *plaque fusoriale* de division, comme je l'ai décrit dans mon travail : *La régression du fuseau caryocinétique* (La Cellule, t. XI, 1^{er} fasc., 1895 : voyez aussi les FIG. 34 à 39 du présent mémoire).

Je considère donc comme hors de doute que l'anneau polaire est toujours à son début composé de microsomes ou granules indépendants, FIG. 5. Les FIG. 14, 15, 16, montrent que cet état peut se maintenir jusqu'à la télophase. La FIG. 7, au contraire, montre que, déjà pendant l'anaphase, les granules peuvent s'être fusionnés en un anneau uni qui accuse à peine une trace de sa composition microsomique. Dans les FIG. 9, 13, 13. b, on ne distingue plus de granules isolés, tandis que les FIG. 8, 10, 11, 12, reproduisent des états intermédiaires, dans lesquels les anneaux sont formés d'une substance concrète, mais laissent voir plus ou moins nettement qu'ils contiennent des granules.

Les anneaux polaires n'ont qu'une existence très éphémère. A partir de la fin de la télophase, je n'en ai jamais vu trace. Ils semblent disparaître sur place, sans laisser de trace. En cela aussi ils se comportent exactement comme les microsomes de la plaque fusoriale, qui disparaissent à mesure que les filaments équatoriaux du fuseau se condensent pour former les moignons ou ponts fusoriaux, comme je l'ai décrit, op. cit., p. 32. Il me paraît vraisemblable qu'ils ne se forment nullement toujours : et en cela aussi ils ressembleraient aux plaques fusoriales.

Il nous reste à étudier le sort de la *masse de rayons fusoriaux*.

A l'anaphase, on les voit très raccourcis, tassés étroitement en un cône tronqué, et s'insérant sur l'anneau polaire d'une part et sur les chromosomes de l'autre, FIG. 5 et 7. La couronne polaire des chromosomes est à ce moment très rapprochée du pôle. A la fin de l'anaphase, c'est-à-dire à l'entrée en télophase, elle s'en éloigne, FIG. 8, 11 et 13. Il semble que cet éloignement exerce une traction sur les rayons fusoriaux, qui les étire à leurs bases en des filaments excessivement ténus, FIG. 8, 11, 12, et qui finalement les y brise, FIG. 13, 15 et suivantes.

Ils sont donc maintenant détachés des chromosomes, et demeurent flottant dans le cytoplasme, réunis en haut par l'anneau polaire, tant que celui-ci persiste, FIG. 13, 14, 15, et après sa disparition groupés en une masse rayonnante autour de l'acrosome ou des acrosomes.

Les rayons individuels commencent même pendant l'anaphase à perdre de leur netteté de contours et de leur réfringence, et se montrent pâles et boursoufflés, FIG. 8, et tendant à se fusionner par leurs bords, FIG. 13 et 14.

Déjà au stade de télophase, FIG. 15, ce fusionnement peut avoir progressé au point de les agglomérer en une masse informe et pâteuse, dans laquelle les rayons individuels ne se laissent plus distinguer, et qui a revêtu tous les caractères d'un *Nebenkern*.

Cependant, dans des cellules convenablement préparées, leur disposition rayonnante demeure encore reconnaissable, et même leurs bases libres se laissent reconnaître à l'aspect dentelé de la masse commune, à travers le stade de repos et les prophases, FIG. 17 et suivantes jusqu'à 25. Ces figures parlent par elles-mêmes, je pense; et comme leur suite ne présente aucune lacune, il me semble que ce ne serait que pure perte de temps que d'entrer en discussion avec quelqu'un qui n'admettrait pas que, par exemple, la masse polaire inférieure de la FIG. 25 dérive directement de la masse correspondante de la FIG. 8.

Lorsque les deux nouveaux pôles formés par les deux branches de l'hyaloplaste et les deux acrosomes s'écartent l'un de l'autre, la masse fusoriale subit une division en deux masses égales ou inégales, qui suivent les pôles pendant leur marche à la surface de la cellule.

Dans les FIG. 19 et 20, la masse fusoriale est encore indivise. Dans la FIG. 21, sa division a commencé; dans la FIG. 22, elle est presque achevée (dans ces figures comme dans d'autres, une portion seulement de la masse fusoriale est représentée; car elle occupe une étendue considérable, et en conséquence elle est presque toujours entamée par le rasoir).

Ces deux dernières figures représentent une division en deux masses approximativement égales. Dans la FIG. 18, au contraire, si j'ai bien vu, presque toute la masse fusoriale a été appropriée par le pôle d'en haut, le rayonnement qui entoure celui d'en bas étant surtout cytoplasmique. Je crois qu'il en est de même de la FIG. 17, où le pôle inférieur paraît presque entièrement dégarni.

A mesure que les deux masses fusoriales cheminent autour de la cellule, leur substance s'y dissout, ou s'émiette, et *disparaît graduellement*. Cette dissolution paraît partir des bords de la masse, et progresser graduellement vers son centre, de sorte que ce qui en reste en dernier lieu se présente comme une petite masse sphéroïdale entourant l'acrosome.

Les FIG. 19 et 20 représentent la masse fusoriale primitive à peu près intacte. Dans les FIG. 17 et 18, la désintégration paraît avoir commencé. Dans la FIG. 23, elle est plus avancée, mais les deux masses conservent encore l'état nettement dentelé de leurs bords et un vague rayonnement. Dans la FIG. 24, ces deux caractères sont encore visibles, mais à peine, de sorte que pour l'observateur non prévenu elles apparaîtraient plutôt comme deux hémisphères amorphes; et chacune des deux masses a notablement diminué de volume. Des asters, c'est-à-dire des rayonnements cytoplasmiques, commencent à se former autour d'elles.

Dans la FIG. 25, le pôle inférieur est moins avancé : mais la masse du pôle supérieur a diminué au point de ne présenter plus qu'une petite sphère amorphe, *comme du centroplasme*, autour de l'acrosome.

Dans la FIG. 26, la masse fusoriale autour du pôle a pris la forme d'une boule entourant l'acrosome, à la manière d'un *centrosome* des auteurs. Il en est de même pour le pôle supérieur de la FIG. 28. Des asters cytoplasmiques formels se sont développés autour de ces deux centres; la « sphère attractive » des auteurs s'y montre complète (1)!

(1) Au pôle inférieur de la FIG. 28, nous voyons, non comme dans les figures précédentes une masse sphéroïdale, mais un cône, encore visiblement composé de rayons d'aspect identique à celui des rayons fusoriaux des stades moins avancés de la régression (FIG. 23, par exemple). Ce cône, comparé à celui des stades antérieurs (FIG. 23, 17 et d'autres), est *renversé* : sa base est dirigée en dehors, et son sommet, qui contient l'acrosome, touche à la membrane nucléaire. Des images semblables sont assez communes dans mes préparations, et je les considère comme représentant un renversement bien réel des rayons fusoriaux. Le cône fusorial ayant conservé l'intégrité de ses rayons jusqu'au moment de la *descente du pôle*, ces rayons ont été tirés vers le noyau par leurs sommets demeurés collés autour de l'acrosome, tandis que leurs bases, libres et flottantes, ont été refoulées au dehors. En d'autres termes, *il n'y a pas de centroplasme autour de l'acrosome de ce pôle*, et l'on comprendra que c'est parce qu'il ne s'en est pas encore formé. C'est le *cône de rayons renversés* qui était destiné à le former, et qui étant resté en arrière dans la régression le représente comme son homologue.

Dans les deux pôles de la FIG. 29, la régression a à peu près atteint son terme. Dans chacun, la masse fusoriale a été réduite à une petite boule entourant l'acrosome, exactement semblable au centroplasme qui entourait celui des figures de couronne équatoriale avec lesquelles nous avons commencé : et chacun d'eux est muni d'un entonnoir polaire et d'un aster réglementaire.

Avec le stade suivant, qui est celui de la couronne équatoriale, nous nous retrouvons au point de départ, et le cycle cellulaire est accompli. La FIG. 30 représente un fuseau de ce stade, muni d'un aster plutôt exceptionnellement gros. On y voit que la masse fusoriale centrale, ou masse - centroplasmique - si l'on veut, se présente aussi exactement que possible comme celle du pôle inférieur de la FIG. 29. Elle est de la même taille, 2 microns environ de diamètre : mais il s'agit ici d'une masse de taille exceptionnelle, de beaucoup la plus grande de toutes celles de la colonie d'où la figure a été tirée. On voit que - elle ne possède en elle-même aucune structure rayonnée visible. Les filaments rayonnants de l'aster, arrivés à la surface de la masse centrale, s'y confondent avec elle, et ne peuvent pas être poursuivis plus loin. Aux points de contact des filaments avec la masse centrale, on peut observer que celle-ci est soulevée en autant de petits cônes ou nœuds, qui paraissent plus denses que le reste de la masse : d'où il résulte que la masse centrale paraît plus sombre à l'extérieur qu'à l'intérieur, et cela au point de prendre l'apparence plutôt d'un anneau que d'un disque ou sphère -. On le voit, l'apparence de ce reste indubitable des rayons fusoriaux est si exactement identique à celle du - centroplasme - de l'aster des auxocytes, que la description de l'un s'applique à l'autre sans aucun changement. Il me paraît impossible d'en douter ; à ce moment, tout ce qui reste des rayons du fuseau des auxocytes, qu'on peut appeler énorme (comparez celui de la FIG. 1, qui est au même grossissement que la FIG. 30), est contenu dans cette petite boule de deux microns de diamètre. Et la conclusion s'impose : *le centroplasme de ces asters n'est que le dernier reste d'un fuseau en train de disparaître.*

Dans cette figure, l'aster proprement dit, ou rayonnement cytoplasmique, qui était puissant dans les stades précédents, FIG. 27. 28 et 29, est affaibli au point d'être à peine perceptible. Dans la FIG. 31, qui représente un fuseau de la même colonie que la figure précédente, et au même stade exactement, ce rayonnement a pour ainsi dire totalement disparu. Le reste de la masse fusoriale, ou centroplasme, est ici réduit à une petite sphère

de 1 micron de diamètre, qui est la taille moyenne de toutes celles de la colonie. Elle est située contre la membrane cellulaire, qu'elle soulève en une petite éminence mammillaire, ce qui est le cas ordinaire pour au moins un des pôles de la cellule à ce stade. Même ce petit reste insignifiant va disparaître totalement pendant l'anaphase. En conséquence, l'histoire des rayons du fuseau des auxocytes est l'histoire de leur désintégration et disparition dans le cytoplasme.

CHAPITRE II.

La régression du fuseau des spermatocytes dans les spermatides. Portion polaire.

La portion polaire du fuseau des spermatocytes subit dans les spermatides une régression comparable à celle du fuseau des auxocytes dans les spermatocytes, à cela près que la masse fusoriale ne se divise pas avec le pôle, comme elle le fait dans les spermatocytes, mais se condense simplement pour former un *Nebenkern* indivis.

Commençons par esquisser l'histoire de l'*hyaloplaste* et de l'*acrosome*.

Le stade de couronne polaire est représenté dans les FIG. 32 et 33. On y reconnaît l'*hyaloplaste*, indivis, sous la forme d'une languette pâle, très acuminée et munie comme d'habitude de son acrosome. Dans la dernière de ces figures, les chromosomes se sont groupés en noyau, mais la membrane nucléaire n'est pas encore ébauchée.

La FIG. 34 est un peu plus avancée; une fine membrane s'est formée autour des chromosomes, qui ne sont plus étroitement tassés et ont émis des filaments ou des granules qui donnent au fond du noyau un aspect sombre. Le noyau est irrégulièrement réniforme ou concave-lobé, disposition qu'on rencontre communément à ce stade. L'*hyaloplaste* est nettement visible, et sa base peut être nettement suivie jusque dans le noyau. Il est muni d'un acrosome identique à celui des figures précédentes.

Les FIG. 38 à 41 appartiennent à un stade un peu plus avancé, où le noyau s'est arrondi, FIG. 36, et peut être considéré comme entièrement reconstruit. Ces figures montrent que l'*hyaloplaste* et l'*acrosome* sont demeurés sans changement essentiel. Ni l'un ni l'autre ne montrent aucun indice de division; tout au plus l'*acrosome* peut-il avoir légèrement grossi (ces figures cependant ne suffiraient pas à le prouver, car les acrosomes de ces cellules sont exceptionnellement grands).

Dans les FIG. 42 et 43, un changement important s'est manifesté. L'hyaloplaste, vaguement reconnaissable, toujours indivis, se montre coiffé, non d'un seul acrosome conique, mais de deux granules, dont l'intérieur ou proximal est arrondi ou un peu allongé, l'extérieur ou distal est piriforme, et muni d'un cil formel, excessivement petit. La masse de ces deux granules pris ensemble est, autant qu'on en peut juger, à peu près égale à celle de l'acrosome indivis des figures précédentes. On est en conséquence tenté de conclure qu'ils proviennent de la division de l'acrosome primitif.

Dans les FIG. 42 et 45, l'hyaloplaste est situé à l'intérieur de la masse fusoriale des rayons du fuseau en régression, et les deux granules sont situés au sommet de cette masse. Mais tôt au tard, la masse fusoriale se détache de l'hyaloplaste, et forme un Nebenkern libre dans le cytoplasme. C'est ce que nous allons examiner, laissant là pour le moment l'histoire ultérieure de l'hyaloplaste et des deux granules.

La régression des rayons du fuseau et la formation du Nebenkern. La FIG. 32 donne une image typique des rayons du fuseau au moment de l'anaphase. Elle montre que, comme pour les spermatocytes (comparez les FIG. 5 et 7), le premier indice de la régression des rayons s'est manifesté par la formation, aux extrémités extérieures des rayons, d'un *anneau polaire* de microsomes.

Cet anneau est entièrement semblable à celui qui a déjà été décrit en détail pour les spermatocytes, de sorte qu'il serait parfaitement superflu d'en refaire la description ici, FIG. 39.

La FIG. 33 montre une télophase. On y voit les rayons un peu pâles et boursoufflés, réunis à leurs extrémités périphériques par l'anneau polaire, tandis que leurs bases, détachées des chromosomes, flottent libres dans le cytoplasme. Le tout présente l'apparence d'un parasol. Il en est de même des FIG. 34, 35, 36, qui représentent des stades un peu plus avancés. Dans toutes ces images, et j'en ai étudié d'innombrables, les rayons présentent essentiellement le même aspect, ne différant d'une cellule à l'autre que par le plus ou moins de gonflement ou d'agglomération qu'ils présentent; dans toutes, ils sont encore parfaitement reconnaissables comme rayons de fuseau.

Dans les FIG. 38, 42, 43, le boursoufflement et l'agglomération ont progressé, et les rayons se sont condensés en une masse conique, dans laquelle les rayons individuels ne peuvent plus être distingués isolément, mais peuvent cependant être entrevus ou devinés à l'aspect de leurs bases effi-

lées en pointes ou en filaments, et à la moulure en côtes rayonnantes que présente la masse fusoriale. Le tout, par sa forme conique et ses côtes terminées en pointes ou en filaments, a pris l'apparence d'une Méduse. Dans les deux dernières de ces figures, **42** et **43**, l'anneau polaire a disparu. Nous pouvons dire dès maintenant qu'un Nebenkern s'est formé.

Les **FIG. 40** et **41** représentent une étape de la régression un peu plus avancée : les côtes ont disparu, ou à peu près; mais la masse laisse toujours voir une disposition rayonnée, les bases effilées des rayons étant encore reconnaissables. La masse fusoriale est fortement aplatie contre la membrane cellulaire, ce qui lui donne l'apparence d'un parasol japonais.

Bientôt les derniers indices de structure rayonnée disparaissent : les bases effilées des rayons rentrent dans la masse commune, les côtes disparaissent entièrement par la fusion définitive des rayons en une masse pâteuse amorphe, et le tout se contracte en un bloc conique, **FIG. 44**, ou angulaire, **FIG. 46**, ou en une boule, **FIG. 47. 48** et **49**.

Cet état n'est cependant pas le dernier qui se présente. Tôt ou tard, le Nebenkern devient nettement polyèdre, **FIG. 50** et **51**. On dirait qu'une pression extérieure, exercée sur plusieurs points de sa surface, en enfonce les parois, de manière à produire autant de pans, plans ou concaves, qui se présentent en coupe optique comme des lignes ou des bâtonnets. Dans les **FIG. 50** et **51**, il a un contour pentagonal, de sorte qu'en coupe optique il fait l'impression d'être composé de cinq bâtonnets reliés en cercle par les bouts. Ce sont sans doute ces images qui ont fait dire à PLATNER dans le temps (*) que le Nebenkern était en effet composé de quatre ou cinq bâtonnets arrangés ainsi. Mais il n'en est rien. Ces contours sont en réalité des coupes optiques d'autant de pans plans ou concaves, ou même convexes.

C'est là la forme définitive que revêt la masse fusoriale devenue Nebenkern. Elle la garde, plus ou moins altérée, jusqu'à sa disparition définitive dans le cytoplasme de la spermatide évoluant, ce qui a lieu à un stade beaucoup plus avancé que le dernier de ceux que j'ai figurés.

Ces descriptions s'appliquent au Nebenkern tel qu'il se présente dans les coupes. Dans les cellules vivantes, beaucoup plus difficiles à étudier, il se montre comme un amas informe, souvent très fortement lobé, et cela à tel point qu'il offre quelquefois l'apparence d'un assemblage de vésicules. J'espère donner quelques figures de ces apparences dans un autre travail.

(*) PLATNER : Arch. f. mik. Anat., XXV, 1885, p. 546 pour *Arion*.

La dislocation du Nebenkern. Pendant les premiers stades de la formation du Nebenkern, l'hyaloplaste demeure d'habitude en place dans l'axe de la masse fusoriale conique, à laquelle il fournit une sorte d'axe ou tige, par exemple FIG. 34, 40, 41 ou 42. Dans des stades beaucoup plus avancés, on le trouve en dehors de cette masse, qui se montre jetée de côté, n'importe où, dans la cellule, par exemple, FIG. 50 et 51. Il émigre donc toujours du Nebenkern à un moment ou un autre. D'après mes observations, il le fait en se frayant un chemin latéralement à travers une fente qu'il produit dans la masse fusoriale. Dans la FIG. 43, dans laquelle son contour est indiqué par une ligne pointillée, il paraît être en train d'en sortir, s'il n'est déjà sorti. Dans les FIG. 46, 48 et 49, il est déjà sorti, et se montre placé tangentiellement au Nebenkern, mais en contact avec lui par son sommet. La sortie peut être retardée au-delà du stade représenté par ces figures. Finalement, le Nebenkern se détache entièrement de l'hyaloplaste, et tombe dans le cytoplasme, où il demeure, n'importe où, sans aucune attache avec un organe quelconque de la cellule, FIG. 50 et 51. Je ne décrirai pas ces phénomènes plus en détail ici, parce que j'ai l'intention de les décrire plus en détail dans un autre travail.

Le Nebenkern ainsi rejeté librement dans le cytoplasme, y demeure parfaitement inactif, ne servant en aucune façon, morphologiquement, à l'édification du spermatozoïde, mais voué à la désintégration définitive, un résidu sans fonction de ce qui avait autrefois fonctionné, un *caput mortuum* indigeste et inutile.

CHAPITRE III.

La régression de la portion équatoriale du fuseau.

Dans mon travail sur *la régression du fuseau caryocinétique* (*), j'ai décrit comment la portion équatoriale du fuseau des spermatogonies, des auxocytes et des spermatocytes persiste en général pendant sa régression sous la forme d'un corps pâteux, unissant les deux cellules issues de la cellule qui l'a formé. J'y ai expliqué que les - corps ainsi formés par le fuseau régressif persistent normalement à travers plus d'une génération cellulaire; et, de la fusion de deux ou plusieurs de ces restes fusoriaux appartenant à

(*) La Cellule, t. XI, 1^{er} fasc., 1895, p. 29

des générations successives résulte la formation d'une chaîne de ponts fusoriaux reliant entre elles un nombre considérable de cellules. Cette fusion dépend de deux conditions, à savoir : persistance du fuseau étranglé à l'équateur, et division des cellules sous un certain angle -. L'angle requis pour produire cet effet est celui de 90 degrés, approximativement.

J'ai à ajouter ici que dans les spermatocytes, c'est-à-dire les spermatocytes proprement dits, ou spermatocytes de deuxième ordre, quoique cette condition se réalise normalement, elle ne le fait nullement toujours, et paraît le faire beaucoup moins souvent que dans les spermatogonies et les auxocytes.

Qu'elle le fait souvent, c'est ce dont témoignent les nombreuses chaînes fusoriales qu'on trouve reliant les spermatides entr'elles, ainsi que le montre la FIG. 50.

Mais c'est un fait remarquable qu'on trouve aussi des colonies entières de spermatocytes au stade de couronne équatoriale, dans lesquels le fuseau n'est pas même approximativement à angle droit avec la direction du fuseau précédent, mais est orienté dans la même direction que lui, soit à peu près, soit exactement. La FIG. 25 est tirée d'une colonie dans laquelle tous les fuseaux sont orientés à peu près dans la direction du fuseau précédent, la plupart d'entr'eux l'étant avec une exactitude mathématique. Je pense que ces fuseaux ne donneraient pas naissance à une chaîne fusoriale continue, mais que les spermatides issues de ces divisions présenteraient chacune un pont fusorial simple, la reliant à sa sœur, et l'une d'elles *en outre*, un moignon fusorial ancien, provenant de la division précédente. Et, en effet, on trouve souvent des spermatides contenant ces deux formations, p. ex. dans la FIG. 36, dans laquelle le moignon ou pont fusorial récent, *m.f. r.*, se reconnaît immédiatement à sa composition fibrillaire, et au fait que les microsomes de la plaque fusoriale subsistent encore, tandis que le moignon ou pont antérieur, *m.f. a.*, se reconnaît à l'absence de fibrillation, à l'absence de microsomes, et à son aspect dense et pâteux. Ces cellules contiennent donc *trois* enclaves en dehors du noyau : la portion polaire du dernier fuseau ou Nebenkern, sa portion équatoriale, et une portion équatoriale du fuseau précédent. J'ai décrit et figuré des cas pareils pour les spermatocytes, *op. cit.*

J'ai figuré la formation de ponts fusoriaux entre des spermatides dans mon travail *Sur la régression etc.*, fig. 21 ; mais cette observation peut être tombée dans l'oubli. Ainsi, l'on trouvera dans un travail assez récent de

PRENANT (*) la phrase : - Tel est le sort que BOLLES LEE assigne au fuseau central des spermatocytes; mais il ne dit pas, croyons-nous, ce que le moignon fusorial devient dans la spermatide -.

Il ne me reste qu'à ajouter que ces résidus fusoriaux persistent pendant très longtemps dans le corps des spermatides, mais finissent par y disparaître sans avoir jamais servi en aucune façon directe à l'édification du spermatozoïde.

CHAPITRE IV.

Revue et conclusions.

Les résultats exposés dans ce mémoire donnent la confirmation par l'observation de la théorie du Nebenkern formulée sur une base hypothétique dans mes travaux précédents sur ce sujet. Là, j'avais admis que le corps dit Nebenkern n'était qu'un paquet de rayons de fuseau en dégénérescence, parce qu'il en avait tout l'air. La preuve n'était pas parfaitement rigoureuse, parce que, alors, je n'avais pas pu suivre ces rayons d'une façon parfaitement continue pendant toute la durée de leur existence. Maintenant, j'ai pu les suivre à travers toutes leurs transformations, sans lacune quelconque; et je puis affirmer que le Nebenkern provient du fuseau avec autant de certitude que l'on peut affirmer qu'un chêne provient d'un gland.

Cette conclusion s'applique, comme résultat d'observation, au Nebenkern des spermatocytes (ou aux deux masses résiduelles qui le représentent dans ces cellules) et à celui des spermatides. On peut se demander jusqu'à quel point elle est susceptible d'être généralisée.

Or, je suis pour ma part parfaitement convaincu qu'on peut l'étendre, sans aucun risque de se tromper, au Nebenkern des spermatogonies et à celui des auxocytes. Car ces éléments présentent, tant dans les cellules vivantes que dans celles étudiées dans les coupes, tous les caractères sans exception de ceux des spermatocytes et des spermatides. à cela près que les Nebenkerne des spermatogonies et des auxocytes sont uniques, tandis que dans les spermatocytes nous les trouvons existant sous la forme de deux masses polaires.

(*) PRENANT — *Sur le protoplasme supérieur*; Journal de l'anat. et de la physiol., XXXV^e année, 1899, p. 201.

J'entends cependant que cette homologie en est une *mutatis mutandis*. Car le processus de la formation du Nebenkern n'est certainement pas exactement le même dans les deux cas. Il y a entre les deux une différence importante, que voici.

Dans la masse fusoriale en régression des spermatocytes, nous trouvons toujours d'abord un acrosome, puis deux; de sorte que pendant toute son existence elle n'est jamais privée d'acrosome. Or, d'après mes observations (que j'espère raconter plus en détail à une autre occasion), il n'en est pas ainsi pour les Nebenkern des spermatogonies et des auxocytes. Ceux-ci *ne montrent d'acrosome qu'au moment de la cinèse*: pendant toute la durée de la période de repos de la cellule, ils paraissent en être entièrement privés, et ce n'est qu'au moment de la prophase qu'ils en laissent voir deux, très rapprochés l'un de l'autre, et situés *contre la membrane nucléaire*. Il semblerait qu'on doit en conclure, par manière d'hypothèse, que tandis que le pôle des spermatocytes se dédouble à la fin de la cinèse dont ils sont issus, et *à la surface de la cellule*, celui des spermatogonies se retire dans le noyau, pour y passer toute la période de repos, et ne se dédouble *qu'à la fin de cette période, et à la surface du noyau*.

Cette hypothèse me paraît assez satisfaisante en ce qui regarde le pôle proprement dit, c'est-à-dire l'hyaloplaste et l'acrosome. Mais elle n'offre aucune explication du fait que dans les spermatogonies et les auxocytes le Nebenkern se trouve situé normalement du *côté équatorial du noyau*. Ce fait demeure pour moi toujours une énigme.

J'ai déjà (*) indiqué le parallélisme qui existe entre la régression de la portion polaire du fuseau et celle de sa portion équatoriale, les deux processus aboutissant à la formation d'amas pâteux-granuleux très semblables entr'eux. Les nouveaux faits que j'ai exposés ici montrent que ce parallélisme est encore plus étroit qu'il ne le paraissait alors. Car non seulement il y a dans les deux cas formation d'un amas pâteux semblable, ce qui pourrait à la rigueur n'être qu'une ressemblance superficielle; mais dans les deux cas la régression débute par la formation d'un élément anatomique de structure très spéciale et pour ainsi dire identique dans les deux cas: pour la portion équatoriale, *la plaque fusoriale*, et pour la portion polaire, *l'anneau polaire*.

Pour l'une et l'autre des deux portions du fuseau, cet élément est constitué par des microsomes sidérophiles; pour l'une et l'autre, ces microsomes, fusiformes, se forment sur les filaments du fuseau, dont ils ne sont

(*) *Sur le Nebenkern et sur la formation du fuseau*: La Cellule, t. XI, 2^e fasc., 1896, p. 228 et 256.

que des épaisissements, et non entr'eux; pour l'une et l'autre, ils sont disposés en anneau, et non en un disque plein (on se rappellera ce que j'ai dit à ce sujet dans *La régression du fuseau*, p. 33, et les fig. 9, 6, 10, 11, 14 et 15 du même travail); pour l'une et l'autre, ils ne sont que des formations passagères, disparaissant rapidement sans avoir joué d'autre rôle que celui qui consisterait (si c'est là leur rôle) à couper les filaments du fuseau aux endroits où ils se forment. Le fuseau en régression se fabrique donc deux terminaisons homologues, qu'on pourrait appeler la plaque équatoriale et la plaque polaire; ou, mieux, puisque ces éléments ne sont pas pleins, l'anneau équatorial et l'anneau polaire.

Dans les deux, le fait qu'ils ne sont pas pleins mais creux, qu'ils sont des anneaux et non des disques, reconnaît la même cause; leur centre ne montre pas de microsomes, parce qu'il était occupé auparavant par l'hyaloplaste, et que les microsomes ne se forment que sur des filaments.

Les anneaux polaires se forment-ils ailleurs que dans les cellules étudiées ici? Je ne puis le dire d'après mes propres observations, mais je ne suis pas éloigné de croire qu'il en est ainsi, et qu'ils ont été vus, imparfaitement, par plusieurs observateurs, et décrits par eux sous le nom de - centrosomes - ou - corpuscules centraux -, composés d'un - amas de granulations -.

Nous avons vu que l'aster des spermatocytes contient une masse centrale de - centroplasme - qui répond assez exactement au - centrosome - décrit par les auteurs dans d'autres cellules; et nous avons constaté que cette masse n'est pas autre chose que le dernier reste de la portion polaire du fuseau précédent. Ce résultat se laisse appliquer, à mon sens, sans aucune réserve, à la masse centrale de l'aster des auxocytes. Car les deux éléments présentent des caractères absolument identiques, et les auxocytes contiennent aussi bien que les spermatocytes un résidu fusorial, le Nebenkern, propre à fournir ce centroplasme. On peut se demander si cette généralisation peut être étendue plus loin, si l'on serait en droit de l'étendre à d'autres cellules, et en particulier aux asters des œufs. Je n'oserais l'affirmer. Car d'une part il ne paraît pas démontré que les œufs contiennent habituellement des résidus fusoriaux capables de fournir de telles masses centroplastiques; et d'autre part j'admets parfaitement que des masses semblables peuvent avoir une autre origine. J'ai déjà suggéré moi-même (*) que la - substance granuleuse - des asters peut être simplement - l'enchy-

(*) *Le Nebenkern et la formation du fuseau*; La Cellule, t. XI, 2^e fasc., 1896, p. 237.

lème granuleux ordinaire de la cellule, qui se porte en masse aux pôles de la figure cinétique et s'y condense pour former le premier fondement de l'aster -. Et cette suggestion me paraît toujours très vraisemblable, malgré que je viens de démontrer que pour une certaine catégorie de cellules la masse centropasmique accuse une autre origine.

L'hyaloplaste doit avoir été entrevu, dans d'autres cellules, par plusieurs observateurs.

GÉRARD : *L'ovocyte de premier ordre du Prostheceræus vittatus*; La Cellule, t. XVIII, 1^r fasc., 1901, fig. 26 (corpuscule central appliqué sur - une petite vésicule incolore -, qui sort du noyau).

SCHOCKAERT : *L'ovogénèse chez le Thysanozoon Brocchi*; ibid., p. 69 et fig. 19 (centrosome sous la forme - d'une mince bande, présentant en son milieu un petit renflement et dont les extrémités effilées se continuent avec le pourtour d'une ampoule claire -, qui paraît sortir du noyau : puis aussi ses fig. 16, 18, 20, 33, 34, 50, 52, 53, 54, 56, 58, et le texte pages 73, 77 et 90).

JANSSENS : *La Spermatogénèse chez les Tritons*; ibid., t. XIX, 1^r fasc., 1901, fig. 60.

BOUIN : *Sur le fuseau, le résidu fusorial et le corpuscule intermédiaire dans les cellules séminales de Lithobius forficatus*; Comptes Rend. Ass. Anat., Lyon, 1901, fig. 2.

BOUIN et COLLIN : *Mitoses spermatogénétiques chez le Geophilus linearis*; Anatomischer Anzeiger, XX. Bd., 1901, fig. 1 et 3.

Et d'autres observateurs dont de nombreuses figures se laissent interpréter dans ce sens.

J'appelle de nouveau l'attention du lecteur sur la FIG. 29, et sur ce qui a été dit à son sujet, p. 194. Ces images sont très communes à ce stade, et montrent souvent une dépression de la surface du noyau beaucoup plus forte que celle que j'ai dessinée. Je crois que cette dépression se forme normalement, si ce n'est toujours, à ce moment. Je n'ai aucun doute qu'elle ne soit déterminée, comme je l'ai dit, par la contraction de l'hyaloplaste. Il me semble que ces images ont été vues par d'autres observateurs, et interprétées par eux comme indiquant un enfoncement de la membrane nucléaire par des rayons d'aster croissant vers le noyau pour y pénétrer et s'attacher aux chromosomes pour former les - filaments remorqueurs - du fuseau. Cette interprétation ne saurait être admise pour un instant pour les cellules que j'étudie ici. Je puis ajouter que je la trouve également inadmissible pour des cellules quelconques.

L'histoire de la formation du Nebenkern ayant été suivie en détail, sans lacune aucune, et ayant montré que cet élément n'est pas autre chose que le bout du fuseau en dégénérescence, il n'y a plus possibilité de tenir compte des opinions qui le feraient dériver de l'agglomération de granulations cytoplasmiques ou filaments cytoplasmiques, - mitochondries - ou - filaments ergastoplasmiques -, existant dans la cellule. Que ces formations existent, c'est certain; j'ai dessiné dans la FIG. 50 des granules, et dans la FIG. 51 des granules et des filaments cytoplasmiques que je pense être les - mitochondries - et les - filaments ergastoplasmiques - de BENDA et de PRENANT. Mais qu'ils ne forment pas le Nebenkern, c'est absolument certain.

D'après tout ce qui précède, il doit être à peu près superflu d'insister sur ce que le Nebenkern n'offre sous aucun rapport le caractère d'un - organe permanent de la cellule au même titre que le noyau -, d'un - Dauerorgan der Zelle -. Il est au contraire sous tous les rapports un élément de rebut; et il n'est pas autre chose. Je ne puis rien découvrir en lui qui fasse penser pour un instant qu'il exerce une fonction active quelconque dans l'économie de la cellule. Le seul élément, en dehors des chromosomes, qui me paraisse pouvoir prétendre à une sorte de permanence à travers les cinèses que nous avons étudiées, c'est l'hyaloplaste avec son acrosome. Et même si nous lui accordons une certaine permanence, cela n'en ferait aucunement un - organe permanent de la cellule au même titre que le noyau - : car il n'est lui-même qu'une partie du noyau.

Nous ne savons pas du reste s'il se maintient à travers toute la vie des cellules dans lesquelles je l'ai trouvé. Cela paraît bien être le cas pour les spermatocytes. Mais ces cellules ne passent pas par un stade de repos complet, et leur cinèse paraît n'être en quelque sorte qu'une continuation de la cinèse des auxocytes. De sorte qu'il demeure toujours possible que, pour des cellules montrant une période de repos complet, l'hyaloplaste se détruit dans le noyau après sa reconstruction : et qu'il se forme un hyaloplaste nouveau pour chaque cinèse.

Ceci m'amène à ajouter un mot d'explication au sujet du stade de repos incomplet des spermatocytes. Le noyau des spermatocytes montre bien un stade de repos en ce qu'il s'entoure d'une membrane, et en ce que ses chromosomes se réunissent en une sorte de réseau (que je crois maintenant à la vérité être un peloton nucléaire ou spirème formel), en abandonnant au caryoplasme dont ils s'entourent des granules qui rendent le fond du noyau

sombre, FIG. 15, 17, 18 et 19 par exemple. Mais *il ne s'y forme jamais de nucléoles plasmatiques*. J'ai dit dans mon travail *Les cinèses spermatogénétiques chez l'Helix pomatia*, p. 239, qu'il s'en formait de nombreux. J'ai été induit en erreur alors par le fait que la nucléine de ces noyaux a une grande tendance à se condenser en des boules qui, par les teintures que j'avais employées lors de mes anciennes recherches, ne se laissaient distinguer en aucune façon des nucléoles plasmatiques des spermatogonies et des auxocytes. Mais je me suis maintenant assuré, par des méthodes de coloration plus appropriées, que dans les spermatocytes il ne se forme jamais de nucléoles plasmatiques; tout au plus y voit-on quelquefois certaines coulées de substance achromatique, ou plutôt oxyphile, que je pense être de nature plastinienne: mais de nucléoles plastiniens formels, jamais. Ce fait a peut-être de l'importance, et je suis heureux de pouvoir corriger, sans plus tarder, l'erreur dans laquelle j'étais tombé.

La fig. 53 de mon travail *Les cinèses spermatogénétiques* donne une bonne idée des supposés nucléoles. Mais sous d'autres rapports cette figure est très défectueuse, et je prie le lecteur de la considérer comme supprimée. Les autres figures qui lui font suite sont assez exactes pour ce qu'elles montrent, mais sont imparfaites pour ce qui regarde les pôles, et je prie le lecteur de les considérer comme devant être complétées sous ce rapport par les figures du présent mémoire.

J'ajoute que, pour ce qui est des nucléoles, les spermatides se conduisent exactement comme les spermatocytes. Leurs noyaux se reconstruisent, les chromosomes s'agençant en peloton et s'entourant d'une membrane nucléaire; mais il ne s'y forme jamais de nucléoles plasmatiques.

CONCLUSIONS.

Le fuseau des cellules spermatogénétiques de l'Escargot est composé d'un faisceau de rayons fusoriaux logeant en son axe un corps hyalin, l'*hyaloplaste*, qui est terminé par une épine sidérophile, l'*acrosome*.

Autour du sommet du fuseau se trouve un aster, qui consiste en une masse centrale, ou - centropasmique -, sur laquelle s'insèrent des rayons astériens qui ne sont autre chose que des trabécules du réticulum cytoplasmique orientées sur cette masse centrale.

La masse centropasmique n'est pas sphérique mais annulaire, étant

forcée pour loger deux éléments étrangers, le sommet du fuseau d'une part, et le sommet du cône antipode ou entonnoir polaire d'autre part.

Le pôle du fuseau des auxocytes se dédouble pendant la télophase, l'hyaloplaste se dimidiant et (apparemment) l'acrosome aussi; les deux bras de l'hyaloplaste ainsi formés s'ouvrent comme les branches d'un compas jusqu'à ce qu'elles aient fait décrire aux pôles-filles un arc de 180 degrés à la surface de la cellule. En même temps, les rayons du fuseau se séparent des chromosomes, et divisés en deux masses égales ou inégales, accompagnent les pôles pendant leur migration à la surface de la cellule.

Les pôles ayant décrit leur arc de 180 degrés à la surface de la cellule, *descendent à la surface du noyau*, et constituent les nouveaux pôles pour la division suivante.

Cette descente des pôles est déterminée par la contraction de l'hyaloplaste, et finit par provoquer une *dépression de la surface du noyau*, qui doit avoir été vue et interprétée par des auteurs comme indiquant une croissance de rayons d'aster vers l'intérieur du noyau, pour y former des - filaments remorqueurs - ou - Zugfasern - du fuseau, interprétation qui est entièrement inadmissible.

Pendant la migration des pôles, les rayons du fuseau entrent en dégénérescence, se désintègrent et disparaissent peu à peu dans le cytoplasme, de sorte qu'au moment de l'établissement de la couronne équatoriale des spermatocytes il n'en reste plus qu'une petite boule entourant le pôle du nouveau fuseau et exactement semblable au - centroplasme - des auxocytes.

Le centroplasme des asters de ces cellules n'est donc pas autre chose que le dernier reste du fuseau de la division précédente.

Le corps connu sous le nom de Nebenkern n'est pas autre chose qu'un paquet de rayons fusoriaux en dégénérescence, et ce fait a été *démontré par l'observation continue, sans aucune lacune*, de ces rayons pendant toute la durée de leur existence.

Le Nebenkern des spermatides se forme de la même manière, à cela près qu'ici le pôle ne se divise pas pour former des pôles-filles destinés à une nouvelle division.

Dans l'un et l'autre de ces cas, le Nebenkern, (ou son équivalent, les deux masses fusoriales en dégénérescence des spermatocytes), demeure inactif et sans fonction, ne joue aucun rôle actif dans l'économie des spermatocytes, et ne sert en aucune façon morphologiquement à l'édification de la spermatide. Il n'est qu'un corps de rebut.

Il ne constitue en aucune façon un organe permanent de la cellule.

Il est en conséquence non seulement inutile, mais même franchement contraire aux intérêts de la science, de lui appliquer des noms tels que « archoplasme », ou « sphère attractive », ou « idiozome », qui tendraient à suggérer qu'il aurait le caractère d'un organe, permanent ou non, de la cellule. Il suffit pleinement de l'appeler du nom que lui ont donné les auteurs qui les premiers ont attiré l'attention sur lui, et de l'appeler *Neben-kern*, ou bien encore de l'appeler tout simplement ce qu'il est, à savoir « un reste de fuseau ».

Le début de la régression des rayons du fuseau est marqué par la formation d'un élément anatomique consistant en un cercle de microsomes fusiformes, qui se forment sur les extrémités distales des rayons, — *l'anneau polaire*.

Cet élément correspond exactement au cercle de microsomes semblables qui se forment sur les filaments de la portion équatoriale du fuseau au moment de la diérèse, c'est-à-dire à la plaque fusoriale de la division cellulaire.

Comme la plaque fusoriale, l'anneau polaire n'est qu'une formation passagère.

Il ne se divise pas lors de la division du pôle, mais disparaît à ce moment, ou avant.

L'anneau polaire peut avoir été entrevu par des observateurs dans d'autres cellules, et décrit par eux comme un « centrosome » formé d'un « amas de granulations ».

EXPLICATION DES FIGURES.

LÉGENDE : *N. k.*, *Nebenkern*; *m. f.*, *moignon fusorial*; *m. c.*, *membrane cellulaire*; *m. n.*, *membrane nucléaire*; *c. s.*, *corpuscules sidérophiles*; *hy.*, *hyaloplaste* (il n'est pas marqué dans toutes les figures). L'expression « même prép. » veut dire, *même mode de préparation*, mais non pas nécessairement même coupe ou même bloc de paraffine, ni même matériel provenant d'un même Escargot.

FIG. 1. Moitié d'un fuseau d'auxocyte au stade de la couronne équatoriale. $\times 1500$. Formol picrique de BOVIN, hématoxyline ferrique de BENDA, Säurefuchsin. Texte p. 184.

FIG. 2. Moitié d'un fuseau d'auxocyte, même stade. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1, mais sans la Säurefuchsin. Notez la quantité de rayons d'aster très fins autour du centrosome. Acrosome grand, 0,5 micron de largeur.

FIG. 3. Centre de la fig. précédente. $\times 3000$.

FIG. 4. Moitié d'un fuseau d'auxocyte, même stade. $\times 3000$. Même prép. que FIG. 1. Texte p. 187. Acrosome grand, 0,5 micron de largeur. Les rayons du fuseau sont colorés en noir dans cette cellule, le centroplasme et les rayons de l'aster en rouge.

FIG. 5. Portion polaire d'un auxocyte au stade d'anaphase. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Notez l'hyaloplaste très nettement apparent. Anneau polaire déjà formé. Texte p. 194. En *a*, l'acrosome et l'anneau polaire, $\times 3000$; en *b*, l'acrosome et l'anneau polaire du pôle inférieur de la même cellule, $\times 1500$ et 3000.

FIG. 6. Moitié de fuseau d'un auxocyte au même stade. $\times 1500$. Acide picroacétique de BOVERI, hématoxyline ferrique de BENDA, Säurefuchsin. Agglomération de l'acrosome et du centroplasme par l'action nuisible du fixateur. Texte p. 189.

FIG. 7. Pôle d'un fuseau d'auxocyte, même stade, en *a*, $\times 1500$; en *b*, $\times 3000$. Même prép. que FIG. 1. Cellule de la même colonie que FIG. 5, au même stade exactement. Anneau polaire très mince, contenant deux acrosomes, chacun coiffant une branche d'hyaloplaste. Notez que dans cette cellule, comme dans celle de la FIG. 5, le centroplasme et les rayons d'aster ont entièrement disparu.

FIG. 8. Portion polaire d'un auxocyte à un stade d'anaphase légèrement plus avancé. $\times 3000$. Même préparation que FIG. 1. Deux acrosomes dans un anneau

polaire fendu du côté gauche. Rayons du fuseau gonflés, étirés vers les chromosomes. Texte p. 196. Espace clair autour de la couronne polaire, mais point de membrane nucléaire.

FIG. 9. Pôle du fuseau d'une cellule de la même colonie que FIG. 8. $\times 3000$. Un acrosome dans l'anneau polaire, et un autre en dehors, à droite. Il y a aussi dans l'anneau polaire, en bas, un corpuscule problématique, qui ressemble à un troisième acrosome.

FIG. 10. Pôle du fuseau d'une cellule de la même colonie. $\times 3000$. Anneau polaire de très petits microsomes fusionnés. Un seul acrosome. Hyaloplaste très net.

FIG. 11. Portion polaire d'une cellule de la même colonie que les fig. précédentes, stade un peu plus avancé. $\times 1500$. Rayons du fuseau comme dans la FIG. 8. Un seul acrosome dans l'anneau polaire. L'hyaloplaste est visible.

FIG. 12. Fuseau de la figure précédente. $\times 3000$.

FIG. 13. Portion polaire d'un auxocyte au même stade, si ce n'est que les chromosomes sont un peu plus serrés. Même prép. que FIG. 1. Pas de membrane nucléaire; couronne polaire coupée. Deux acrosomes dans l'anneau polaire. Rayons du fuseau séparés des chromosomes et se groupant en Nebenkern. $\times 1500$.

FIG. 13, *b*. Anneau polaire et acrosomes de la FIG. précédente. $\times 3000$.

FIG. 14. Deux pôles d'un auxocyte au même stade. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Un seul acrosome dans l'anneau polaire; rayons du fuseau gonflés et fusionnés. Les anneaux polaires et les acrosomes sont très grands dans cette cellule.

FIG. 15. Portion polaire d'un jeune spermatocyte. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Noyau reconstitué, chromosomes s'agencant en réseau, et entourés d'une membrane nucléaire, mais point de nucléoles, texte p. 196. Hyaloplaste divisé, deux acrosomes dans l'anneau polaire, rayons du fuseau agglomérés en Nebenkern.

FIG. 16. Anneau polaire, hyaloplaste et acrosomes de la fig. précédente. $\times 3000$.

FIG. 17. Portion polaire de spermatocyte au même stade. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Migration des pôles, qui sont déjà largement séparés; l'inférieur, *p. i*, en vue polaire. Hyaloplaste nettement visible.

FIG. 18. Moitié de spermatocyte au même stade. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Pôles largement séparés. Texte p. 192 et 197.

FIG. 19. Portion de spermatocyte à un stade plus avancé quant au noyau, qui montre les ébauches des nouveaux chromosomes (donc une prophase de la nouvelle division), mais à un stade moins avancé quant aux pôles, dont la migration a à peine commencé. $\times 1500$. Même préparation que FIG. 1.

FIG. 20. Autre étude de spermatocyte au même stade. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Dans le noyau, en *g.*, des coupes de filaments problématiques (? rayons du nouveau fuseau en formation).

FIG. 21. Pôle de spermatocyte au même stade. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Les pôles apparemment l'un au-dessus de l'autre. Texte p. 191.

FIG. 22. Autre étude des pôles d'une cellule de la même colonie, les pôles s'écartent latéralement. $\times 1500$.

FIG. 23. Autre cellule de la même colonie, même stade quant au noyau. $\times 1500$. Les pôles ont décrit un arc de 90 degrés.

FIG. 24. Spermatocyte en prophase plus avancée. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Les pôles ont décrit un arc de 180 degrés, mais sont toujours à la surface de la cellule.

FIG. 25. Spermatocyte, stade plus avancé, la descente des pôles a commencé. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Masses fusoriales montrant encore des traces de rayonnement.

FIG. 26. Portion de spermatocyte au même stade. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Masse fusoriale réduite à une boule.

FIG. 27. Spermatocyte au même stade, masse fusoriale encore plus réduite. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. A droite, en bas, le pôle $\times 3000$. Notez la forme de citron du noyau, produite par l'hyaloplaste.

FIG. 28. Spermatocyte en prophase plus avancée. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Notez qu'au pôle inférieur il n'y a pas de « centroplasma », celui-ci est remplacé par un groupe de rayons fusoriaux dégénérés *renversés*. Texte p. 197. Les pôles sont au contact du noyau.

FIG. 29. Spermatocyte à un stade un peu plus avancé, la descente des pôles est terminée. $\times 1500$. Cellule de la même colonie que la fig. précédente. Notez la dépression de la surface du noyau produite par la contraction de l'hyaloplaste. Texte p. 194 et 207.

FIG. 30. Fuseau de spermatocyte au stade de la couronne équatoriale. $\times 1500$. Même prép. que la fig. précédente. Texte p. 198.

FIG. 31. Étude d'un autre fuseau de la même colonie. $\times 1500$.

FIG. 32. Pôle de spermatocyte en anaphase. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1.

FIG. 33. Pôle de spermatocyte en télophase. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 2. Rayons de fuseau détachés des chromosomes.

FIG. 34. Pôle de spermatide. $\times 1500$. Même prép. que la fig. précédente. Noyau reconstruit, rayons du fuseau comme dans la fig. précédente; hyaloplaste très net; anneau polaire comme dans les deux fig. précédentes.

FIG. 35. Pôle de spermatide, même stade. $\times 1500$. Anneau polaire réduit à trois microsomes. Même prép. que FIG. 1.

FIG. 36. Spermatide au même stade. $\times 1500$. Rayons fusoriaux s'agglomérant pour former le Nebenkern. La cellule contient le reste de la portion équatoriale du

dernier fuseau, *m. f. r.*, et aussi un moignon de fuseau antérieur, *m. f. a.* Même prép. que FIG. 1.

FIG. 37. Portion de spermatide au même stade. $\times 3000$. Même prép. que fig. précédente. Rayons fusoriaux en parasol

FIG. 38. Pôle de spermatide plus avancé. $\times 3000$. Même prép. que fig. précédente. Rayons dégénérés du fuseau en cône.

FIG. 39. Cinq études d'anneaux polaires et acrosomes de spermatides au même stade que la fig. précédente, même colonie. $\times 3000$.

FIG. 40. Pôle de spermatide. $\times 1500$. Même prép. que FIG. 1. Rayons du fuseau agglomérés en parasol japonais.

FIG. 41. Le même. $\times 3000$.

FIG. 42. Pôle de spermatide. $\times 3000$. Même prép. que FIG. 2. Rayons du fuseau devenus un Nebenkern conique, acrosome divisé en deux granules, dont un cilié.

FIG. 43. Autre pôle de la même colonie. $\times 3000$. Hyaloplaste sortant du Nebenkern.

FIG. 44. Pôle de spermatide, Nebenkern conique. $\times 3000$. Même prép. que FIG. 2.

FIG. 45. Petite spermatide au même stade. $\times 1500$. Nebenkern et granules très petits. A gauche, en haut, Nebenkern et granules. $\times 3000$.

FIG. 46. Nebenkern. $\times 3000$. Même prép. que FIG. 2. Hyaloplaste sortant du Nebenkern à gauche.

FIG. 47. Nebenkern en boule. $\times 3000$. Même colonie.

FIG. 48. Nebenkern de la même colonie. $\times 3000$. Hyaloplaste sorti à droite.

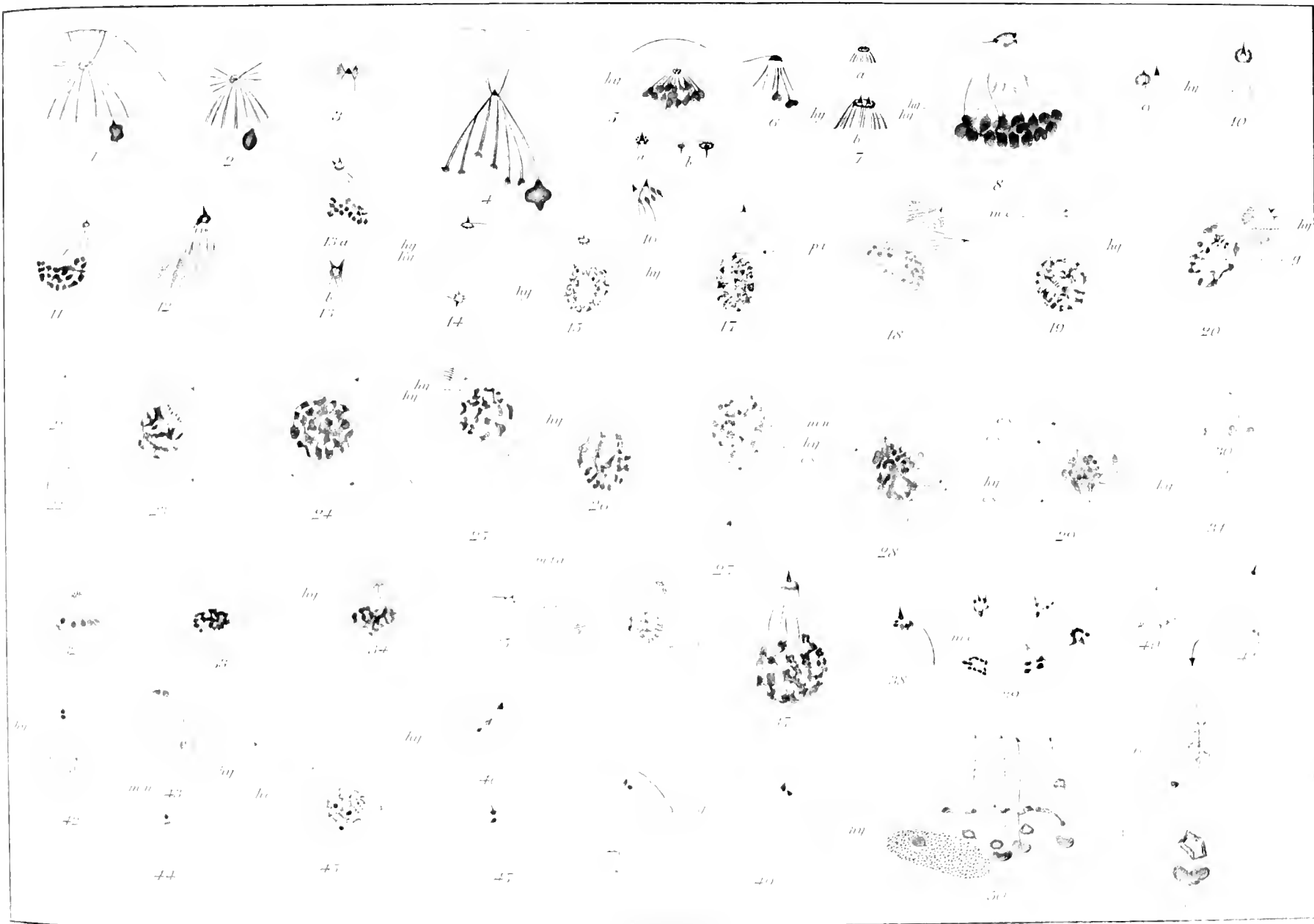
FIG. 49. Nebenkern de la même colonie. $\times 3000$. Hyaloplaste sorti à droite.

FIG. 50. Groupe de spermatides avancées. $\times 900$. Noyaux réniformes, Nebenkerne détachés, libres et polyédres; chaîne de ponts fusoriaux reliant cinq spermatides; en bas, une portion de cellule basale; à gauche, son noyau. Liquide de FLEMMING, hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN.

FIG. 51. Spermatide de la même colonie. $\times 1500$. Le cytoplasme contient un Nebenkern pentagone, un moignon fusorial, un nuage de microsomes cytoplasmiques, et un amas de filaments cytoplasmiques, *fi* (« mitochondries, filaments ergastoplasmiques »).

TABLE DES MATIÈRES.

Introduction	181
Chapitre I. — Le fuseau des auxocytes et sa régression dans les spermatocytes. Portion polaire.	184
Chapitre II. — La régression du fuseau des spermatocytes dans les spermatides. Portion polaire.	199
Chapitre III. — La régression de la portion équatoriale du fuseau	202
Chapitre IV. — Revue et conclusions	204
Conclusions	209
Explication des figures	213



LA CELLULE

LA CELLULE

RECUEIL

DE CYTOLOGIE ET D'HISTOLOGIE GÉNÉRALE

FONDÉ PAR

J. B. CARNOY, PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE,

PUBLIÉ PAR

G. GILSON, PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE,
A L'UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

TOME XX

2^d FASCICULE.

- I. Le « Bios » de Wildiers ne joue pas le rôle d'un contrepoison ;
étude expérimentale, par Abel AMAND.
- II. Hémolyse et Antihémolyse,
par M. IDE.
- III Système nerveux, système circulatoire,
système respiratoire et système excréteur de la Neritina fluviatilis,
par J. LENNSEN.
- IV. A propos du noyau de la levure,
par F. A. JANSSENS.
- V Étude microchimique et cytologique d'une Torula rose,
par F. A. JANSSENS et Ad. MERTENS.
- VI. Les tannoides de la Rhubarbe de Chine,
par Eugène GILSON.
- VII. L'élément nucléinien pendant les cinèses de maturation des
spermatocytes chez Batrachoseps attenuatus et Pletodon cinereus,
par F. A. JANSSENS et R. DUMEZ

Prix : 25 francs.

LIERRE

TYP. DE JOSEPH VAN IN & C^{ie},
Grand'place, 38.

LOUVAIN

A. UYSTPRUYST, LIBRAIRE,
rue de la Monnaie.

1903

Le „Bios“ de Wildiers

ne joue pas le rôle d'un contrepoison

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

PAR

Abel AMAND

CANDIDAT EN MÉDECINE

(Déposé le 10 juillet 1902.)

Le „Bios“ de Wildiers ne joue pas le rôle d'un contrepoison

INTRODUCTION.

Nous avons repris aux laboratoires de l'Institut CARNOY les études du D^r E. WILDIERS sur la levûre, études dont les premiers résultats, publiés en 1900, ont excité vivement l'attention des biologistes (1).

WILDIERS terminait son mémoire en souhaitant de voir des hommes compétents collaborer à l'éclaircissement du fait étonnant qu'il avait constaté. C'est que ce fait pouvait être interprété contrairement aux règles établies par PASTEUR concernant l'alimentation de la levûre, et que des questions importantes de physiologie générale finiraient peut-être par s'y rattacher.

L'appel aux expérimentateurs n'a guère eu d'écho jusqu'ici; il est vrai que dans les laboratoires une période de moins de deux années n'est point suffisante pour que des travaux étendus arrivent à voir le jour : jusqu'ici nous n'enregistrons qu'une couple d'expériences nouvelles.

Par contre, des critiques parmi les plus autorisés ont échangé des vues d'esprit *pour et contre* les hypothèses de WILDIERS; ils ont suggéré des interprétations nouvelles pour les faits incontestés révélés par lui; ils les ont discutées entre eux en dehors de toute participation de l'auteur lui-même. Les noms de LIEBIG et de PASTEUR, mêlés inévitablement à cette question brûlante, n'ont peut-être pas été sans influence sur la vivacité de certains articles. Le nom de PASTEUR est l'objet d'une vénération internationale, c'est un des plus beaux noms de l'histoire des sciences. Sa gloire, comme celle de tous les savants, se mesure exactement par la part prise au développement des questions scientifiques : les progrès ultérieurs de chacune de ses branches d'étude (immunité, fermentation, parasitisme) ne sauraient amoindrir le prestige du grand savant français; au contraire, chaque fois qu'on prend contact avec une des questions qu'il a touchées, on ne peut s'empêcher de rendre un hommage sincère à son génie créateur.

WILDIERS, après avoir relu les mémoires originaux de PASTEUR, proclame à son tour que PASTEUR nous fit passer du noir chaos à la plus pure lumière scientifique; mais il se crut libre après cela d'affirmer que, dans des conditions nouvelles, des faits nouveaux apparaissent.

EXPOSÉ DE LA QUESTION.

Chaque fait observé prête à des interprétations diverses, suscite des hypothèses qui peuvent servir de guide à de nouveaux expérimentateurs; ces diverses hypothèses étant susceptibles de vérification, on verra les chercheurs se diriger l'un dans une voie, l'autre dans une autre. Enfin, chacun est libre de chercher des explications nouvelles plus ou moins adéquates dans le domaine du possible, et rend ainsi service aux expérimentateurs. Tout cela est légitime et utile, à la condition qu'on se maintienne toujours dans les limites rigoureuses de la logique.

D'abord, quant au fait observé lui-même, ou bien il est patent et incontesté, ou bien il n'a été observé que rarement dans des circonstances difficiles à déterminer; il ne se produit pas entre d'autres mains et il échappe à une définition bien délimitée; ce fait est alors contesté, du moins tel que le premier observateur l'a défini. C'est en toute science toujours la première base à établir : la vérité, l'universalité du fait, telle qu'elle est contenue dans l'original.

Le fait de WILDIERS est nettement défini et établi par l'auteur : *les cultures de quelques espèces de levûres de bière, faites en milieu minéral sucré,ensemencées avec des quantités (réduites dans certaines limites) de levûres vivantes, observées par la perte en poids de CO₂, ne présentent de prompts phénomènes de développement et de fermentation que grâce à la présence d'une substance encore inconnue.* Cette inconnue présente une série de propriétés étudiées ensuite par l'auteur.

Tel est le fait de WILDIERS : le titre exact de son travail aurait-il dû comporter cette longue périphrase? Ce titre, qui est l'annonce abrégée du travail, pouvait-il mieux s'énoncer que par les mots : *Nouvelle substance indispensable au développement de la levûre?* Le titre jette le lecteur en plein dans le sujet du travail; le lecteur ne peut ultérieurement interpréter le titre autrement que par les données des expériences : et ces données seules sont à discuter quant à leur exactitude et quant à leur importance.

L'auteur peut, à propos du fait observé, énoncer les hypothèses possibles; il le peut surtout quand il fait appel au contrôle et à la lumière des autres observateurs; il le doit presque quand il remarque que la vérification de certaines hypothèses serait d'un grand intérêt scientifique.

Ici, l'observateur lui-même, comme le critique, sortirait des règles de la logique, s'il donnait comme certain ce qui n'est qu'hypothétique, ou excluait comme impossibles les interprétations encore possibles. Or à ce point de vue, WILDIERS, ayant indiqué un fait dûment constaté, n'a voulu ni imposer ni exclure aucune explication.

Mais les mêmes règles de logique devraient être appliquées en toute critique, si celle-ci ne veut point devenir fausse et nuisible.

Le mémoire de WILDIERS a été bien compris par la plupart des lecteurs. Rappelons seulement que tout le travail de WILDIERS n'a commencé que lorsque *l'influence du nombre de cellules vivantesensemencées avait été définitivement écartée* : il suffit de lire le mémoire de WILDIERS pour le voir clairement. Nous le répétons, parce que le nombre de cellules vivantesensemencées a encore été remis en cause récemment par un critique français : c'est évidemment une faute d'inattention de sa part (2). Mais notre étonnement redouble, quand nous voyons l'article français reproduit quasi intégralement et presque appuyé par le *Wochenschrift für Brauerei* (5), sans que pareille erreur fut relevée par le critique berlinois, qui avait si bien saisi antérieurement tout le sens du mémoire de WILDIERS.

Nous reviendrons là-dessus après l'étude du cuivre, chapitre VI.

Le fait lui-même exposé par WILDIERS n'a pas été contesté, même par ceux qui semblent chercher à en restreindre la valeur par des suppositions nouvelles ou par des expériences d'un autre genre. Une autorité en ces matières, WINDISCH (3), dit avoir observé probablement les mêmes faits sous leur forme première, mais sans en avoir cherché la valeur. HENRI (5) (de l'Institut PASTEUR) publie deux expériences de cultures aérées dans des vases plats pendant 9 jours, et il mesure le développement par le poids du dépôt; ces expériences sont peut-être à rapprocher des cultures lentes dans les milieux non aérés, dont WILDIERS parle aussi à la fin de son mémoire. L'auteur ne dit pas s'il a refait les expériences de WILDIERS, *a fortiori* il ne fait aucune comparaison entre son moyen d'observation (la pesée du dépôt) et celui de WILDIERS (la perte en CO_2), et surtout il ne fait aucune comparaison entre la pesée du dépôt en l'absence de - bios - et en présence de - bios -. Ces comparaisons restent à faire. Entretemps, il est plus que pro-

bable que les cultures mises en train par la méthode ordinaire et observées par la perte en CO_2 , ont donné entre les mains de HENRI les mêmes résultats qu'entre les mains de WILDIERS.

Voilà pour les faits avancés par WILDIERS.

Quant aux hypothèses, tant que les faits expérimentaux ne seront pas venus éclaircir les notions sur le rôle du - bios -, il y en a plusieurs possibles. Il nous semble qu'on peut classer en plusieurs genres les interprétations plausibles :

1° Le - bios - présente une molécule que la levûre utilise pour l'introduire par synthèse dans ses éléments constitutifs : le - bios - serait un aliment indispensable à la levûre.

2° Le - bios - apporte un sel ou un élément physique, qui facilite les fonctions vitales de la levûre à l'instar de la chaleur, de la concentration moléculaire, de la neutralité, du rôle inconnu des sels de zinc pour l'*Aspergillus*, etc.

3° Le - bios - neutralise un poison, qui serait constitué par l'un des éléments chimiques (sulfate, chlorure) employés sans arrière-pensée jusqu'ici dans le bain nutritif.

4° Le - bios - neutralise un poison, qui constituerait une impureté de réactif ou d'appareil, qui n'aurait pas existé aussi abondante du temps de PASTEUR.

WILDIERS, qui avait employé les milieux les plus variés au début de ses expériences (alors qu'il cherchait à faire des cultures en milieu minéral dans un autre but), qui avait cherché si le défaut de développement ne dépendait pas d'une erreur ou d'une négligence, et qui, après avoir fait tout ce que l'on pouvait conseiller comme moyen adjuvant au laboratoire des fermentations de l'Institut, aération préalable, cendres de levûre, densités diverses, sucres divers, azotés divers, divers degrés de neutralité, levûres pures variées, températures diverses, et qui malgré tout n'arrivait pas à faire fermenter ses cultures d'une manière visible, WILDIERS devait considérer comme improbable qu'une question de poison fut intervenue dans ses expériences.

Pourtant, la question n'ayant pas été résolue systématiquement par WILDIERS, les critiques pouvaient encore légitimement se demander si un poison quelconque (dont le - bios - serait contrepoison) n'avait pas constamment échappé à l'attention de notre prédécesseur. Des suppositions nouvelles ont été faites à ce point de vue : notons celle du cuivre, suggérée par LAURENT, reprise par FERNBACH (2) et prise en considération par WIN-

DISCH (3). La présence du cuivre à l'état de traces serait un fait des plus constants dans les laboratoires modernes; presque tous les réactifs, même l'eau distillée, en contiendraient d'après WINDISCH, DEHERAIN et DEMOUSSY. De plus, d'après NEGELI et d'après DEHERAIN et DEMOUSSY, le cuivre est un terrible poison pour certaines cellules végétales. Nous reviendrons au chapitre VI sur cette question spéciale.

Cette supposition a été formulée, mais il n'a pas été fait d'expériences pour lui donner corps : HENRI (4), après avoir rappelé cette hypothèse et l'avoir traitée de « vue d'esprit », passe outre et fait des expériences d'un tout autre genre (*).

L'hypothèse que le « bios » jouerait le rôle d'un contrepoison semble donc hanter momentanément l'esprit des lecteurs du premier mémoire de WILDIERS. Et la lecture de la dernière note du *Wochenschrift für Brauerei* (5) ferait croire que cette hypothèse gagne du terrain dans leur esprit.

En reprenant les recherches abandonnées avec beaucoup de regrets par WILDIERS, il nous a semblé que ce serait faire besogne utile que d'établir d'une manière définitive si l'hypothèse du contrepoison est soutenable. Nous avons repris ce côté de la question d'autant plus volontiers que la recherche directe et l'isolement du « bios » ont été amenés par WILDIERS à une phase de grandes difficultés. Les moyens habituels étant reconnus inutiles ici, ce n'est pas sans longs labeurs qu'on arrivera à saisir l'inconnu. En attendant, rien n'empêche que par des expériences on lui reconnaisse ou non les caractères d'un contrepoison.

PLAN DU TRAVAIL.

Écarter d'une manière péremptoire l'hypothèse de l'existence d'un poison n'est pas chose aussi simple qu'elle le paraît à première vue.

Il existe des poisons dans toutes les catégories de corps chimiques; il y en a qui sont volatils et qui s'entraînent dans les distillations; il y en a que l'eau attire à elle de l'atmosphère même; il y en a qui agissent sans se

(*) Il nous est expressément défendu par nos maîtres de répondre autrement que par des observations aux objections faites, même nous ne pouvons relever que les critiques ayant de la valeur scientifique. Tout ce qui sort de l'exposé des faits et de leur rigoureuse interprétation, tout ce qui ne concourt pas directement à la recherche de la vérité doit nous laisser indifférent et rester dans l'oubli. Nous ne sortirons pas de cette règle et nous espérons que, par amour pour la vérité, nos bienveillants lecteurs nous imiteront.

fixer sur le protoplasme; on peut même s'imaginer des contrepoisons qui n'ont aucun rapport chimique avec le poison.

Nous n'entrevoions aucune expérience unique capable d'écarter l'hypothèse du poison. Chaque expérience faite sur l'ensemble du milieu pré-suppose certaines propriétés au poison. Or, on pourra toujours supposer l'existence de poisons possédant d'autres propriétés. Il est impossible par cette voie d'arriver à écarter l'hypothèse de n'importe quel poison.

Il fallait adopter un autre plan de raisonnement pour écarter l'hypothèse d'un poison quelconque.

Ou bien le poison est introduit dans le milieu de culture avec *l'un* des éléments qui le composent, ou bien, chose presque inconcevable, *chacun des éléments* y apporte une même proportion de poison, ou bien celui-ci se forme à l'intérieur du bouillon *par réaction des éléments constitutifs* entre eux. Par élément du milieu de culture, il faut comprendre tout ce qui entre en contact avec la culture, même l'eau, les parois du vase et les gaz qui s'y trouvent.

Il nous semble qu'il n'y a pas moyen de sortir de ces suppositions; si une autre source de poison existe, elle sera de la catégorie des inconnues induisant en erreur, comme il en existe pour presque toutes les lois biologiques et physiques.

Examinons chacune des trois suppositions.

1° *Le poison s'introduit avec l'un des éléments du milieu de culture.*

Cette supposition peut être rendue insoutenable par des séries de cultures faites d'après la règle suivante pour chacun des éléments à examiner.

A. Cultures sans l'élément soupçonné	$\left\{ \begin{array}{l} \text{sans -bios-} \\ \text{avec peu de -bios-} \\ \text{avec la dose entière de -bios-} \end{array} \right.$	
B. Cultures avec l'élément soupçonné en quantité ordinaire		$\left\{ \begin{array}{l} \text{sans -bios-} \\ \text{avec peu de -bios-} \\ \text{avec la dose entière de -bios-} \end{array} \right.$
C. Cultures avec l'élément soupçonné à une dose exagérée.		

Si le -bios- joue le rôle de contrepoison pour un poison introduit avec cet élément, il est évident que les cultures A marcheront toutes mieux que

les cultures B et C; même les cultures C ne pourront marcher aussi bien que les cultures B que si on augmente toutes les doses de contrepoison. Ce plan est *parfaitement exécutable* pour les *sels inorganiques* qui entrent dans la composition du milieu de culture, il l'est aussi suffisamment pour la nature du *vase* (verre à remplacer par métal), du *bouchon* (caoutchouc à remplacer par ouate), et de l'air ambiant (à remplacer par H₂).

Ce plan est plus délicat à exécuter avec les éléments plus précieux du milieu, c'est-à-dire avec *le sucre* et *les éléments azotés*; toutefois, on peut remplacer les sucres les uns par les autres et on peut en exagérer la dose dans une certaine limite. Les sels ammoniacaux peuvent aussi être remplacés et varier dans leur dose.

L'eau du milieu de culture est plus difficile à traiter; on peut en effet supposer un poison qui distille, et qui agit non par la quantité absolue présente, mais par sa proportion pour cent, comme le chloroforme le fait dans notre organisme d'après les expériences de PAUL BERT. Mais si on ne peut ni la supprimer ni la concentrer, l'eau est un élément qu'on peut soumettre à des opérations telles qu'il devient néanmoins déraisonnable de lui supposer toujours la même richesse d'une substance inconnue. On peut en faire par synthèse de H et de O; on peut en choisir d'origines terrestres très éloignées entre elles, etc. Nous traiterons en détail cette question au chapitre spécial de nos expériences sur ce sujet.

Enfin, on ne peut pas soupçonner les gouttes du liquide d'ensemencement d'apporter le poison, puisqu'elles apportent certainement un excès de « contrepoison », nos liquides d'ensemencement ayant été jusqu'ici des cultures sur moût, donc un milieu riche en « bios ».

Ainsi s'écarterait donc la première supposition.

2° *Le poison s'introduit avec chacun des éléments dans des proportions identiques.*

Cette seconde supposition, sans se laisser vérifier par des résultats aussi nets, serait suffisamment mise à nue par le résultat des cultures faites dans le but de renverser la supposition précédente. En effet, les cultures présentant des concentrations exagérées de l'un des éléments quelconques seraient beaucoup plus riches en poison et exigeraient pour marcher convenablement plus de contrepoison.

Si, par exemple en triplant la dose de sels inorganiques ou de sels ammoniacaux, il ne faut pas plus de « bios » que dans les cultures ordinaires, cette seconde supposition est aussi renversée.

Les mêmes expériences serviraient donc à écarter les deux premières suppositions, si les résultats sont suffisamment catégoriques.

3° *Le poison se forme par l'action combinée de plusieurs éléments du milieu de culture.*

Ceci est un pas de plus dans l'énigmatique; et l'imagination peut compliquer les suppositions à discrétion. Délimitons néanmoins le problème.

D'abord, cette troisième supposition ne doit intervenir que si la première et la deuxième supposition sont écartées, c'est-à-dire que, s'il y a lieu de faire intervenir cette troisième supposition, ce sera lorsqu'il est bien prouvé qu'aucune des substances n'est toxique, prise isolément.

Ensuite, il faudra admettre que le poison se développe par l'action des éléments indispensables à la levûre, c'est-à-dire les substances inorganiques indispensables, les sucres, l'eau et le milieu d'ensemencement.

En effet, nous aurons éliminé complètement par les cultures de la 1^{re} série tous les éléments qui ne sont pas indispensables, tels que le Na, le Cl, le verre du réservoir, les gaz de l'atmosphère.

Il nous reste donc K, Mg, SO₄, P₂O₅, Ca et NH₃, l'eau, les sucres et le liquide d'ensemencement, ou les inconnus qui accompagneraient ces éléments.

Or, ici il est facile de faire une seconde élimination : je puis faire des cultures contenant en excès à la fois K, Mg, SO₄, P₂O₅, Ca, NH₃ et les sucres : si la réaction qui produit le poison se fait entre deux ou plusieurs de ces corps, il faudra admettre que le poison sera proportionnellement plus concentré et il faudra plus de « bios ».

Or, cela est encore facile à réaliser et l'aura été dans la 1^{re} série d'expériences. Il ne restera alors que la formation d'un poison à dose déterminée grâce à l'action *de l'eau* d'une part et un autre élément (y compris le liquide d'ensemencement) d'autre part.

Or, l'eau devrait agir en collaboration avec les autres éléments du milieu et indépendamment de la concentration de ces autres éléments, si non on retombe dans le cas précédent. L'eau ne pourrait donc agir d'une manière constante que si sa saturation en poison reste constante même aux diverses concentrations des autres éléments : en d'autres termes, il faut supposer que l'eau du milieu se sature toujours d'un poison, peu importe si nous avons introduit peu ou beaucoup des susdits éléments. Cela est possible. On peut supposer par exemple que tous nos sulfates contiennent un poison très peu

soluble, dont un excédant reste insoluble ou sous une forme inoffensive quand on en met un excès.

Mais *il ne peut pas être question d'une insolubilité*, car on peut faire des milieux qui ne forment aucun dépôt.

La dernière supposition qui reste serait donc que l'eau se sature toujours également d'un poison qui se trouve en surabondance dans les sels, les sucres ou le liquide d'ensemencement, sans qu'une question de solubilité intervienne. Nous sommes alors dans le domaine de l'inconnu, de l'incompréhensible même pour l'état actuel des connaissances physico-chimiques.

Et le - bios - à certaine dose empêcherait l'eau de former ce poison. Ce poison serait si horriblement délétère pour les levûres, alors qu'il reste inoffensif pour les plantes qui croissent sans - bios -.

Ce serait excessivement intéressant !

Mais l'hypothèse du poison acculé dans cet unique impasse, pour lequel nous n'entrevoyons guère plus d'expérience péremptoire, mériterait à peine encore un effort scientifique, *tant elle devient improbable*.

Quand nous l'aurons réduite à cette extrémité, nous serons en droit de croire qu'il y a œuvre plus utile à faire qu'à la pourchasser encore plus loin. Nous penserons alors, avec le lecteur non prévenu contre le - bios -, qu'il y a des hypothèses plus simples et plus vraisemblables qui méritent nos efforts, et nous attaquerons l'étude du - bios - à un tout autre point de vue.

Le présent travail est exécuté sur le plan exposé ci-dessus. Seulement beaucoup d'expériences peuvent se combiner sans perdre de leur netteté, comme nous le verrons au cours du mémoire.

Nous y ajouterons quelques expériences répondant à des objections déjà émises, car il est inutile de laisser trainer des hypothèses erronées.

EXPÉRIENCES PERSONNELLES.

Remarques générales.

Toutes nos expériences ont été exécutées d'après la méthode adoptée par WILDIERS, sauf les changements exigés par le but spécial poursuivi dans chaque chapitre.

Le milieu de culture au point de vue minéral était une solution dans 5 litres d'eau distillée de

CINH_4	5 gr.
K_2HPO_4	5 gr.
Na_2HPO_4	5 gr.
MgSO_4	5 gr.
CaCO_3	1 gr. (*)

Il se forme toujours un dépôt de phosphates, mais aucun des sels indispensables ne se précipite tout entier. WILDIERS s'en est assuré jadis.

On peut décanter ce dépôt, ou l'ajouter aux cultures; seulement si on veut peser ultérieurement la levûre formée, il faut en tenir compte, et il faut dissoudre le précipité de sels avant de filtrer.

120 à 125 cm³ de ce milieu, additionné d'environ 10 gr. de sucre blanc du commerce et chargé de « bios », étaient mis dans un vase conique (ERLENMEYER) d'une capacité de 200 à 250 cm³. Un bouchon en caoutchouc percé d'un trou laisse passer le barboteur en verre, bouché lui-même par de l'ouate. Le tout est stérilisé à l'autoclave sous pression d'une atmosphère environ. Le bouillon refroidi est ensemencé le lendemain avec une levûre pure sur moût, bien émulsionnée au moment de la prise faite par pipette stérile. La quantité du liquide d'ensemencement est de 3 ou 4 petites gouttes, dont 40 à 50 équivalent un cm³. Aussitôt après l'ensemencement, le barboteur est chargé de H₂SO₄ anglais; le ballon entier est pesé sur une balance donnant exactement le décigramme. Les pesées quotidiennes mesurent la perte en CO₂.

(*) Est-ce par erreur ou par faute d'impression que le milieu de WILDIERS (p) est donnée comme contenant aussi 5 gr. de CaCO₃? Nous évitons l'excellent de ce sel superflu qui retient du CO₂.

Remarquons-le bien : toutes nos expériences mesurent donc non la production de levûre nouvelle, mais la *fermentation*. Pourtant, il suffit d'ouvrir les yeux pour constater que les ballons qui n'ont pas fermenté - d'après la balance - ne contiennent que des traces de levûre, tandis que ceux qui fermentent en présentent une notable couche après peu de jours.

Le « bios » employé, filtrat de levûre commerciale sèche, étendue d'eau et bouillie, contenait dans 4 grammes une dose entière pour faire marcher très vite 120 grammes de bouillon. Une seconde préparation de « bios » se montrant beaucoup plus active a été réduite par une dilution approximative. Les doses de « bios » indiquées dans le travail sont donc toujours à peu près équivalentes.

Nous donnons ci-dessous la marche de la fermentation de 120 cm³ de bouillon avec différentes doses de « bios », pour que le lecteur qui désire contrôler puisse faire un essai comparatif de son « bios » avec les nôtres.

Nous fîmes deux séries témoins avec le même « bios » à plus de 100 jours d'intervalle; entretemps, la solution avait subi de fréquentes stérilisations; aussi il semble faiblir peu à peu. Nous indiquons la perte de poids en grammes.

Première série. Faite en novembre 1901.

Milieu de 125 cm³ : 10 gr. non pesés de sucre blanc scié du commerce (2 morceaux); t° 22°; ensemencement 3 gouttelettes.

QUANTITÉ DE « BIOS » EN CM ³ :	1 4	1 2	1	2	4
Après 2 jours	0	0,25	0,50	0,95	2,00
» 3 »	0,30	0,40	0,90	1,35	1,85
» 4 »	0,35	0,60	1,05	1,25	1,00
» 5 »	0,35	0,60	0,75	0,80	0,25
» 6 »	0,45	0,60	0,85	0,35	0,20
» 7 »	0,55	0,80	0,95	0,05	0,05
» 8 »	0,40	0,45	0,20		
» 9 »	0,60	0,50	0,05		
» 10 »	0,30	0,10			
» 11 »	0,35	0,05			
» 12 »	0,40				
» 13 »	0,15				
	4,20	4,35	5,25	4,75	5,35

Deuxième série. Faite en février 1902. Mêmes conditions.

QUANTITÉ DE « BIOS » EN CM ³ :	1 4	1 2	1	2	4
Après 2 jours			0	0,05	0,25
» 3 »	0,25	0,25	0,55	1,45	2,00
» 4 »	0,10	0,45	0,70	1,20	1,40
» 5 »	0,40	0,25	0,70	1,00	0,50
» 6 »	0,15	0,50	1,00	0,35	0,25
» 7 »	0,25	0,10	0,60	0,10	0,05
» 8 »	0,50	0,40	0,50		
» 9 »	0,50	0,50	0,25		
» 10 »	0,40	0,60	0,10		
» 11 »	perdu	0,50			
» 12 »		0,60			
» 13 »		0,10			
		4,25	4,4	4,15	4,45

Il y a surtout un départ plus rapide dans la 1^e série; mais cela pourrait tenir à l'âge des cultures d'ensemencement, qu'il nous serait actuellement difficile de préciser avec certitude.

Pour les irrégularités du début, il faut tenir compte de toutes les notes qui suivent; ce qui nous semble transitoirement la meilleure mesure, c'est la valeur du maximum quotidien, *ceteris paribus*.

Nos cultures d'ailleurs, même celles dites *sans -bios-*, en contiennent toujours tant soit peu, qu'on introduit avec le liquide d'ensemencement.

La richesse en *-bios-* de notre liquide d'ensemencement étant comparée à celle du *-bios-* type ci-dessus, nous estimons à environ 1,10 de cm³ de *-bios-* type la quantité introduite à chaque ensemencement.

Cela n'est pas une dose absolument négligeable, car une dose trois fois plus forte donnerait déjà un très sensible dégagement quotidien de CO₂. Est-ce là la cause des développements lents? Le développement lent peut-il se produire sans ce *-bios-*? Nous ne voulons pas toucher à cette question actuellement.

Nos cultures ont toujours été mises à la couveuse ayant une température de 22° à 26°; seules les dernières cultures ont été mises à celle de 34° à 36°. Le dégagement de CO nous a paru un peu plus rapide à la haute température, mais les différences ne paraissent pas mériter une distinction.

L'acide sulfurique du barboteur empruntait par semaine environ 0,05 à 0,1 d'eau à l'air de la couveuse; le poids mort de tout l'appareil augmentait donc très lentement d'une quantité que nous pouvons négliger.

Finalement, il y a une légère correction constante à signaler dans nos observations. Le poids de CO_2 perdu est reconnu à la balance, mais la balance ne dénonce que le CO_2 qui s'est échappé du flacon. Or, le premier CO_2 formé sature l'eau qui en accepte son volume, puis il déplace l'air contenu dans le récipient parce qu'il est plus lourd que lui; de sorte qu'à un moment donné où la levûre a fabriqué environ 200 cm^3 de CO_2 pesant environ 0,4 gr., le ballon n'a encore perdu que le poids de l'air déplaçable au dessus du liquide (celui que l'eau dissout est moins de 1/20 de volume), un poids que la balance ne révélera qu'avec peine : 0,1 gr. Une fois la première période passée, la balance indique exactement ce qui se perd.

Cette correction n'a guère d'importance pour nos expériences, mais elle pourrait l'acquérir pour ceux qui étudient les minimums de -bios-, ou les cultures très lentes, débutant paresseusement et ne fabriquant que 0,4 de CO_2 dans la première semaine par exemple. Nous sommes porté à croire que tous nos milieux dits *sans -bios-* (contenant seulement le -bios- d'ensemencement) présentaient ainsi une très lente marche clandestine pendant la première semaine, car souvent la seconde semaine et la troisième ils perdaient peu à peu, pour finir par s'arrêter de nouveau longtemps avant d'avoir épuisé le sucre.

Mais pour qu'il n'y ait point de malentendu, nous répétons que nous étudions, comme WILDIERS, le développement et la fermentation *rapides* se terminant en 8 ou 15 jours, et non le développement lent devenant mesurable après des semaines et même des mois. Nous réservons cette question pour plus tard.

CHAPITRE I.

Les sels.

Notons que WILDIERS avait employé divers composés minéraux déjà pendant la période de tâtonnements, entre autres les cendres de levûre, des mélanges réduits aux éléments indispensables P_2O_5 , SO_2 , K, Mg, NH_3 , et des milieux contenant en outre Na, Ca, Cl. Les sels employés avaient été tantôt Na_2HPO_4 , KCl, MgSO_4 ou K_2HPO_4 , MgCl_2 , Na_2SO_4 ou K_2SO_4 , NaCl,

MgCl₂. Il savait aussi qu'on pouvait, sans rien changer à la marche de la culture, modifier largement les proportions des sels, c'est-à-dire que les cultures vont tout aussi bien avec dix fois moins de certains de ces sels qu'avec les doses habituelles.

Devant systématiquement éprouver les sels, nous avons commencé par nous limiter toujours aux mêmes produits purs d'un même achat, soit les suivants : K₂HPO₄, MgSO₄, Na₂HPO₄, NH₄Cl et CaCO₃.

Nous risquons de faire l'étude de tous les sels à la fois, nous réservant d'étudier chaque sel isolément, si quelque chose indique la présence d'un poison dans l'ensemble. Si le résultat est *négatif* et *net*, nous aurons ainsi éliminé la présence de poison quant aux sels d'une manière absolue. Or c'est ce qui résulte des séries d'expériences suivantes.

Troisième série. Expériences avec des milieux contenant 1/4 de la quantité habituelle de sels non azotés. Remarquons, en effet, qu'on ne peut diminuer dans ces proportions l'aliment ammoniacal sans influencer la marche de la fermentation. Aussi, nous ajoutons au milieu de WILDIERS dilué 0,1 gr. de chlorhydrate d'ammoniaque par ballon.

Cette série est de 100 gr. de milieu au lieu de 125 gr.

QUANTITÉ DE «BIOS» EN CM ³ :	1	2	4
Après 3 jours	0,55	1,30	1,40
» 4 »	0,50	0,90	1,10
» 5 »	0,50	0,60	0,80
» 6 »	0,45	0,50	0,30
» 7 »	0,55	0,50	
» 8 »	0,20	0,10	
	2,75	3,90	3,60

Si du poison était dissous dans les sels non azotés que nous employons, ces solutions en auraient contenu 5 fois moins et la culture avec 1 cm³ de «-bios» aurait dû marcher au moins comme les plus forts témoins avec 4 «-bios».

Si le n° 1 n'a pas marché aussi bien, c'est le «-bios» qui manque, et non les sels inorganiques, car il suffit d'en comparer la marche avec 4 cm³ de «-bios».

L'expérience en sens inverse confirme le même fait par la comparaison

des cultures 1 et 2 de la série suivante; nous constatons en même temps dans la culture 3 les effets d'une forte réduction des sels ammoniacaux et de tous les sels inorganiques.

Quatrième série. Cultures faites uniformément avec 4 cm³ de « bios » et 10 grammes de sucre; mais la solution des différents sels, y compris le sel ammoniacal, varie dans les proportions de 4 : 1 : 1/5 (1 représentant la concentration habituelle).

CONCENTRATION :	4	1	1 5
Après 1 jour	0,20	0	0
» 2 jours	1,50	1,35	0,75
» 3 »	2,00	2,00	0,50
» 4 »	0,50	1,45	0,50
» 5 »	0,20	0,50	0,40
» 6 »			0,65
» 7 »			0,35
» 8 »			0,40
» 9 »			0,30
» 10 »			0,30
	4,40	5,30	4,15

La série précédente a déjà prouvé qu'en ajoutant du sel ammoniacal à la 3^e culture de cette série, cette culture aurait pris une marche presque aussi rapide que les autres.

Il résulte clairement de la comparaison ci-dessus que l'influence des sels est nulle dans ces limites; ils devraient pourtant accuser des différences notables quant à la dose de contrepoison nécessaire, si réellement un poison était introduit avec eux, puisque dans la série III il y a 20 fois moins de sels que dans la première culture de la série IV.

Nous pouvons donc dire : 1^o qu'aucun de ces sels n'apporte de poison reconnaissable (1^{re} supposition du plan d'étude);

2^o que le mélange des sels n'apporte pas de poison (2^e supposition);

3^o que ces sels, en réagissant les uns sur les autres, ne forment pas de poison (3^e supposition).

Il nous semble inutile de répéter ces expériences sous d'autres formes ou d'étudier isolément nos sels; ils ne contiennent pas de poison.

CHAPITRE II.

L'aliment ammoniacal.

WILDIERS avait fait toutes ses premières expériences avec de l'asparagine, habitude prise au cours de ses tâtonnements dans la recherche du meilleur milieu nutritif. Puis, quand le rôle du « bios » était depuis longtemps hors de doute, il employa pour le reste de ses expériences des sels ammoniacaux; il n'y eut guère de différence marquée en ses résultats.

Nous pourrions donc nous dispenser de refaire ces expériences.

Nous avons pourtant exécuté quelques séries dans le but de voir spécialement si nos sels ammoniacaux de laboratoire ne contenaient pas de poison.

Cinquième série. 4 « bios », 10 gr. de sucre. Sels d'azote variés à dose équivalente.

	Am ₂ HPO ₄	ClAm	Am ₂ SO ₄	ASPARAGINE
Après 2 jours	1,15	0,65	0,60	0,80
» 3 »	2,00	1,85	1,90	2,70
» 4 »	0,80	0,75	1,05	0,70
» 5 »	0,20	0,65	0,65	0,20
» 6 »	0,20	0,30	0,40	
	4,35	4,20	4,60	4,40

Nous n'avons pas à refaire l'expérience des cultures sans « bios » ou avec peu de « bios », et en remplaçant tout sel ammoniacal inorganique par de l'asparagine : WILDIERS l'a trop souvent fait avant nous, toute la première partie de son travail a été exécutée dans ces conditions.

Donc, ici la preuve est sans réplique : la suppression de tout sel ammoniacal inorganique n'implique pas la possibilité de cultiver mieux la levûre sans « bios ». Donc, nos sels d'ammoniaque n'apportent pas de poison.

CHAPITRE III.

L'aliment sucré.

Il serait parfaitement légitime d'avoir aussi des soupçons sur les impuretés que contiennent tous les sucres. Les sucres du commerce sont sou-

vent additionnés de produits divers; le sucre blanc scié contient notamment des traces de bleu de Prusse destiné à masquer sa nuance jaune naturelle.

Malheureusement, le saccharose ne se laisse remplacer que par quelques autres sucres.

Rappelons d'abord que WILDIERS n'a employé du saccharose commercial, sucre blanc scié, que pour ses dernières séries d'expériences; toutes les premières séries ont été faites avec un sucre interverti industriellement, mélange donc de glucose et de lévulose d'une rare pureté. C'était un échantillon de sucre envoyé à l'analyse par une des grandes raffineries belges, dans le but d'en connaître la valeur commerciale. Du sucre de betterave le plus pur avait été interverti par l'acide chlorhydrique, puis les neutralisations et précipitations faites, il était envoyé à l'examen du laboratoire des fermentations. L'analyse dut classer ce sucre parmi les plus purs qui existent dans le commerce.

Nous avons nous-même vérifié l'absence de fermentation avec d'autres sucres qui n'ont pas subi les mêmes corrections industrielles que le sucre blanc scié. On sait notamment que dans les eaux-mères de la raffinerie on obtient par cristallisations successives d'abord les sucres candis blancs ou légèrement jaunes, n'entraînant donc guère d'eaux-mères qui sont franchement colorées; par cristallisations de plus en plus tardives, les sucres qui cristallisent deviennent de plus en plus chargés de matière colorante; le sucre blanc scié n'est qu'un produit de second ou de troisième ordre blanchi artificiellement, cristallisé en masse par soustraction d'eau et qui serait naturellement très jaune.

Aujourd'hui, on obtient des cristaux de sucre candi, cristallisé sur fil, dont la teinte jaune devient quasi nulle ou à peine perceptible. Des cultures faites avec des solutions de grands cristaux blancs ou faiblement jaunâtres, n'ont pas donné de fermentation en l'absence de « bios ».

Mais on pourrait toujours soupçonner ces sucres de renfermer un poison commun que les lavages n'enlèvent pas complètement. De plus, des comparaisons sur la rapidité de la marche de cultures chargées de sucres divers ne pourraient guère avoir une valeur convaincante, car on sait que tous les sucres ne fermentent pas également vite.

Nous croyons qu'il vaut mieux appliquer à un même sucre la méthode employée pour les sels indispensables. Ici, encore une fois, interviendra rapidement un facteur troublant : l'épuisement du milieu. Aussi pour les

cultures très rapides et ne contenant que peu de sucre, l'épuisement se fait sentir déjà après 48 heures. Les cultures relativement lentes par contre permettent mieux de juger de l'action du sucre pendant quelques jours.

Sixième série. Nous pouvons comparer la marche avec 1 morceau de sucre et 3 morceaux, chaque fois avec une quantité déterminée de « bios ». Le morceau pèse *approximativement* 5 grammes. Toutes ces cultures furent faites en même temps, excepté les n^{os} marqués d'un *.

SUCRE :	A. 1 4 DE « BIOS »		B. 1 2 « DE BIOS »		C. 1 DE « BIOS »				
	5 GR.	15 GR.	5 GR.	15 GR.	5 GR.		15 GR.		
2 jours	0	0	0	0,20	*	0,15	0,10	0,15	*
3 »	0,10	0,05	0,40	0,25	0,55	0,55	1,00	0,55	0,55
4 »	0,15	0,15	0,50	0,45	0,70	0,85	1,20	0,85	0,85
5 »	0,45	0,20	0,50	0,50	0,40	0,70	1,10	0,70	0,70
6 »	0,55	0,30	0,50	0,50	0,20	0,30	1,00	0,70	0,70
7 »	0,55	0,35	0,20	0,65			1,05	0,50	0,50
8 »	0,25	0,45	0,10	0,40			0,60	0,45	0,45
9 »	0	0,40		0,45			0,45	0,55	0,55
10 »		0,30		0,20			0,15	0,55	0,55
11 »		0,35		0,35			0,05	0,45	0,45
12 »		0,50		...				0,20	0,20
13 »				...					
14 »				0,80					
15 »				0,20					

SUCRE :	D. 2 DE « BIOS »		E. 4 DE « BIOS »	
	5 GR.	15 GR.	5 GR.	15 GR.
2 jours	0,55	0,60	0,80	0,90
3 »	0,90	1,00	1,00	1,50
4 »	0,90	1,50	0,70	2,00
5 »	0,40	1,00	0,20	1,00
6 »	0,10	0,80		0,95
7 »		0,90		0,55
8 »		1,00		0,50
9 »		0,40		0,30

Nous avons repris cette série en faisant les ensemencements en une fois et en faisant une solution de sucre blanc de manière à mettre des doses exactement comparables (5, 10 et 15 grammes) et des doses de -bios- exactement mesurées variant aussi de 1/2 à 1 et 1 1/2. Ces doses de -bios- ne constituent certainement pas un excédant; il semble donc que dans l'hypothèse d'un poison exigeant le -bios- comme contrepoison, les cultures contenant 15 unités de poison et seulement 1/2 cm³ de solution de -bios- auraient dû fort retarder sur celles qui contiennent 5 unités de poison et la même proportion de -bios-. Dans ces limites, la quantité de sucre employée paraît sans influence marquée sur la marche, tant que l'épuisement ne se fait pas sentir.

Voici cette série.

Septième série. Toute la série est faite en une fois à l'aide d'une solution commune de sucre blanc scié et d'un -bios- dilué au 20^e, de manière à en faire des mesures exactes. L'ensemencement fut fait par la même pipette et en une seule prise. Les pesées se firent à peu de chose près tous les jours vers midi; la couveuse varia de 20° à 28° pendant la durée de l'expérience par suite d'un accident, mais cette influence fut commune à toutes les cultures. Le montage des flacons donna lieu à de petits défauts qui se remarquent le mieux après un ou deux jours; la pesée correspondante sans valeur n'est pas reproduite.

SUCRE :	1/2 CM ³ DE « BIOS »			1 CM ³ DE « BIOS »			1 1/2 CM ³ DE « BIOS »		
	5 GR.	10 GR.	15 GR.	5 GR.	10 GR.	15 GR.	5 GR.	10 GR.	15 GR.
1 jour	0,05	...	0,05	0	0,10	0,05
2 jours	0,05	0,10	...	0,10	0,20	0,20	0,20
3 »	0,20	0,15	0,15	0,25	0,35	0,40	0,70	0,70	0,75
4 »	0,15	0,15	0,15	0,30	0,40	0,30	0,55	0,65	0,65
5 »	0,25	0,20	0,15	0,40	0,50	0,40	0,30	0,75	0,65
6 »	0,35	0,30	0,25	0,15	0,65	0,50	0,15	0,65	0,85
7 »	0,25	0,25	0,15	0,10	0,35	0,35	0	0,45	0,45
8 »	0,30	0,35	0,30	0,15	0,30	0,45	0	0,40	0,50
9 »	0,25	0,20	0,20	0,05	0,40	0,40	0	0,30	0,50
10 »	perdu	0,35	0,40	0	0,40	0,50	0	0,20	0,50
11 »		0,30	0,20	0	0,20	0,40	0	0,10	0,30

On constate très bien dans cette série que la 7^e journée a été la plus froide pour la couveuse; nous ne saurions plus dire quelle température elle marquait alors; c'est d'ailleurs sans importance. Pour le reste, la comparaison ne saurait être plus parfaite; tant que l'épuisement n'intervient pas, les différences ne dépassent pas celles qui se remarquent même entre deux cultures identiques. S'il était resté un dernier doute concernant le sucre, une série pareille devrait le lever; nous pouvons affirmer en toute sécurité *que le sucre blanc n'apporte pas de poison dans la culture, poison dont le « bios » serait le contrepoison.*

CHAPITRE IV.

L'eau.

Ici la question est plus délicate, car nous ne savons pas remplacer l'eau. C'est d'autant plus regrettable qu'on a incriminé toutes les eaux de laboratoire et spécialement les eaux distillées.

LAURENT (2) a fait remarquer que le cuivre a été trouvé comme impureté quasi constante dans les réactifs et les eaux distillées. WINDISCH (2) confirme le fait. DEHERAIN et DEMOUSSY (6), étudiant l'influence des eaux sur la croissance des jeunes plantes, montrent que des traces de poisons non volatils y existent en quantité suffisante pour empêcher leur développement.

Cependant DEHERAIN, en redistillant son eau dans des appareils de verre, obtient une eau peu toxique et le résidu concentré révèle du poison à plus haute dose. Si nous n'avions qu'à le suivre et à écarter les poisons de ce genre, ce serait bientôt fait.

Huitième série.

Voici une série faite avec des eaux diverses, redistillées en appareil de verre après rejet du premier dixième et du dernier dixième du distillat, et les cultures n'ont pas mieux marché que celles dans l'eau distillée aux alambics métalliques ou dans l'eau non distillée.

« BIOS » EN CM ³ :	EAU DISTILLÉE ORDINAIRE			EAU REDISTILLÉE EN APP. DE VERRE			EAU DE VILLE NON DISTILLÉE		
	0	1	4	0	1	4	0	1	4
2 jours	0	0,10	0,95	0	0,10	0,60	0	0,10	0,40
3 »	0	0,50	2,00	0	0,30	1,40	0	0,25	1,60
4 »	0	0,90	1,35	0	0,80	1,90	0	0,70	2,10
5 »	0	0,80	0,45	0	0,90	0,30	0	0,90	0,55
6 »	0	1,30	0,35	0	0,60	0,10	0	0,70	0,15
7 »	0	0,30		0	0,30	0,20	0	0,50	
8 »	0	0,50		0	0,25	0,15	0	0,80	
9 »	0	0,10		0			0		

« BIOS » EN CM ³ :	Eau concentrée par évaporation au quart = Résidu de distillation			EAU DISTILLÉE ORDINAIRE			EAU REDISTILLÉE PREMIER DIZIÈME QUI DISTILLE		
	0	1 2	2	0	1 2	2	0	1 2	2
2 jours	0	0,25	0,30	0	0,05	0,60	0	0,10	0,60
3 »	0	0,40	1,10	0	0,20	1,20	0	0,40	0,85
4 »	0	0,30	1,10	0	0,50	1,70	0	0,80	1,05
5 »	0	0,30	0,75	0	0,60	0,70	0	0,40	0,60
6 »	0	0,40	0,70	0	0,70	0,50	0	0,60	0,70
7 »	0	0,40	0,50	0	0,50		0	0,50	0,50
8 »	0	0,50	0,10	0	0,50		0	0,50	0,20
9 »	0	0,60	0,25	0	0,50		0	0,50	0,10
10 »		0,60			0,45		0	0,55	
11 »		0,50			0,20			0,30	
12 »		0,30							
13 »		0,05							

Il ne saurait donc être question d'un poison fixe. Il faudrait au moins admettre un poison qui distille, et qui distille à peu près avec l'eau, sinon l'eau résiduelle devrait se désintoxiquer.

Toutes nos eaux dérivant d'une source commune, l'eau de l'irrigation urbaine de Louvain (eau du sous-sol prise hors ville), le poison aurait pu se retrouver constant dans nos milieux.

Nous nous sommes dit qu'il y aurait intérêt à expérimenter avec des eaux d'origines très éloignées. La chose était facile : nous avons distillé de

l'eau de Vichy et fait toutes nos dissolutions de sels sans une goutte d'eau de Louvain.

Il aurait été bien surprenant que ces eaux aient contenu aux mêmes doses que celles de Louvain un principe volatil. Or, il faudrait l'admettre d'après la série suivante.

Nuvième série.

« BIOS » EN CM ³ :	EAU DISTILLÉE ORDINAIRE			EAU DE POMPE			EAU DE VICHY REDISTILLÉE DANS APPAREIL DE VERRE		
	1	2	4	1	2	4	1	2	4
2 jours	0,10	0,60	0,95	0,30	0,80	1,15	0,10	1,10	1,50
3 »	0,50	1,20	2,00	0,95	1,60	1,85	0,60	1,55	1,90
4 »	0,90	1,70	1,85	1,35	1,00	1,40	1,05	1,10	0,95
5 »	0,80	0,70	0,45	0,70	0,15	0,30	0,55	0,25	0,10
6 »	1,30	0,50	0,35	1,00			0,80		
7 »	0,30			0,60			0,45		
8 »	0,50								
9 »	0,10								

Nous possédons encore d'autres séries de comparaison entre différentes eaux aboutissant toujours au même résultat de similitude complète; il serait fastidieux de les répéter.

Mais nous pouvons éviter toutes les eaux ayant eu un contact avec le sol : nous nous sommes donné la peine de faire de l'eau par synthèse en faisant brûler de l'hydrogène pur à l'air; un réfrigérant en verre nous ramenait l'eau qui, après redistillation, servit à faire nos milieux.

L'hydrogène était produit dans un appareil au moyen de zinc granulé indemne d'arsenic et de l'acide sulfurique anglais blanc dilué. Le gaz passait, avant d'être brûlé, sur des morceaux de pierre ponce, les uns imbibés de sous-acétate de plomb, d'autres de nitrate d'argent, et enfin d'autres encore de potasse caustique.

Nous nous sommes contenté de faire avec cette eau de synthèse une culture de 125 cm³ sans -bios-; elle ne présenta pas de traces de développement après 6 jours. Alors, sans réensemencer, nous ajoutons 4 gr. de -bios- et la culture montra par le développement suivant que notre eau n'était ni plus ni moins toxique que l'eau ordinaire.

Dixième série.

EAU DE SYNTHÈSE H + O DE L'AIR REDISTILLÉE EN APPAREIL DE VERRE SANS « BIOS », T° 36°		LA MÊME + 2 CM ³ DE « BIOS », T° 36° SANS NOUVEL ENSEMENCEMENT
2 jours	0	1,20
3 »	0	1,70
4 »	0	1,50
5 »		0,50 achevé
		4,90

Devant ce résultat, nous ne pouvons plus admettre que l'eau apporte un poison; il ne pourrait y être introduit que par l'air ou les contacts immédiats, que nous étudions au chapitre suivant.

CHAPITRE V.

Les réservoirs, l'air ambiant.

Les réservoirs.

On pourrait supposer que nos récipients de verre bouchés au caoutchouc livrent des poisons, d'autant plus qu'ils ont été chauffés sous pression.

En renonçant à la pesée, on peut facilement mettre tout cela hors de cause.

Le caoutchouc n'intervient pas; on n'a aucune différence visible suivant que les vases sont simplement bouchés à l'ouate, ou que les bouchons stérilisés à part sont ultérieurement adaptés au vase en verre.

Nous avons pris la peine de faire des cultures dans des capsules de platine et dans des capsules de cuivre fraîchement dorées. Il serait dangereux de tolérer d'autres contacts que ceux de l'or et du platine.

Nous avons fait en capsule dorée une culture sans -bios-. Après 6 jours, il n'y avait pas trace visible de levûre formée, ni de fermentation. Une autre culture avec la dose de -bios- dans la même capsule donnait une fermentation rapide. Donc, la capsule d'or ne permet pas à la levûre de vivre mieux sans -bios-, et elle ne l'empêche pas de se développer avec la dose ordinaire de -bios-.

Nous avons fait en capsule de platine quatre expériences *sans -bios* et une *avec -bios* ; le résultat fut tout aussi net que pour l'or.

Il nous eut été assez difficile de faire de l'eau qui n'eut jamais touché du verre, même à froid. Notons aussi que l'eau de source prend contact avec des silicates dans le sol. Mais il suffit, nous semble-t-il, d'éviter le contact du verre à la température de l'autoclave, surtout en présence des sels inorganiques du milieu de culture.

Quant au contact avec d'autres éléments que ceux du verre, notre eau de synthèse n'en avait eu aucun : le tube donnant la flamme, le réfrigérant, et tous les récipients utilisés ultérieurement étaient en verre.

Nous avons donc écarté tout contact immédiat de la levûre avec le verre ; nous avons même écarté le contact antérieur de l'eau à chaud avec le verre ; il nous paraît inutile de poursuivre à grands frais la synthèse de l'eau dans des appareils coûteux de métal inattaquable pour écarter tout contact antérieur de l'eau, même à froid, avec le verre.

L'air ambiant.

L'air de notre laboratoire apportait-il le poison ?

Nous avons, pour en écarter l'influence, fait traverser une série de cultures après ensemencement par un courant d'hydrogène pur pendant deux heures, et en agitant souvent. Nous avons veillé à ce que ces ballons ne se refroidissent jamais de manière à laisser rentrer de l'air par le barboteur ; à cet effet, nous pesions les cultures à la cave-cuveuse elle-même. Seules, les cultures au *-bios* marchèrent.

Onzième série. Composition ordinaire du milieu. Air remplacé par H pur.

« BIOS » EN CM ³ :	0	1 2	2
2 jours	0	1,00	1,40
4 »	0	2,00	2,30

Ensuite, nous avons fait des cultures au large contact de l'air dans des vases plats de FERNBACH avec tubulure latérale permettant l'accès de l'air. On sait que l'aéragé est favorable au développement. Mais néanmoins les

cultures *sans* « bios » étaient à peine perceptibles, alors que les cultures au « bios » présentaient déjà un abondant dépôt de nouvelle levûre.

Ici, nous touchons aux expériences de HENRI qui, pesant les dépôts de levûre formés après 9 jours à 36°, trouva environ 0,15 à 0,07 de levûre formée pour des ballons d'un *demi-litre*. Cela est certainement peu, car nos cultures de 125 gr. avec « bios » donnent 0,15 de levûre en moins de 8 jours, c'est-à-dire 4 fois plus que les dépôts de HENRI. Nous ne savons pas juger non plus des causes d'erreur possible dans les expériences d'autrui : le dépôt minéral était-il décompté? car il y en a toujours un; la culture était-elle restée pure? nous avons constaté que, les cultures tardives *sans* « bios » devenant un peu notables, il fallait soupçonner une impureté : l'examen microscopique révèle le plus souvent des bacilles. Une impureté ne se reconnaît pas vite dans les milieux avec « bios » fermentant vivement: elle joue par contre un grand rôle dans les cultures lentes.

Enfin, nous ignorons la force en « bios » du milieu d'ensemencement employé par HENRI; il peut y avoir là des différences notables. *Avec notre milieu d'ensemencement peu riche en « bios », les Fernbach non chargés de « bios » ne donnent qu'un nuage impondérable de levûre après 8 à 10 jours* (*).

Devant tous ces points d'interrogation, nous nous abstenons de juger les chiffres de HENRI. Dans nos vases de FERNBACH (ils échappent à la pesée, malheureusement), l'influence du « bios » sur le développement paraissait *aussi nette* que dans les cultures ordinaires.

Ici, nous voulons seulement écarter l'influence de l'air comme celle du verre, c'est-à-dire que nous avons évité son contact à partir de l'ensemencement; nous n'avons pas pu éviter le contact avant ce moment. Quant au développement en vases plats en présence intime de l'air, les résultats immédiats sont tout aussi nets que dans les ERLENMEYER.

(*) Nous n'entendons pas contester aux critiques le droit soit de douter de l'une ou de l'autre interprétation concernant le « bios », soit de déprécier sa valeur biologique, mais il est désormais impossible de ne pas reconnaître un rôle au « bios »; de plus on peut mesurer la valeur de ce rôle, si on veut se donner la peine de répéter une série d'expériences dans les mêmes conditions que WILDIERS et nous-même. Dès lors, par amour pour la vérité et pour ne pas s'égarer mutuellement, pouvons-nous demander à ceux qui croient obtenir des résultats contradictoires de vérifier la richesse en « bios » de leur liquide d'ensemencement, en faisant une série d'expériences très simples comme celles de la première ou deuxième série de ce mémoire.

CHAPITRE VI.

Le cuivre.

Nous pourrions déjà affirmer *a priori*, après les chapitres précédents, qu'il ne saurait être question d'un poison cuprique dans nos milieux de culture, puisque nous avons écarté l'existence de *tout* poison.

Mais la question du cuivre a été vivement mise en avant et a été rappelée par *tous* les critiques, au point que le biologiste qui n'a lu que les notes des critiques serait tenté de s'écrier tout simplement : - C'est presque évident, le milieu minéral de WILDIERS était chargé de cuivre! et comme le cuivre, même à l'état de traces, tue les ensemencements pauvres en cellules, il n'y a là qu'un défaut d'observation de la part de WILDIERS -.

Nous n'allons pas faire de plaidoyer, ni essayer de démontrer au biologiste que même les savants qui ont soulevé la question du cuivre sont loin d'avoir voulu affirmer cela; qu'au contraire, ils ne croient plus eux-mêmes au rôle du cuivre dans le jeu du - bios - de WILDIERS. Ce serait une polémique de phrase indigne du temple de la Science. Notons simplement les faits et faisons à notre tour des expériences.

1° NĒGELI, WINDISCH, DEHERAIN et DEMOUSSY ont constaté que le cuivre est une des impuretés les plus répandues dans les laboratoires de chimie. WINDISCH voulant un jour se garantir contre la présence de cuivre dans ses réactifs, en trouva quasi partout. DEHERAIN et DEMOUSSY voient que l'eau distillée du laboratoire du Muséum contient 1/10 à 2/10 millièmes de cuivre.

2° NĒGELI a démontré jadis que des traces de cuivre, qui adhèrent parfois au verre, suffisent pour empêcher le développement des *Spirogyra*. DEHERAIN et DEMOUSSY constatent plus récemment qu'une fraction de millièmes de cuivre suffit pour empêcher la germination des graines. Ce cuivre se fixe sur les cellules végétales et y reste attaché, au point que l'eau redevient saine ultérieurement pour de nouvelles graines. Naturellement, ce poison ne distille pas, et il suffit pour l'écartier de redistiller l'eau dans un appareil de verre; pour en accentuer l'action nocive, il suffit de concentrer l'eau par évaporation.

Voilà les faits. Remarquons qu'il ne s'agit ici que d'algues ou de graines en germination; la toxicité du cuivre pour la levure n'a point été établie.

Nous devons faire des expériences pour savoir jusqu'à quel point le cuivre existait comme impureté dans nos réactifs et nos eaux ; puis nous allons chercher jusqu'à quel point nos levûresensemencées en quantité habituelles étaient influençables par le cuivre.

A. *Richesse de nos réactifs en cuivre.*

Dans les milieux inorganiques qui ne réduisent pas et qui sont en contact avec l'oxygène de l'air, les sels de cuivre dissous peuvent être considérés comme étant au maximum d'oxydation ; donc, leur réactif le plus sensible sera le ferrocyanure.

En observant sur une couche épaisse de 10 centimètres le liquide contenant $1/200.000$ de CuSO_4 transformé en cyanure, on peut par comparaison le distinguer d'une manière certaine du même liquide pur.

Cette méthode d'observation étant appliquée à notre eau distillée (qui d'ailleurs se distille hors du laboratoire et n'entre guère en contact avec les poussières de laboratoire), nous avons pu garantir *l'absence* de $1/4$ de millionième de Cu en concentrant notre eau au cinquième par évaporation.

Pour l'ensemble des sels inorganiques employés, tous achetés comme purs, la même méthode appliquée sur des solutions 5 fois plus concentrées que celles de nos cultures nous permet d'affirmer encore que nos sels n'apportent pas $1/4$ de millionième de Cu à nos milieux.

En somme, ni dans l'eau ni dans les sels on ne peut découvrir par les méthodes les plus sensibles des traces de cuivre (*).

Enfin, il faut examiner le sucre ; ici il est impossible de faire directement l'examen par les ferrocyanures, car les sucres réduisent les sels cupriques. Il faut donc d'abord soumettre le sucre à une combustion. La combustion de KJELDAHL devient facilement impétueuse avec le sucre et oblige à une neutralisation ultérieure avec les sels de soude ou de potasse en grande quantité. La combustion à la soude et au salpêtre exige une neutralisation inverse par un acide. Avant de nous résoudre à cet examen,

(*) Notons que le laboratoire de chimie biologique de l'Institut CARNOY n'est fréquenté que par quelques élèves faisant des recherches originales et ne sert jamais de salle de cours ou d'exercices. Notons aussi qu'il n'y a pas de plancher en bois ; il est clair que les planchers en bois, qu'on trouve dans presque tous les laboratoires étrangers, sont chargés en peu de temps d'une couche de poussière que le martellement des pas soulève continuellement. Ces circonstances sont peut-être pour quelque chose dans la pureté de nos réactifs, puisque ce sont les poussières de laboratoire qu'on incrimine.

voyons s'il est bien nécessaire ; voyons quelle est la proportion de cuivre que nos levûres supportent.

B. Toxicité du cuivre pour la levûre.

Nous préparons des solutions dosées de sulfate de cuivre recristallisé, pesé avec son eau de cristallisation. Donc, quand nous disons du CuSO_4aq à 1/1000, c'est rigoureusement en poids 1 gr. de $\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$ sur 1 litre d'eau (soit 1/4 du Cu par litre).

Quelques cultures préalables faites avec des solutions très faibles et très fortes nous avaient appris qu'en deçà de 1/50.000 il n'y a aucune action toxique sur nos ensemencements, tandis que 1/5000 empêche toute fermentation. Vers 1/15.000, il y a un léger retard comme si le premier développement de la levûre était entravé. Vers 1/10.000, l'influence devient très puissante, mais elle est directement *contrebalancée par le nombre de cellules vivantes* qu'onensemence. Cette même règle est démontrée par DEHERAIN pour les graines.

Voici d'abord trois séries qui démontrent ces faits.

Douzième série. Sels et sucres à dose habituelle, 4 cm³ de « bios », ensemencement avec 3 gouttes, dose variable de CuSO_4aq .

CuSO_4aq :	1 100.000	1 50.000	1 30.000	1 15.000
2 jours	0,80	0,90	0,50	...
3 »	2,10	2,70	2,30	0,80
4 »	1,40	1,35	1,95	1,55
5 »	0,45	0,45	0,70	1,30
6 »	0,10	0,10	0,25	0,65
7 »	0	0	0	0,50
				0

Treizième série. Sucres et sels en proportions habituelles, 4 cm³ de « bios », liquide d'ensemencement étendu et mesuré de manière à ce que chaque culture contienne exactement la même semence vivante équivalente : 3 gouttelettes, CuSO_4aq à dose variable.

CuSO ₄ aq :	1/5.000	1/10.000	1/20.000
2 jours	0	0	0,15
3 »	0	0	0,35
4 »	0	0	0,50
5 »	0	0	0,95
6 »	0	0	1,65
7 »	0	0	1,30
8 »	0	0	0,60
9 »	0	0	0,30
10 »	0	0	0,15
11 »	0	0,25	0
12 »	0	0,50	0
13 »	0	0,60	0
14 »	0	0,80	0
15 »	0	1,70	0
16 »	0	0,90	0
17 »	0	0,20	0

Dans le 1/10.000, le cuivre paraît bien lié par les nouvelles cellules et rendu inoffensif pour les plus jeunes, qui tout à coup prennent l'allure des cultures non cuivrées.

Quatorzième série. Sucre et sels en proportions habituelles, 4 cm³ de -bios-, CuSO₄aq 1/10.000. Seul le liquide d'ensemencement varie comme il est indiqué.

GOUTTES DE SEMENCE	9	6	3
3 jours	0	0	0
4 »	0,30	0	0
.....	0
6 jours	0,40	0,30	0
7 »	0,60	0,30	0,10
8 »	0,80	0,20	0,05
9 »	1,20	0,50	0
10 »	0,90	0,90	0
11 »	0,25	0,70	0,05
12 »	0	1,20	0,05

pas de fermentation visible

Nous nous proposons de faire des dosages du cuivre dans les cultures ayant fermenté avec des doses légèrement nuisibles, quand nous observâmes le fait suivant qui nous paraît écarter d'une manière décisive la question du cuivre.

Voici ce fait : Les cultures ayant marché avec $1/20.000$ ou $1/10.000$ de CuSO_4 et 4 cm^3 de « bios » présentent, *après stérilisation nouvelle*, une teinte verte des plus caractérisée localisée dans le dépôt de levûre lui-même, teinte qui saute aux yeux pour le $1/10.000$ et encore très reconnaissable pour le $1/20.000$. Remarquons bien que la coloration du dépôt n'existe guère avant l'ébullition.

Or, nos dépôts de levûre ordinaires ne présentent après nouvelle stérilisation pas la moindre nuance virant vers la couleur verte du cuivre. Nous sommes donc autorisé à dire que du cuivre à dose simplement nuisible n'existe pas dans nos cultures, puisque ces doses devraient donner une teinte très reconnaissable.

Nous ne poussons pas plus loin l'étude intéressante du cuivre, parce qu'elle devient inutile pour notre but.

Constatons seulement la marche typique provoquée par ce poison métallique qui se fixe sur le protoplasme et retarde très fort les premiers développements; puis, quand un certain nombre de jeunes cellules se sont formées, tout le cuivre s'est laissé lier par les anciennes et la culture prend son essor. Tout autre est la marche lente des cultures pauvres en « bios » : la marche reste lente et, si on a mis très peu de « bios », la marche s'arrête longtemps avant que tout le sucre ne soit épuisé. Mais nous n'insistons pas sur ce dernier détail, qui se rapporte à la question : « la levûre épuise-t-elle le « bios » ou non? ». Nous étudierons *in extenso* cette question dans un autre travail.

Résumons ce chapitre supplémentaire en deux mots.

Ni notre eau ni nos sels ne livrent un millionième de cuivre, et nos cultures faites ne présentent jamais la teinte verte (après ébullition) qui révèle des doses nuisibles à la levûre. L'intoxication par le cuivre donne une tout autre allure à la marche de la levûre que l'absence de « bios » en quantité suffisante.

RÉSUMÉ GÉNÉRAL.

Nous avons donc acculé l'hypothèse du poison et du contrepoison à l'impasse d'improbabilité extrême. Il faudrait supposer un poison dont l'eau se sature toujours également soit au contact de l'air, soit au contact des quantités les plus variées de sels ou de sucre : saturation à dose stable et qui ne peut être due à une question de solubilité, puisqu'on peut faire les milieux sans trace de précipité.

Nous pouvons affirmer : 1° que notre eau distillée n'a aucune autre influence que l'eau de synthèse, l'eau non distillée ou l'eau de Vichy distillée en appareil de verre;

2° que nos sels à des doses variant de 1 à 20 ne provoquent aucune différence de marche, le sel ammoniacal se remplaçant entièrement par l'asparagine;

3° que nos sucres à des doses variant de 1 à 3 donnent exactement la même marche grâce aux mêmes doses de bios; que nos sucres peuvent d'ailleurs se remplacer par les sucres les plus purs;

4° que ni la nature du vase pendant la stérilisation et la fermentation, ni le contact de l'air pendant la fermentation n'ont aucune influence;

5° qu'il ne saurait être question spécialement du cuivre comme agent inhibitif de nos cultures en milieu minéral.

Donc, l'hypothèse que le « bios » jouerait le rôle d'un contrepoison peut être définitivement écartée. Désormais, nous allons nous-même chercher par une autre voie à éclaircir le rôle du « bios » de WILDIERS. Nous déclarons que nous n'interviendrons point dans les polémiques soulevées par les critiques, sauf quand, muni d'un faisceau d'expériences démonstratives, nous pouvons d'une manière positive éclaircir une parcelle nouvelle de vérité.

BIBLIOGRAPHIE.

- 1 *Wildiers* : La Cellule, t. 18, f. 2, 1901.
- 2 *Fernbach* : Ann. de la brasserie et de la dist., 15 nov. 1901.
- 3 *Windisch* : Wochenschr. f. Brauerei, 3 janv. 1902.
- 4 *Henri* : Ann. de la brasserie et de la dist., 25 mars 1902.
- 5 *Windisch* : Wochenschr. f. Brauerei, 13 juin 1902.
- 6 *Deherain et Demoussy* : Compt. rend. de l'Ac. des Sc. Paris, 1901, t. 132, p 523.

TABLE DES MATIÈRES.

Introduction	219
Exposé de la question.	220
Plan du travail.	223

EXPÉRIENCES PERSONNELLES.

Remarques générales	228
Chapitre I. Les sels.	231
Chapitre II. L'aliment ammoniacal.	234
Chapitre III. L'aliment sucré.	234
Chapitre IV. L'eau	238
Chapitre V. Les réservoirs, l'air ambiant.	241
Chapitre VI. Le cuivre	244
Résumé général.	249
Bibliographie	251

Hémolyse et Antihémoglobine

PAR

M. IDE

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN
DIRECTEUR DU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE
A L'INSTITUT CARNOY

(Mémoire déposé le 27 juillet 1902.)

Hémolyse et Antihémoglobine

PRÉLIMINAIRES.

Notre élève, le D^r LEBLANC, a démontré, il y a un an (12), que les injections d'hémoglobine de vache à un lapin provoquaient dans le sérum du lapin l'apparition d'un anticorps, véritable précipitine de l'hémoglobine elle-même. Il avait démontré en même temps que les pseudo-globulines du sérum donnent naissance à une antipseudo-globuline et les sérines à une antisérine, de sorte que désormais on peut considérer les injections de sérum complet comme provoquant l'apparition d'anticorps multiples s'unissant chacun d'une manière spécifique à leur substance génératrice présente dans le sérum (*).

Toutes les substances injectées par LEBLANC avaient été aussi parfaitement isolées que les méthodes actuelles le permettent; néanmoins, un dernier doute aurait pu persister et on aurait pu objecter que les substances qui déterminent la vaccination ne sont pas en réalité ces albuminoïdes elles-mêmes, mais des inconnues qui y sont mêlées et qui ne s'en laissent pas encore séparer par les méthodes modernes. Ce dernier doute a été levé par l'analyse très précise du coagulum formé par l'antihémoglobine; car l'hémoglobine y était manifestement prise et insolubilisée par la précipitine; l'hémoglobine elle-même était donc le « Receptor » dans le sens d'ËHRlich.

(*) Depuis lors, ces données ont été pleinement confirmées par des observateurs expérimentant d'une manière tout à fait indépendante: PICK, qui travaillait à l'Institut de PALTAUF à Vienne (13), et LIROSSIER (en collaboration avec LEMOINE), qui expérimentait à Paris (6).

Ces données si simples, qui jettent tant de lumière sur les phénomènes complexes de l'immunisation, passent encore quasi inaperçues pour nombre d'observateurs : ceux-ci continuent d'exécuter leurs injections complexes de sérums, de cellules et de globules rouges, de microbes et de filtrats de cultures, alors qu'ils éclairciraient tant le sens de toutes leurs expériences en n'injectant que des albuminoïdes isolées. Que d'hypothèses, que de polémiques pourraient être évitées !

Restreignons-nous à la question spéciale de l'hémolyse.

Il y a déjà plus de deux ans que notre compatriote NOLF (*) démontra que l'injection de sérum sanguin ne fait pas apparaître le sensibilisateur (préparateur) de l'hémolyse; qu'il faut pour obtenir ce résultat injecter quelque élément du globule rouge; et, distinguant judicieusement entre les produits du globule rouge un stroma (insoluble dans l'eau physiologique) et un contenu soluble, il démontra que l'injection de stroma provoque seulement l'agglutination sans sensibiliser notablement l'érythrocyte, tandis que l'injection du contenu soluble provoque l'apparition de l'« anticorps » ou « sensibilisateur » de l'érythrocyte.

Jusqu'ici, cette intéressante constatation trouve peu d'écho dans les nombreux travaux sur l'hémolyse.

Or, le contenu soluble du globule rouge est en majeure partie composé d'hémoglobine. LEBLANC, ayant injecté cette hémoglobine seule et ayant obtenu une vraie antihémoglobine, il semblait tout naturel de présumer que l'antihémoglobine est elle-même une sensibilisatrice de l'érythrocyte. Mais LEBLANC avait utilisé tout son sérum antihémoglobinique à d'autres recherches; et quand il voulut employer le sérum d'une nouvelle saignée pour vérifier le pouvoir sensibilisateur de son sérum, le lapin vacciné avait perdu presque tout son pouvoir. Ultérieurement, LEBLANC a été empêché par des circonstances fortuites de faire ces intéressantes vérifications dès l'année 1904.

Récemment, M. MALENGREAU prépara à notre laboratoire, mais dans un autre but, de l'antihémoglobine de vache par injections au lapin. Nous en bénéficions pour résoudre quelques questions intimement liées au travail de LEBLANC.

(*) Ann. de l'Institut PASTEUR, mai 1900.

1. Préparation de l'hémoglobine à injecter.

Rappelons d'abord que nous préparons l'hémoglobine à injecter comme il suit : 1° centrifuger les globules du sang défibriné de vache suspendus dans de l'eau physiologique, jusqu'à ce que le liquide baignant les globules rouges ne présente plus les réactions d'albumine; 2° faire éclater les globules dans de l'eau distillée chargée d'un peu d'éther; 3° dans cette solution de tout ce que le globule rouge peut livrer, précipiter tout ce qui est insoluble à la demi-saturation de Am_2SO_4 ; l'hémoglobine reste en dissolution; 4° centrifuger ou filtrer, et le filtrat rouge clair est soumis à la dialyse. Parfois, nous précipitons l'hémoglobine du filtrat par Am_2SO_4 à saturation avant de le soumettre à la dialyse; on obtient alors une solution beaucoup plus concentrée de l'hémoglobine et la dialyse elle-même est beaucoup moins longue.

Deux remarques pour justifier cette manière d'agir.

Au 3°, nous précipitons les substances autres que l'hémoglobine par Am_2SO_4 à la demi-saturation. Jusqu'ici, on traitait la dissolution des globules rouges, pour en écarter le stroma, soit en additionnant du sulfate acide de potasse (une quantité inférieure à celle qui attaque l'hémoglobine), soit en additionnant le NaCl nécessaire pour obtenir une solution à 1 0/0; le précipité formé par l'une ou l'autre méthode était centrifugé, et la solution d'hémoglobine maintenue aussi concentrée que possible (on atteignait des concentrations de 40 0/0) était mise à cristalliser au froid.

Or, remarquons-le, ce liquide, tel qu'on le fait cristalliser, contient une quantité appréciable d'une pseudo-globuline fournie par le globule rouge avec l'hémoglobine : il suffit de soumettre toute la solution à la demi-saturation de Am_2SO_4 pour s'en convaincre. Écarter toute cette pseudo-globuline par des cristallisations successives, cela n'est presque pas possible; et pourtant il faut l'écartier, sinon on obtiendra une antipseudo-globuline. Or, en règle générale, la production d'antipseudo-globuline est beaucoup plus rapide et plus notable que celle de l'antihémoglobine seule. Ce facteur troublant deviendrait donc réellement important; on ne pourrait plus attribuer à l'antihémoglobine seule ce qui s'observerait sur le mélange des anticorps produits. C'est pour cette raison que la comparaison des expériences de NOLF et avec celles de LEBLANC ne permet pas de certifier *a priori* que l'antihémoglobine, telle que LEBLANC l'a obtenue, donnera les phénomènes sensibilisateurs que NOLF a observés.

Il faut donc écarter ces pseudo-globulines solubles dérivant du globule rouge même. L'hémoglobine se comportant comme une sérine par rapport aux saturations salines, l'emploi du Am_2SO_4 à demi-saturation est donc tout indiqué.

Mais les sulfates ammoniques n'altèrent-ils pas l'hémoglobine?

Il a été souvent constaté qu'un séjour prolongé des albuminoïdes en présence des sels concentrés modifie à la longue la solubilité de ces produits. Nous avons laissé à dessein des solutions d'hémoglobine pendant des semaines à la demi-saturation et à la température variable de 10° à 20° ; après ce temps, l'hémoglobine avait bruni visiblement. Une altération à la longue est donc incontestable, du moins aux températures moyennes. Une altération rapide par contre doit être à peine sensible; la belle couleur de la solution se maintient plusieurs jours inaltérée. Nous pouvons rappeler du reste que HOFMEISTER n'a pas craint de maintenir l'albumine dans des solutions demi-saturées de Am_2SO_4 pour obtenir son albumine cristallisée.

Dans notre préparation, le contact entre les sels et l'hémoglobine peut ne durer que quelques heures, contact qu'on ne craint plus guère actuellement dans toutes les préparations analogues. Qu'une altération se produise à la longue dans des substances aussi délicates que l'hémoglobine, rien d'étonnant; elle se produit même au simple contact de l'air et de l'eau, et la longue conservation d'échantillons non modifiés d'hémoglobine en cristaux ou en solution est restée jusqu'ici du domaine de la théorie.

2. Force précipitante de l'antihémoglobine employée.

Après cinq injections de doses légèrement toxiques d'hémoglobine de vache à un lapin vigoureux, l'animal saigné à mort nous a livré un sérum antihémoglobinique; mais il était relativement faible, et il en résulta qu'une mensuration exacte devint difficile.

D'abord, constatons qu'il contient de l'antihémoglobine.

Si nous mêlons du sérum de lapin vacciné à une solution d'hémoglobine, il se forme un précipité teinté en rose tendre, que le lavage à l'eau physiologique ou à l'eau distillée ne modifie ni quant à la couleur ni quant à la quantité. En été, il faut faire ces lavages très rapidement. Il importe même de mettre le mélange au froid dès que le trouble s'est bien formé, et il faut centrifuger coup sur coup, sinon, en quelques heures, les altérations

microbiennes remplacent le dépôt primitif par un dépôt blanc assez riche en microbes.

L'existence de l'antihémoglobine constatée, on peut en essayer la force.

Nous trouvons commode de prendre comme point de comparaison la richesse normale du sang en hémoglobine. Si on estime que le sang contient environ 20 o/o d'hémoglobine, on pourra faire une estimation en poids assez exacte.

Or, notre sérum antihémoglobinique était relativement faible; celui que LEBLANC avait obtenu il y a un an était certainement beaucoup plus fort. Notre sérum ne précipitait certainement pas au-delà de 1/200 du sang normal. A première vue, cela paraît excessivement peu; mais en comparant cette force à celle d'une antisérine que nous avons sous la main, nous constatons que la différence n'est pas aussi énorme. Le sérum-antisérine précipitait (moins de 1/10, plus de 1/15) environ 1/12 de son équivalent de sérum de vache; ce sont des proportions très satisfaisantes et très maniables. Or, le sang de vache ne contient guère qu'environ 2 o/o de sérine, tandis qu'il fournit environ 20 o/o d'hémoglobine. Donc, un sérum-antisérine précipitant la sérine de 1/12 de volume de sérum est de force équivalente à un sérum-antihémoglobine précipitant l'hémoglobine de 1/120 de volume de sang. Notre sérum-antihémoglobine n'était donc que deux fois plus faible que le sérum-antisérine, qui nous avait paru très satisfaisant.

3. Force sensibilisatrice de l'antihémoglobine.

Possédant donc du sérum-antihémoglobine, il était de tout intérêt de vérifier sa force hémolysante.

Constatons d'abord que le sérum de lapin *normal* ne possède guère de pouvoir hémolysant pour le sang de vache.

Nous employons le sang de vache défibriné et étendu dans 9 volumes d'eau physiologique. Le sérum de lapin normal est employé comme tel. Les mélanges en proportions diverses sont laissés au laboratoire à une température qui varie de 16° à 20° pendant 16 à 24 heures. A ce moment, le dépôt de globules rouges est bien formé et l'hémolyse se reconnaît très nettement à la teinte du sérum surnageant.

Sérum de lapin normal	1 cm ³	0,5	0,5	0,2	0,1
Sang de vache au 1/10	0,5	0,5	1	1	1
Soit	2/1	1/1	1/2	1/5	1/10
Hémolyse constatée après 24 h. à t° 16° à 20°	0	0	0	0	0

L'action hémolysante du sérum de lapin est donc quasi nulle pour les globules rouges des vaches.

Voyons maintenant la force du sérum de lapin qui a été injecté d'hémoglobine aussi pure qu'on peut l'obtenir actuellement. Nous faisons d'abord l'expérience avec le sérum-antihémoglobine seul, de sorte que l'alexine varie dans les mêmes proportions que l'antihémoglobine.

Nous constatons ce qui suit :

Sérum de lapin antihémoglobine	0,5	0,2	0,1	0,5/10	0,2/10	0,1/10	0,5/100	0,2/100
Sang de vache dilué au 1/10	1	1	1	1	1	1	1	1
Soit	1/2	1/5	1/10	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500
Hémolyse constatée après 12 h. à t° 16° à 20°	forte	forte	forte	forte	marquée	très faible	0	0

On peut se demander si le manque d'hémolyse des solutions les plus diluées ne dépend pas de la pauvreté en alexines du sang de lapin. Cela est effectivement le cas, puisque l'addition de sang de lapin normal recule sensiblement les limites de l'hémolyse.

Voici cette expérience :

Sérum de lapin antihémoglobine	0,2/10	0,1/10	0,5/100	0,2/100
Sang de vache dilué au 1/10	1	1	1	1
Sérum de lapin normal	0,5	0,5	0,5	0,5
Soit	1/50	1/100	1/200	1/500
Hémolyse après 16 h. à t° 16° à 20°	forte	forte	très marquée	très faible

Il est donc évident :

1° que, sauf pour les dilutions extrêmes, les alexines normales ne manquent pas vite aux mélanges ;

2° que le sérum-antihémoglobine possède un pouvoir sensibilisateur des plus évidents, attaquant certainement les globules dans une solution diluée au 1/200, pourvu que les alexines ne manquent pas, alors que le sérum normal de lapin ne touche pas aux globules de vache même en des mélanges de 2/1.

ANNEXE. *Hémolyse par anti-sérum.*

Rappelons qu'au début des expériences qui furent faites pour rechercher quelle fraction du sang provoque l'apparition de la propriété hémolytique (c'était en 1899), VON DUNGERN rencontra cette propriété entre autres après injection de sérum sans globules rouges. L'année suivante, NOLF rectifia cette donnée et démontra que la propriété hémolytique n'apparaît que par l'injection des substances dissoutes des globules rouges.

Il y avait pourtant quelque chose de vrai dans les expériences de VON DUNGERN : nous croyons aisément que l'injection du sérum le mieux centrifugé ait donné la propriété hémolytique à un faible degré, parce qu'il est impossible d'éviter toute trace d'hémoglobine dans les sérums, et que l'antihémoglobine est déjà très sensibilisante à faible dose.

MORGENROTH (10) a repris tout récemment cette question et a démontré qu'effectivement l'injection de sérum provoque le pouvoir hémolytique, et que ce pouvoir est dû au même amboceptor qu'il ait injecté du sérum ou des globules rouges : très ingénieusement, il établit ce fait par l'action de l'antiamboceptor qui présente une action inhibitive commune. Après cette belle démonstration de l'existence d'un receptor commun dans le sérum et le globule rouge, MORGENROTH se demande si le receptor est un produit de déchet vital ou de sécrétion ; il semble loin de se douter que ce pourrait être l'hémoglobine elle-même. L'expérience de SCHATTENFROH (5) obtenant un sérum hémolytique par injections d'urines de chèvres, tandis qu'il n'obtient rien par l'injection du sérum des mêmes animaux, s'explique aussi très bien : nous savons en effet que les urines peuvent être très chargées d'hémoglobine, alors que le sérum de l'animal n'en présente que des traces.

Enfin, si tous ces faits sont réels, le receptor (hémoglobine) du sérum devra se trouver dans la fraction du sérum qui par précipitation contient la sérine à l'exclusion de la fraction des globulines : en effet, l'hémoglobine dissoute du sérum restera toujours inséparable des sérines dont elle partage

les propriétés. Effectivement, il nous fut toujours impossible d'obtenir des sérines incolores, tandis qu'après quelques lavages les pseudo-globulines sont parfaitement blanches.

Or, ici se place la constatation que nous avons faite.

Nous faisons par injections du sérum-antipseudo-globuline et du sérum-antisérine (de la vache au lapin comme pour l'hémoglobine).

L'antisérine présente une action hémolysante manifeste, quoique faible comparativement à l'antihémoglobine.

Sérum de lapin antisérine	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02
Sang de vache au 1/10	1	1	1	1	1
Soit	1/2	1/5	1/10	1/20	1/50
Hémolyse constatée après 16 heures	forte	forte	marquée	traces	nulle

Par contre, l'antipseudo-globuline, quoique très puissante contre la pseudo-globuline, ne provoquait guère d'hémolyse.

Sérum de lapin antipseudo-globuline	1	0,5
Sang de vache au 1/10	2	2,5
Soit	1/2	1/5
Hémolyse après 24 h.	traces	0

Donc, l'antisérine avait un pouvoir hémolytique incontestable, quoique 10 fois plus faible que l'antihémoglobine : l'antipseudo-globuline, au contraire, ne provoquait guère d'hémolyse.

Il est donc tout naturel de penser que, si les sérines et les sérums complets injectés provoquent la propriété hémolytique, tandis que les pseudo-globulines ne le font pas, c'est que les sérines et sérums complets contiennent des receptors communs avec ceux du globule rouge; en d'autres mots, les sérines contiennent toujours une certaine proportion d'hémoglobine, tandis que les pseudo-globulines bien lavées n'en contiennent guère (*). Le receptor commun paraît donc encore être l'hémoglobine dans ces cas.

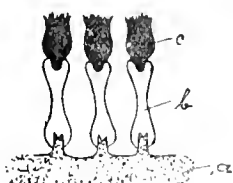
(*) DAREMBERG (Comptes-Rendus de la Soc. de Biol., 1901, 7 déc.) croit que, par une heure de centrifugation, on peut obtenir du sérum aussi incolore que de l'eau. Théoriquement, nous nous permettons d'en douter, et pratiquement cela ne doit jamais être le cas.

4. Epreuve de Neisser-Wechsberg.

Rappelons que NEISSER et WECHSBERG (39), partant de la théorie des amboceptors d'EHRlich, émirent une déduction très ingénieuse, et l'expérience instituée pour la vérifier réussit parfaitement.

La voici en deux mots : pour EHRlich, les anticorps ou Immunkörper sont des *intermédiaires indispensables* servant à unir au receptor du microbe ou de la cellule les alexines normales du sérum, qui sont les seuls agents dissolvants efficaces, espèce de ferments protéolytiques. Cela étant, on doit admettre trois possibilités concernant les proportions arithmétiques que présenteront les amboceptors par rapport aux compléments.

1° Supposons : 3 receptors ou unités vivantes, 3 amboceptors, 3 compléments ou alexines



- a) unité vivante ou receptor
- b) amboceptor
- c) alexine efficace (complément)

La seule union possible sera la satisfaction de toutes les valeurs réceptrices : toutes les alexines étant fixées sur les unités vivantes, il y aura maximum de protéolyse.

2° S'il y a moins d'amboceptors que de compléments, l'action bactériolytique sera proportionnelle au nombre d'amboceptors, cela se comprend facilement.

3° Supposons 3 unités vivantes, 9 amboceptors et 3 alexines. A moins de supposer une affinité spéciale dans un sens donné, on obtient le partage suivant :



c'est-à-dire que les unités vivantes n'ont qu'une chance sur trois d'être unies à un amboceptor muni lui-même d'une alexine, les autres alexines s'étant distribuées sur les amboceptors en excédant. Donc un excédant de sérum vaccinant est nuisible.

Cette déduction si claire ne peut pas se faire d'abord pour les antitoxines diphtéritiques, car l'expérience prouve bien qu'il existe une proportion nette entre toxine et antitoxine et qu'il n'est question là que de la neutralisation d'un poison : aussi les antitoxines ne seraient pas des amboceptors. Elle ne peut pas être faite non plus pour les agglutinines et coagulines, qui agissent évidemment même sans l'aide d'alexines.

Par contre, elle se vérifie pour la bactériolyse dans les expériences de NEISSER-WECHSBERG. Mais pour l'hémolyse, EHRLICH reconnaît lui-même que l'expérience ne réussit pas jusqu'ici : plus il met d'anticorps et plus l'hémolyse devient forte ; dans ce cas, il faut supposer que les amboceptors unis à des receptors acquièrent plus d'affinité pour les alexines que ceux qui restent libres.

L'expérience de NEISSER-WECHSBERG a fait énormément de bruit, et il n'a été possible d'en attribuer le résultat ni à l'agglutination ni à des antialexines, comme LIPSTEIN (49) l'a encore démontré cette année. Les partisans de la théorie de l'amboceptor attribuent une signification prépondérante à ce fait, et, à cause de lui, ils n'hésitent plus à déclarer insoutenable la théorie sensibilisatrice de notre compatriote BORDET. C'est trop vite conclure pour un fait observé dans des circonstances si complexes, et nous voulons nous-même concéder d'avance que le sort de la théorie d'EHRLICH n'est pas lié à la réfutation des déductions de NEISSER-WECHSBERG.

Ainsi LEBLANC, partant des phénomènes qui se passaient *in vitro* dans ses expériences, et sans idées préconçues pour aucune théorie, a déjà exprimé la conviction qu'avec une antihémoglobine énergique il parviendrait à précipiter si bien l'hémoglobine que les alexines ne trouveraient plus rien à dissoudre.

Pour que cela se réalise, il faut présupposer que l'hémoglobine précipitée par l'antihémoglobine ne soit pas dissoluble par les alexines normales. Par analogie avec les coagulines, on peut espérer qu'il en sera ainsi. Nous le vérifions par l'expérience directe : *au précipité rose provoqué dans une solution d'hémoglobine par l'antihémoglobine, nous additionnons après centrifugation une grande quantité de sérum frais normal et nous n'obtenons aucune disparition du précipité rose, même après 24 heures.* Donc, ni les alexines du sérum immunitaire ni celles du sérum normal ne peuvent redissoudre l'hémoglobine précipitée par l'anticorps.

Cela étant, il nous reste à faire l'expérience telle que NEISSER-WECHSBERG la firent pour les sérums bactéricides, c'est-à-dire qu'il faut démontrer qu'un excédant d'anticorps empêche l'hémolyse. C'est ce qui arrive.

Sérum de lapin antihémoglobinique	0,5	0,5	1
Sang de vache dilué au 1 10	1	0,5	0,5
Soit	1 2	1 1	2 1
Hémolyse après 24 h.	forte	forte	quasi nulle; précipité rose

Donc, un excès d'antihémoglobine empêche l'hémolyse.

Il reste à contrôler, comme NEISSER-WECHSBERG, si c'est bien à l'excès de sérum du lapin *vacciné* qu'il faut imputer cette action inhibitive et non à tout sérum de lapin.

A cet effet, nous mélangeons :

Sérum de lapin antihémoglobinique	0,3
Sérum de lapin normal	1
Sang de vache dilué au 1 10	0,5
Hémolyse après 2 h.	très forte

Donc, un excès de sérum de lapin normal n'est pas capable d'empêcher l'hémolyse.

Avant de conclure, remarquons encore qu'il ne peut être question ici ni de manque d'alexine ni de présence d'antialexine dans le sérum immun, ce même sérum provoquant une bonne hémolyse en solution plus diluée (voir p. 268). *L'empêchement à l'hémolyse est donc uniquement dû à notre sérum antihémoglobinique, à l'excès d'amboceptor ou d'antihémoglobine.*

5. Conséquences de ces divers faits.

Pour juger de toutes les conséquences théoriques qui résultent de ces constatations, il suffit de rapprocher les chiffres que les expériences nous fournissent.

1° Un centimètre cube de sérum de lapin vacciné est capable de précipiter toute l'hémoglobine de 1 200 centim. cube de sang de vache.

2° Notre sérum de lapin vacciné prépare à l'hémolyse les globules rouges du sang de vache au $1/10$, pourvu que la proportion de sérum vacciné et de sang au $1/10$ oscille entre les limites $1/1$ et $1/200$, c'est-à-dire que l'hémolyse se fera par les alexines quand l'hémoglobine précipitée représente $1/20$ à $1/4000$ de toute l'hémoglobine contenue dans les globules.

Notre sérum de lapin vacciné empêche l'hémolyse dès qu'on le met dans les proportions $\frac{2 \text{ sérum vacciné}}{1 \text{ sang de vache au } 1/10}$, c'est-à-dire dès qu'on en met assez pour précipiter $1/10$ de toute l'hémoglobine contenue dans les globules rouges.

Si on n'empêchait l'hémolyse qu'en précipitant toute l'hémoglobine contenue dans les globules rouges, la chose aurait paru très simple, puisque l'alexine n'attaque pas le coagulum de l'hémoglobine unie à son anticorps. Or, voilà qu'il suffit de précipiter $1/10$ (pour autant que les dosages sont exacts) pour que les $9/10$ restants soient à l'abri des alexines. Il semble rationnel d'admettre que le premier dixième d'hémoglobine précipitée forme dans le globule rouge une couche que les alexines ne traversent pas efficacement.

Il y aurait dans cette voie de nombreuses expériences à faire par déduction, dès qu'on possède du sang antihémoglobinique. Nous ne manquons pas d'en instituer à l'occasion.

Mais nous constatons dès maintenant les faits suivants :

1° Le coagulum de l'hémoglobine de vache avec son anticorps ne se laisse pas attaquer par les alexines du lapin ; ce n'est donc pas l'hémoglobine prise par l'Immunkörper qui rentre en solution dans les hémolyses par ces mêmes alexines.

2° Les globules rouges de vache sont préparés à subir l'hémolyse par les alexines de lapin, quand on a précipité de leur hémoglobine une proportion variant entre $1/20$ à $1/4000$.

Comme conséquence de ces deux propositions, il est naturel d'admettre que l'hémoglobine qui diffuse dans les mélanges hémolysants est précisément de l'hémoglobine qui n'a point été prise par l'Immunkörper.

3° Les globules rouges de vache sont protégés contre l'hémolyse par les alexines de lapin, quand on a précipité plus de $1/10$ de leur hémoglobine.

Donc, au moment où l'hémolyse est empêchée par un excès d'Immunkörper, tous les anticorps (amboceptors) ont l'occasion d'être fixés sur des unités réceptrices d'hémoglobine, et il y a même un grand excédant

de receptors ou d'hémoglobine intacte : donc, d'après EHRLICH, toutes les alexines (compléments) devraient se trouver fixées par l'intermédiaire des amboceptors sur les unités réceptrices d'hémoglobine, et elles devraient provoquer la dissolution des globules rouges avec toute son intensité.

En d'autres mots, le schéma de NEISSER $\left\{ \begin{array}{l} 3 \text{ receptors} \\ 9 \text{ amboceptors} \\ 3 \text{ alexines} \end{array} \right\}$ n'est pas

réalisé au moment où l'hémolyse cesse par excédant d'anticorps; en réalité,

il y a $\left\{ \begin{array}{l} 100 \text{ unités réceptrices} \\ 10 \text{ amboceptors} \\ 5 \text{ à } 10 \text{ alexines} \end{array} \right\}$ et l'hémolyse devrait être maximale dans

la théorie des amboceptors.

Voilà les faits : pour échapper à la rigueur de ces conclusions, il ne reste qu'à nier à l'antihémoglobine elle-même le rôle de sensibilisatrice; or cela devient très hasardeux. Certes, nous admettons que l'hémoglobine que nous injectons contient des traces d'autres albumines contenues également dans l'érythrocyte, et peut-être même des inconnues non protéiques; mais peut-on admettre que les anticorps de ces albumines sont autre chose que des précipitines; et les anticorps des *inconnues possibles*, allons-nous leur attribuer des propriétés tout autres que celles de tous les anticorps connus jusqu'ici? Ce serait nous rejeter dans l'insoluble par amour pour une théorie, et pousser plus loin la discussion nous paraît indigne de la part d'expérimentateurs.

Quoi qu'il en soit, il est certain dès maintenant qu'il y a d'autres explications possibles du phénomène NEISSER-WECHSBERG; l'explication la plus probable est celle qui résulte de nos chiffres; et loin d'apporter un appui à la théorie d'EHRLICH, le phénomène de NEISSER-WECHSBERG, tel qu'il se présente dans l'hémolyse, ne devient bien explicable que par la théorie sensibilisatrice.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.

Ce n'est pas sans appréhension que nous touchons à la théorie d'EHR-
LICH : en même temps que bon observateur, le savant allemand se montre
aussi trop habile avocat de sa cause. Mais ne nous entraîne-t-il pas trop loin
par des hypothèses ? Il y a certes bien des choses mises hors de doute par
les observations faites à son école : notons la multiplicité des alexines,
l'homologie des hémolyses par sérum normal et par sérum spécifique, la
production d'antiauxines par injection d'auxines modifiées ou complémen-
toïdes, la production d'antitoxines par les toxones, etc.

Mais certaines théories attendent encore leurs preuves péremptoires :
et ce n'est ni par parti-pris, ni par incapacité intellectuelle, mais à cause
de l'insuffisance des preuves que tant d'observateurs russes, allemands,
autrichiens, français et belges refusent jusqu'ici le rôle - amboceptor - aux
Immunkörper ou anticorps. Et si le rôle - amboceptor - venait à être dénié
aux anticorps, combien d'autres sous-hypothèses perdraient tout fondement,
notamment toutes les théories imaginées pour expliquer les actions inhibi-
tives constatées dans les circonstances les plus diverses.

Il nous semble que la lumière éclatera bien plus rapidement si, au
lieu d'injecter des mélanges complexes comme du sang ou des microbes, on
simplifiait toutes les expériences en travaillant sur des milieux simples,
sur des substances moins complexes extraites des sérums, des globules ou
des microbes.

Expliquons toute notre pensée par quelques comparaisons :

1^o Quand on injecte des sérums, du sang, des microbes, des filtrats
de cultures et qu'on obtient des Immunkörper, on est réduit à affirmer
qu'on a injecté des receptors. Au contraire, si après avoir injecté des sub-
stances comme de l'hémoglobine on obtient un anticorps qui précipite l'hé-
moglobine même, on peut constater de visu la disparition de l'hémoglobine
dissoute et son passage dans le précipité : il devient évident dans ce cas
que l'hémoglobine même était le receptor. A la suite des constatations
homologues s'étendant à la pseudo-globuline, à la sérine et à d'autres
substances, il devient inutile de parler de receptor; on peut dire corps
chimique ou substance albuminoïde, etc.

2° Quand on a obtenu le coagulum ou - præcipitum - au moyen de solutions aussi simples que possibles tant du corps à précipiter que de l'anticorps (ce dernier se retrouve jusqu'ici soit parmi les pseudo-globulines, soit parmi les euglobulines), on peut étudier systématiquement les limites d'insolubilité de ces précipités.

Comme on se trouve généralement dans ces cas devant des composés formés de deux molécules albuminoïdes (*), on pourra expérimenter avec toutes les causes dissolvantes connues pouvant agir en de pareilles circonstances. Surtout, on se défera de toute interprétation précoce, de toute hypothèse nouvelle, alors qu'il nous reste tant d'énigmes à éclaircir concernant la solubilité des substances albuminoïdes. Nous citons à l'attention de nos lecteurs le récent travail de HUISKAMP (***) sur les diverses nucléines, qui montre combien les moindres changements dans les proportions de certains sels, passés inaperçus jusqu'ici, peuvent modifier du tout au tout la solubilité des protéides.

Conscient de la nature des substances qu'on a devant soi, conscient de l'instabilité physique de cette catégorie de substances, l'observateur travaillant sur les anticorps s'épargnerait beaucoup de peines.

Cette immense littérature qui surgit brusquement depuis un an sur les précipitoïdes, agglutinoïdes, et sur toutes les conditions qui empêchent les coagulums de se former sous l'influence des anticorps, n'aboutira-t-elle pas à découvrir tout simplement que les conditions de solubilité des - præcipita - sont les mêmes que celles des protéides? A lire les dernières pages des récents mémoires d'EISENBERG (35) et de MULLER (15) sur ce sujet, le résultat final de ces pénibles recherches se dessine déjà très nettement tant pour la substance précipitable (p. 305 à 308) que pour l'agglutinoïde et pour le précipitoïde.

Et si, après tant d'efforts, on découvre la véritable cause troublante dans ces mélanges si complexes, il faudra tout de même la vérifier sur les réceptors et anticorps isolés. Combien on serait plus près du but en ne travaillant dès maintenant que sur les albuminoïdes précipitables d'une part et sur les groupes pseudo globuliniques ou euglobuliniques, parmi lesquels se trouvent les substances précipitantes d'autre part, et enfin sur le précipité protéidique qui apparaît.

(*) PRÖSCHER annonce il y a quelques jours qu'il isole l'antitoxine diphtéritique de manière à la rendre eiweissfrei (Munch. med. Woch., n° 28) - ce sera bien là un fait sensationnel, s'il se confirme!

(***) Zeitschrift für phys. Chemie, 1900.

3° Quand on veut étudier actuellement le mécanisme intime de l'hémolyse qui aboutit en somme à l'apparition d'hémoglobine libre, il semble tout naturel de chercher les produits les plus simples dont l'injection provoque la propriété hémolysante. Or, on aboutit ici à l'antihémoglobine; on voit celle-ci s'unir à l'hémoglobine, et on peut mesurer même les quantités d'hémoglobine et d'antihémoglobine en présence. On peut constater de visu que l'alexine ne dissout pas le -præcipitum- : le mode d'action de l'anticorps et de l'alexine sur l'érythrocyte doit donc être toute autre chose qu'un jeu d'amboceptor et de complément. Ces constatations ne nous rapprochent-elles pas beaucoup plus de la vérité que les hypothèses les plus habilement soutenues? LONDON (45) a étudié au microscope l'action du desmon sur l'érythrocyte; malheureusement, son desmon est un mélange d'agglutinine, coaguline, antihémoglobine, etc., et ses conclusions ne sauraient porter; mais la méthode est bonne.

4° Et combien il sera plus simple d'étudier la spécificité des anticorps en n'injectant que des albuminoïdes bien lavées de toute impureté. Cette double question, spécificité quant à l'espèce animale et spécificité quant à la molécule albuminoïde dans un même animal, prend encore une fois depuis peu un intérêt des plus palpitants. La spécificité originelle quant à l'espèce est définitivement reconnue imparfaite; et le dernier travail de MEYER et ASHOFF (du laboratoire de METCHNIKOFF) nous montre bien qu'elle dépendra de receptors communs. Un de nos élèves, étudiant récemment les antipseudo-globulines du sérum de cheval et de vache, a trouvé qu'une petite fraction des pseudo-globulines de ces deux espèces est commune, tandis que la plus grosse fraction est constituée de pseudo-globulines spéciales à chaque espèce (*). L'analyse successive des albuminoïdes de sources différentes promet ainsi de jeter une très vive lumière sur la composition de tous les liquides importants de l'organisme, sans qu'on doive édifier hypothèse sur hypothèse.

Les doutes élevés jusqu'ici sur la spécificité quant aux albuminoïdes mêmes ne nous paraissent pas encore motivés : la vérification en sera bien simple et peut être tout aussi instructive.

En résumé, nous demeurons très sceptique devant les explications qu'on veut donner de *la nature intime* du processus de l'immunité, tant que les observations ne portent que sur des mélanges archi-complexes. Nous considérons les expériences faites avec les corps simples comme beau-

(*) Un travail étendu sur ce sujet sera publié au courant de l'année académique prochaine.

coup plus significatives que les interprétations les plus ingénieuses basées sur des résultats obtenus en mélanges complexes. De plus, il est certain que tôt ou tard il faudra vérifier sur des corps simples toutes ces données obtenues en mélanges complexes, et il serait bien plus logique de se limiter dès maintenant à des théorèmes plus simples.

RÉSUMÉ.

L'antihémoglobine obtenue par injection d'hémoglobine aussi pure qu'il est possible de l'avoir actuellement, outre qu'elle produit la précipitation de l'hémoglobine *in vitro* (LEBLANC), est puissamment sensibilisatrice. L'hémolyse des globules est préparée par des quantités d'anticorps qui sont capables de précipiter entre 1/20 à 1/4000 de toute l'hémoglobine des érythrocytes.

Le sérum antihémoglobinique permet d'obtenir le phénomène de NEISSER-WECHSBERG quant à l'hémolyse; seulement, au moment où l'inhibition se manifeste, il n'y a pas encore d'excédant d'amboceptor, comme NEISSER-WECHSBERG doit le supposer : le phénomène réclame donc une autre interprétation.

Le précipité de l'hémoglobine fixée par l'antihémoglobine est devenu inattaquable par les alexines : l'alexine n'agit donc pas sur les molécules d'hémoglobine sur lesquelles les ambocepteurs se seraient ancrés.

BIBLIOGRAPHIE CONTEMPORAINE

1901-1902

On a rarement vu autant d'écoles et autant de travailleurs s'atteler à une même question scientifique. Depuis 1900, les publications se multiplient en progression géométrique, et des faits nouveaux surgissent constamment : déjà toute une littérature a vu le jour depuis le dépôt du mémoire de LEBLANC, fin mai 1901.

Nous voulons, pour faciliter la besogne des nombreux chercheurs, réunir les renseignements bibliographiques récents qui intéressent les questions dont nous nous occupons; mais les sources sont si diverses et les dates sont si récentes que nous ne pouvons espérer être complet.

Nous subdivisons les publications en quelques groupes; nous voudrions même pouvoir les résumer; mais cela n'est bien possible que pour un certain nombre d'entre elles. Nous sommes ainsi obligé à donner à cette nomenclature une forme un peu exceptionnelle.

A. Spécificité des anticorps.

Les actions spécifiques par espèce cellulaire ou animale (spécificité originelle) et celle qui fait sous-distinguer les albuminoïdes chimiquement différentes d'une même cellule (spécificité moléculaire) ont été généralement constatées et admises jusqu'en ces dernières années (voir LEBLANC, loc. cit.). Nous donnons ci-dessous les mémoires qui restreignent ou nient la valeur de cette spécificité.

- 1 *v. Dungern* : Münch. med. Wochenschr., 1900. — Lactosérum agglutine les globules rouges.
- 2 *Myers* : Centralbl. f. Bakt., 1900, XXVIII. — Spéc. originelle incomplète.
- 3 *Ehrlich und Morgenroth* : Berl. klin. Wochenschr., 1901, nos 21 et 22. — Récepteurs communs aux espèces sont probables.
- 4 *Hambürger* : Wien. klin. Wochenschr., 1901. — Comme *v. DUNGERN*, 1.
- 5 *Schattenfroh* : Münch. med. Wochenschr., 1901, n° 31. — Voir *MORGENROTH*, 10.

- 6 *Linossier et Lemoine* : Comptes rendus Soc. de Biol., 1902, 25 janv., 8, 15 et 22 mars. — Spéc. originelle des antisérums incomplète incontestablement (nous devons le confirmer pour le cheval et le bœuf). Spéc. moléculaire incomplète (à vérifier).
- 7 *Camus* : Comptes rend. Soc. de Biol., 1902, 1 févr. — Attaque spéc. moléculaire, vu l'exemple des antifibrines (causes d'erreur possibles).
- 8 *Rostocki* : Münch. med. Wochenschr., 1902, n° 18. — Nie toute spéc. moléculaire contra LEBLANC et PICK (à vérifier quant aux causes d'erreur : précipitation d'euglobulines?).
- 9 *Nuttal* : Brit. med. Journal, 1902, 5 avril. — Rapports des espèces zoologiques par la spécificité incomplète des antisérums.
- 10 *Morgenroth* : Münch. med. Wochenschr., 1902, n° 25. — Injection de sérum donne pouvoir hémolytique, mais par receptor commun bien prouvé.
- 11 *Meyer und Aschoff* : Beil. klin. Wochenschr., 1902, n° 27. — Spéc. originelle incomplète expliquée par des receptors communs dans les liquides injectés (labor. de METCHNIKOFF, très important).

B. Union in vitro du corps et de l'anticorps.

Cette partie fait suite à toute la polémique qui a déjà été soulevée à ce sujet concernant la toxine et l'antitoxine diphtérique.

Pour :

- 12 *Leblanc* : La Cellule, XVIII, 1901.
- 13 *Pick* : Beiträge f. Chem., Phys. u. Path., I, 7 à 12, 1901-1902.
- 14 *Kretz* : Zeitschr. f. Hygiene, 1901, II, 4.
- 15 *Müller* : Münch. med. Wochenschr., 1902, n° 7.

Contre :

- 16 *Savtchenko* : Ann. Inst. PASTEUR, 1902, 25 févr. — Le « fixateur », anticorps hémotoxique, se fixerait aussi bien sur les globules rouges que sur les leucocytes (lavés incomplètement?) et les deux modes d'action mènent à la manifestation de la fonction phagocytaire.
- 17 *Marcugli* : Arch. ital. de Biol., XXXVII, f. 2, 1902. — Expériences très complexes, non décisives.
- 18 *Danysz* : Ann. Inst. PASTEUR, 1902, 25 mai. — Rapports en proportions variables (pour la ricine).

C. Alexines et antialexines.

La multiplicité des alexines et des antialexines (complément, anticomplément) semble acquise.

- 19 *Ehrlich und Morgenroth* : Berl. klin. Wochenschr., 1901, n° 10.
 20 *Rehns* : Comptes rendus de la Soc. de Biol., 1901, n° 12.
 21 *Müller* : Centralbl. f. Bakt., 1901, 21 févr. et 24 juin.
 22 *Neisser und Döring* : Berl. klin. Wochenschr., 1901, n° 22.
 23 *Ehrlich und Morgenroth* : Berl. klin. Wochenschr., 1901, n° 31.
 24 *Hegeler* : Zeitschr. f. Hyg., XXXVII, H. 1.
 25 *v. Lingolsheim* : Zeitschr. f. Hyg., XXXVII, H. 1.
 26 *Sachs* : Berl. klin. Wochenschr., 1902, n° 10.
 27 *Ehrlich und Sachs* : Berl. klin. Wochenschr., 1902, nos 14 et 15. — Très important.
 28 *Marshall und Morgenroth* : Centralbl. f. Bakt., 1902, n° 12.

Thèses dissidentes.

- 29 *Baumgarten* : Berl. klin. Wochenschr., 1901, nos 50 et 51; et Centralbl. f. Bakt., 1902, 30 janvier.
 30 *Fokker* : Centralbl. f. Bakt., 1902, 25 avril.
 31 *Emmerich und Low* : Centralbl. f. Bakt., XXXI, 1 et 2, 1902.

D. Action inhibitive attribuée ou non à des complémentaires, précipitoïdes, agglutinoïdes.

Cette question, d'origine récente, commence à s'éclaircir.

- 32 *Besredka* : Ann. Inst. PASTEUR, 1901.
 33 *J. Camus et Pagniez* : Comptes rendus de la Soc. de Biol., 1901, 6 juillet.
 34 *L. Camus et Gley* : Comptes rendus de la Soc. de Biol., 1901, 6 juillet.
Pick : Loc. cit., 13.
Müller : Loc. cit., 15. — Communication préliminaire, mais très importante au point de vue précipitoïde.
 35 *Eisenberg* : Bull. intern. de l'Acad. de Cracovie, 1902, mai.
Ehrlich und Sachs : Loc. cit., 27. — Important : complémentaires.
 36 *Kraus und v. Pirquet* : Centralbl. f. Bakt., XXXII, 1 juillet 1902.

E Rôle de l'amboceptor et origine des anticorps. Parties en litige de la théorie d'Ehrlich.

- 37 *Ehrlich* : Ueber Toxine und Antitoxine. Wien, 1901.
 38 *Metchnikoff* : L'immunité dans les maladies infectieuses. Paris, 1901.

- Ehrlich und Morgenroth* : Loc. cit., 3.
- 39 *Neisser und Wechsberg* : Münch. med. Wochenschr., 1901, n° 18, mai. — Très remarquée.
- 40 *Bordet* : Ann. Inst. PASTEUR, 1901, 25 mai.
- 41 *Dreyer und Madsen* : Zeitschr. f. Hyg., 1901.
- 42 *Weichardt* : Ann. Inst. PASTEUR, 1901, 25 nov. — Antispermatoxine obtenue par des lapins châtrés.
- 43 *Grüber* : Wien. klin. Wochenschr., 1901, n° 46.
- 44 *Kraus-Kretz-Wechsberg-Paltauf-Grüber* : Wien. klin. Wochenschr., 1901, nos 48, 49, 50, 51. — Discussion et communications préliminaires.
- 45 *London* : Arch. de St Petersburg., VIII, nos 3 et 4, 1901. — « Le desmon (amboceptors) modifie à lui seul les globules rouges vus au microscope. »
- 46 *Eisenberg und Volk* : Wien. klin. Wochenschr., 1901, nos 50 et 51.
- 47 *Pfeiffer und Friedberger* : Berl. klin. Wochenschr., 1902, n° 1. — Anticorps contre l'Immunkörper attaquant le vibrion du choléra.
- 48 *Kraus und Eisenberg* : Centralbl. f. Bakt., 1902, 27 févr.
- 49 *Lipstein* : Centr. f. Bakt., 1902, Bd. 31, n° 10. — Confirme NEISSER-WECHSBERG, 39.
- 50 *Wechsberg* : Zeitschr. f. Hyg., 1902.
- Ehrlich und Sachs* : Loc. cit., 27.
- 51 *Ehrlich und Marshall* : Berl. klin. Wochenschr., 1902, n° 25. — Nouvelle extension de la théorie.
- 52 *Matthes* : Münch. med. Wochenschr., 1902, n° 1.
- 53 *Sachs* : Münch. med. Wochenschr., 1902, n° 5.
- 54 *Matthes* : Münch. med. Wochenschr., 1902, n° 17.

TABLE DES MATIÈRES.

Préliminaires	263
1. Préparation de l'hémoglobine à injecter.	265
2. Force précipitante de l'antihémoglobine employée	266
3. Force sensibilisatrice de l'antihémoglobine	267
ANNEXE. Hémolyse par antisérum	269
4. Épreuve de NEISSER-WECHSBERG	271
5. Conséquences de ces divers faits.	273
Considerations générales	276
Résumé	279
Bibliographie contemporaine : 1901 1902	281

Systeme nerveux, systeme circulatoire, systeme respiratoire et systeme excréteur

DE LA

NERITINA FLUVIATILIS

(Fragments d'un travail monographique sur cette espèce)

PAR

J. LENSSEN

DOCTEUR EN SCIENCES

PROFESSEUR AU COLLÈGE SAINT-JOSEPH A HASSELT

(Mémoire déposé le 20 août 1902.)

Systeme nerveux, systeme circulatoire, systeme respiratoire et systeme excreteur

DE LA

NERITINA FLUVIATILIS

HISTORIQUE.

Dans un travail antérieur, nous avons fait l'étude des systèmes digestif et reproducteur de la *Neritina fluvialis*(1). Nous entreprenons aujourd'hui la description des systèmes nerveux, circulatoire, respiratoire et néphridien du même animal.

Nous nous plaignions, il y a quelques années, de la pauvreté de la littérature en ce qui concerne les deux appareils dont nous avons alors à nous occuper; il nous fallut recourir au travail de CLAPARÈDE, publié en 1840 dans les *Archives de Müller*, pour comparer nos résultats aux données considérées comme acquises à cette époque. Actuellement, il n'en est plus de même, pour le système nerveux du moins. Nous n'avons pas à remonter aussi haut dans les archives scientifiques; les renseignements abondent. Mais, s'il est une question au sujet de laquelle les auteurs ont été parfaitement en désaccord, c'est bien celle dont nous avons à nous occuper en commençant ce travail. Qu'on en juge d'ailleurs par les quelques citations qui vont suivre et que nous rangeons par ordre de date.

(1) J. LENSSEN : La Cellule, t. XVI, 1^{re} fasc.

VON IHERING : - Les néritidés sont orthoneures (1). -

BOUVIER : - Les néritidés sont chiasstoneures, ils ont une apparence orthoneuroïde, paraissent dépourvus de la branche sus-intestinale de la commissure viscérale (2). -

R. PERRIER : - Les néritidés sont orthoneures (3). -

R. BERGH : - Les néritidés sont chiasstoneures, mais ont une apparence orthoneure. Le ganglion sous-intestinal a complètement disparu (4). -

BOUTAN : - Les nérites sont des prosobranches chiasstoneures (5). -

BOUVIER : - Chez *Nerita plexa*, j'ai pu mettre en évidence la branche sus-intestinale qui m'avait échappé (6). -

Les traités de zoologie ne sont naturellement pas d'accord non plus.

CLAUS (7) range la néritine parmi les orthoneures.

PELSENEER (8) et LAMEERE (9) la disent chiasstoneure.

D'après LANG (10), le système nerveux des *Neritidæ* a comme caractère spécial que le connectif pleuro-viscéral supra-intestinal avec le ganglion correspondant fait défaut.

Les systèmes circulatoire, respiratoire et néphridien n'ont guère autant attiré l'attention que le système nerveux.

A part MOQUIN-TANDON (11), CLAPARÈDE (12), LANDSBERG (13), REMY PERRIER (14) et BERGH, personne n'a fait de recherches spéciales touchant ces organes.

(1) VON IHERING : *Vergleichende Anatomie des Nervensystems und Phylogenie der Mollusken*. Leipzig, 1877.

(2) BOUVIER : C. R., t. 114, 1887.

(3) R. PERRIER : Ann. des Sc. nat., Zoologie, t. 8, 1889.

(4) R. BERGH : *Die Titiscanien*; Morph. Jahrbuch, Bd. XVI, 1890.

(5) BOUTAN : *Sur le système nerveux de la Nerita polita*; Comptes rendus, 1892, et Zoologischer Anzeiger, 1894.

(6) BOUVIER : *Système nerveux des néritidés*; Comptes rendus, 1892.

(7) CLAUS : *Traité de zoologie*. Paris, 1884.

(8) PELSENEER : *Introduction à l'étude des mollusques*. Bruxelles, 1894.

(9) LAMEERE : *Faune de Belgique*, 1895.

(10) LANG : *Traité d'anatomie comparée et de zoologie*, 1898.

(11) MOQUIN-TANDON : *Histoire naturelle des mollusques fluviatiles et terrestres de France*, 1855.

(12) CLAPARÈDE : Archives de MULLER, 1857.

(13) LANDSBERG : Zoologischer Anzeiger, 1882.

(14) REMY PERRIER : Ann. des sc. nat., Zool., loco citato.

MÉTHODES.

Il est impossible d'étudier d'une façon plus ou moins complète l'anatomie de la néritine sans avoir recours à la méthode des coupes en séries; la dissection permet de découvrir les ganglions sus- et sous-œsophagiens, par exemple, mais, outre qu'elle laisse ignorer bien des détails, elle ne révèle rien du système nerveux viscéral. S'il suffit, pour voir la branchie et le cœur, de détacher à droite le bord du manteau et de le rejeter vers la gauche, cette opération ne décèlera rien quant à la position de plusieurs vaisseaux importants et ne fournira aucun renseignement concernant la structure du rein.

Quoique la dissection nous ait servi quelque peu, c'est surtout à la méthode des coupes en série que nous devons les résultats que nous allons exposer. La radula, extraordinairement développée chez la néritine, est un obstacle sérieux à la réussite des tranches; et ce n'est que pour en avoir fait et examiné un très grand nombre, que nous avons pu acquérir des résultats et les vérifier d'une façon suffisante.

Fixation.

Le fixateur que nous avons employé de préférence est le sublimé corrosif additionné d'acide nitrique suivant la formule dite de GILSON, indiquée dans le manuel technique de BOLLES LEE.

L'aldéhyde formique et l'acide chromique ne nous ont pas donné d'aussi bons résultats.

Coloration.

L'hématoxyline et le carmin alcoolique de MAYER ont été nos colorants principaux; les meilleurs résultats ont été obtenus en employant ces substances en solution alcoolique étendue. Il faut colorer lentement, décolorer lentement ensuite pour enlever l'excès.

Nous n'avons pu, faute d'installation, pousser l'étude histologique aussi loin que nous l'aurions désiré. Nous croyons cependant avoir découvert en maint endroit des détails de structure qui, nous l'espérons, intéresseront ceux qui s'occupent de ces questions difficiles.

Systeme nerveux.

Notions générales sur la constitution du système nerveux chez les gastéropodes prosobranches.

Avant d'examiner la constitution du système nerveux chez la *Neritina fluviatilis*, nous croyons utile de rappeler brièvement quelques données très élémentaires concernant ce système chez les gastéropodes en général et en particulier chez les prosobranches; nous les extrayons de l'anatomie comparée de LANG (1).

Le système nerveux typique des gastéropodes comprend :

1° Deux *ganglions cérébroïdes* placés au-dessus ou sur les côtés de l'œsophage et réunis entre eux par une commissure cérébroïde;

2° Deux *ganglions pédieux* placés sous l'œsophage et réunis entre eux par une commissure pédieuse, et avec les ganglions cérébroïdes par deux *connectifs cérébro-pédieux*;

3° Deux *ganglions pleuraux* ou *palléaux* placés entre les ganglions cérébroïdes et les pédieux. Ils sont reliés aux cérébroïdes par deux *connectifs cérébro-pleuraux*, aux pédieux par deux *connectifs pleuro-pédieux*;

4° Un *ganglion viscéral* simple ou multiple, placé sous le tube digestif, est relié aux ganglions pleuraux par deux *connectifs pleuro-viscéraux*;

5° Sur la longueur de chaque connectif pleuro-viscéral, il existe presque toujours un ganglion. Ces ganglions peuvent être appelés *ganglions pariétaux*.

Les connectifs pleuro-viscéraux avec leurs ganglions sont symétriques seulement chez les opisthobranches et chez les pulmonés. Cette symétrie signifie seulement que le connectif droit avec son ganglion se trouve tout entier du côté droit du corps de l'animal, le connectif gauche du côté gauche.

(1) LANG : *Traité d'anatomie comparée et de zoologie*, 1898, p. 145.

On dit donc que les opisthobranthes et les pulmonés sont des *gastéropodes euthyneures*.

Chez les prosobranthes, au contraire, les connectifs pleuro-viscéraux sont asymétriques, c'est-à-dire qu'ils sont croisés : le connectif droit issu du ganglion pleural droit passe *par dessus* le tube digestif et arrive dans le côté gauche du corps, et inversement pour le connectif gauche qui, se glissant *sous* le tube digestif, passe du côté droit. Par suite de ce croisement, le *ganglion pariétal appartenant au connectif issu du ganglion pleural droit* devient un ganglion *supra-intestinal* et il se trouve désormais du côté gauche, tandis que le *ganglion pariétal appartenant au connectif issu du ganglion pleural gauche* devient *sous-intestinal* et se trouve du côté droit.

Les prosobranthes sont pour ce motif dits *gastéropodes streptoneures* (1).

Parties innervées par les différents ganglions.

1° Les *ganglions cérébroïdes* innervent les yeux, les organes de l'ouïe, les tentacules, la trompe ou le mufle, les muscles moteurs de la trompe, la masse buccale et la paroi du corps qui se trouve à la base du mufle.

2° Les ganglions pédieux fournissent leurs nerfs aux muscles du pied et parfois même (*Patella*) au muscle columellaire.

3° Les ganglions pleuraux innervent surtout le manteau, le muscle columellaire et la paroi du corps dans la partie qui se trouve en arrière de la tête.

4° Les ganglions pariétaux fournissent leurs nerfs aux branchies, à l'osphradion et en partie aussi au manteau.

5° Les ganglions viscéraux innervent les viscères. Les connectifs et les commissures fournissent fréquemment des nerfs qui ont en réalité leur origine dans les ganglions voisins.

6° Les ganglions buccaux innervent les muscles du pharynx, les glandes salivaires, l'œsophage, l'aorte antérieure, etc.

(1) Certains auteurs appellent les gastéropodes euthyneures gastéropodes orthoneures; au lieu de dire gastéropodes streptoneures, ils disent gastéropodes chistoneures.

Le ganglion pleural gauche porte aussi le nom de 1er ganglion du centre asymétrique.

»	»	droit	»	»	2 ^e	»	»	»
»	»	supra-intestinal	»	»	3 ^e	»	»	»
»	»	sous-intestinal	»	»	4 ^e	»	»	»
»	»	viscéral	»	»	5 ^e	»	»	»

Variations du système nerveux chez les gastéropodes prosobranches.

Diotocardes. Les ganglions sont encore mal délimités.

Les *ganglions cérébroïdes* sont reliés par une *commissure cérébrale* passant par dessus le pharynx, et par une *commissure labiale* passant sous l'œsophage.

Les *ganglions buccaux*, mal délimités, forment ensemble une sorte de masse en fer à cheval, et ils sont reliés de chaque côté par un connectif à l'épaississement initial de la commissure labiale.

Les *ganglions pleuraux* se trouvent contre les *ganglions pédieux*, si près même de ces derniers qu'on ne distingue pas de connectifs pleuro-pédieux spéciaux. La *commissure pédieuse* est très courte et renferme des cellules ganglionnaires. Des deux ganglions pédieux partent deux longs *cordons pédieux* s'étendant très loin en arrière dans l'intérieur du pied. Ces cordons contiennent sur toute leur longueur des cellules ganglionnaires et sont réunis par des commissures transverses.

On ne trouve ici qu'un ganglion viscéral mal délimité réuni aux ganglions pleuraux par deux connectifs pleuro-viscéraux croisés.

Chez les diotocardes, il n'existe aucun ganglion au point où le nerf branchial très puissant se détache du connectif pleuro-viscéral. Ce nerf porte, au contraire, un ganglion juste au-dessus de l'osphradion, à la base de la branchie : c'est le *ganglion branchial*.

Quand il existe de chaque côté un cténidion ou même seulement un osphradion, on trouve alors régulièrement de chaque côté un ganglion branchial. Si la branchie gauche seule persiste, le ganglion branchial gauche subsiste seul également.

Comme en général les diotocardes sont dépourvus de ganglions pariétaux, tandis que ce sont les ganglions branchiaux qui font défaut aux monotocardes, on considère assez généralement les ganglions branchiaux des diotocardes comme des ganglions intestinaux détachés de la commissure pleuro-viscérale et reportés à la base des branchies.

Cependant, comme chez la *Fissurella*, il existe en même temps un ganglion supra-intestinal et un ganglion branchial gauche ; il faudrait admettre qu'ici un ganglion primitivement unique s'est dédoublé.

Le nerf palléal symétrique, c'est-à-dire celui qui part du ganglion pleural, est toujours réuni par une anastomose palléale avec le nerf palléal asymétrique, c'est-à-dire celui qui part du ganglion pariétal du même côté ou du connectif pleuro-pariétal.

Le système nerveux des *Neritidæ* et *Helicinidæ* a comme caractère spécial que le connectif pleuro-viscéral supra-intestinal, avec le ganglion correspondant, fait défaut (1).

Après ce court exposé de la constitution du système nerveux des gastéropodes prosobranches diotocardes, il suffira de citer l'opinion de BOUVIER et de BOUTAN pour faire connaître l'état actuel de la question que nous avons à traiter; nous y verrons que ce qui a surtout préoccupé les auteurs, c'est la constitution du système viscéral; il s'agissait de constater si réellement la *Nerita* est orthoneure, comme le prétendaient VON IHERING et R. PERRIER, alors même que HALLER (2) avait soutenu qu'il n'existe pas de fait prouvant une véritable orthoneurie chez les prosobranches; ce point était d'autant plus important à élucider que VON IHERING avait fait de la disposition du système nerveux viscéral la base d'une classification des prosobranches.

En 1887, BOUVIER, dans son magnifique travail sur le système nerveux des gastéropodes prosobranches, déclare que chez les néritidés - il n'y a pas de commissure croisée - (3).

Ne pouvant cependant ranger ces animaux parmi les orthoneures, le savant français les réunit aux hélicinidés dans un groupe à part : les prosobranches orthoneuroïdes.

Jusqu'en 1862, l'opinion fut que les néritidés sont chiasmoneures, mais présentent une apparence orthoneure par suite de la disparition du ganglion supra-intestinal et de la commissure correspondante. A cette époque, BOUTAN et BOUVIER reprirent cette étude et tous deux constatèrent presque en même temps qu'une partie du système avait échappé à leurs observations; ils découvrirent, le premier chez la *Nerita polita*, le second chez la *Nerita plexa*, le ganglion supra-intestinal et la branche droite de la commissure croisée.

NÉRITINE.

Aspect général des ganglions nerveux sous œsophagiens.

Pour mettre à découvert par la dissection la partie inférieure du système nerveux de la néritine, le mieux est de s'y prendre de la manière suivante :

(1) LANG : Op. cit., p. 151.

(2) HALLER : Morphol. Jahrbuch, 1885.

(3) BOUVIER : Ann. des sc. nat., Zool., t. III, 1887, p. 48.

1° Fixer l'animal en enfonçant une épingle obliquement dans la partie droite du pied.

2° Détacher le manteau par son bord droit et le rejeter vers la gauche.

3° Ouvrir la région céphalique par une incision longitudinale médiane faite d'arrière en avant.

4° Enlever d'un coup d'épingle le massif des cartilages odontophores avec la radula.

Le plancher de la région antérieure du corps est ainsi mis à nu; on y distingue les divers ganglions qui constituent la masse nerveuse sous-œsophagienne.

Ces centres nerveux, intimement unis les uns aux autres, forment une masse jaunâtre à peu près rectangulaire, mesurant environ 1 1/2 millimètre en largeur et 3/4 de millimètre d'avant en arrière.

Le tout est fortement attaché aux muscles du pied par les cordons pédieux qui s'y enfoncent.

Les otocystes apparaissent à la surface des ganglions pédieux comme deux taches rondes d'une teinte plus foncée. Un cordon fibreux les réunit et masque en partie l'espace libre que laissent entre eux les ganglions sous-œsophagiens.

L'origine des principaux nerfs se distingue aisément.

Contre les parois de la cavité pharyngienne sont appliqués les deux ganglions cérébroïdes; chacun d'eux est relié aux ganglions inférieurs par deux forts connectifs.

Notre but étant surtout l'étude du système nerveux viscéral, nous ne nous arrêterons pas longtemps à la description du système nerveux céphalique.

Ganglions cérébroïdes.

Ces ganglions, reportés fort en avant, sont situés au niveau de l'insertion des tentacules, à côté du pharynx, contre la paroi duquel ils sont pour ainsi dire appliqués.

Leur forme est loin d'être aussi régulière qu'on pourrait le croire à la vue du dessin qu'en a donné IHERING, FIG. 1, *ce*; ils ont plus ou moins l'aspect d'une pyramide triangulaire retournée, FIG. 2, *ce*.

Quantité de nerfs se détachent de ces deux centres nerveux.

1° De leur face externe partent les nerfs qui se rendent aux tentacules et aux yeux, FIG. 2, *nl*, *no*; ces nerfs, confondus à leur origine, constituent un petit ganglion allongé accolé au ganglion cérébroïde.

2° De leur face supérieure sortent deux cordons nerveux importants : A) la commissure intercérébroïde, *ceco*, qui passe au-dessus du pharynx; elle est de longueur moyenne; B) la commissure labiale, *laco*, qui, se portant en arrière, s'insinue sous l'œsophage à l'endroit où celui-ci se détache de la cavité pharyngienne, FIG. 2 et 14, *laco*; cette commissure, large en son milieu, est assez grêle à ses extrémités; elle ne présente pas de ganglions buccaux bien délimités.

3° De leur base se détachent les connectifs cérébro-pédieux et cérébro-pleuraux, *cpe*, *cpl*; ces connectifs sont assez longs et forts.

Différents nerfs de moindre importance aboutissent aux ganglions cérébroïdes; citons entre autres quatre paires qui se portent en avant, se répandent au-dessus et aux deux côtés de la bouche, *nb*.

Ganglions pédieux, FIG. 2, *Pe*.

Ces centres nerveux ont conservé une forme allongée qui rappelle leur disposition chez les amphineures. Leur développement dépasse celui de n'importe quel autre ganglion. Ils ont la forme d'une cornue et se prolongent dans le lobe postérieur du pied. Dès leur origine, ils s'écartent graduellement l'un de l'autre et s'amincissent de plus en plus, pour se rapprocher un peu vers leurs extrémités.

La commissure interpédieuse est courte et peu apparente à la dissection; elle est parfaitement visible dans les coupes, FIG. 15, *peco*. De la face antérieure de chacun des ganglions pédieux se détache un nerf qui s'enfonce dans le lobe antérieur du pied, FIG. 2, *npa*.

Des faces latérales externes de la portion renflée sortent deux ou trois nerfs assez grêles qui se rendent dans les muscles avoisinants, *npl*.

Les cordons fournissent aussi plusieurs nerfs dont les dimensions sont d'autant plus considérables que leur point de sortie est plus rapproché du ganglion pédieux lui-même, *npp*. Ces nerfs se trouvent du côté externe des cordons pédieux. Nous n'avons pu en distinguer aucun naissant du côté interne et correspondant à ceux que BOUVIER et R. BERGH ont découverts chez la *Nerita*. Nous n'avons pas vu davantage des commissures transverses comme il s'en rencontre chez certains diotocards et comme SIMROTH en signale chez la néritine (BOUVIER, op. cit., p. 54).

Organes des sens.

Oeil.

L'œil de la néritine fluviatile se trouve au sommet d'un petit pédicule à la base et du côté externe du tentacule, FIG. 3. Cet organe est relativement fort développé et se distingue aisément, même sans loupe. Sa forme rappelle celle du même organe chez *Trochus (umbilicaris ? L.)* (1). Il a la constitution d'une vésicule oculaire de forme ovoïde, et par les coupes on y découvre la cornée, la rétine, la couche pigmentée et le cristallin.

Cornée, FIG. 4.

La cornée n'est pas, comme chez d'autres gastéropodes aquatiques, recouverte d'une lacune; elle constitue la couche externe de l'organe visuel.

On y remarque deux couches de cellules :

1° La *cornée externe*, FIG. 4, *ce*, qui n'est que la continuation de l'épithélium de la paroi de la tête; les cellules y sont cependant plus aplaties qu'ailleurs ;

2° La *cornée interne*, FIG. 4, *ci*, immédiatement sous-jacente à la première, qui tapisse l'extrémité du cristallin. Elle est extrêmement mince et contient quelques noyaux très aplatis. Elle se continue avec l'enveloppe du globe oculaire.

Rétine, FIG. 5.

La rétine est d'une structure très complexe. On y trouve une couche de gros bâtonnets, *ba*, entourant le cristallin, *cr*. Dans cette couche, on remarque des cellules, *cn*, probablement nerveuses, d'une forme particulière. Elles sont arrondies ou elliptiques et munies d'un pédicule qui disparaît dans la couche pigmentée. L'intérieur de ces cellules renferme des granulations surtout abondantes contre la membrane. Toutes n'ont pas les mêmes dimensions; elles sont d'autant plus nombreuses qu'elles sont plus rapprochées de la couche pigmentée.

Couche pigmentée, FIG. 5, 6 et 7, *cp*.

Cette couche est très compacte; aussi est-il impossible à cet endroit de distinguer quoi que ce soit de la structure cellulaire; tout est masqué par les granules de pigment.

(1) V. WILLEM : *Contributions à l'étude des organes des sens chez les mollusques*; Archives de biologie, t. XII, fasc. 1. — PELSENER : *Introduction à l'étude des mollusques*, Bruxelles, 1891, p. 59.

Parfois, on voit ces granules se continuer sur une certaine étendue le long des pédicules des cellules, FIG. 5, *cn*, que nous avons rencontrées dans la couche des bâtonnets, et aussi à l'intérieur de certaines cellules allongées qui se trouvent sous la couche des bâtonnets, FIG. 5.

Cristallin, FIG. 5, 6 et 7, *cr*.

Le cristallin est formé d'une substance hyaline et réfringente. Il occupe toute la cavité intérieure de l'œil et s'applique immédiatement contre la cornée; sa forme est plutôt ovoïde que globulaire.

Tout à l'entour de la couche de pigment se trouve une couche épaisse renfermant de nombreux noyaux; les uns, arrondis, semblent appartenir à des cellules nerveuses; d'autres, plus allongés, appartiennent à certaines cellules qui semblent pénétrer à l'intérieur de la couche pigmentée, FIG. 5 (1).

Otocystes, FIG. 8, 2 et 16, *ot*.

Les otocystes sont très apparents. On les aperçoit déjà à la loupe dans l'animal disséqué. Ce sont deux vésicules creuses reposant sur les ganglions pédieux. De leur partie supérieure part un cordon creux qui, après avoir passé à la surface des ganglions pédieux correspondants, remonte et semble se confondre avec le connectif cérébro-pleural.

A l'intérieur de la vésicule se trouvent une quantité d'otolithes réfringents, de forme anguleuse et irrégulière; il s'y trouve aussi un corps sphérique, transparent, se colorant assez facilement par le bleu carmin, FIG. 8.

Chaque otocyste est tapissé à son intérieur par un épithélium cylindrique et, à l'extérieur, par une mince couche de tissu conjonctif.

Nous n'avons pas constaté la présence de cils vibratils sur l'épithélium interne.

Une bande de tissu conjonctif réunit les deux otocystes.

Organes du tact.

La fonction tactile semble, chez la néritine, être répartie à des points multiples de la surface du corps. On trouve des cellules de FLEMMING, FIG. 9, à différents endroits, mais surtout dans l'épithélium qui tapisse la cavité branchiale. La néritine est un animal qui ne se prête pas bien à une

(1) Nous avons observé chez une néritine deux yeux contigus à la base d'un seul tentacule.

étude histologique approfondie; aussi préférons-nous ne pas entrer dans de plus amples détails.

Les *tentacules*, FIG. 3 et 10, ne sont pas rétractiles, mais ils sont très mobiles et pourvus d'une forte musculature. On y distingue au centre, FIG. 10, un muscle important, *m*, qui les parcourt dans toute leur étendue et se ramifie constamment pour envoyer ses branches aux parois de l'organe; la masse de chaque tentacule est constituée par des fibres longitudinales. Un nerf important, le nerf tentaculaire, FIG. 10, *nt*, s'y trouve près de l'axe et y court parallèlement à une cavité sanguine, FIG. 10, *l*. De larges bandes de pigment raient les tentacules dans toute leur étendue, FIG. 3.

Osphradion.

On considère comme fausse branchie, chez la néritine, un long bourrelet palléal qui se trouve à la base de la branchie, FIG. 17, *os*. Il existe, en effet, à cette place un épaississement de la paroi du manteau, renfermant un nerf; mais nous n'avons pu acquérir la conviction qu'il s'agit là d'un organe olfactif.

Il n'y a ni feuillet, ni cavité; par conséquent, si c'est l'osphradion, il est dans un état tout à fait rudimentaire.

Systeme nerveux viscéral.

Les ganglions pleuraux sont bien développés; leur forme est aplatie et irrégulière. Ils sont accolés aux ganglions pédieux et ne peuvent en être distingués que par l'étranglement qui les sépare, FIG. 2, *pl*.

De la face latérale de chaque ganglion pleural naissent deux nerfs assez grêles qui se rendent dans les masses musculaires situées à droite et à gauche de la région céphalique: ce sont les nerfs columellaires, FIG. 2, *nc*.

De l'extrémité antérieure du ganglion pleural gauche se détache un nerf important qui, traversant les muscles du pied, passe au-dessus de l'onglet de l'opercule, se porte vers la gauche et pénètre dans le manteau: c'est le *nerf branchio-palléal*, FIG. 2, *nbp*. Arrivé au niveau de l'insertion de la branchie, ce nerf se renfle en un petit ganglion accolé à la paroi interne du manteau. Sans rien préjuger de la nature de ce ganglion, nous l'appellerons *ganglion branchial*, FIG. 1, *gbr*. Deux filets nerveux en sortent: l'un pénètre dans la branchie et s'y étend tout le long du bord efférent

de l'organe; l'autre, remontant à l'intérieur du manteau, prend à son extrémité un aspect ganglionnaire, FIG. 1.

L'extrémité antérieure du ganglion pleural droit se continue en un tronc nerveux qui se dirige vers la droite, passe à la surface du muscle coquillier, pénètre dans l'épaisseur du manteau et s'y continue assez longtemps, FIG. 1 et 2, *n_{pd}*. Ce nerf, symétrique au nerf branchio-palléal, doit être le *nerf palléal droit*.

Le nerf branchio-palléal et le nerf palléal droit se rapprochent tellement par leurs extrémités, que nous avons cherché si quelque anastomose ne les réunit pas. Nous n'avons pu constater une réunion de ce genre; nous n'oserions cependant pas affirmer qu'il n'en existe pas.

Le ganglion pleural droit, un peu plus volumineux que son homologue de gauche, est aplati latéralement; un étranglement le sépare d'un autre ganglion placé sous lui, FIG. 2, *sbi*.

Tandis que de la masse supérieure du ganglion pleural droit s'échappe le nerf palléal droit, du ganglion inférieur sort un cordon nerveux, le plus important, à part les cordons pédieux, de tout le système nerveux de la neritine, FIG. 1 et 2, *gnv*. Ce nerf se porte directement vers l'arrière. Parallèle au nerf palléal droit à son origine, il s'en sépare bientôt et, restant toujours contre le plancher du corps, il côtoie les cartilages odontophores, FIG. 14, *gnv*, puis les sacs glandulaires que nous avons décrits en traitant du système digestif. Plus en arrière, il passe à côté de l'intestin et se trouve bientôt plongé dans une cavité sanguine. Celle-ci, étroite à son origine, s'élargit de plus en plus d'avant en arrière; sans changer de direction, le nerf en question en suit la paroi et arrive contre le plancher de la cavité branchiale, à droite, au fond de cette cavité.

A cet endroit, il existe un organe creux, FIG. 11, *oc*, l'homologue, peut-être, des mamelons découverts chez la patelle et d'autres prosobranches. Cet organe, dont nous parlerons plus loin, renferme un grand nombre de globules sanguins et semble, par conséquent, dépendre soit de l'appareil circulatoire, soit de l'appareil respiratoire. Il fait saillie dans la cavité branchiale et s'ouvre à sa base dans le sinus sanguin que nous venons de signaler. Au niveau de cet orifice, le nerf dont nous parlons se renfle en un ganglion nerveux non signalé encore par les auteurs, FIG. 11, 19, 20, 21, *gn*; dès ce moment, il change de direction. Jusque là, il s'est trouvé dans la partie droite du corps; mais à sa sortie de ce ganglion, il se dirige brusquement vers la gauche, FIG. 1, 12, 13, *gnv*; contournant la nuque, il passe au-dessus de l'intestin, FIG. 12, 13, *gnv*, puis se détache de la nuque pour atteindre

un ganglion moins volumineux que le précédent, situé à la face antérieure du rein, contre le néphrostome, FIG. 1 et 11, *gvi*.

Avant d'examiner la nature du nerf dont nous venons de donner la description, ajoutons qu'il existe un connectif partant du ganglion pleural gauche et aboutissant à la base du ganglion pleural droit, FIG. 2 et 17, *sbc*; ce connectif se renfle au voisinage du ganglion pleural droit et constitue le *ganglion sous-intestinal*, FIG. 2, *sbi*.

Il y a donc zygoneurie, et, comme le dit BOUVIER, l'anastomose palléale droite est représentée par l'union (bien connue) du ganglion sous-intestinal et du ganglion palléal (pleural) droit.

- Le ganglion sous-intestinal, signalé pour la première fois par M. DE LACAZE-DUTHIERS chez la *Neritina fluvialilis* -, écrit le même auteur, - se sépare des ganglions palléaux par des étranglements peu marqués, dans l'espèce qui nous occupe au moins (*Nerita peloronta*). C'est une masse ganglionnaire piriforme, peu développée, qui se présente comme un renflement à la base du *grand nerf viscéral*. Ce dernier a exactement les mêmes fonctions que la branche sous-intestinale de la commissure croisée. Il se dirige en arrière suivant le plancher de la cavité antérieure du corps au-dessous du tube digestif et se portant un peu à droite; il atteint bientôt la paroi du corps et se prolonge ainsi jusqu'au voisinage du tortillon; il remonte contre la face antérieure de celui-ci, celle qui constitue le fond de la chambre branchiale. Là il devient superficiel et, se dirigeant à gauche *au-dessus du tube digestif*, forme un *ganglion viscéral* au-dessous de l'orifice du rein. Ce ganglion envoie des nerfs à l'organe de BOJANUS, au péricarde, et probablement aussi au cœur - (1).

Le grand nerf viscéral que BOUVIER décrit en ces termes chez la *Nerita peloronta* correspond évidemment au nerf important que nous venons de décrire chez la *Neritina*. En effet, tous deux ont la même origine, le même trajet et les mêmes fonctions. Nous pouvons donc dire que chez la néritine aussi ce nerf se comporte comme la branche sous-intestinale de la commissure chez les prosobranches. Quoique nous n'ayons pu en déterminer complètement les régions d'innervation, nous pouvons cependant donner à ce sujet certains détails qui ne sont pas sans importance.

Le grand nerf viscéral renferme des cellules ganglionnaires tantôt plus, tantôt moins abondantes dans toute son étendue. Il s'en détache différents nerfs, dont la plupart se rendent dans la partie droite du corps, FIG. 1. A

(1) Ann. des sc. nat., Zool., t. III, 1887, p. 51.

sa sortie du ganglion sous-intestinal, le grand nerf viscéral se recourbe parfois sur lui-même, forme une anse ouverte en arrière et alors seulement se dirige vers le fond de la cavité palléale. Arrivé au niveau de la réunion des cartilages odontophores antérieurs avec les postérieurs, il émet un tronc nerveux qui s'enfonce dans le muscle columellaire droit et se dirige vers la base du manteau, FIG. 1, *nco*.

Un peu plus en arrière, il s'en détache plusieurs branches qui se rendent dans la paroi droite du corps.

Plus en arrière encore, il en sort un nerf important qui, suivant le plancher vers la gauche, se rend sous l'intestin et l'estomac, FIG. 1, *ng*. Tout près d'arriver contre le fond de la cavité branchiale, le grand nerf viscéral donne naissance à une branche nerveuse qui remonte le long de la paroi du fond de la cavité à droite et se rend à la base des glandes annexes du système génital, FIG. 1, *ns*. Immédiatement après, le grand nerf viscéral traverse le ganglion que nous avons découvert à l'angle droit du fond de la cavité branchiale et, dès ce moment, il change de direction; il se porte vers la gauche, passe au-dessus de l'intestin et se renfle de nouveau en un ganglion bilobé, FIG. 1, *gvi*; le lobe supérieur s'étale contre le néphrostome, le lobe inférieur s'arrête sous cet orifice et envoie des nerfs au péricarde.

Ce ganglion correspond au *ganglion viscéral* de BOUVIER.

Ce que nous avons dit suffit à prouver que la néritine n'est pas orthoneure. Elle possède un ganglion sous-intestinal, un connectif viscéral passant *au-dessus de l'intestin* et aboutissant à un ganglion viscéral. Cependant, tout en admettant que ce mollusque est streptoneure (chiastoneure), nous devons ajouter que la disposition typique de la commissure interpleurale a subi des modifications considérables.

Le ganglion sous-intestinal étant soudé au ganglion pleural droit, la branche pleuro-sous-intestinale a pris l'aspect d'une commissure interpleurale.

Branche sus-intestinale de la commissure viscérale.

Où se trouvent la branche sus-intestinale de la commissure viscérale et le ganglion supra-intestinal?

Après tant de minutieuses observations, les savants qui ont étudié les nérités en arrivèrent tous à cette même question.

BOUVIER et BOUTAN recommencèrent leurs recherches et reconnurent que chez certaines *Nerita* cette partie du système nerveux, qui leur avait échappé auparavant, existe réellement.

- Au-dessous des deux premiers ganglions du centre asymétrique, M. BOUVIER décrit un ganglion impair et médian réuni aux ganglions déjà cités. Ce n'est autre chose que l'origine de la commissure croisée du côté gauche qui s'entoure de cellules nerveuses, comme cela a lieu chez les animaux voisins.

- Cette commissure gauche passe sous le tube digestif pour rejoindre le ganglion correspondant dans le manteau. En même temps, *un nerf d'une extrême finesse part du côté droit et vient s'accoler pendant une faible partie de son parcours à cette branche nerveuse principale*. Ce mince filet nerveux représente la commissure croisée du côté droit.

- En effet, si l'on suit son trajet en ouvrant l'animal sur le côté droit et en rejetant avec précautions les viscères sur le côté gauche, on peut disséquer le nerf dans toute son étendue; comme le précédent, *il passe au-dessous du tube digestif*, remonte le long de la paroi du corps, franchit en dessus la radula et sa gaine et vient *déboucher à gauche dans la cavité „ branchiale, sur le plancher de cette cavité, au niveau du tiers supérieur de la branchie*. A ce moment, il donne deux branches : une branche récurrente, qui va rejoindre le cinquième ganglion du centre asymétrique au niveau du cœur, et une branche montante, qui va se perdre dans la partie supérieure de la branchie; cette dernière donne une anastomose à un gros nerf palléal, qui remonte également vers la branchie.

- Cette description suffit pour montrer que nous avons affaire réellement à un système nerveux de chistoneures et tous les naturalistes au courant de la question reconnaîtront sans difficulté le 8 de chiffre caractéristique formé d'une part par la commissure croisée du côté gauche et le nerf grêle représentant la commissure croisée du côté droit. Cependant, le gros nerf branchial que j'ai cité mérite à son tour une description minutieuse. Ce nerf palléal se détache de la masse nerveuse ventrale formée en avant par les ganglions pédieux et en arrière par les deux premiers ganglions du centre asymétrique; il naît de la partie gauche de la masse nerveuse, par conséquent du premier ganglion gauche; les coupes ne laissent aucun doute sur son origine réelle.

- Ce gros nerf se rend directement dans le manteau en traversant le muscle coquillier du côté gauche. Arrivé dans la cavité branchiale, il se bifurque; une branche se détache en avant et reste franchement palléale, une autre se dirige vers la branchie (1) -.

(1) BOUVAN : *Sur le système nerveux de la Nerita polita*; C. R., 1892.

BOUTAN, dans une note récente, décrit chez les néritidés un système nerveux chiastoneure. Il dit que - *les deux branches de la prétendue commissure chiastoneure passent l'une et l'autre au-dessous du tube digestif.* -

- Chez *Nerita plexa* -, dit BOUVIER, - j'ai pu mettre en évidence la - branche sus-intestinale, qui m'avait échappé.

- Cette branche, commissure assez grêle, naît sur la face dorsale du - ganglion palléal droit et, *libre de toute adhérence*, se dirige obliquement - en dessus et en arrière au-dessous de la masse buccale et de la glande - salivaire droite. Ayant atteint le sac radulaire du côté droit au voisinage - de sa base, elle se dirige ensuite presque directement vers la gauche en - passant au-dessus de l'œsophage et de l'aorte antérieure, redescend ensuite - du côté gauche en restant toujours au-dessus des organes, atteint la ligne - où les parois gauches de la cavité du corps se détachent du muscle colu- - mellaire, pénètre fort peu profondément au-dessous des trabécules con- - jonctives de cette région, puis, se dirigeant en arrière, arrive à un petit - ganglion triangulaire, qui est le *ganglion sus-intestinal*.

- La *Nerita plexa* présente en outre les mêmes anastomoses palléales - que tous les autres prosobranches. L'anastomose palléale droite est re- - présentée par l'union (bien connue) du ganglion sous-intestinal et du gan- - glion palléal droit; celle de gauche se présente sous la forme d'un long - nerf superficiel qui s'étend du ganglion sus-intestinal au point où se bi- - furque le nerf branchio-palléal (nerf branchial des auteurs) - (1).

C'est dans les - Comptes rendus - que nous avons pris connaissance de ces intéressants articles de BOUTAN et de BOUVIER; et nous avouons que nous avons de la peine à nous représenter d'une façon exacte le trajet du nerf en question. Une telle description est d'ailleurs excessivement laborieuse, si l'on n'a recours à une figure explicative; d'autre part, à en juger par certaine figure du travail de BOUVIER dans les Annales des sciences naturelles, les rapports de la branchie avec le manteau sont assez différents chez la *Nerita peloronta* et chez la *Neritina*; il en est probablement de même chez la *Nerita polita* et la *Nerita plexa*. Néanmoins, bien qu'il soit évident que ces deux savants aient eu sous les yeux la même branche nerveuse, il n'en est pas moins vrai que le trajet qu'ils lui attribuent varie chez les deux néritidés qu'ils ont étudiés.

Chez la *Nerita polita*, la commissure sus-intestinale est - accolée pendant une faible partie de son parcours à la branche sous-intestinale -; chez

(1) BOUVIER : *Système nerveux des Néritidés*; C. R., 1892.

la *Nerita plexa*, dès sa naissance sur la face dorsale du ganglion palléal droit, elle - est libre de toute adhérence -.

Chez la *Nerita polita*, les deux branches de la commissure viscérale passent au-dessous du tube digestif; chez la *Nerita plexa*, la branche sus-intestinale se dirige obliquement au-dessus et en arrière, en dessous de la masse buccale et de la glande salivaire droite.

Chez la *Nerita polita*, lorsque la commissure sus-intestinale débouche à gauche sur le plancher de la cavité branchiale au niveau du 1/3 supérieur de la branchie, elle donne une branche montante qui va se perdre dans la partie supérieure de la branchie; chez la *Nerita plexa*, cette branche n'est pas signalée.

Chez la *Nerita polita*, la branche sus-intestinale ne traverse aucun ganglion, tandis que chez la *Nerita plexa*, cette branche, - se dirigeant en arrière, arrive à un petit ganglion triangulaire, qui est le ganglion sus-intestinal -.

Nous n'avons pu jusqu'ici nous procurer de *Nerita* et constater par nous-même la disposition du système nerveux viscéral chez ces animaux; mais les détails que renferment les sérieuses études de BOUTAN et de BOUVIER semblent révéler que chez la *Nerita plexa* la différenciation entre les branches sus- et sous-intestinales est plus accentuée que chez la *Nerita polita*. Chez cette dernière, en effet, les deux branches sont soudées sur une certaine longueur et sont assez rapprochées dans leur partie postérieure; un ganglion sus-intestinal a été découvert chez la *Nerita plexa*, tandis qu'il n'en est pas fait mention chez la *Nerita polita*.

Chez la néritine fluviatile, malgré tous les efforts que nous avons faits pour découvrir la branche sus-intestinale de la commissure viscérale, nous n'avons pu y parvenir.

Existe-t-elle en réalité? C'est possible. Elle a échappé à BOUVIER, à BOUTAN chez la *Nerita*; rien d'impossible à ce qu'elle nous joue le même tour chez un animal beaucoup plus petit. Nous sommes cependant porté à croire que nos observations ultérieures confirmeront les premières. Les néritidés forment un groupe aberrant, et il serait imprudent de porter un jugement *a priori* quant à leur anatomie. Cependant, de même qu'il se manifeste, chez les prosobranches récents, une tendance à la concentration des centres nerveux céphaliques, ne pourrait-il se produire une concentration analogue dans le système viscéral?

Les branches de la commissure viscérale, dans leur partie postérieure,

se dirigent l'une et l'autre vers la gauche; toutes deux passent au-dessus du système digestif; elles sont plus rapprochées chez la *Nerita polita* que chez la *Nerita plexa*.

Chez la néritine, nous trouvons la branche sous-intestinale très développée; sa section, FIG. 22^B, est en général plutôt elliptique qu'arrondie.

Elle contient dans toute son étendue des cellules ganglionnaires. Dans sa partie postérieure, à partir du point où elle se dirige vers la gauche, ces cellules sont tellement abondantes, qu'à cet endroit on pourrait presque considérer la commissure comme un ganglion fortement allongé. Elle se termine par un ganglion bifurqué, dont la pointe inférieure se dirige vers le bas.

BOUTAN écrit que - le nerf rudimentaire, qui constitue la commissure sus-intestinale, est visiblement en voie d'atrophie. -

Cette atrophie ne se serait-elle pas opérée chez la néritine, et les restes ne se seraient-ils pas fusionnés en un nerf unique? Les branches du 8 seraient appliquées l'une contre l'autre.

D'après SEMPER, quelques espèces de néritines des Philippines vivent constamment d'une vie aérienne (1).

- Beaucoup de néritines, d'après QUOY et GAIMARD, peuvent vivre assez longtemps suspendues aux feuilles des arbres qui bordent les cours d'eau -; il n'est donc pas impossible qu'avec les hélicinés, les néritines ne constituent une forme de passage vers les pulmonés aquatiques, et dès lors la réduction des deux branches de la commissure croisée en une seule, serait un acheminement vers le nerf viscéral unique de ces gastéropodes.

Ganglion branchial.

- Sous le nom de ganglion branchial -, dit HALLER, - je comprends un - renflement ganglionnaire situé en avant à la base de la branchie, renflement qui reçoit sa commissure ou bien du ganglion sub-intestinal ou supra-intestinal (fissurelle) ou, en l'absence de ceux-ci, de la commissure elle-même (haliotide, trochidés). En certains cas, ce ganglion peut manquer et être inclus dans le ganglion supra-intestinal chez les formes à système nerveux très concentré, plus récentes et pourvues d'une seule - branchie -.

(1) PELSENEER : *Prosobranches aériens et pulmonés branchifères*; Archives de biologie, t. XIV, fasc. 11.

HALLER et SPENGLER rejettent absolument toute homologie entre les ganglions situés à la base de la branchie chez les haliotidés et les trochidés et les ganglions sus-intestinal et sous-intestinal. BOUVIER soutient le contraire. Chez le *Turbo*, il appelle supra-intestinal le ganglion qu'il a découvert à la base de la branchie; chez la *Nerita plexa*, ce ganglion se trouve ailleurs.

Quoi qu'il en soit, chez la *Neritina fluviatilis*, il existe un ganglion à la base de la branchie, à l'endroit où le nerf branchio-palléal gauche se divise en deux branches, l'une cténidiale et l'autre palléale. Ce ganglion dépend du ganglion pleural gauche, FIG. 1, *gbr*.

D'après les auteurs, l'osphradion est représenté chez la *Nerita* par le bourrelet qui se trouve à la base de la branchie et par le bord afférent de cet organe.

Il s'en suit que du ganglion qui se trouve à la base de la branchie chez la néritine dépend l'innervation de la branchie, de la fausse branchie et d'une partie du manteau.

Or, quels sont les nerfs issus du ganglion sus-intestinal chez les pectinibranches? », écrit BOUVIER, p. 353. - Ce sont des nerfs palléaux, des nerfs branchiaux et des nerfs de la fausse branchie. Quels sont les nerfs émis par le soi-disant ganglion branchial (HALLER) ou olfactif (SPENGLER)? Dans la patelle, ce sont identiquement les mêmes nerfs, et M. DE LA LACAZE-DUTHIERS a établi sans contestation possible qu'il en est de même dans l'haliotide. Je crois également l'avoir montré pour les parmophores et si, chez les trochidés et les turbonidés, on ne voit partir du ganglion que des nerfs branchiaux, un ou deux nerfs palléaux très grêles se détachant du connectif qui rattache le ganglion à la commissure, on n'en pourra pas conclure que celui-ci a perdu sa signification, car les déplacements dans l'origine apparente des nerfs sont très fréquents et se voient même chez l'haliotide. La conclusion c'est que le ganglion situé à la base de la fausse branchie gauche, chez tous les aspidobranches chiastoneures, correspond virtuellement au ganglion sus-intestinal des pectinibranches « p. 354.

HALLER, SPENGLER, BERNARD (p. 260), comme nous l'avons dit, n'admettent pas cette interprétation.

Pour pouvoir nous rallier à l'opinion de BOUVIER, tout en admettant que la branche sus-intestinale a disparu chez la néritine, il faudrait supposer qu'avant l'atrophie de cette branche, il s'est établi une soudure entre le connectif rattachant le ganglion sus-intestinal (branchial) à la branche sus-

intestinale de la commissure viscérale et le nerf palléal gauche. Ces branches sont très rapprochées chez le *Turbo*. Ce que nous avons dit n'est toutefois qu'une hypothèse, dont l'exactitude ou l'erreur ne pourrait être prouvée que par de nouvelles études du système nerveux des néritidés et des hélicidés.

Rappelons ici une réflexion intéressante de BOUTAN : « Chez la *Nerita polita*, » dit-il, « la branchie n'est pas seulement innervée par la branche correspondante de la commissure croisée, mais aussi par un nerf provenant directement du premier ganglion situé du côté gauche.

« Si l'on supprimait par la pensée cette grêle commissure, la branchie serait exclusivement innervée par ce ganglion gauche et le type aurait une apparence orthoneure. Grâce à la présence du nerf grêle droit dont je signale la présence, la branchie chez les nérites est innervée par deux centres différents, à la fois par le premier ganglion du côté droit et par le premier ganglion du côté gauche.

« On arrive ainsi à cette conclusion singulière : si l'on suppose que ce nerf rudimentaire, visiblement en voie d'atrophie, disparaisse complètement, le système nerveux ainsi régularisé devient orthoneure; mais l'innervation primitive effectuée dans la branchie par le premier ganglion droit s'effectue maintenant à l'aide du premier ganglion situé à gauche » (1).

Cette disparition semble s'être opérée chez la néritine.

Ganglions palléaux.

Les nerfs palléaux sont de deux sortes : les nerfs palléaux symétriques (ils correspondent aux nerfs palléaux primaires de IHERING) et les nerfs palléaux asymétriques (ils correspondent aux nerfs palléaux secondaires de IHERING).

« Or, d'une manière générale, les nerfs palléaux symétriques perdent une partie de leur importance à mesure qu'on s'élève dans la série des prosobranches et comme, après tout, l'innervation du manteau doit toujours se produire, elle s'effectue d'autant plus aux dépens des nerfs asymétriques qui gagnent en importance à mesure que les autres s'atténuent. »

(1) BOUTAN : *Sur le système nerveux de la Nerita polita*; C. R., 1892.

Chez la nérutine, un phénomène de régression s'est produit. Les nerfs palléaux asymétriques ont diminué d'importance; la branche sus-intestinale semble avoir disparu; aussi, les nerfs palléaux symétriques ont pris un développement considérable et de tous les nerfs qui sortent du ganglion pleural gauche, aucun n'est comparable au nerf branchio-palléal. Ce développement des nerfs palléaux symétriques est un des caractères saillants du système nerveux de la nérutine.

D'après BOUVIER, - le nerf palléal symétrique droit chez les zygoneures - traverse d'abord le ganglion sous-intestinal qui devient dès lors son origine apparente -. Chez la nérutine, le ganglion sous-intestinal, tout en étant soudé au ganglion pleural droit, se trouve situé à la base de ce dernier et les coupes font voir clairement que le nerf palléal symétrique droit n'est que la continuation du ganglion pleural (palléal) droit et non du ganglion sous-intestinal, FIG. 2, *upd.*

Ganglion viscéral.

Chez la *Nerita peloronta*, écrit R. BERGH, - das subintestinale Ganglion - giebt einen ziemlich starken *N. visceralis* ab, der den rechten Seite der - vorderen Eingeweidehöhle folgt, unterhalb des Rectums verläuft und - unweit von der Nierenöffnung (rechts) ein kleines Ganglion *visceralis* bildet, das wahrscheinlich die nach hinten liegenden Organe versorgt - (1).

Parlant du même nérutidé, BOUVIER dit que le grand nerf viscéral, - se - dirigeant à gauche au-dessus du tube digestif, forme un *ganglion viscéral* - au-dessus de l'orifice du rein. Ce ganglion envoie des nerfs à l'organe de - BOJANUS, au péricarde et probablement aussi au cœur - (2).

L'autorité des deux savants que nous venons de citer nous a permis de qualifier de *ganglion viscéral* le ganglion bifurqué, FIG. 1, que nous avons découvert à la face antérieure du rein; il se prolonge en effet contre le péricarde, FIG. 1, *gvi.* Cependant, ce centre nerveux n'a pas l'importance qu'il possède chez d'autres prosobranches. Les fonctions du ganglion viscéral semblent, chez la nérutine, s'être distribuées sur toute la partie postérieure du grand nerf viscéral.

Nous rapprocherions volontiers la disposition de cette région du système viscéral de celle que BERNARD décrit chez les tectures, chez lesquelles

(1) R. BERGH : Morphol. Jahrbuch, Bd. XVI, Heft 1, 1890.

(2) BOUVIER : Annales des sc. nat., t. III, 1887, p. 51.

- il y a une épaisse bandelette ganglionnaire dans la partie postérieure de la commissure viscérale -.

- En étudiant cette bandelette au microscope après coloration, on trouve à chaque angle un amas cellulaire parfaitement distinct : il existe donc là, en réalité, trois ganglions que l'on ne peut confondre. BOUVIER les a vus également dans certains échantillons de la patelle; il constate qu'ils sont assez variables et les qualifie de rudimentaires. Pour lui, ce sont trois ganglions viscéraux, cette interprétation est une conséquence forcée de la détermination qu'il fait des parties nerveuses des organes de SPENGL, comme ganglions supra- et sub-intestinal. Je ne partage pas tout à fait cette opinion : les deux ganglions en litige sont à mon avis précisément les ganglions supra- et sub-intestinal et l'organe de SPENGL en est indépendant - (1).

Les FIG. 11, 12, 13, 19, 20. *gn*, mettent en évidence l'existence d'un ganglion non décrit jusqu'à ce jour.

Ce centre nerveux est situé, comme nous l'avons dit auparavant, au fond de la cavité branchiale à droite, immédiatement sous la paroi de la nuque. Il apparaît comme un renflement du grand nerf viscéral à l'endroit où celui-ci abandonne le côté droit du corps pour se diriger vers la gauche. Au même niveau, plusieurs nerfs importants se détachent du nerf viscéral et se rendent en partie sous la masse recto-génitale. Pour ce motif, nous étions dès l'abord porté à considérer comme ganglion viscéral le ganglion que nous venons de mentionner. Une observation plus attentive nous fit remarquer que généralement la paroi du corps présente à cet endroit une disposition intéressante. Elle forme une évagination, un petit mamelon creux, dont la pointe est reportée vers l'avant, FIG. 11 et 21, *oc*. Cet organe, situé au-dessus d'un sinus veineux important, renferme quantité de globules sanguins et son épithélium élevé diffère de celui des tissus environnants. Mais quelle est sa nature? Représente-t-il une fausse branchie (organe de SPENGL) ou une branchie rudimentaire?

- SPENGL, après avoir exposé sommairement la topographie du système nerveux de la *patelle*, décrit à côté de chacun des ganglions une petite papille traversée par un réseau de canaux relativement vastes, qu'il considère comme une *branchie rudimentaire* - (2).

- Chez la patelle, - écrit BOUVIER, - la saillie palléale ne peut être

(1) BERNARD : Annales des sc. nat., t. IX, 1890, p. 220 et 221.

(2) BERNARD : Ibid., p. 213.

- qu'une *fausse branchie* (ou organe olfactif) et *non une branchie rudimentaire* - (1).

Chez la tecture, - sur le tégument de la région céphalique non loin du fond de la cavité palléale, on aperçoit deux mamelons disposés symétriquement à droite et à gauche et formés par un très léger repli transversal du tégument. Ces deux mamelons sont situés exactement comme les papilles de la patelle. M. BOUVIER n'hésite pas à les considérer comme constituant la fausse branchie de la tecture - (2).

Chez la *Lottia*, on trouve une disposition analogue à celle de la tecture.

D'après BERNARD, s'il existe certaine difficulté à considérer comme organes de SPENGEL les mamelons découverts chez la patelle, cette difficulté n'existe pas pour la tecture et la *Lottia*.

Chez les néritidés, on considère comme fausse branchie (organe de SPENGEL) un long bourrelet palléal très peu saillant, situé à la base de la branchie et, si l'on attribue à cet organe la fonction olfactive ou le rôle d'apprécier la nature de l'eau, il semble que sa situation naturelle soit au bord et non au fond de la cavité palléale.

Il serait donc difficile de déterminer le rôle de l'organe que nous avons découvert chez la *Neritina fluviatilis*, d'autant plus que, s'il se trouve constamment à droite au fond de la cavité branchiale, sa position varie cependant un peu d'un individu à l'autre. Nous l'avons décrit sur le plancher de la cavité branchiale, c'est sa place habituelle; parfois, il se trouve dans l'angle formé par le plancher et la voûte; parfois même, il dépend de celle-ci et fait penser à une branchie rudimentaire.

Quoi qu'il en soit, chez la *Neritina fluviatilis*, il existe à l'endroit que nous avons indiqué une évagination dont l'épithélium est différencié; à sa base se trouve un ganglion nerveux bien développé et un réseau de fibres conjonctives; cet organe renferme constamment des globules sanguins et est en relation, d'une part, avec les espaces sanguins de la partie antérieure du corps et, d'autre part, avec le sinus afférent branchial.

La fonction que nous voudrions lui attribuer est celle d'un organe pulsatile. Chez d'autres mollusques, on a découvert des organes analogues, si pas à cette place, au moins sur le parcours des principaux vaisseaux sanguins.

L'évagination que nous avons découverte possède une paroi tapissée

(1) BERNARD : Loc. cit., p. 214.

(2) BERNARD : Loc. cit., p. 218.

à l'intérieur de fibres musculaires longitudinales et transversales; elle est donc contractile, et de fait, nous l'avons trouvée plus dilatée qu'elle ne l'est chez l'individu qui nous a fourni les FIG. 11 et 21.

Elle se trouve juste au-dessus du sinus où arrive presque tout le sang veineux du corps avant de pénétrer dans la branchie par le vaisseau afférent branchial. Ainsi s'expliqueraient en partie la constitution et la situation de l'organe en question.

Aperçu général sur la structure des ganglions et des nerfs.

L'ensemble du système nerveux de la néritine se fait remarquer par l'aspect ganglionnaire qu'il présente presque partout.

Dans les ganglions du collier œsophagien, les cellules nerveuses forment une couche épaisse à la surface, tandis que l'intérieur est constitué par des fibres nerveuses d'une ténuité extrême.

Nous réservons à plus tard l'étude de la structure intime des centres nerveux. L'application des méthodes spéciales à la néritine est difficile et laborieuse.

Appareil circulatoire.

Aperçu de la circulation chez les prosobranches d'après LANG.

- » Du ventricule part l'aorte. Celle-ci se divise en deux rameaux :
- » 1° *l'aorte céphalique ou antérieure* ;
- » 2° *l'aorte viscérale ou postérieure*.
- » L'aorte antérieure dessert la région antérieure du corps (tête, pharynx, trompe, œsophage, estomac, organes copulateurs) et le manteau.
- » Elle fournit entre autres vaisseaux une artère pédieuse allant dans le pied, où elle se divise en branches nombreuses. Tantôt l'aorte céphalique se scinde en nombreux vaisseaux très fins et très ramifiés desservant les divers organes, et tantôt les artères qu'elle fournit se terminent presque aussitôt dans des sinus artériels. Parmi ces sinus, il faut mentionner spécialement le grand sinus céphalique, dans lequel, chez *Halotis*, vient s'ouvrir l'aorte céphalique.
- » *L'aorte viscérale* dessert les organes renfermés dans le sac viscéral, en particulier la glande digestive, les glandes génitales et l'intestin moyen.
- » Quand l'aorte céphalique s'étend plus loin que l'anneau nerveux péri-œsophagien, elle le traverse.
- » Le sang veineux tombe dans le système lacunaire de toutes les parties du corps, puis arrive dans un vaste *sinus veineux* constitué par cette partie du corps où se trouvent à la fois l'estomac, les glandes salivaires, l'intestin, la glande digestive et les organes génitaux. Ce sinus est plus spacieux au niveau de l'estomac ; il diminue dans le sac viscéral proprement dit, où les lobes de la glande digestive, les circonvolutions de l'intestin et les glandes génitales, ainsi que leurs annexes, sont si étroitement serrés que c'est à peine si elles laissent entre elles quelque espace.
- » De ce grand sinus veineux, le sang revient au cœur par trois voies :
- » 1° Une grande partie du sang veineux revient par des lacunes ou des vaisseaux dans l'*artère branchiale* paire ou impaire (vaisseau bran-

- chial afférent). Le sang hématosé revient par un vaisseau efférent, ou
 - *veine branchiale*, qui le conduit à l'oreillette. Quand il y a deux bran-
 - chies, il existe naturellement deux artères et deux veines branchiales, et
 - deux oreillettes;

- 2° Une autre partie du sang veineux *parcourt les reins*.

- A leur sortie, il tombe de nouveau dans des lacunes ou des vaisseaux
 - qui l'amènent à la *branchie*, d'où il est conduit au cœur par les veines
 - branchiales. Plus rarement le sang, après avoir parcouru les reins, re-
 - vient plus ou moins directement à l'oreillette sans passer par la branchie;

- 3° Une certaine partie du sang veineux se rend directement, sans
 - passer ni par les reins, ni par la branchie, dans la veine branchiale. Dans
 - ce cas, le cœur reçoit un mélange de sang artériel et de sang veineux. (1) -

Le système circulatoire des néritidés est loin d'être bien connu; aucun
 auteur, jusqu'à présent, n'en a fait une description plus ou moins détaillée.

- Nous avons cherché le cœur -, dit CLAPARÈDE en parlant de la néri-
 - tine, - mais nous ne l'avons pas trouvé. MOQUIN-TANDON le décrit comme
 - deux petits renflements de la veine branchiale qui seraient l'oreillette et
 - le ventricule. Nous n'avons rien trouvé de semblable. (2). -

MOQUIN-TANDON avait bien observé; c'est CLAPARÈDE qui s'est trompé :
 il a pris le rein pour le cœur et, le rectum étant plus ou moins enveloppé
 par le rein, le savant genevois prétend que le rectum traverse le cœur.

- CLAPARÈDE soutient que le rectum traverse le cœur; cela est faux -,
 répond LANDSBERG; - l'organe traversé par le rectum, c'est le rein. (3) -

- La description que LANDSBERG donne du cœur n'est pas exacte -, con-
 - tinue PERRIER; - le cœur se compose de deux oreillettes et d'un ventricule;
 - sa direction est parallèle au plan de symétrie du corps. Le ventricule est
 - traversé par le rectum, quoi qu'en dise LANDSBERG. (4) -

Ces quelques citations suffisent à montrer que les savants sont loin
 d'être d'accord sur la disposition de l'organe principal du système circula-
 toire. Quant aux vaisseaux, on n'en a pour ainsi dire pas parlé; voici ce
 qu'en écrit BERNARD :

- Chez la *Neritina omeni*, le système veineux est encore bien plus
 - dégradé que chez la navicelle; nous ne trouvons guère comme espace

(1) LANG : *Traité d'anatomie comparée*, 1898, vol. II, p. 224.

(2) CLAPARÈDE : *Loc. cit.*

(3) LANDSBERG : *Zool. Anzeiger*, 1882.

(4) REMY PERRIER : *Ann. des sc. nat., Zool.*, t. 8, 1889.

- pouvant mériter le nom de sinus que la branche transversale unissant la
- branchie au rectum. Le sang s'amasse de préférence autour et en arrière
- de ce dernier, ainsi que dans les environs de l'anse intestinale antérieure.
 - Cette dégradation s'exagère encore dans la *Neritina fluvialilis*.
 - Chez cet animal, le manteau est presque entièrement *parenchymateux* ;
- il est impossible de distinguer un autre canal que le sinus afférent bran-
- chial.
 - En somme, dans l'appareil circulatoire palléal des néritidés, nous
 - avons à remarquer surtout l'importance du sinus branchial afférent. Il
 - est manifestement analogue à la veine basi-branchiale de l'haliotide. Les
 - veines rénales efférentes sont bien représentées dans les deux cas. Mais
 - ici une faible partie seulement du sang revenant des lacunes abdominales
 - traverse le rein, le reste va directement du sinus abdominal à la bran-
 - chie. Ce fait est intéressant en ce qu'il rapproche un peu les néritidés des
 - monotocardes; il n'y a rien qui doive nous surprendre, puisque la ré-
 - duction extrême de l'oreillette droite est aussi un acheminement dans le
 - même sens - (1).

La disposition de l'ensemble de l'organisme de la néritine prouve que cet animal constitue un type aberrant dans la classification actuelle; son anatomie présente tant de caractères particuliers que nous avons voulu nous baser uniquement sur nos propres observations. La néritine est rangée parmi les diotocardes, mais ses traits de ressemblance avec les monotocardes sont tellement nombreux que nous nous demandons s'il ne serait pas plus logique de la mettre, comme la *Cypraea*, parmi les représentants de ce second groupe.

Aperçu général de la circulation chez la néritine.

En détachant le bord du manteau et en le rejetant vers la gauche, on met à découvert les organes principaux de l'appareil circulatoire.

A la voûte de la cavité palléale se trouve le massif formé par le rein et les glandes annexes du système reproducteur. L'intestin traverse toute cette région; il sort de la gorge qui, chez la néritine, sépare la région céphalique de la région viscérale postérieure, passe à travers le cœur et se continue ensuite à la base du rein, FIG. 23, *Int.*

Du bord postérieur de la branchie se détache un vaisseau qui pénètre

(1) F. BERNARD : Annales des sc. nat., Zool., t. IX, 1890, p. 379.

sous la base du rein : c'est le *vaisseau afférent*, *vab*; un autre constitue le bord antérieur de la branchie : c'est le *vaisseau efférent*, *reb*. Après s'être séparé de l'organe respiratoire, ce vaisseau se dirige en arrière tout en restant accolé à la paroi du manteau; après quelque temps, il devient libre et aboutit à l'*oreillette gauche*, *o. g.* En arrière de l'oreillette, on distingue un renflement musculueux : c'est le *ventricule*, *v*, séparé de l'oreillette par un rétrécissement assez apparent. L'*oreillette droite*, *o. d.*, existe; elle fait la continuation du ventricule; ses dimensions sont excessivement réduites.

Un nerf traverse l'espace qui sépare le rein de la région céphalique : c'est le nerf viscéral, que nous avons décrit précédemment. Il est impossible à la simple dissection de découvrir les communications du rein soit avec le péricarde, soit avec la cavité branchiale.

Cœur, FIG. 23.

Le cœur se trouve chez la néritine à la place indiquée par MOQUIN-TANDON, et il est difficile de comprendre comment il ait pu échapper aux observations de CLAPARÈDE.

Il se compose de deux oreillettes et d'un ventricule situés suivant l'axe du corps : l'oreillette gauche en avant, le ventricule et l'oreillette droite lui faisant suite.

Le cœur est très allongé.

L'oreillette gauche, FIG. 24, 26, *o. g.*, possède une paroi assez épaisse, non pas qu'elle soit riche en muscles, mais grâce à certaines cellules de nature glandulaire qui en tapissent la surface et lui donnent un aspect mamelonné, FIG. 26.

Un faisceau de fibres circulaires sépare l'oreillette gauche du ventricule.

L'oreillette droite, FIG. 23, 25, *o. d.*, est atrophiée; c'est à peine si on y découvre une cavité; elle aboutit par son extrémité postérieure à la paroi du corps à l'endroit où finit le rein. Malgré son atrophie, l'oreillette droite communique, d'une part, avec le ventricule et, d'autre part, avec une petite cavité sanguine située entre le rein et les téguments de corps.

Le ventricule se distingue aisément comme un renflement faisant suite à l'oreillette gauche, il possède une forte musculature, FIG. 24, 27, *v*, les fibres s'y entrecroisent en tous sens non seulement dans la paroi, mais d'un bord à l'autre de la cavité. Sans être striés, ces éléments musculaires présentent cependant une ponctuation caractéristique.

D'après LANDSBERG (1), le rectum passe à une certaine distance du péricarde, n'y pénètre nulle part et ne se trouve pas même en contact avec lui. Nos FIG. 24 et 25 montrent non seulement que cet organe se met en rapport avec le péricarde, mais même qu'en un certain endroit, il est complètement entouré par le ventricule.

On trouve dans le cœur quantité de globules sanguins, FIG. 27; ces globules incolores possèdent un noyau volumineux arrondi et recouvert d'une mince couche de protoplasme; on rencontre en outre et surtout dans l'oreillette gauche de nombreuses cellules conjonctives, FIG. 27, *cc*, complètement libres; ce sont les mêmes cellules qui, réunies en tissus, entourent ou même compénètrent tous les organes du corps de la néritine. Elles existent isolées non seulement dans le cœur, mais aussi dans toute l'étendue de la veine efférente branchiale, FIG. 28, *cc*.

REMY PERRIER, dans la fig. 24 de son travail sur le rein des prosobranches, montre le ventricule en communication avec une aorte se divisant en deux branches, l'une antérieure, l'autre postérieure, chez la *Nerita peloronta*; nous n'avons rien trouvé de pareil chez la néritine fluviatile.

Vaisseaux.

Le système des vaisseaux est excessivement réduit. Tout le corps est parcouru par des lacunes où circulent le sang veineux et le sang artériel. Ces sinus sanguins n'ont pour la plupart aucune paroi propre; ils sont parfois délimités par la membrane des tissus voisins, FIG. 29, *vs*; parfois aussi, le sang s'écoule entre les mailles des réseaux formés par les fibres conjonctives, sans qu'il soit possible de trouver une véritable délimitation de la cavité.

Les canaux creusés à l'intérieur du tissu conjonctif sont surtout abondants autour des lobes du foie et de la glande sexuelle; ils se réunissent les uns aux autres et constituent des lacunes de plus en plus considérables. Il n'y a de bien caractérisés que les vaisseaux avoisinant la branchie et le cœur; encore faut-il faire exception pour l'aorte, car le ventricule chasse directement le sang dans un système lacunaire, dont il n'est séparé que par une *valvule*, FIG. 30 et 31, *va*.

(1) LANDSBERG : Zool. Anzeiger, 1882, p. 663. « Das Rectum verläuft in ziemlicher Entfernung vom Herzbeutel und tritt nirgends in diesen hinein oder auch nur an ihm heran. »

Systeme artériel.

La FIG. 30 représente une coupe faite à travers le ventricule au niveau de la valvule aortique. Le cœur s'y trouve immédiatement en contact avec l'intestin, *Int*, sans l'entourer complètement. La valvule, FIG. 30 et 31, *va*, est très mince et très peu riche en fibres; elle se trouve juste en face d'un épaissement de la paroi du ventricule, FIG. 30 et 31, *ep*. Le sang artériel est chassé par l'orifice du ventricule dans un système lacunaire, *sa*, d'où il se répand dans deux directions opposées par deux sinus, que nous appelons *sinus aortique antérieur* et *sinus aortique postérieur*.

Le premier, sous-jacent à la paroi gauche du corps, conduit le sang vers l'avant du corps; arrivé au niveau de la cavité buccale, il s'écarte de la paroi, pénètre sous le massif des cartilages odontophores, s'y divise en plusieurs branches, dont la plus importante se porte dans le lobe postérieur du pied et s'y ramifie, tandis que les autres enveloppent les divers organes de la région buccale et s'étendent jusqu'à la base du manteau du côté droit.

Le sinus aortique postérieur commence au même point que l'antérieur. Ce tronc lacunaire se dirige vers l'arrière et suit continuellement l'estomac; sur presque tout son parcours, il se trouve entre la peau et la face gauche de l'estomac. Quoiqu'il n'ait pas de paroi propre, il est parfaitement différencié sur tout son parcours; en arrière, il se divise en plusieurs branches, dont l'une remonte à la surface du tortillon, tandis que les autres pénètrent entre les lobes du foie et de la glande sexuelle.

Systeme veineux

Le sang revient au cœur par différentes voies et passe presque entièrement par la branchie.

Dans la région viscérale postérieure, c'est-à-dire dans le tortillon, on découvre quantité de petits sinus veineux répartis entre les lobes du foie et de la glande sexuelle; ces lacunes se réunissent en un tronc important qui, se tenant sous la peau, contourne la région postérieure droite du corps, traverse la gorge qui divise en deux la nératine et aboutit à droite au fond de la cavité palléale à la base du manteau. C'est là que se trouve le *sinus veineux principal*. Remontant ensuite à la voûte, cette lacune se prolonge sous les glandes annexes des organes sexuels et le rein, reçoit le sang veineux de cette partie des organes palléaux et s'ouvre dans le *vaisseau branchial affé-*

rent. Le sang veineux de la partie antérieure du corps se déverse dans le sinus qui accompagne le grand nerf viscéral et se rend de là dans le sinus veineux principal.

Tout le long du bord gauche du manteau existe un sinus veineux, par lequel le sang du manteau retourne directement dans le *vaisseau branchial efférent sans passer par la branchie*. Il arrive donc au cœur du sang non hématosé, à moins que l'hématose ne s'opère à travers la paroi mince du manteau. - Il me parut -, dit LANDSBERG, - que quatre veines branchiales - arrivent au cœur, et qu'avant leur entrée dans l'oreillette proprement dite, - elles forment une poche commune, c'est-à-dire une seconde oreillette - (1). Comme REMY PERRIER, nous n'avons rien découvert de pareil.

La description que nous avons faite du système circulatoire chez la *Neritina fluviatilis*, pour incomplète qu'elle soit, montre que le sang veineux s'accumule surtout du côté droit du corps, tandis que le sang artériel occupe davantage le côté gauche.

Péricarde, FIG. 11, 12, 13, 18, 23, 24, 32, cp.

Le cœlome est représenté en majeure partie, chez les mollusques, par le péricarde. On se ferait aisément illusion sur l'étendue de cette cavité chez la néritine, si nous n'ajoutions que, chez cet animal, il constitue la cavité la plus étendue du corps. Elle renferme le cœur, mais cet organe n'en occupe qu'une bien faible partie. La cavité que nous avons en vue est bien la cavité péricardique, car elle communique avec le rein par un néphrostome, FIG. 13, *neph*, mais elle s'étend bien au-delà en avant et en arrière. En avant, elle se prolonge jusqu'à la base de la branchie, FIG. 23 et 28, et de là, s'élargissant de plus en plus en arrière, elle s'étend sur toute la largeur du corps et divise l'animal en deux portions bien nettes. Sa paroi supérieure se confond avec la base du rein et se prolonge sous l'utérus; elle sépare le rein du foie. Sa paroi inférieure, chargée de pigment, enveloppe le massif formé par les circonvolutions de l'intestin et du sac radulaire dans la région antérieure du corps et se prolonge en arrière jusqu'à l'origine du rein.

(1) LANDSBERG : D'après REMY PERRIER; Ann. des sc. nat., Zool., t. VIII, 1889, p. 135.

Systeme respiratoire.

Branchie.

Cet organe a la forme d'un triangle allongé, dont la base, parallèle au plan de symétrie du corps, est attachée à gauche, au fond de la cavité, tandis que le sommet est reporté vers la droite, FIG. 23 et 33, *br.* Elle a une longueur de 2,5 mm. et, à sa base, une largeur d'environ 1 mm. Cette branchie est bipectinée, FIG. 34; chacune de ses faces porte dans toute son étendue une série de lames feuilletées parallèles à la base de l'organe. Ces feuilletés, au nombre d'environ 45 chez les individus adultes, sont également développés sur chacune des faces de la branchie. Ceux de la face supérieure alternent avec ceux de la face inférieure, FIG. 34 et 35.

Les différents auteurs qui se sont occupés de l'anatomie des néritidés affirment que chez ces animaux la branchie divise la cavité branchiale en deux étages superposés. Cette disposition établirait un stade de transition vers la fusion de la branchie au manteau, et serait un acheminement vers la transformation de l'organe de respiration aquatique (branchie) en organe de respiration aérienne (poumon).

Nous avons certainement trouvé chez la néritine plusieurs caractères qui la rapprochent des pulmonés; sa façon de vivre, la disposition de son système nerveux, la structure du rein et d'autres détails de l'organisme semblent justifier parfaitement ce rapprochement. Mais il nous semble que l'on s'est exagéré le degré de coalescence de la branchie avec le manteau chez la néritine.

A en juger d'après la fig. 14 du travail de BOUVIER sur le système nerveux des prosobranches, la forme de la branchie et ses rapports avec la paroi interne du manteau sont fort différents chez la *Nerita peloronta* et chez la *Neritina fluvialilis*. Chez celle-ci, en effet, la branchie n'est attachée au manteau que par la base; tout le reste flotte librement dans la cavité. Si la soudure se continue un peu le long des vaisseaux afférent et efférent (surtout du vaisseau efférent), cette union est absolument trop courte pour

que l'on puisse parler de la division de la cavité palléale en deux cavités superposées.

Structure.

La branchie apparaît clairement comme n'étant que la continuation de la paroi interne du manteau.

L'épithélium est constitué en majeure partie par des cellules prismatiques ciliées; entre celles-ci s'intercalent par-ci par-là quelques cellules glandulaires, FIG. 36. Sous l'épithélium s'étend une mince couche de tissu conjonctif; c'est la membrane basilaire formée de cellules extrêmement aplaties, à noyaux très allongés, FIG. 35 et 36. Chaque feuillet forme une cavité où circulent les globules sanguins. Cette cavité est traversée par de nombreuses trabécules musculaires passant d'une paroi à l'autre et semblant n'avoir d'autre fonction que celle de provoquer une contraction favorisant le passage du sang du bord veineux au bord artériel, FIG. 36. Ces trabécules s'élargissent à leur point d'attache à la membrane basilaire, et souvent s'y divisent en plusieurs branches divergentes. Le noyau y est très apparent.

Les feuillets d'une face alternent avec ceux de la face opposée; l'espace existant à leur base, FIG. 35, renferme les mêmes trabécules que l'espace existant dans chaque feuillet.

Deux vaisseaux importants encadrent la branchie : c'est le *vaisseau afférent branchial* au bord postérieur de l'organe, FIG. 23, *vab*, et le *vaisseau efférent branchial* à son bord antérieur, FIG. 23, *veb*. Tous deux sont largement en communication avec les cavités des feuillets.

Le vaisseau afférent branchial a son origine à la base du rein; c'est là qu'aboutit le sinus veineux principal pour déverser le sang dans l'appareil respiratoire. Ce vaisseau, FIG. 37, *vab*, se fait remarquer :

- 1° par l'épaississement uniforme de la membrane de soutien;
- 2° par la présence de deux faisceaux musculaires situés en face l'un de l'autre et s'étendant sur toute la longueur du vaisseau, FIG. 37, *ma*.

Le vaisseau efférent branchial, FIG. 38, *veb*, présente une structure plus caractéristique. Sa forme, en coupe transversale, est celle d'un mamelon.

Comme dans le vaisseau afférent, la membrane basilaire y est notablement plus épaisse que dans les feuillets branchiaux.

La pointe régulièrement ciliée renferme un cordon nerveux important : le nerf branchial, FIG. 38, *n*, entouré d'une gaine conjonctive en continuité avec la membrane basilaire.

Nous avons pu suivre ce nerf jusqu'à la pointe de l'organe respiratoire, le long du bord efférent ; mais nous n'avons pu découvrir son prolongement le long du bord opposé. Ce nerf envoie-t-il des ramifications dans les feuillets, a-t-il certaine fonction sensorielle ? C'est possible.

Deux muscles longitudinaux, *mb*, courent sur toute l'étendue du vaisseau. A leur point de soudure à la paroi, la membrane basilaire disparaît presque complètement.

Dans la cavité du vaisseau se trouvent quantité de globules sanguins et certaines cellules conjonctives dont nous avons déjà signalé la présence dans le cœur, FIG. 28 et 38, *cc*.

Le vaisseau efférent branchial se détachant de la branchie, reçoit le sang veineux de la partie droite du manteau et se continue en une veine, FIG. 28, *reb*, qui pénètre dans la cavité péricardique. Cette veine possède une paroi dont la structure ressemble à celle de l'oreillette gauche.

En somme, la branchie de la neritine est tout à fait normale ; elle est très développée et constitue un bel exemple de branchie bipectinée.

Systeme excréteur ou néphridien.

Rein, FIG. 23, *ri*, *rs*.

La néritine ne possède qu'un seul rein : le rein gauche reporté vers la droite. Il est impossible, par une simple dissection, de s'en faire une idée exacte.

Cet organe, situé à droite au fond de la cavité palléale, est enfoui en partie dans le bourrelet formé par la masse génito-rectale. Sans employer la méthode des coupes en série, il est impossible de mettre en évidence ses rapports avec l'extérieur et avec la cavité péricardique.

Il possède la disposition d'un organe segmentaire; sa communication d'une part avec le cœlome, d'autre part avec la cavité palléale, le prouve suffisamment.

REMY PERRIER a étudié le rein chez *Neritina oweni*, *Nerita peloronta* et *Navicella janelli*. « Tous ces types, » écrit-il, « présentent une uniformité très grande, et les caractères que la dissection m'a montrés sur ces » représentants volumineux du groupe, ont été vérifiés par la méthode des » coupes sur notre petite néritine indigène. La position du rein et du cœur » a été indiquée exactement par LANDSBERG. Les deux organes se trouvent » au fond de la cavité palléale, près de la base de la branchie; le cœur à » gauche du rein dans sa situation habituelle. Le rein s'ouvre comme chez » les monotocardes par une fente transversale, située dans l'étage inférieur » de la cavité palléale, laquelle, comme on le sait, est divisée par la bran- » chie en deux étages superposés. Le rein lui-même est un sac tout à fait » clos, de forme conique, un peu recourbé dans sa partie postérieure. Sa » pointe est dirigée en arrière. Fait remarquable et unique parmi les pro- » sobranches, le rein n'est pas contigu au péricarde. Les deux poches sont » séparées par une cavité close de toute part, qui ne s'injecte pas par la » cavité générale, et qui règne sur toute la longueur commune aux deux » organes » (1).

(1) REMY PERRIER : Annales des sc. nat., t. VIII, 1889, p. 133.

Structure.

Le rein est constitué par un large sac replié en arrière et formant ainsi deux chambres superposées distinctes, FIG. 23 et 32, *ri*, *rs*.

La chambre supérieure, *rs*, possède une paroi très plissée. On ne peut cependant pas dire que l'intérieur de cette cavité présente un aspect alvéolaire; car, s'il est vrai que sur les coupes on voit l'une ou l'autre cloison passer d'un bord à l'autre, il est certain que les feuillettes glandulaires s'arrêtent avant d'atteindre la paroi opposée et sont, pour ainsi dire, flottants dans la cavité.

REMY PERRIER considère la chambre inférieure du rein comme - une - cavité close de toutes parts, qui ne s'injecte pas par la cavité générale, - fait remarquable, dit-il, et unique parmi les prosobranches. -

Nous ne pouvons nous rallier à son avis. Cette cavité non seulement communique avec la chambre supérieure, mais de plus, *elle s'ouvre par une fente en boutonnière* dans la cavité branchiale, FIG. 39, *fb*. Nous y avons même trouvé, aussi bien que dans la chambre supérieure, des *Chatogaster* parasites, qui, d'ordinaire, se tiennent fixés aux parois de la cavité branchiale ou à la branchie. C'est bien une preuve que ce sac n'est pas clos, mais communique, d'une part, avec l'extérieur et, d'autre part, avec l'étage supérieur de l'organe.

Si cette cavité ne s'injecte pas par la cavité générale, c'est que l'accès en est rendu difficile par l'interposition de la chambre supérieure.

Les deux étages présentent une structure tout à fait différente. Seul l'étage supérieur possède des cellules sécrétoires.

L'aspect de ces cellules varie d'un individu à l'autre, suivant les stades du phénomène d'excrétion, FIG. 40. Leur forme varie à mesure que la fonction se prolonge. Ces cellules, d'abord assez basses, s'allongent de plus en plus; leur base s'amincit, alors que leur sommet s'élargit et prend une forme globulaire; leur contenu, d'abord clair, s'obscurcit peu à peu; des stries y apparaissent surtout à la base. Le protoplasme devient vacuoleux; le noyau remonte et bientôt la cellule est longuement pédiculée, FIG. 40, 1, 2, 4, 5, 6, 7.

On trouve souvent dans la cavité du rein supérieur des corps arrondis, FIG. 40, 8, renfermant un noyau pourvu d'un nucléole; il semble que ce soient là autant de cellules détachées de la paroi glandulaire de l'organe.

D'autres produits d'excrétion, transparents et de forme plus ou moins arrondie, se rencontrent également en abondance, FIG. 40, 9.

Les cellules glandulaires ne sont pas ciliées; mais les cils apparaissent nettement à la surface de l'épithélium cylindrique, qui avoisine le néphrostome, FIG. 40, 10.

Néphrostome.

La FIG. 41 montre la communication de la chambre supérieure du rein avec la cavité péricardique, *cp*. C'est un canal assez allongé, proéminent dans la cavité néphridienne et présentant une structure intéressante.

La lumière de ce canal est tapissée de cellules cylindriques, dont le plateau porte un faisceau de cils vibratils extraordinairement développés. Ces cellules sont fixées sur une couche de tissu conjonctif entouré lui-même par l'épithélium du rein, FIG. 42. Elles sont très distantes les unes des autres et constituent un bel exemple d'épithélium interrompu.

Les cils sont dirigés vers la cavité du rein.

La chambre inférieure du rein correspond assez bien au canal papillaire des auteurs; elle constitue un vaste sac dont la paroi est peu différenciée.

L'épithélium y est assez bas, FIG. 40, 11, et prend même parfois l'aspect pavimenteux.

L'étage inférieur du rein est en communication en arrière avec l'étage supérieur. En avant, il s'ouvre dans la cavité branchiale par une ouverture en boutonnière, FIG. 39, *fb*.

Son épithélium n'est pas glandulaire, aussi sa fonction semble être essentiellement celle d'un canal destiné à éliminer les produits de désassimilation accumulés dans la cavité néphridienne.

TABLEAU RÉSUMÉ

DES PRINCIPAUX POINTS TRAITÉS DANS CE MÉMOIRE.

Système nerveux.

Les centres nerveux de la région céphalique sont assez rapprochés les uns des autres, surtout dans la portion sous-œsophagienne. Les ganglions pédiéux, très volumineux, se prolongent dans le pied sous forme de deux longs cordons nerveux.

Les nerfs palléaux symétriques sont très développés.

L'étude du système nerveux viscéral des néritidés a été entreprise maintes fois chez l'un ou l'autre représentant de ce groupe; mais, jusque maintenant les résultats ne sont pas concordants. A notre avis, chez la *Neritina fluvialtilis*, le connectif pleuro-subintestinal a pris l'aspect d'une commissure interpleurale. Le ganglion sous-intestinal, contigu au ganglion pleural droit, donne naissance au grand nerf viscéral, lequel se porte en arrière et se termine en un ganglion viscéral situé contre le néphrostome.

Le grand nerf viscéral, avant d'aboutir au ganglion viscéral, traverse un ganglion non décrit jusqu'ici, et dont nous ne voulons pas préjuger la nature; ce ganglion se trouve à la base d'un organe creux faisant saillie à la surface du corps; nous considérons cet organe comme un organe pulsatile.

Nous n'avons pu découvrir la branche sus-intestinale de la commissure viscérale. Certaines observations nous portent à croire qu'il pourrait y avoir eu réduction des deux branches de la commissure croisée en une seule.

L'osphradion est très peu développé.

L'œil possède une rétine d'une structure remarquable.

Appareil circulatoire.

Le cœur est formé d'un ventricule et de deux oreillettes; l'oreillette droite est très réduite.

Le système des vaisseaux est peu développé. Tout le corps est parcouru par des lacunes où circulent le sang veineux et le sang artériel.

Il n'y a de bien caractérisés que les vaisseaux avoisinant la branchie et

le cœur; encore faut-il faire exception pour l'aorte, car le ventricule chasse directement le sang dans un système lacunaire dont il n'est séparé que par une valvule.

Appareil respiratoire.

La néritine possède une branchie bipectinée très bien développée; on s'est exagéré le degré de coalescence de cet organe avec le manteau.

Le vaisseau afférent et le vaisseau efférent sont très bien représentés; le bord externe du vaisseau efférent renferme un nerf qui se prolonge jusqu'à la pointe de la branchie.

Appareil néphridien.

La néritine ne possède qu'un seul rein : le rein gauche reporté vers la droite. C'est un large sac replié en arrière et formant deux chambres superposées.

La chambre supérieure seule possède une paroi plissée et glandulaire; elle est en communication avec la cavité péricardique. Le néphrostome est d'une structure très intéressante.

L'étage inférieur du rein ne possède pas d'épithélium glandulaire. Il est en communication en arrière avec l'étage supérieur; en avant, il s'ouvre dans la cavité branchiale par une ouverture en boutonnière.

Le rein de la néritine possède donc la disposition d'un organe segmentaire : il met le coelome en communication avec l'extérieur.

En terminant, nous nous faisons un devoir de remercier Monsieur le professeur GILSON, de l'Université de Louvain : il a bien voulu revoir cette étude et nous faire à son sujet différentes observations, qui nous ont été très utiles.

EXPLICATION DES FIGURES.

<i>br.</i>	Branchie.	<i>no.</i>	Nerf optique.
<i>cbr.</i>	Cavité branchiale.	<i>nt.</i>	Nerf tentaculaire.
<i>ce</i>	Ganglion cérébroïde.	<i>o. d.</i>	Oreillette droite.
<i>ccco.</i>	Commissure intercérébroïde.	<i>o. g.</i>	Oreillette gauche.
<i>cp.</i>	Cavité péricardique.	<i>ot.</i>	Otocyste.
<i>cpe.</i>	Connectif cérébro-pédieus.	<i>Pe.</i>	Ganglion pédieux.
<i>cpl.</i>	Connectif cérébro-pleural.	<i>pl.</i>	Ganglion pleural.
<i>gbr.</i>	Ganglion branchial.	<i>ri.</i>	Chambre inférieure du rein.
<i>gnv.</i>	Grand nerf viscéral.	<i>rs.</i>	Chambre supérieure du rein.
<i>gvi.</i>	Ganglion viscéral.	<i>sb.</i>	Connectif pleuro-subintestinal.
<i>Int.</i>	Intestin.	<i>sbi.</i>	Ganglion subintestinal.
<i>nbp.</i>	Nerf branchio-palléal.	<i>v.</i>	Ventricule.
<i>neph.</i>	Néphrostome.	<i>vab.</i>	Vaisseau afférent branchial.
<i>npd.</i>	Nerf palléal droit.	<i>vcb.</i>	Vaisseau efférent branchial.

FIG. 1. Disposition générale du système nerveux. Le manteau divisé est rejeté moitié à droite, moitié à gauche.

FIG. 2. Disposition du système nerveux céphalique.

FIG. 3. Œil et tentacule.

FIG. 4. Coupe à travers la cornée. Immers. 1/12 ZEISS \times 2.

ce, cornée externe; *ci*, cornée interne; *cr*, cristallin; *cp*, couche pigmentée.

FIG. 5. Coupe à travers la rétine. Immers. 1/12 ZEISS \times 2.

ba, bâtonnet.

FIG. 6. Coupe longitudinale à travers l'œil. A ZEISS \times 4.

FIG. 7. Coupe à travers l'œil.

FIG. 8. Coupe à travers l'otocyste.

FIG. 9. Cellule de FLEMMING. Immers. 1/12 ZEISS \times 4.

FIG. 10. Coupe transversale du tentacule.

nt, nerf tentaculaire; *m*, muscle; *l*, lacune sanguine.

FIG. 11, 12 et 13. Coupes transversales de la nératine.

abr, cavité branchiale; *a. c.*, organe creux; *gn*, ganglion nerveux qui se trouve à la base de cet organe; *cp*, cavité péricardique; *gnv*, grand nerf viscéral; *gvi*, ganglion viscéral; *neph*, néphrostome.

FIG. 14, 15, 16 et 17. Coupes transversales de la nératine dans la région céphalique.

laco, commissure labiale; *gnv*, grand nerf viscéral; *cc*, ganglion cérébroïde; *Pe*, ganglion pédieux; *Peco*, commissure interpédieuse; *ot*, otocyste; *sbc*, connectif pleuro-subintestinal; *os*, bourrelet considéré comme osphradion.

FIG. 18. Coupe transversale oblique de la nératine.

Int, Intestin; *Cx*, cœur.

FIG. 19, 20, 21 et 22. Coupes à travers l'organe creux et le ganglion nerveux qui se trouve à sa base.

Chr, cavité branchiale.

FIG. 22^B. Coupe à travers le grand nerf viscéral. Immers. 1/12 ZEISS \times 2.

FIG. 23. Disposition générale de la branchie, du cœur, du rein et des vaisseaux avoisinants.

bm, bourrelet du bord du manteau; *cs*, conduit sexuel; *gla*, glande annexe du conduit sexuel.

FIG. 24 et 25. Coupe oblique à travers le cœur. A ZEISS \times 2.

FIG. 26. Paroi de l'oreillette gauche. D ZEISS \times 2.

FIG. 27. Coupe à travers le ventricule. D ZEISS \times 2.

cc, cellule conjonctive.

FIG. 28. Vaisseau efférent branchial, détaché de la branchie. D ZEISS \times 2.

FIG. 29. Lacune sanguine dans le tissu conjonctif. D ZEISS \times 2.

FIG. 30. Coupe du cœur au niveau de la valvule. A ZEISS \times 2.

va, valvule; *cp*, épaisseur musculaire de la paroi du ventricule; *sa*, sinus aortique.

FIG. 31. Valvule. D ZEISS \times 2.

FIG. 32. Coupe oblique de la nératine.

rs, chambre supérieure du rein; *ri*, chambre inférieure du rein; *cp*, cavité péricardique; *Ut*, utérus; *He*, foie; *ov*, lobe de l'ovaire.

FIG. 33. Coupe oblique de la nératine au niveau de la branchie.

FIG. 34. Branchie. A ZEISS \times 2.

FIG. 35. Coupe longitudinale à travers la partie médiane de la branchie. Immers. 1/12 ZEISS \times 2.

FIG. 36. Coupe transversale d'un feuillet branchial.

FIG. 37. Coupe à travers le vaisseau afférent branchial. A ZEISS \times 4.
ma, muscle.

FIG. 38. Coupe à travers le vaisseau efférent branchial. D ZEISS \times 2.
n, nerf branchial; *mb*, muscle.

FIG. 39. Coupe à travers le rein, montrant la communication, *fb*, de la chambre inférieure du rein avec la cavité branchiale.

FIG. 40. Immers. $1/12$ ZEISS \times 2.

1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, cellules de l'étage supérieur du rein; 9, produits d'excrétion; 10, cellules avoisinant le néphrostome; 11, cellules de l'étage inférieur du rein.

FIG. 41. Coupe de la nérutine, montrant la communication de l'étage supérieur du rein avec la cavité péricardique.

FIG. 42. Coupe transversale du néphrostome. D ZEISS \times 4.



TABLE DES MATIÈRES

Historique	289
Méthodes	291

SYSTÈME NERVEUX

Notions générales sur la constitution du système nerveux chez les gastéropodes prosobranches	292
Parties innervées par les différents ganglions	293
Variations du système nerveux chez les gastéropodes prosobranches	294

NÉRITINE.

Aspect général des ganglions nerveux sous-œsophagiens	295
Ganglions cérébroïdes	296
Ganglions pédieux	297
Organes des sens	298
Œil	298
Otocystes	299
Organes du tact	299
Osphradion	300
Système nerveux viscéral	300
Branche sus-intestinale de la commissure viscérale	303
Ganglion branchial	307
Ganglions palléaux	309
Ganglion viscéral	310
Aperçu général sur la structure des ganglions et des nerfs	313

APPAREIL CIRCULATOIRE

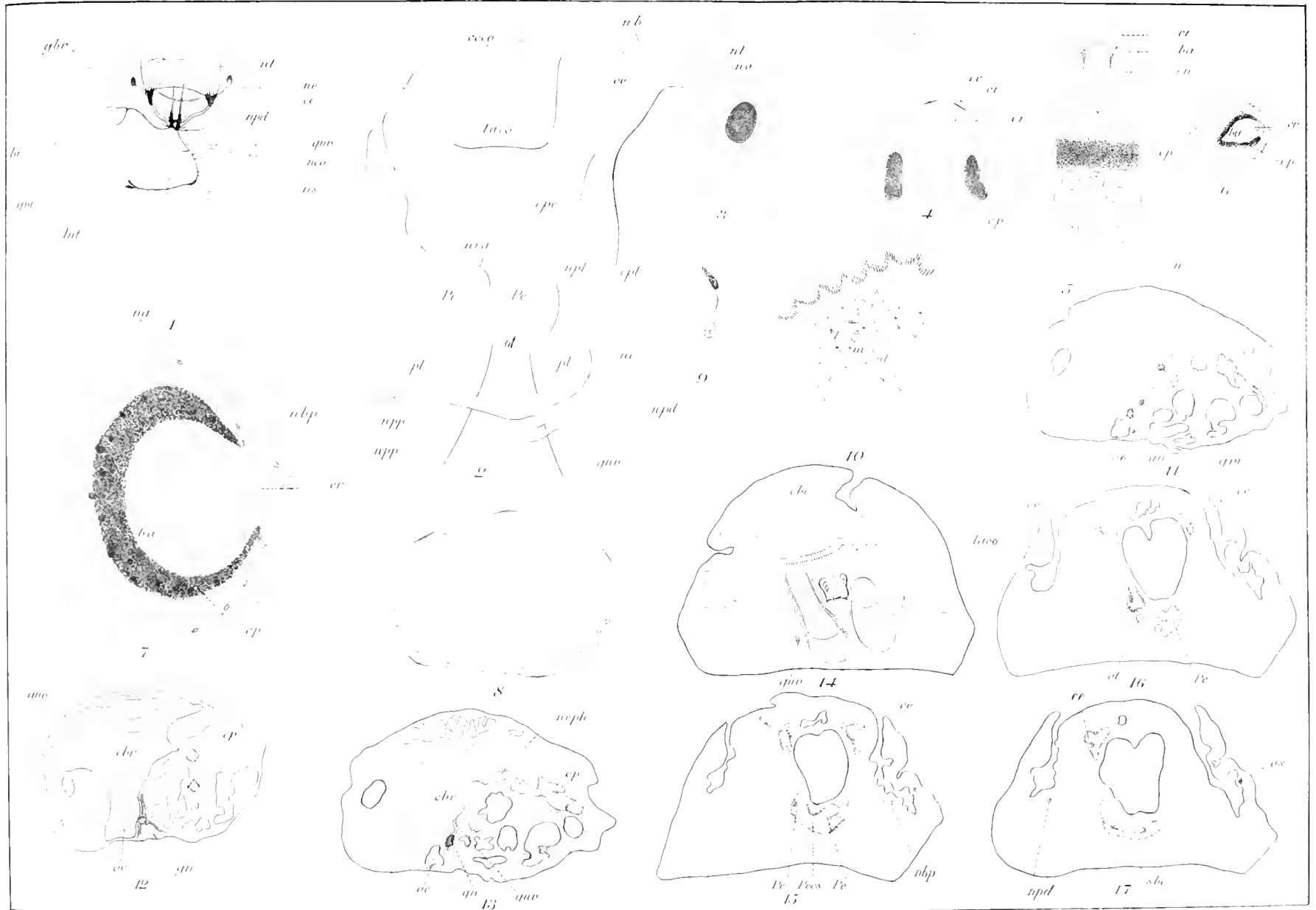
Aperçu de la circulation chez les prosobranches d'après LANG	314
Aperçu général de la circulation chez la nérutine	316
Cœur	317
Vaisseaux	318
Système veineux	319
Péricarde	320

SYSTÈME RESPIRATOIRE

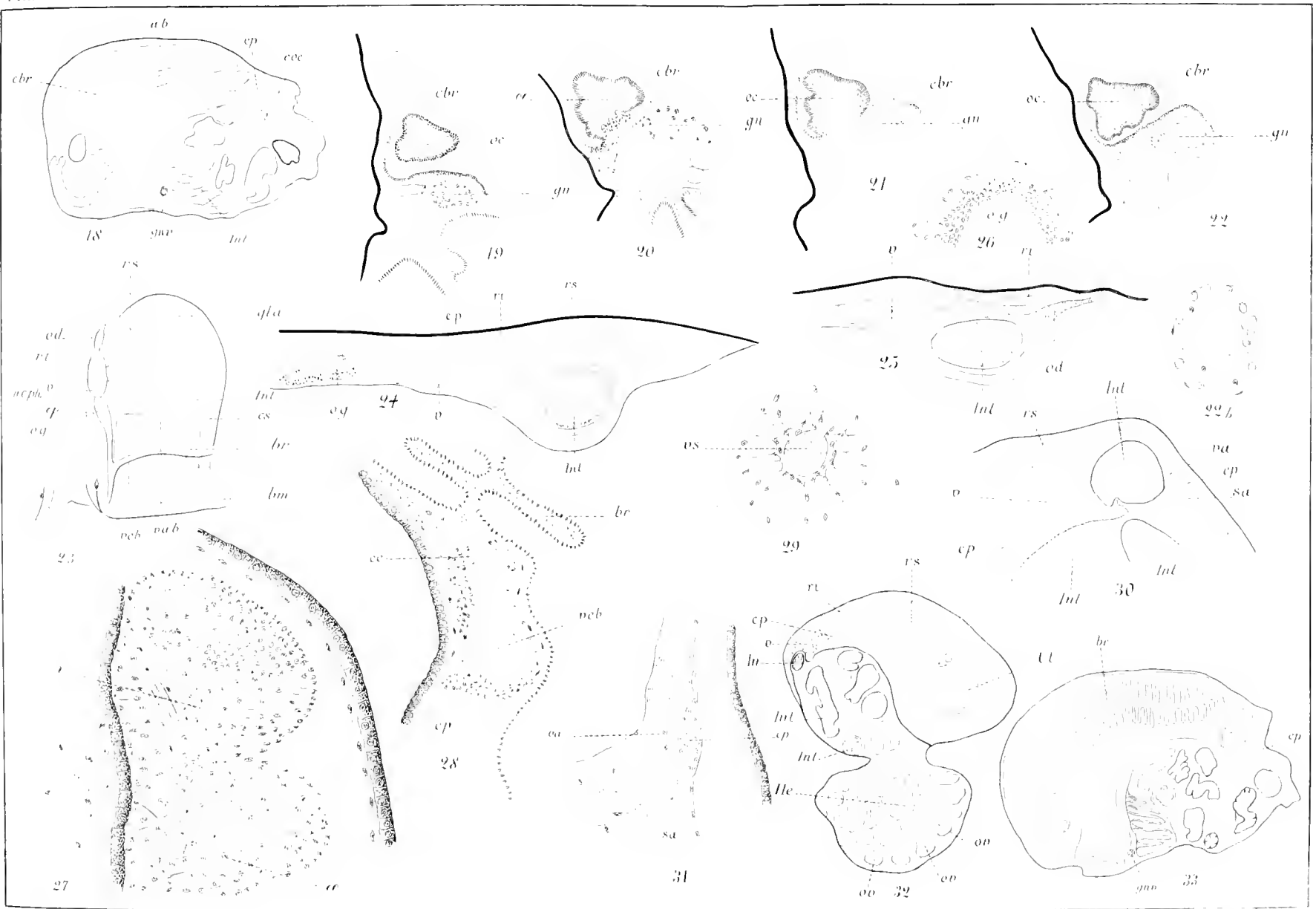
Branchie	321
--------------------	-----

SYSTÈME EXCRÉTEUR OU NÉPHRIDIEN

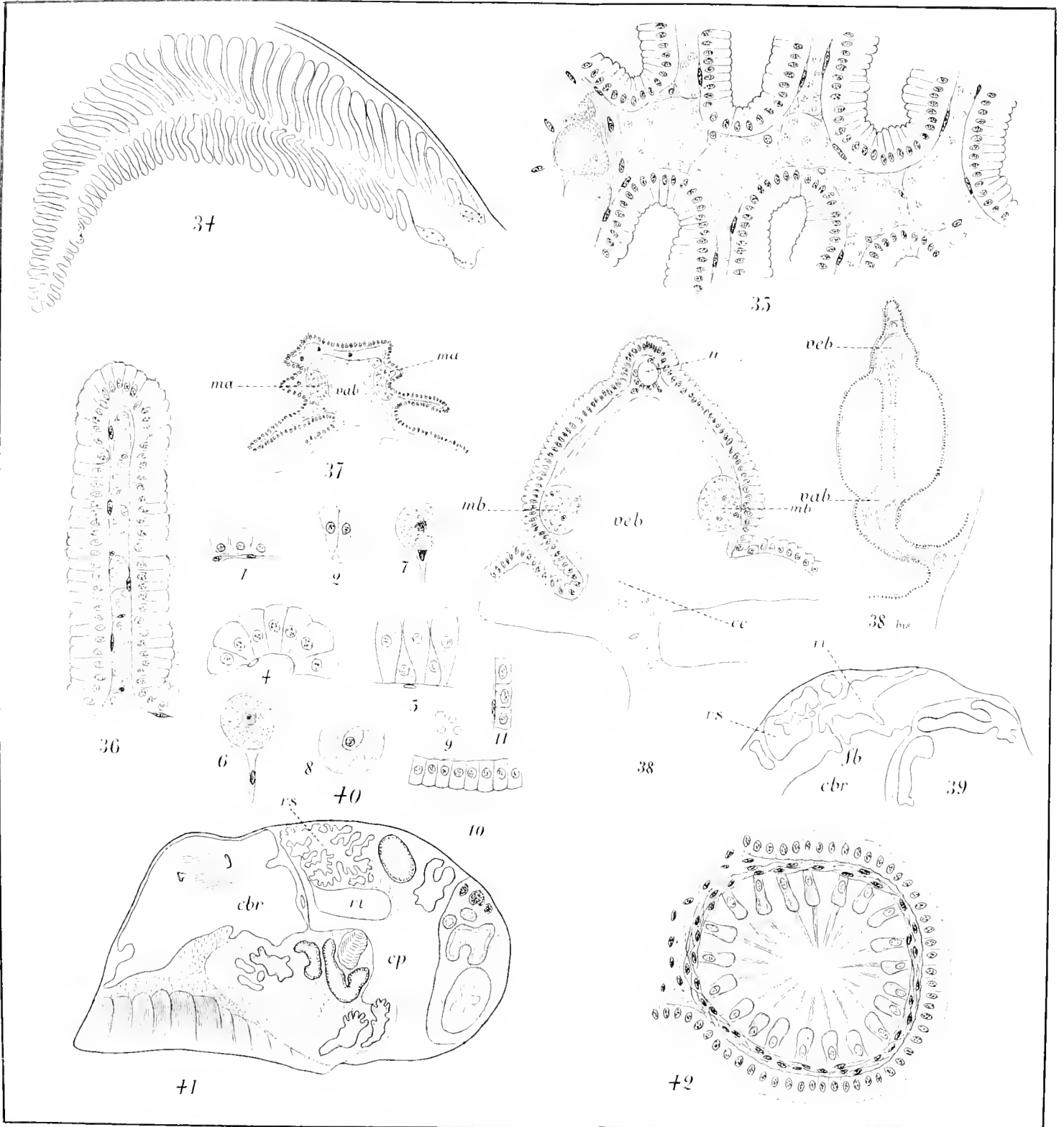
Rein	324
Tableau résumé des principaux points traités dans ce mémoire	327
Explication des figures	329

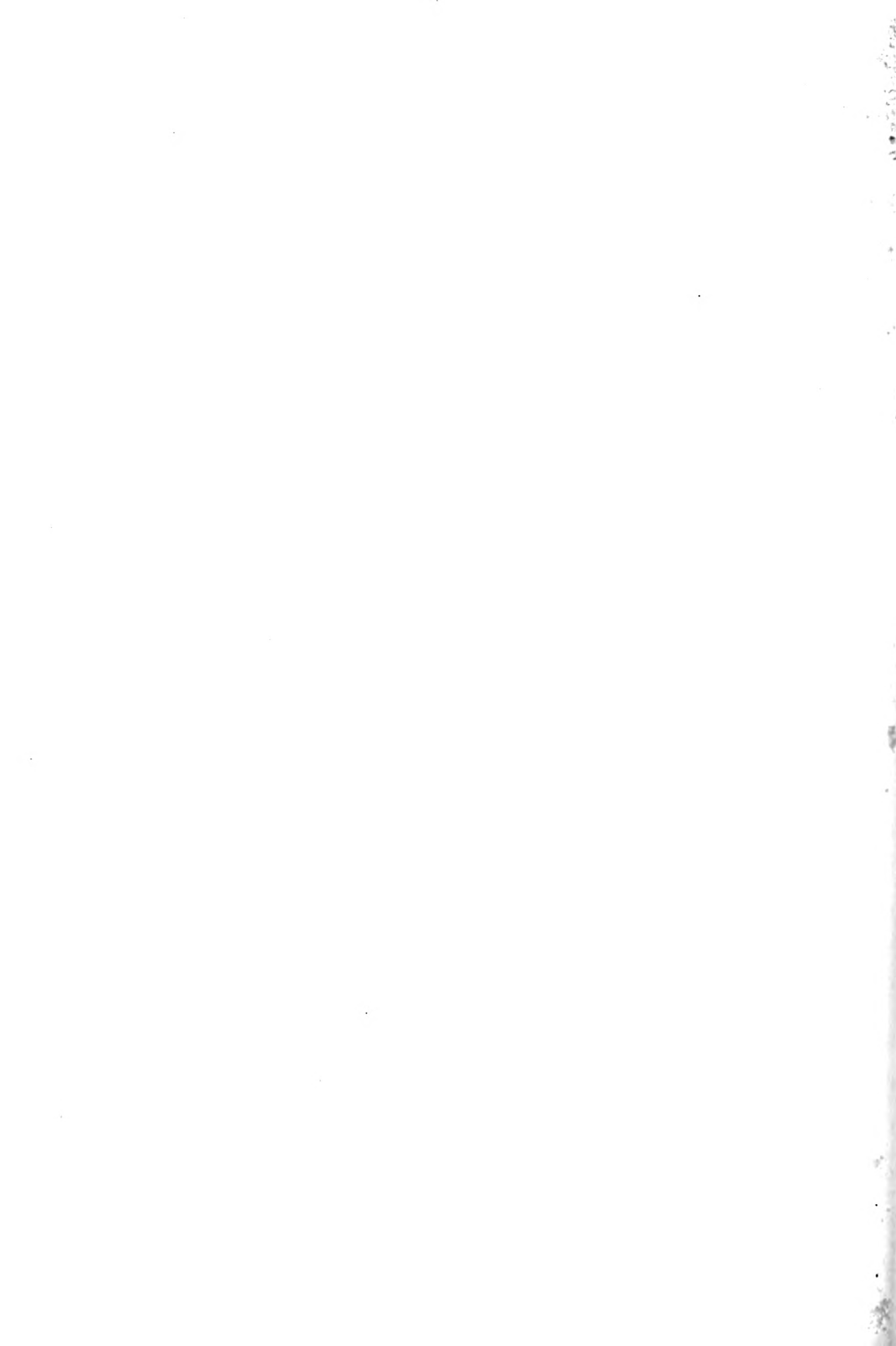












A propos du Noyau de la Levure

PAR

F. A. JANSSENS

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN

(Mémoire déposé le 26 janvier 1903.)

CURTIS et MACALLUM. Plusieurs de ces auteurs, principalement MACALLUM, admettent que la nucléine, la substance chimique caractéristique du noyau, se trouve disséminée dans tout le protoplasme et, au moins en partie, dissoute dans ce dernier. La structure de la cellule de levure est à rapprocher, d'après ces auteurs, de celle qu'on admet généralement pour les bactéries.

Entre ces deux théories extrêmes, il y a place pour une opinion intermédiaire. Celle-ci peut se résumer dans la proposition suivante et elle a, croyons-nous, été d'abord défendue par EISENSCHITZ (1). Il y a dans la cellule de levure deux sortes de granules : les uns résistent à l'action de l'acide chlorhydrique concentré, les autres s'y dissolvent. L'auteur admet à cause de cela et à cause de certaines réactions de coloration de ces derniers granules qu'ils sont composés de nucléine. Ces granules sont contenus dans une vacuole. Il considère cette vacuole comme un stade primitif du noyau. Cette théorie s'appuie en partie sur des recherches de HOFMEISTER et AUERBACH, qui parlent déjà de vacuole nucléaire dans les organismes supérieurs. Nous rappelons que dans notre étude il a été décrit *des noyaux vacuoleux* dans la cellule de levure au commencement de la fermentation alcoolique.

WAGER (2) émet l'idée qu'il n'y a pas dans la cellule de levure un véritable noyau, mais plutôt un *appareil nucléaire*. Cet appareil est formé d'ordinaire de deux parties distinctes, quoique juxtaposées. La première, c'est le nucléole (le noyau de la plupart des auteurs), sphérique et parfaitement homogène. Il résiste à la digestion pepsinique. Ce nucléole existe toujours. Il se colore faiblement. Dans les cellules jeunes et vigoureuses, il existe à côté de ce corpuscule une vacuole qui contient des granules souvent réunis en réseau et qui résistent à la digestion par la pepsine. Ce sont, d'après WAGER, des granules chromatiques, et il appelle la vacuole en question vacuole nucléaire. Lors du bourgeonnement, la vacuole nucléaire s'allonge et entre en partie dans le bourgeon. En même temps le nucléole subit un étranglement et se divise aussi. Lors des premiers stades de la sporulation, la vacuole nucléaire se divise un grand nombre de fois et la cellule prend un aspect mousseux, analogue à celui qui a été décrit par BÜTSCHLI dans les bactériacés. A ce moment, les granules chromatiques deviennent libres et viennent se grouper autour du nucléole. Ils disparaîtraient à ce moment et seraient absorbés par le nucléole avant la première division de ce dernier.

(1) EISENSCHITZ : *Beiträge zur Morphologie der Sprosspilze*. Inaug. Dissertation, Wien, 1895.

(2) WAGER : *The nucleus of the yeast-plant*; *Annals of Botany*, 1898.

HOFMEISTER⁽¹⁾ ne peut confirmer les conclusions de WAGER. Il regarde son nucléole comme le véritable noyau. Il dit que l'erreur de WAGER trouve sa cause dans une fixation défectueuse et il propose le liquide de VOM RATH comme le plus utile dans l'occurrence.

GUILLERMOND⁽²⁾, dans un travail très étendu, s'occupe d'un grand nombre de formes levures. Il trouve dans toutes un corps qu'il n'hésite pas à qualifier du nom de noyau. Dans sa description (p. 97) de ce noyau, il se rapproche beaucoup de la nôtre et de celle de BOUIN. Il y trouve, en effet, *un nucléohyaloplasme incolore, entouré par une membrane très nettement colorée et une masse de forme arrondie ou ellipsoïdale fortement colorable*. De plus, cet auteur trouve, comme BUSCALIONI, JANSSENS et LEBLANC et BOUIN, qu'il faut surtout avoir recours à l'hématoxyline au fer pour pouvoir étudier le noyau. Pour lui aussi, le nucléole est un corps analogue au nucléole-noyau de CARNOY.

GUILLERMOND trouve dans le protoplasme des cellules des levures des corpuscules analogues à ceux que nous avons décrits comme enclaves de nature nucléo-albumineuse. Comme nous, GUILLERMOND trouve ces corps logés dans des vacuoles ou dans les mailles du protoplasme (p. 54). Il les décrit longuement sous le nom de corps métachromatiques donné par BABÈS à des corpuscules analogues.

Un autre auteur, BARKER, a publié aussi dans ces derniers temps une série de travaux très importants sur la cytologie des levures. Le plus récent et le plus intéressant de ces travaux⁽³⁾ a été lu dans une assemblée de savants en décembre 1901. Il contient des observations du plus haut intérêt menées avec une précision absolument remarquable. Il ne nous est pas possible de reproduire ici ce que l'auteur dit de la physiologie de la levure. Disons toutefois qu'il arrive à confirmer et à compléter les lois de HANSEN sur les conditions de la formation des spores. Nous ne pouvons parler ici que de l'opinion de ce savant sur la structure de la cellule de levure. A ce point de vue, il se trouve absolument d'accord avec nous, ainsi qu'avec GUILLERMOND (p. 64).

(1) HOFMEISTER : *Zum Nachweise des Zellkernes bei Saccharomyces*; Sitz d. naturw. medicin. Ver. d. Böhmen « Lotos », 1900.

(2) GUILLERMOND : *Recherches cytologiques sur les levures et quelques moisissures à forme levure*. Thèse doctorale, Storck, Lyon, 1902.

(3) BARKER : *On spore formation among the Saccharomyces*; Journal of the Federated Institutes of Brewing, 1902.

Dans un travail paru tout récemment, A. HIRSCHBRUCH (1) a étudié une levure pure qu'il identifie avec le *Saccharomyces ellipsoideus* HANSEN. Cet auteur admet l'existence du noyau et il se rapproche beaucoup de nous, en ce sens qu'il admet comme nous que le nucléole se trouve dans une vacuole. Il n'admet cependant pas que cette vacuole soit entourée d'une membrane ou qu'elle appartienne au noyau.

Enfin MARPMANN (2) confirme l'opinion des partisans du noyau. Pour lui, le liquide fixateur le plus adapté est le liquide de ROLLI, la coloration la meilleure est celle que nous avons employée, c'est-à-dire la laque d'HEIDENHAIN.

Dans les plus récents travaux, les auteurs admettent donc l'existence d'un noyau dans les levures. Ce qui les divise encore, c'est l'existence et la signification de la vacuole. Nous n'avons pas des données nouvelles pour affirmer que la vacuole qui se montre au commencement de la fermentation appartient bien réellement au noyau. Nous ferons remarquer toutefois que la plupart des observateurs qui nous ont suivi ont vu la vacuole aux mêmes moments de la fermentation, et le nucléole ou bien dans la vacuole ou bien, comme WAGER, dans ses environs immédiats. Dans ce dernier cas, nous croyons qu'à l'état vivant le nucléole se trouvait dans la vacuole et que c'est par le fait de la fixation qu'il semble en être sorti. Nous répétons ce que nous avons dit à ce propos dans notre mémoire, p. 213. Nous avons suivi, sous l'objectif à imm. hom. apochromatique 2 mm. muni de l'oculaire 8, les phénomènes qui se passent quand on fixe des levures présentant une large vacuole renfermant un corpuscule animé de mouvements browniens. Dans certains cas, la vacuole est rapidement contractée et le corpuscule se loge dans l'un ou l'autre des replis formés par la membrane de la vacuole. Pour quelqu'un qui n'a pas suivi la marche des phénomènes, le nucléole est logé en dehors de la vacuole et à côté d'elle. Nous nous expliquons de cette façon la description de WAGER. Dans les cellules fixées et colorées, on peut presque toujours observer un fin filament reliant le nucléole à la vacuole, quand à première vue il semble se trouver en dehors. Nous avons représenté des cas analogues dans les fig. 2, *a* et *b*, Pl. I, de notre travail. La projection du nucléole contre la membrane de la vacuole

(1) A. HIRSCHBRUCH : *Die Fortpflanzung der Hefenzelle, I*; Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Zweite Abth., Bd. IX, N. 13 u. 14/15, 1902.

(2) MARPMANN : *Ueber Hefen und über den Zellkern bei Saccharomyeten und Bakterien*; Centralbl. f. Bakt. und Paras., Zweite Abth., IX, N. 10, Sept. 1902.

nucléaire est peut-être à attribuer à la rétraction de certains filaments qui relie le nucléole à cette membrane. Quant à la question de savoir si cette membrane appartient en propre au noyau ou si elle est formée par du protoplasme condensé tout autour de la vacuole, nous n'oserions la résoudre d'une façon définitive. Nous attendons que nous ayons le temps de remettre cette question à l'étude à la lumière de nouvelles données.

Qu'on nous permette cependant à propos de cette étude de faire une remarque. Nous pensons que les divergences des auteurs à propos du noyau de la levure proviennent principalement de la difficulté qu'il y a de donner une définition bien nette de ce corps. Si nous nous rangeons du côté des partisans du noyau dans la levure, nous entendons par là que nous admettons qu'il y a dans les levures, comme dans les cellules supérieures, un organite qui renferme de la nucléine, qui forme un tout jouant un rôle important aussi bien dans la division ordinaire que dans celles qui donnent naissance aux spores.

De plus, des travaux récents du plus haut intérêt, dont nous parlons plus loin, nous confirment dans l'opinion que nous avons émise concernant le rôle joué par ce corpuscule dans la fécondation.

Bourgeonnement.

On peut dire que presque tous les auteurs qui admettent l'existence du noyau dans les levures, admettent aussi notre manière de voir sur le genre de division dont il est le siège lors du bourgeonnement.

A. HIRSCHBRUCH (1) se trouve aussi d'accord avec nous, du moins dans

(1) L'auteur ne semble pas avoir lu notre mémoire, car il nous attribue des opinions que nous n'y défendons pas. De plus, il croit être le premier à avoir décrit une division nucléaire au milieu de la cellule pendant le bourgeonnement.

Voici notre conclusion 11° : « Dans les *Saccharomyces* cités au 10°, surtout quand le noyau « est vacuoleux, le nucléole se divise en deux dans la cellule-mère aux environs du bourgeon. Un « des nucléoles passe ensuite dans le bourgeon par le pédicelle qui sépare ce dernier de la cellule-mère »

Nous appelons l'attention du lecteur sur la déformation que la fixation brutale du flamber employée par l'auteur a fait subir à ses levures. Les longs filaments figurés et décrits par l'auteur et qui réuniraient la cellule-mère au bourgeon n'existent jamais sur le frais ni dans les préparations fixées avec soin. L'auteur se plaint de la lenteur de nos méthodes; on se demande si le lecteur n'a pas bien plus à se plaindre de la rapidité déplorable avec laquelle on publie parfois en s'appuyant sur des matériaux trop rapidement fixés et colorés. Nous avons dit dans notre travail pour quelles raisons nous avons abandonné et la méthode de fixation au flamber et la méthode de coloration employée par l'auteur. Cette dernière a subi une légère modification que l'auteur croit neuve. Nous le prions de vouloir bien prendre connaissance de ce que nous disons dans notre mémoire à ce propos aux pages 207 et 208.

une première description de ce phénomène, où il interprète ses figures depuis 1 jusqu'à 13.

A propos des figures que l'auteur décrit et dessine de 14 à 25, nous devons présenter certaines remarques. Nous dirons avant tout que nous n'avons jamais eu devant les yeux des productions du genre, mais nous y devons ajouter que nous n'avons jamais non plus fait subir à nos levures le traitement que l'auteur considère comme très utile pour les obtenir, p. 517. Il faut cultiver les levures pendant quelques heures sur l'agar au sucre, puis placer la culture pendant quelque temps dans l'armoire glacée.

Dans un second travail (1), où il étudie les *déformations caryolytiques du noyau* et de la cellule de levure, l'auteur dit qu'il est particulièrement utile d'employer pour cette étude de l'agar au sucre. D'après l'auteur lui-même, c'est dans ce milieu que ces formes de dégénérescence sont surtout abondantes, et cela après un temps plus ou moins court (mehr oder weniger frühzeitig). Quoi qu'il en soit de la nature réelle de telles figures, nous ne pouvons pas du tout admettre avec l'auteur qu'il s'agisse là de mitose dans le sens strict du mot. En effet, l'auteur trouve tout au plus un stade analogue au stade peloton ou spirème; il ne décrit ni la formation de bâtonnets ni leur division en deux parties égales, ce qui constitue à proprement parler l'essence du phénomène. De plus, l'auteur parle de - Neukonsolidierung - à propos de la fig. 23, où l'on remarque aux deux extrémités du filament spiralé un globule plus épais, qui serait le commencement de la reformation du noyau. Or, dans la fig. 24, on ne voit rien de semblable et le stade qu'elle représente est beaucoup plus avancé.

Nous ne disons rien ici du second travail de l'auteur, parce qu'il en annonce un troisième, qui lui donnera peut-être une plus grande précision.

Sporulation.

Nous pensons que c'est BARKER qui a contrôlé le plus correctement notre travail au point de vue des phénomènes qui se passent lors de la formation des spores. Cet auteur dit avec beaucoup de raison que pour contrôler un travail, il faut se mettre dans les mêmes conditions que les auteurs. Pour obtenir des spores de levures avec grande régularité, il emploie le bloc de plâtre de HANSEN à la température de 25° C. Comme nous, il

(1) A. HIRSCHBRUCH : *Die Fortpflanzung der Hefenzelle, II*; Centralbl. f. Bact., Bd. IX, n° 10, 1902.

prélève d'heure en heure des parcelles de levure, qu'il fixe et colore d'après une méthode lente, mais sûre (fixation à l'iode et coloration à l'hématoxyline au fer). Dans ces conditions, l'auteur arrive absolument aux mêmes résultats que nous. Les divisions du noyau *pour la formation des spores* ne commencent qu'*après la onzième heure*. Avant ce temps, les levures sont le siège de phénomènes complexes, et, déjà après une heure, il existe dans beaucoup de cellules, sinon dans toutes, *deux corpuscules également colorables*. Ceux-ci sont souvent très rapprochés, parfois ils se tiennent de manière à présenter la forme d'un 8 de chiffre ou d'un biscuit. D'autres fois ils sont assez éloignés. Ces corpuscules existent aussi bien dans les cellules qui portent des bourgeons que dans celles *qui n'en montrent pas de traces*. Après la onzième heure, on ne trouve en général qu'un seul noyau sphérique dans un protoplasme très dense contenant souvent des granules fortement colorables et situés dans des vacuoles. Ce n'est qu'après tous ces phénomènes que les divisions devant donner lieu aux spores commencent à apparaître.

L'auteur dit à la suite de cette description : - Il est en tout cas intéressant de noter que si les noyaux de JANSSENS et LEBLANC ont été uniformément colorés, les apparences qu'ils présentent dans les différents stades de la division et de la conjugaison, figurés par ces observateurs, sont semblables à celles que nous venons de mentionner, fig. 6, 8 et 10, - Pl. V. - A la suite de cette déclaration, BARKER fait plusieurs suppositions pour interpréter ces phénomènes. Il parle favorablement de l'interprétation de conjugaison que nous avons donnée.

WAGER et GUILLERMOND disent au contraire qu'ils ne peuvent pas la confirmer, et ils parlent de l'erreur de JANSSENS et LEBLANC. A propos de ces deux travaux, nous nous permettons de nous associer à une remarque assez sévère que BARKER fait à leur sujet. Les insuccès de WAGER et GUILLERMOND à retrouver les faits mentionnés par nous ne sont pas surprenants. WAGER met de la levure pressée dans un liquide contenant 5 % de saccharose. Il se forme de l'écume qui reste attachée à la surface du verre. On trouve des cellules de levure dans cette écume à demi desséchée et il se produit des spores dans quelques-unes d'elles. GUILLERMOND produit ses spores sur des tranches de carottes.

Il existe une méthode sûre pour produire les spores de levures. Cette méthode, appelée avec raison par BARKER - HANSEN'S standard method -, a été étudiée avec beaucoup de soin par le savant danois. Il a décrit les

stades de l'évolution des spores et cela aux températures les plus variées. De plus, cette méthode donne un pour-cent énorme de cellules formant des spores. BARKER, dans la partie physiologique de son travail, a soumis tous les détails opératoires de cette méthode à une analyse critique. L'absence de matière nutritive, la quantité d'humidité fournie, l'absence de CO₂ et la présence d'une grande quantité d'oxygène, toutes ces conditions ont été trouvées par lui favorables à la formation des spores. Pourquoi n'emploie-t-on pas cette méthode quand il s'agit d'étudier plus à fond le phénomène de la sporulation?

Il y a plus : JANSSENS et LEBLANC prélèvent des échantillons à chaque heure, les fixent et les colorent avec le plus grand soin. Ils décrivent un ensemble de faits dont les descriptions ultérieures, comme celles de BARKER faites avec des soins analogues, confirment tous les détails. Pourquoi WAGER et GUILLERMOND négligent-ils absolument de nous renseigner sur les temps qu'ont mis leurs levures à arriver aux divers stades qu'ils décrivent? Aussi leur argument reste-t-il purement négatif et est-il absolument de nulle valeur.

Y a-t-il fécondation dans les levures?

P. LINDNER découvrit en 1893 (1) une espèce de levure schizophyte trouvée en Afrique, pour laquelle il créa le nom de *Schizosaccharomyces pombe*. BEIJERINCK (2) ajouta à ce genre une espèce italienne très intéressante, le *Schizosaccharomyces octosporus*. Cette nouvelle levure semblait particulièrement utile pour lever les doutes sur la question de la fécondation lors de la formation des huit ascospores. Malheureusement, BEIJERINCK, d'une façon définitive aurait-on pu croire, détruisit cet espoir en écrivant :
 - Nirgendwo ist es klarer als hier, dass der Ascus und die Ascosporen
 - ohne einen Sexualakt entstehen. - Depuis, plusieurs espèces sont venues s'ajouter à ce genre. A notre connaissance, on en compte six actuellement : *S. octosporus*, *pombe*, *comesii*, *mellacei*, *musæ* et *niger*. SCHIÖNNING (3), peu de temps après, trouva également le *S. octosporus* sur des raisins secs de provenance italienne. Il étudia cette nouvelle levure avec beaucoup de soin et trouva qu'avant la formation des spores elle subit une division tout à fait

(1) LINDNER : Wochenschrift für Brauerei, 10. Jahrg., p. 1298.

(2) BEIJERINCK : *Schizosaccharomyces octosporus*; Centr. f. Bakt. u. Paras., 1894, fasc. 16.

(3) SCHIÖNNING : *Nouvelle et singulière formation d'ascus dans une levure*; Comptes rendus des Meddels. fra Carlsberg Labor., IV, 1, 1895.

caractéristique. Les divisions ordinaires de cette levure se font toujours dans des cellules franchement cylindriques. Quand on met les cellules dans de la gélatine au moult en culture peu profonde, les divisions changent de nature. Peu à peu les cellules s'arrondissent et s'épaississent. On en arrive bientôt à des levures absolument globulaires. Ces dernières se divisent par une cloison transversale. Chacune des demi-sphères ainsi formées gonfle et se sépare de sa voisine jusqu'à ce qu'elles ne se touchent plus que par un point de leur surface. Ensuite, et tout ceci est observé directement par SCHIÖNNING sous le microscope, les deux cellules se fusionnent. On trouve d'abord une forme analogue à un sablier, puis une grande cellule cylindrique. Dans cette dernière, SCHIÖNNING poursuit la formation des spores. C'est l'asque. Pendant ces recherches, l'auteur a reçu, de la part de BEIJERINCK, un envoi de *S. octosporus* qui lui a permis d'identifier cette levure avec la sienne. SCHIÖNNING fait justement remarquer à la fin de ce travail que - s'il y a des espèces où l'on soit fondé à imaginer la possibilité d'un - acte sexuel chez les ascomycètes, c'est précisément ici -. On remarquera que c'est mot pour mot le contrepied de l'affirmation de BEIJERINCK que nous avons transcrite plus haut. Il est à regretter que SCHIÖNNING n'ait pas pu couronner son travail déjà si intéressant par l'examen du rôle du noyau dans cet acte de fusion de deux cellules-sœurs.

HOFMEISTER(l. c.), dans une étude de quelques pages, confirme les vues de SCHIÖNNING en démontrant que dans la cellule à peine entrée en fusion, on trouve deux noyaux. Plus tard, d'après cet auteur, il n'y a plus qu'un noyau, qui subit ensuite trois divisions successives et fournit 8 noyaux pour les 8 spores de l'asque. GUILLERMOND(1) a complété cette étude d'une façon très heureuse et très précise. Il a d'abord poursuivi sous le microscope dans une goutte suspendue ce qui se passe sur le vivant. Il trouve des faits analogues à ceux qu'observe SCHIÖNNING; d'après lui aussi, les cellules-sœurs peuvent se fusionner par dissolution de la membrane d'union. Mais parfois deux cellules-sœurs produisent de petites protubérances qui vont en dehors des cellules à la rencontre l'une de l'autre. C'est par ces protubérances que la fusion des deux cellules se fait dans ce cas. La cellule reprend bientôt la forme ovale et au bout d'une demi-heure les nouvelles spores sont formées. Les deux éléments sexuels ou *gamètes* sont frères dans ces cas. Mais parfois avant la fusion, les cellules déjà unies par un canal subissent des divisions

(1) GUILLERMOND : *Recherches histologiques sur la sporulation de schizosaccharomycètes*; C. R., t. CXXXIII, no 4. — Et d'une façon plus complète dans le travail déjà cité.

ordinaires avant la formation des spores; dans ce cas, les deux gamètes ne sont déjà plus frères. Dans d'autres cas, avant que la fusion ait eu lieu, les deux cellules donnent, chacune, naissance à 4 spores. Cette formation est une sorte d'intermédiaire entre la *parthénogenèse* et le développement après *isogamie*. GUILLERMOND la nomme *apogamie*.

Le même auteur a étudié aussi avec le même succès le *Schizosaccharomyces pombe*. Ici les deux gamètes le plus souvent frères conservent toujours des traces de leur individualité et à ce point de vue on peut dire que ce dernier genre est mieux approprié que le précédent pour poursuivre ce qui se passe dans des cellules fixées. La cellule qui sporule ou qui renferme les spores a très souvent la forme de deux cornues fusionnées bec à bec

Quelque peu avant cette étude de GUILLERMOND, BARKER (1) signalait l'existence d'une levure à bourgeonnement, dans laquelle il observait des phénomènes de conjugaison. Cette levure appelée par lui *Zygosaccharomyces* a été trouvée sur du gingembre de Jamaïque. Avant ce travail publié en juillet 1901, il n'existait sur la question de la fécondation dans la levure que les travaux de SCHIÖNNING, de nous et de HOFMEISTER. BARKER trouve dans des gouttes d'eau distillée suspendues et observées au microscope des levures qui envoient l'une vers l'autre une sorte de filament un peu plus allongé que des bourgeons ordinaires. Ces bourgeons se rencontrent, se soudent et la cellule double qui en résulte devient une asque. Dans des cultures faites sur des plaques de porcelaine, les mêmes phénomènes s'observent et les cellules contenant des spores ont une forme très analogue à celle décrite pour le *Schizosaccharomyces pombe* ou analogue à une haltère. BARKER, dans un travail plus récent déjà cité (10 déc. 1901), antérieur donc au grand travail de GUILLERMOND, décrit et figure les divers phénomènes normaux et autres absolument d'une façon analogue à ce dernier. GUILLERMOND ne cite d'ailleurs pas le travail de BARKER. L'identité des descriptions consciencieuses de ces deux auteurs donne une très grande valeur aux résultats obtenus par eux.

Ces deux auteurs, indépendamment l'un de l'autre, ont fait des fixations et des colorations de ces levures. Ils arrivent, ici aussi, tous les deux aux mêmes résultats. Les noyaux des deux cellules sœurs ou d'une parenté très rapprochée dans le cas des *Schizosaccharomyces* et d'une parenté indéterminée jusqu'à présent dans le cas du *Zygosaccharomyces* se fusionnent.

(1) BARKER : *A conjugating yeast*; Proc. Roy. Soc., vol. 68, p. 349.

De leur fusion naît un noyau plus volumineux qui donnera naissance par divisions successives aux noyaux des ascospores. Les figures de BARKER et de GUILLERMOND ne laissent aucun doute par rapport à tout cela.

Nous sommes d'avis qu'il est établi par ces travaux que la formation des spores dans ces levures est précédée d'un véritable acte de conjugaison analogue à ceux observés dans les *Mucor* et les *Spirogyra*.

Dans les *Spirogyra*, par exemple, il a été établi par des observations multiples et très précises que le noyau a une structure très simple. Là aussi la nucléine se trouve entièrement ramassée en un seul nucléole nucléinien. Lors de la conjugaison, l'union peut se faire ou bien entre cellules de filaments différents, ou bien entre cellules du même filament, et même entre cellules voisines. Dans ce dernier cas, la conjugaison s'opère ou bien par deux filaments qui vont à la rencontre l'un de l'autre en dehors des cellules, ou bien par une ouverture qui se pratique à travers la membrane de séparation de deux cellules voisines.

Nous pouvons nous demander maintenant si l'on peut établir un rapport entre les faits que nous avons observés nous-mêmes dans les levures, faits confirmés entièrement par des observations minutieuses de BARKER, et ceux signalés par ce même auteur, SCHIÖNNING, HOFMEISTER et GUILLERMOND dans les trois espèces de levures dont nous venons de parler. Il nous semble que ces phénomènes s'interprètent aussi comme une conjugaison, mais une conjugaison extrêmement réduite. Ici en effet le noyau se divise. A un certain moment, deux noyaux existent dans une même cellule, qui ne suit pas cette division. Puis ces noyaux se conjuguent. Le *Saccharomyces ludwigi* serait à reprendre à ce point de vue. D'après notre série de préparations, qui n'est malheureusement pas assez complète, il se formerait après la division des noyaux une ébauche de membrane cellulaire. Nous nous trouverions en tous cas en présence de l'acte de fécondation le plus simple qu'on ait encore observé dans la nature. BARKER dit à ce propos :

- The view of JANSSENS and LEBLANC as to a process of conjugation is
- therefore rendered specially interesting, particularly as it was advanced
- before anything was known as to the sexuality of the three species which
- possess a visible process of conjugation. -

Nous voudrions pouvoir nous arrêter ici dans notre analyse bibliographique, mais nous sommes obligé de dire un mot d'un mode de fécondation décrit par un auteur, qui ne semble pas avoir connaissance des travaux dont nous venons de parler.

HIRSCHBRUCH parle d'un nouveau mode de fécondation dans la levure. Ce mode de fécondation est décrit d'une façon très incomplète et les faits sur lesquels l'auteur se fonde pour l'établir sont extrêmement peu nombreux et peu précis. L'auteur - découvre - qu'à l'endroit où un bourgeon va se former il existe un point plus colorable par le bleu de méthylène, qui colore d'ailleurs tout le protoplasme cellulaire. Ce point plus colorable n'est probablement, à notre avis, qu'une partie quelque peu plus dense du protoplasme cellulaire à l'endroit où un bourgeon commence à se produire. Des points brillants analogues existent dans tous les champignons aux bouts végétatifs des filaments du mycélium. Il trouve d'autre part des cellules où le noyau, après la double coloration par la fuchsine et le bleu de méthylène, a une coloration légèrement violacée (*leicht ins Violette spielende rote Färbung*). Il dit lui-même que cette couleur fait penser à une couleur mélangée (*Mischfarbe*). La conclusion qui s'impose, nous semble-t-il, c'est que la cellule en question n'a pas été colorée d'une façon parfaite à l'aide de la méthode toujours peu parfaite employée par l'auteur. En tout cas, ces deux faits constituent *les seuls éléments* de construction de sa théorie de la fécondation.

La couleur violette dont il s'agit tient, d'après l'auteur, à ce que ce noyau renferme un mélange d'éléments diversement colorables.

Le - *Blaupolkörper* - est venu se fusionner avec la matière du noyau. L'auteur avoue qu'il ne sait rien de l'origine du corpuscule polaire mâle (*männlichen Polkörper*), qu'il ne sait pas comment il s'introduit dans le noyau; malgré cela, l'auteur dit *sans plus* : - *ich betone nochmals ... dass - das Vorhandensein zweier Geschlechtskeime und ihre Vereinigung zu - einem konjugierten Körper, der dann in Teilung geht, meiner Ansicht - nach als sicher anzusehen ist.* -

Dans des cellules cultivées sur l'agar au sucre, l'auteur trouve des noyaux très aplatis et parfois des noyaux annulaires. L'explication obvie de telles productions est que le noyau ainsi aplati est comprimé entre deux vacuoles aqueuses ou deux vacuoles remplies de glycogène, comme cela est le cas par exemple dans la fig. 12, *a* et *b*, de notre travail, qui est aussi prise d'après des cellules légèrement dégénérées. D'après l'auteur, il s'agit d'une compression résultant du principe mâle (*dem Drucke des männlichen Prinzips*) sur le principe femelle inerte. Cette compression a pour résultat de former un anneau. Il nous semble qu'en tout cas la compression doit être aussi forte de la part du noyau (qui paraît être le principe femelle,

on ne sait pourquoi) que de la part du principe « mâle ». Puisque l'anneau reste à l'équateur de la cellule, la réaction a été égale à l'action et il ne peut en tous cas être question ici de principe actif et de principe passif.

Cette nouvelle idée de HIRSCHBRUCH nous paraît absolument *extraordinaire*. Elle ne concorde en rien avec ce qui est établi jusqu'à présent sur la fécondation dans la levure. Nous attendons des données *plus nombreuses, plus précises et plus démonstratives* pour la discuter.

Étude microchimique et cytologique

D'UNE

Torula rose

PAR

F. A. JANSSENS

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ
DE LOUVAIN

&

Ad. MERTENS

ASSISTANT AU LABORATOIRE
DE MICROBIOLOGIE DE L'INSTITUT
CARNOY (Directeur : Prof. BIOURGE)

(Mémoire déposé le 10 février 1903.)

Étude microchimique et cytologique d'une *Torula rose*

On range sous le nom de *Torula* toutes les formes levures qui ne produisent pas d'*endospores*. Cette définition est toute négative et bien peu précise. Faute de mieux, nous sommes cependant obligés de nous en servir jusqu'au jour où des études nombreuses sur ces formes nous auront permis de les rattacher à l'un ou l'autre groupe connu actuellement. Les torulas n'ont en général pas enthousiasmé beaucoup le monde des chercheurs, et nous l'attribuons à ce fait qu'elles ne sont ni très utiles ni très nuisibles. On possède toutefois un assez grand nombre de descriptions de formes torula diverses. Elles ont presque toujours été étudiées au point de vue de leur morphologie.

Nous présentons aujourd'hui quelques pages d'une étude sur l'un de ces organismes énigmatiques.

CHAPITRE I.

Biologie.

La torula dont il est ici question a été isolée par M. le Prof. BOURGE d'un dépôt trouvé au fond d'une bouteille de bière de Maidstone (Angleterre). Nous l'appellerons *Torula rose* n° 36 (numéro d'ordre des fausses levures du laboratoire de Louvain).

Ensemencée dans du moût de bière, elle se développe à la surface du liquide et produit après deux jours un léger voile rosé. Ce voile gagne bientôt en étendue et peut déjà à la fin du troisième jour arriver à couvrir toute la surface du liquide. Ce voile s'épaissit lentement et se plisse dès

qu'il rencontre les parois du ballon de culture. Lorsqu'on agite ce dernier, le voile se déchire en un grand nombre de petits lambeaux qui tombent au fond du liquide. Un nouveau voile se forme alors à la surface du moût. Si on le brise par une agitation énergique, il tombe au fond et le phénomène recommence. Tant qu'on répète l'agitation, le voile se reforme. Quand on laisse les ballons en place, il tombe également au fond après un certain temps, mais bientôt il s'en forme un nouveau. Tous ces voiles ont une tendance bien nette à se joindre à la lie formée par la chute des premiers. Il en résulte que le voile n'a jamais une très grande épaisseur, mais que la lie devient de plus en plus abondante. De plus, il se forme un anneau bien net, un peu au-dessus de la surface du liquide. Cet anneau peut atteindre jusqu'à 4 millimètres de largeur et est parfaitement développé après un mois. C'est cet anneau qui renferme le plus de matière colorante; il est presque rouge. La lie en renferme le moins. Le moût reste bien limpide après un temps quelconque de développement.

Quelques jours après l'ensemencement, le moût a quelque peu perdu de sa couleur. Cette décoloration ne se produit qu'au commencement et ne va pas plus loin dans la suite.

Un fait important, c'est que la présence du *carbonate d'ammonium* (2 grs pour 100 cm³ de moût) empêche la formation du voile. Dans ce cas, les cellules tombent au fond à mesure qu'elles se forment, le liquide se trouble et la lie est très abondante. Cette dernière forme dans ce cas une masse brunâtre et renferme beaucoup de matière colorante. Dans ce cas aussi, le moût, au lieu de se décolorer, semble se foncer en couleur. Après quelques jours, tout le carbonate d'ammonium est détruit et le voile se forme.

Sur des plaques de gélatine abandonnées à la température du laboratoire, il se produit déjà après deux jours des colonies visibles à l'œil nu. Après cinq jours, ces colonies sont bien développées et présentent des caractères typiques pour notre torula. Au milieu des petites colonies, on remarque à la loupe un léger enfoncement, PHOT. 1 et 2. Plus tard, les cellules périphériques forment une légère frange tout autour d'un bourrelet circulaire, PHOT. 4. Enfin, quand les colonies sont vieilles, elles s'aplatissent et semblent s'enfoncer dans la gélatine.

La torula rose n° 36 liquéfie très lentement la gélatine.

Nous croyons devoir insister sur un caractère tout à fait particulier à

l'organisme que nous étudions et qui, à notre connaissance, n'a pas été signalé jusqu'à présent.

Nous ensemençons une plaque de PETRI et après l'avoir retournée, la gélatine au-dessus, nous l'abandonnons à la température du laboratoire, dans le repos le plus complet. Quand, après quelques jours, les colonies sont développées, il s'est formé en dessous de chacune d'elles et sur la face interne du couvercle en regard de la gélatine une image blanche d'une grande finesse, représentant les colonies en projection droite, PHOT. 5 et 6, 2 et 3. Ces images se forment en fort peu de temps, si on a eu soin de laisser d'abord les colonies se développer pendant trois ou quatre jours dans les boîtes de PETRI la gélatine en dessous et si on les retourne ensuite.

Les colonies qui se forment à la *surface* de la gélatine sont les seules qui concourent à la formation des images. C'est ainsi que pendant un certain temps certaines colonies ne forment pas d'image. Ces dernières sont lisses et brillantes, tandis que les autres ont un aspect mat et velouté.

Quand on examine ces taches à un faible grossissement, on voit qu'elles sont formées de petites cellules semblables à celles qui forment la frange et la masse des colonies.

Les cellules de ces taches blanches acquièrent *une certaine adhérence* avec le verre et il faut un *léger effort de friction* pour les en détacher. Un peu d'eau les enlève cependant facilement.

Pour nous expliquer l'ensemble de ces phénomènes, nous avons examiné les colonies de plus près, d'abord comme telles à un plus fort grossissement. Il est possible de voir que la colonie a un aspect poussiéreux, PHOT. 4. De plus, on voit que les colonies sont fortement boursouflées et que les assises de cellules ne sont pas profondes.

Ces examens fournissent, on le voit, des données trop peu précises pour permettre une interprétation des faits. Aussi nous sommes-nous adressés à la méthode des coupes. Nous fixons les colonies à l'alcool fort et nous enrobons dans la paraffine à 52° en passant par le chloroforme. Quand l'opération est bien menée, il est possible de faire, dans les colonies et dans la gélatine qui les contient, des coupes transversales de 7 μ en séries régulières. Nous colorons à l'hématoxyline de HEIDENHAIN et surcolorons au rouge Congo. La moitié d'une de ces coupes est représentée dans le PHOT. 7. Il permet de se faire une idée de l'aspect poussiéreux que présente la surface des colonies. On voit en effet que les coupes sont hérissées d'aspérités du côté libre de la colonie.

Les PHOT. 8, 9, 10 et 11 donnent des détails pris dans la même coupe. De plus, les FIG. 1 et 2 sont prises d'après une autre coupe aux environs immédiats de la colonie dans des places correspondantes à celles qui sont marquées d'une flèche dans le PHOT. 7.

Commençons notre examen par ces deux figures.

Bien en dehors de la colonie, plus loin encore que ne le représente le PHOT. 7, on trouve noyée dans l'épaisseur de la gélatine une couche de cellules de levure. Si l'on suit cette couche du côté droit, on la voit se continuer jusqu'à une certaine distance et diminuer graduellement d'épaisseur. Au-dessus de cette couche en g , FIG. 1 (dans cette description nous supposons la plaque de PETRI renversée, le fond de la boîte est donc supposé au-dessus de la gélatine), surtout aux environs immédiats du verre, la gélatine n'est guère modifiée. Mais en dessous de cette couche, en g' , il n'en est pas ainsi. On trouve la gélatine criblée de cavités qui semblent vides. Enfin à la surface inférieure de la gélatine, en g'' , on trouve de minuscules stalactites fortement colorées par le rouge Congo et qui de ci de là sont en communication avec la surface des cavités de g' . Il est hors de doute que ces stalactites sont de la gélatine mi-liquéfiée, qui a été expulsée des cavités de g' . D'ordinaire, ces gouttelettes sont pleines et allongées comme si elles étaient constituées d'une substance demi-fluide, qui aurait été obligée de passer par une petite ouverture. D'autres fois, on voit dans les stalactites de petites vacuoles.

Il nous semble inadmissible que de si petites quantités de substance, *même complètement liquide*, sortent de cavités si minimes sous la seule influence de leur pesanteur. En effet, 1° la pression atmosphérique s'oppose à une telle chute, 2° la capillarité retiendrait certainement aussi ce liquide dans les cavités microscopiques qu'il baigne, enfin 3° en tous cas il ne se formerait jamais, même à l'aide du liquide le plus fluide, des gouttes aussi microscopiques et, si elles se formaient, elles conflueraient bientôt pour former une goutte plus forte, qui ne tomberait que quand elle aurait une dimension suffisante pour que sa pesanteur puisse lutter avec avantage contre l'adhérence qu'elle conserve avec la surface de la gélatine. Si nous ajoutons à ce que nous venons de dire que les cavités qui se sont creusées dans la gélatine sont vides d'une substance analogue à cette dernière, nous sommes obligés d'admettre que la substance demi-fluide qui constitue les stalactites microscopiques a été expulsée des cavités par un gaz, dont la pression a été supérieure à celle de l'atmosphère. Il nous serait très facile d'expliquer ce phénomène en admettant que la levure a excrété un ferment qui

a liquéfié la gélatine en même temps qu'il s'est produit une sorte de fermentation. La première partie de cette proposition est confirmée par ce fait que notre torula liquéfie complètement, quoique lentement et progressivement, la gélatine. Quant à la seconde partie, elle reste inexpliquée pour nous, attendu que nous n'avons jamais pu constater que la torula eût un pouvoir fermentant. Il est possible qu'il s'agisse d'une autre fermentation que la fermentation alcoolique.

Au moment de la fixation, on voit parfois de petites bulles monter des cultures dans l'alcool. Ceci est rare, cependant. Ce qui est beaucoup plus fréquent, c'est la formation d'une poche de gaz dans l'intérieur de la gélatine et à côté des colonies. Nous pensons que ce gaz est repoussé d'en dessous de la colonie où il se trouvait sous l'influence de la contraction de cette dernière par l'alcool.

En tous cas, il reste établi qu'il y a liquéfaction au moins partielle de la gélatine et production de gaz.

Dans certaines cultures, la colonie reste recouverte sur une très forte partie de sa surface par une pellicule de gélatine trouée et à moitié liquéfiée. On peut observer ce détail tant sur les cultures à frais que sur les coupes après enrobage. Dans la colonie que nous avons dessinée, il n'en est pas ainsi.

Quand on s'approche de son centre, on voit la gélatine de surface *g'* se fondre et les gouttelettes devenir plus grandes, jusqu'à ce que, FIG. 2, la culture *l* vienne à la surface. En même temps, la gélatine s'est fortement vacuolisée au-dessus des levures, en *g*, FIG. 2. Enfin à cet endroit, il commence déjà à se creuser des vacuoles, *v* *ibid*, au milieu de la culture elle-même. D'après les figures qu'on obtient sur les coupes, il semblerait que les bulles ainsi formées peuvent crever, PHOT. 7. Nous ne pensons pas qu'il en soit ainsi en réalité. Quand on examine une colonie vivante à l'aide d'un microscope binoculaire, on voit très nettement des boursouffures nombreuses à sa surface. Le PHOT. 4 nous donne une certaine idée de telles apparences. Jamais cependant nous n'avons vu de ces mamelons crevés, comme cela devrait être le cas si la culture avait été entièrement respectée par l'enrobage.

Les larmes suspendues à la surface de la gélatine ne renferment pas encore de levures à ce niveau. C'est à la surface des mamelons périphériques, aux franges des cultures, que celles-ci se montrent d'abord. Les PHOT. 9, 10 et 11 nous montrent des détails de ce phénomène. Parfois les cellules sont accompagnées d'une stalactite de gélatine, 10; parfois elles se détachent seules noyées cependant dans une matière gluante et fortement colorables par le rouge congo, 11; d'autres fois, elles restent attachées à une bulle de

gélatine gonflée par le gaz de la fermentation, 9. Dans tous les cas, nous en avons la conviction, ces groupes sont littéralement projetés hors de la colonie; ils sont crachés.

Nous nous expliquons maintenant pourquoi les images, qui se forment exactement en dessous de la culture, contractent une assez forte adhérence avec le verre du couvercle. La gélatine en se desséchant les y colle.

Ces images, PHOT. 3, sont formées par de petits groupes de cellules. Souvent, on en trouve de 4 à 5 cellules, d'autres fois de 8 à 9 réunies. Enfin, quelques groupes ou les groupes de certaines cultures sont plus nombreux, PHOT. 12.

Notre torula se développe *très bien* à la température ordinaire. Son *optimum* de développement se trouve entre 20° et 25° C. A cette température, le développement est d'ailleurs sensiblement le même qu'à la température de la chambre. Vers 30°, sa vitalité est déjà diminuée.

La torula rose n° 36 ne produit *pas de fermentation alcoolique* dans le moût de bière. Plusieurs distillations du produit après des développements plus ou moins longs n'ont donné aucune trace d'alcool. Citons un de nos essais.

Le 27 février 1900, nous ensemençons du moût additionné de 10 % de glucose. Après cinq ou six jours, nous immergeons le voile. Le 8 mars, nous distillons le liquide et nous n'obtenons aucune trace d'alcool. Le compte-gouttes de DUCLAUX nous donne 102 gouttes. Avec l'iode et le carbonate de potassium, nous n'obtenons pas d'iodoforme. Nous pouvons donc dire avec certitude qu'il n'y a pas d'alcool formé.

D'ailleurs, le moût n'est que très peu dégradé par une longue culture. Après deux mois, le ballon est à moitié rempli par la lie et le moût n'est atténué que de 8 %. Ce même moût, qui titrait primitivement une acidité de 0,3 cm³ de NaOH normale pour 10 cm³ du liquide, a passé au titre de 0,6 cm³. Cette acidité est fixe. En effet, après avoir deux fois évaporé le liquide et ramené au volume primitif, nous trouvons encore 0,6 cm³ de NaOH normale.

La torula rose n° 36 n'est *pas pathogène*.

Le 11 février, nous faisons à 2 lapins, dans la veine auriculaire, une injection de 0,8 cm³ de moût où la torula s'est développée pendant deux jours. Les animaux ne souffrent en aucune façon de ce traitement. Plus tard on leur injecte 1 cm³ de moût, sans que le moindre trouble se manifeste. Un mois après cette dernière opération, un des lapins mourut, mais l'autopsie nous montra qu'il avait succombé à une péritonite microbienne.

CHAPITRE II.

Étude du principe colorant.

La torula rose que nous étudions en ce moment renferme un principe colorant rouge dont nous nous sommes efforcés d'établir la nature chimique.

Extraction.

La masse des cellules est séchée pendant trois jours sur du papier à filtrer. Elle devient alors comme un feuillet corné élastique, rouge brun. On coupe ce feuillet en morceaux à l'aide de ciseaux et on le pile avec du verre. Cette partie de l'opération est longue et fatigante, la masse étant dure et coriace. L'alcool ne dissout presque pas cette substance. L'acétone donne un léger extrait trouble. Le sulfure de carbone donne pleine satisfaction; l'extraction est presque complète et laisse sur le filtre une masse d'un brun noirâtre. L'extrait est limpide, d'un rouge sang puissant. Après évaporation rapide du sulfure de carbone à 50° jusqu'au cinquième de son volume à peu près, on laisse refroidir. Le liquide se prend immédiatement en une masse rouge entremêlée de blanc. En réchauffant au bain-marie à 50° environ, la masse se redissout. Par refroidissement, il se forme des cristaux blancs et rouges entremêlés d'une substance liquide d'aspect graisseux. La surface en est brillante, mais après un jour de repos elle se ternit. On la reprend à froid par l'alcool à 80°, qui la dissout entièrement. Évaporée lentement à 30°, elle laisse après plusieurs jours une poussière blanc-jaune, qui n'est plus aussi altérable à l'air. On peut dissoudre cette poussière dans l'eau et après plusieurs semaines d'exposition à l'air elle verdit lentement.

La matière colorante peut aussi être extraite par diffusion sans déchirer les cellules. Dans les deux cas cependant, il faut absolument que la masse soit bien sèche, sinon l'extraction au sulfure de carbone est absolument insignifiante, même après plusieurs mois.

Après les essais que l'on vient de lire, nous avons eu la conviction que nous avons affaire à de la carottine et à des substances analogues aux hydrocarottines d'HUSEMANN, ainsi qu'à une sorte d'ergostérine (cholestérine de champignon). C'est pourquoi nous avons procédé à une extraction plus méthodique d'après le procédé de HUSEMANN (1) et ZEISE.

(1) HUSEMANN : *Die Pflanzenstoffe*, vol. III, Berlin, 1883. — Voyez aussi le dictionnaire de WURTZ et le nouveau travail de KOHL : *Untersuchungen über das Carotin*, etc ; Leipzig, 1902

On épuise d'abord la torula séchée et pilée par de l'eau distillée. La masse épaisse est précipitée par une solution de tannin acidifiée de deux gouttes d'acide sulfurique. On filtre. On lave sur le filtre à l'eau distillée jusqu'à réaction neutre, puis on épuise par l'alcool à 80° bouillant. Le filtrat légèrement brun devient jaune après un jour d'exposition à l'air. Il abandonne ensuite une matière d'un blanc nacré qui paraît être une ergostérine.

La masse restée sur le filtre a retenu la majeure partie de la matière colorante. Elle a une couleur chocolat foncé. On la presse entre deux papiers à filtrer et on la sèche. On extrait avec du sulfure de carbone et l'on obtient une solution rouge sang. On évapore rapidement et on obtient au fond de la capsule une mince pellicule de substance rouge ayant une odeur de carottes crues. En examinant au microscope, on trouve des cristaux en tables rhomboïdales incolores et des aiguilles se disposant en cercle. En traitant avec l'acide sulfurique, on obtient une coloration violette pourpre pour les tables, et en ajoutant de l'eau, les cristaux en aiguilles verdissent. On trouve aussi de petits cristaux bruns formés de deux pyramides hexagonales accolées par leurs bases.

1° Dissoute dans le sulfure de carbone, la masse communique à ce dernier une couleur rouge sang.

2° L'acide sulfurique concentré lui donne une couleur bleu indigo très intense. En ajoutant de l'eau à l'acide sulfurique, en évitant l'échauffement, la coloration passe au vert et on obtient un précipité. En traitant directement les torulas par ce réactif, on obtient une coloration brune.

3° Cette substance se dissout dans le sulfure de carbone, l'alcool fort, l'éther de pétrole et l'acétone.

4° Elle se montre très instable à l'air. Une goutte de la solution rouge sang sur du papier à filtrer se décolore rapidement et devient verdâtre après plusieurs jours d'exposition à l'air et à la lumière.

5° La solution de la substance dans le sulfure de carbone fournit un spectre d'absorption presque totale de la partie la plus réfrangible. L'absorption commence vers le milieu du vert.

La masse abandonnée pendant longtemps sur le papier à filtrer se laisse épuiser par l'alcool à froid. Cette substance est insoluble dans l'eau et produit avec elle une émulsion d'aspect laiteux. Elle ressemble alors à une graisse légèrement teintée de jaune. Elle ne produit cependant aucun précipité par la potasse alcoolique suivie de chlorure de calcium et ne laisse aucune tache graisseuse sur du papier après évaporation. Avec l'acide sulfurique, elle donne d'abord une coloration légèrement rouge, puis brune.

De l'ensemble de ces réactions, nous pouvons conclure : 1° que nous sommes en présence d'une matière complexe; 2° qu'elle contient certainement de la carottine en quantité considérable; 3° qu'elle est très altérable et donne facilement des produits analogues aux hydrocarottines d'HUSEMANN; enfin 4° il est probable qu'elle contient aussi une sorte d'ergostérine.

CHAPITRE III.

Étude cytologique.

§ 1. *Examen des cellules à l'état frais.*

Voile.

Les cellules de la *torula* n° 36 se présentent à peu près comme des levures ordinaires. Elles sont un peu plus petites que les formes *pastorianus* décrites par HANSEN. Elles ont, déjà dans des voiles très jeunes, une tendance à la production de filaments relativement allongés, FIG. 3. Parfois les bourgeons se forment aux extrémités du cylindre, FIG. 3, parfois sur le côté et au milieu, FIG. 4. On peut dire qu'une des caractéristiques du bourgeonnement de notre *torula* rose, c'est la formation d'un grand nombre de bourgeons à peu près à la même place sur une même cellule. Ces faisceaux de bourgeons se forment aux environs d'une des extrémités de la levure. Les cellules de la FIG. 5 nous donnent une idée assez exacte de telles formations, mais c'est surtout dans des voiles vieux et qui ont été formés à la lumière que ces formations sont puissantes, FIG. 9. Signalons encore comme caractéristique du bourgeonnement dans certains voiles la production de promycètes relativement longs, portant des cellules parfois très arrondies. Ces cellules ont quelques analogies avec des conidies. Le plus souvent, elles se forment sur des bourgeons latéraux. On les trouve surtout *dans les voiles provenant de cellules de l'anneau*, FIG. 20^{1, 0, 5}, ou encore *dans les anneaux jeunes*, FIG. 5⁴. Nous n'avons aucune raison péremptoire pour admettre qu'on doive attribuer à ces cellules une autre signification qu'aux bourgeons ordinaires. On trouve, en effet, des bourgeons pédicellés très analogues à ces - spores - aux deux extrémités de la cellule et les faisceaux de bourgeons dont nous avons parlé plus haut, FIG. 5, forment presque toutes les étapes de transition entre des bourgeons ordinaires, FIG. 3, et les bourgeons pédicellés portant des cellules qui en imposent pour des spores. Nous

inclinons donc plutôt à croire pour le moment que ces figures n'ont qu'une valeur morphologique.

Ecologie.

La levure rose n° 36 est certainement influencée *par la lumière*, principalement dans les cellules du voile. Comparons deux voiles de 6 mois, dont l'un s'est développé à l'obscurité et l'autre à la lumière.

À l'*obscurité*, le voile est beaucoup plus coloré qu'à la *lumière*, les cellules sont plus grandes et le voile est beaucoup moins résistant, FIG. 8 et 9. De plus, à la lumière le voile se présente comme un feutre formant duvet. Beaucoup de filaments, en effet, se relèvent en dehors du liquide. En un mot, les cellules sont plus petites, mais plus résistantes. Elles ont réagi sous l'influence de la lumière à peu près comme le ferait une plante à chlorophylle. Ce phénomène semble prouver que la carottine joue un rôle dans la physiologie de cet organisme.

De plus, à la *lumière*, le couvercle des boîtes de PÉTRI se couvre intérieurement d'une rosée très abondante. La torula transpire donc plus fortement sous l'influence de la lumière qu'à l'obscurité. Ce fait a été d'ailleurs observé pour beaucoup de champignons.

Anneau.

Comme nous l'avons dit, sur la paroi du vase il se forme au-dessus de la surface du liquide un anneau de plusieurs millimètres de hauteur. C'est dans cet anneau que l'on trouve les cellules les plus colorées. La FIG. 13 représente quelques-unes de ces cellules. Elles sont remplies de corpuscules très réfringents, qui ont l'aspect de globules d'huile et sont teintés d'orange. Ces cellules sont souvent un peu étranglées vers leur milieu. Ceci se présente aussi bien quand il y a de nombreux granules, FIG. 13¹, que quand il n'y a que deux globules plus grands, FIG. 13². Il faut admettre que ces globules sont formés, au moins en grande partie, de carottine, l'hypothèse de matières grasses ayant été écartée par nos recherches chimiques. D'ailleurs, les réactifs microchimiques de l'huile ne fournissent aucune indication positive. À l'endroit de l'étranglement, on trouve généralement une partie plus claire occupée par un corpuscule légèrement grisâtre, arrondi, FIG. 13¹, en bas de la figure, ou aplati, FIG. 13¹ et 13². C'est à cet endroit qu'on trouve généralement le corps nucléaire dans les cellules fixées et colorées.

L'étranglement dont nous parlons peut parfois aller jusqu'à séparer *presque* complètement les deux parties, FIG. 11; voyez aussi les FIG. 16^{1,2,3,4} et 18¹. Nous n'avons cependant jamais vu cet étranglement s'achever. Nous ne croyons pas non plus que de telles formations puissent provenir de la soudure de deux cellules sphériques. Nous n'avons, en effet, jamais trouvé ni dans les anneaux ni ailleurs des cellules sphériques de ces dimensions. Nous ignorons absolument jusqu'à présent s'il faut attacher à ce détail une autre valeur qu'une valeur purement morphologique.

Dépôt.

Le dépôt jeune de la torula a des cellules ressemblant beaucoup à des levures ellipsoïdes. Quand le dépôt vieillit, les cellules semblent y entrer en régression; elles sont peu colorées, légèrement brunes et peu brillantes. Leur membrane semble séparée du contenu cellulaire. Les vacuoles qu'on y trouve sont anguleuses et semblent s'être vidées de la substance qu'elles contenaient, FIG. 12.

§ 2. *Examen des cellules fixées.*

Méthodes.

Nous n'avons pas de raison pour abandonner notre méthode de fixation qui continue toujours à nous donner, comparativement avec les autres, les meilleurs résultats⁽¹⁾. L'addition de 20% de formol à la solution d'iode fournit une fixation encore meilleure. Le traitement à l'alcool peut être abandonné dans ce cas. La solution de formol iodé doit être fraîche. Quant à la méthode de coloration, nous avons introduit depuis un certain temps une méthode de coloration à chaud qui nous donne pleine satisfaction. Nous chauffons une étuve à la température de 72° C. (à 68° la coloration est trop lente et à 76° les cellules subissent un commencement de rétraction). Nous mettons les couvre-objets avec les levures par trois sur un slide. Sur chacun des covers, nous déposons une goutte de solution d'alun ferrique et nous les portons à l'étuve où ils restent 3 minutes. Nous les lavons à l'eau distillée, y mettons une goutte de solution d'hématoxyline et les reportons pendant 3 minutes à l'étuve. Les levures sont alors complètement colorées en noir. Nous lavons à l'eau distillée et décolorons sous le microscope. On peut surcolorer par le rouge Congo ou un autre colorant du protoplasme. La coloration à chaud par

(1) F. A. JANSSENS et A. LEBLANC : *Étude cytologique de la cellule de Levure*; La Cellule, t. XIV, fasc. 1.

l'hématoxyline de DELAFIELD suivie d'alcool ammoniacal fournit aussi de très belles préparations.

La structure de la *Torula rose* n° 36 se rapproche beaucoup de celle des levures ordinaires. Dans certains cas, le noyau semble formé d'un amas de granules plus ou moins réguliers, surtout dans les cellules qui forment les images, PHOT. 12. Il est souvent anguleux, mais il se distingue toujours très bien du reste de la cellule. Le *protoplasme* est très souvent granuleux, FIG. 14 et 17, et rempli de vacuoles, FIG. 14, 16, 17, 18 et 19. On y trouve parfois des parties filamenteuses plus fortement colorées, FIG. 17^{1,2}, 14^{1,2,3} et 15¹. Ce sont, à n'en pas douter, l'équivalent de cordons protoplasmiques des cellules végétales adultes. Quant aux vacuoles, disons qu'il en faut distinguer de deux sortes. Les unes, FIG. 10, sont remplies d'eau ou au moins d'un liquide très peu réfringent. Les autres renferment des sphérules de carottine, FIG. 11 et 13. On peut dans certaines cellules fixées retrouver ces dernières sous la forme de petites sphères légèrement teintées de gris, FIG. 16^{3,4}. Mais d'ordinaire l'extraction de la matière colorante a été complète sous l'influence du chloroforme ou de la térébenthine, qui ont servi au montage des préparations.

Le rôle du noyau dans le bourgeonnement est plus difficile à poursuivre que dans les saccharomycètes proprement dits. On ne voit presque jamais le noyau se diviser en deux parties égales. Ceci semble cependant être le cas normal dans les dépôts jeunes, FIG. 19^{1,2,4}. Dans le voile, ce phénomène semble plus rare, FIG. 14^{6,9}, 15⁴; d'ordinaire, dans le voile et dans l'anneau, on dirait qu'une petite partie du noyau seulement passe dans la cellule-fille, FIG. 15^{2,3,5}, 18¹, 20^{1,2,3}. Nous avons été assez heureux pour observer le phénomène sur le vivant dans des cellules d'un anneau formé par une culture de cellules provenant d'un voile, FIG. 10. Ces cellules ne renfermaient presque pas d'enclaves. Aussi leur contenu était-il très transparent. C'est à cette circonstance qu'on devait de pouvoir y reconnaître le noyau sous la forme d'un corps globulaire uniformément gris et très peu réfringent. Dans la cellule FIG. 10¹, nous le voyons logé à l'entrée du filament promycélien. Il s'y montre constitué d'une masse renfermant un nucléole un peu plus brillant. Une masse analogue s'observait aux environs de tous les bourgeons, FIG. 10⁴. Dans la cellule 10³, il nous a été possible de trouver le noyau tant dans la cellule-mère que dans la cellule-fille (qui était plus brillante et avait cet aspect de spore dont nous avons déjà parlé) et de voir ces deux corps réunis à travers le pédicule promycélien par un cordon de substance analogue. Dans la cellule 10², on voyait un corpuscule nucléinien engagé déjà dans le filament pro-

mycélien et retenu encore par un cordon à ce dernier. Nous pensons que ces figures sont analogues à celles qu'on retrouve dans des cellules fixées, FIG. 14, 15, 20¹⁻⁴. On remarquera même qu'il existe une grande vacuole dans la cellule-mère, du côté opposé au filament promycélien. Cette formation est très ordinaire. Nous appelons l'attention toute spéciale du lecteur sur cette particularité, FIG. 10¹, 14^{1-7, 8, 9}, 20¹. Il semble que la vacuole formée serve à augmenter la pression osmotique lors de la formation d'un bourgeon. Ce rôle joué par les vacuoles dans l'accroissement rappelle un rôle analogue joué par ces mêmes vacuoles dans les cellules des plantes supérieures lors du grand accroissement. Il est intéressant de constater qu'ici dans cet organisme inférieur la partie de la cellule qui se trouve la plus éloignée du bourgeon et du noyau est aussi celle qui, au point de vue physiologique, se montre la plus adulte et la plus différenciée.

Nous devons aussi revenir dans ce paragraphe sur ces productions qui rappellent les spores. Ces productions sont surtout abondantes dans des voiles jeunes développés aux dépens de cellules provenant d'un anneau. Dans la FIG. 20, nous en trouvons toute l'évolution.

Les cellules 20^{5 et 6} portent de ces sortes de - spores -. On les dirait portées sur un stérigmate. Il en est de même de la cellule 20¹. Ici, la - spore - est entièrement achevée et la cellule bourgeonne du côté opposé. Dans la cellule 20³, on voit un fragment du noyau se portant vers la - spore -. Les cellules 20^{7 et 8} sont aussi intéressantes. Ces cellules, quant à leur grandeur, leur forme et leur réfringence, ont l'aspect de - spores en germination -. Tout le noyau se porte dans le nouveau bourgeon. Remarquons que dans les voiles, FIG. 14, même plusieurs fois repiqués, FIG. 15, ainsi que dans le dépôt, FIG. 19, on ne trouve pas de telles formations.

Pour finir, un mot de l'aspect du noyau dans les anneaux vieux, FIG. 16.

Ici, le noyau doit être très déformé par l'abondance extraordinaire de la carottine, FIG. 13. Est-ce à cette circonstance qu'il doit l'aspect double qu'il présente très souvent dans les cellules, FIG. 16^{1, 2, 7, 13, 15}? Nous n'oserions l'assurer. Nous n'oserions pas davantage prétendre qu'il faille rapprocher ce phénomène de ceux que F. A. JANSSENS et A. LEBLANC ont décrits autrefois comme une fécondation interne dans les *Saccharomyces* proprement dits et qui précèdent immédiatement la formation des endospores dans ces organismes. Nous ferons toutefois remarquer : 1° que le noyau unique dans ces cellules se rencontre presque toujours dans des cellules qui ont subi un étranglement, FIG. 16^{3, 4, 14}, et que ces noyaux sont souvent plus grands

que les autres; 2° qu'on trouve souvent deux noyaux l'un à côté de l'autre, dont l'un semble vidé de son contenu, FIG. 16^{9, 11, 12}; 3° que les cellules à - spores exogènes - se forment presque toujours ou dans des anneaux, FIG. 5¹, ou bien aux dépens de cellules de l'anneau, FIG. 18³ et 20; enfin 4° que les cellules de l'anneau se trouvent sensiblement dans les conditions reconnues par HANSEN et BARKER comme les meilleures pour la formation des spores dans les *Saccharomyces* à endospores. Ces conditions sont : le manque de matières nutritives, la présence d'une grande quantité d'oxygène et d'une atmosphère très humide.

Nous poursuivrons cette étude au point de vue physiologique quand le temps nous le permettra. Pour le moment, nous ne nous décidons ni pour l'une ni pour l'autre des deux hypothèses.

Dépôt.

C'est dans le dépôt jeune que l'on trouve surtout des noyaux analogues à ceux des saccharomycètes ordinaires, FIG. 19⁵. C'est là aussi que le bourgeonnement se fait d'une façon très analogue à ce qui a été décrit par tous les auteurs pour les saccharomycètes ordinaires, FIG. 19^{1, 3, 2, 4}.

RÉSUMÉ.

Nous avons étudié une forme torula rose provenant d'une bière anglaise.

Cette torula est surtout intéressante : 1° parce qu'il a été démontré que son principe colorant est une carottine; 2° parce qu'en culture sur plaques de PÉTRI retournées, elle projette des images sur le couvercle par un mécanisme spécial décrit dans le mémoire et étudié surtout par des coupes à travers des colonies enrobées; 3° parce qu'elle est sensible à la lumière; et 4° parce que son noyau se divise d'une façon inégale dans certaines circonstances.

EXPLICATION DES PLANCHES.

PLANCHE I.

FIG. 1 et 2. Coupes à travers une colonie aux endroits indiqués par les flèches du PHOT. 7, PL. II.

FIG. 3, 4 et 5 Voile jeune. Chambre claire (NACHET ZEISS), hauteur de la table du microscope, objectif apochr. 2 mm., ocul. 12.

FIG. 5^a. Anneau jeune, même grossissement.

FIG. 6. Culture sur gélatine vieille, ocul. 4.

FIG. 7. Idem jeune, même grossissement.

FIG. 8 Voile de six mois formé à l'obscurité, même grossissement.

FIG. 9. Voile de six mois formé à la lumière, même grossissement.

FIG. 10 Voile jeune repiqué à l'aide de cellules d'un anneau (grossissement comme FIG. 3, comme toutes les figures qui suivent).

FIG. 11. Anneau jeune.

FIG. 12. Dépôt vieux.

FIG. 13 Anneau d'un mois.

FIG. 14. Voile fixé et coloré, comme toutes les figures qui suivent.

FIG. 15. Voile plusieurs fois repiqué.

FIG. 16. Anneau vieux de la culture FIG. 13

FIG. 17. Voile vieux

FIG. 18. Anneau.

FIG. 19. Dépôt.

FIG. 20. Voile jeune provenant de cellules de l'anneau, comme FIG. 10.

PLANCHE II.

PHOT. 1. Partie d'une plaque de PETRI, grandeur naturelle, renfermant au milieu la colonie du PHOT 2

PHOT. 2. La même colonie. Gross. $\times 6$.

PHOT. 3. Image de la colonie précédente La plaque de PETRI a été remuée pendant la production de l'image.

PHOT. 4. Colonie de trois semaines remarquable par ses franges et son aspect boursouflé et poussiéreux.

PHOT. 5. Partie d'une culture de 10 jours.

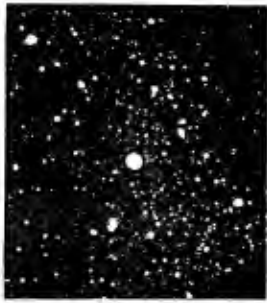
PHOT. 6. Image de cette culture sur le couvercle de la plaque de PETRI. La photographie a été faite au travers du verre du couvercle pour faire mieux saisir la correspondance des colonies. La plaque renferme des colonies recouvertes encore de gélatine et aussi d'autres organismes que notre *Torula*.

PHOT. 7. Moitié d'une coupe à travers une culture analogue à celle du PHOT 4. Les flèches indiquent les places des FIG 1 et 2 de la PL. I et les chiffres les places qui ont fourni les PHOT. 8, 9, 10 et 11. Les parties plus noires indiquent les places occupées par la *Torula*

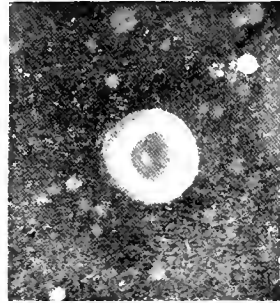
PHOT. 8, 9, 10 et 11. Parties de la coupe précédente. Gross. $\times 8$.

PHOT. 12. Partie d'une image.

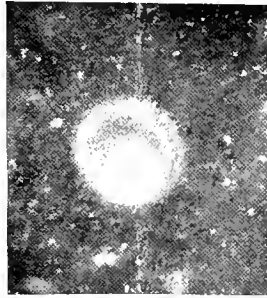




1



2



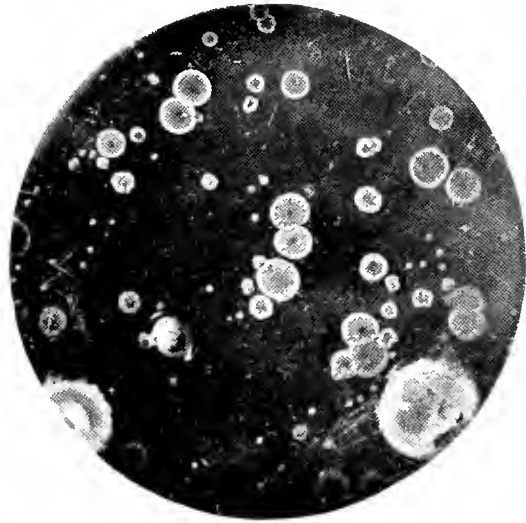
3



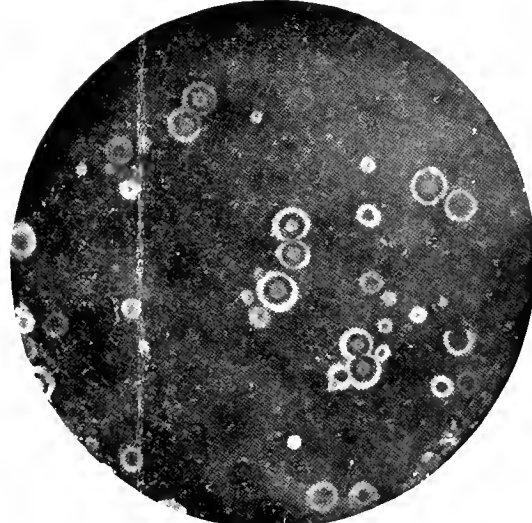
4 11 10 9 8



5



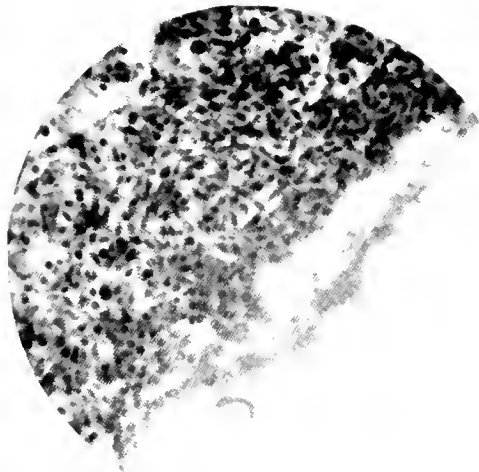
6



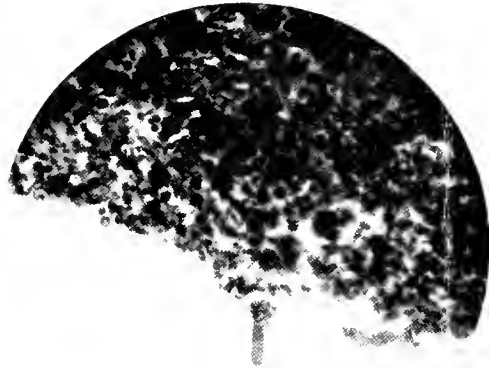
7



8



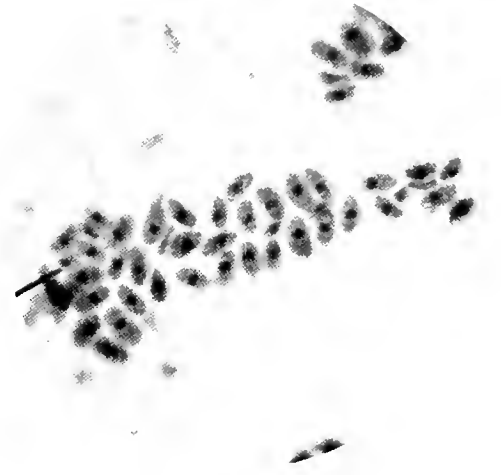
9



10



11



12

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES TANNŌIDES

Les Tannoïdes de la Rhubarbe de Chine

PAR

Eugène GILSON

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE GAND

Les Tannoïdes de la Rhubarbe de Chine⁽¹⁾

INTRODUCTION.

A la suite des brillantes découvertes qui révolutionnèrent la chimie organique vers le milieu du siècle passé, l'activité des chimistes s'est portée, presque tout entière, vers les recherches de chimie pure, et l'analyse immédiate s'est trouvée quelque peu délaissée.

Si, d'une part, il y a lieu de se réjouir des immenses progrès dont cette orientation nouvelle a été le point de départ, de l'autre, il est cependant permis de regretter que l'étude des produits naturels ait été, pour ainsi dire, abandonnée. Car les merveilleuses synthèses qui s'effectuent dans les êtres vivants, et dont le mécanisme nous échappe encore, sont bien dignes de fixer l'attention des chimistes. - Le chimisme du laboratoire, - a dit CLAUDE BERNARD, - et le chimisme des corps vivants sont soumis aux mêmes lois, les lois de la chimie générale (2). - De plus, on ne saurait ni oublier les grands services que l'analyse immédiate a rendus à la biologie et à la médecine, ni surtout perdre de vue ceux que ces branches de la science en attendent encore. On peut dire que le progrès de la biologie tout entière est lié au progrès de cette analyse et de ses méthodes.

(1) Mémoire présenté à l'Académie royale de médecine de Belgique, séance du 27 dec. 1902.

(2) CLAUDE BERNARD : *Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux*. Paris, 1878-1879.

Bien souvent, dans l'état actuel de nos connaissances, la biologie est encore obligée de baser ses théories sur des travaux anciens, parfois très imparfaits et presque toujours incomplets.

En outre, le désir de signaler des corps nouveaux a encombré la littérature scientifique d'une foule de noms correspondant à des corps prétendument définis, mais qui ne sont en réalité que des mélanges. Sous ce rapport, le groupe des tanins, dont nous nous occupons aujourd'hui, peut être cité comme un exemple remarquable. Dans ce chaos, le biologiste court grand risque de s'égarer.

Pour que l'analyse immédiate puisse donner tout ce qu'on est en droit d'en attendre, il faut non seulement qu'elle ait à son service toutes les ressources des méthodes modernes, mais encore qu'elle soit conduite avec rigueur et un grand souci de l'exactitude. L'à-peu-près, dont on s'est trop fréquemment contenté jusqu'ici, n'est pas seulement insuffisant, il est souvent dangereux. Car, s'il est vrai que tout fait nouveau bien observé, quelque minime qu'il paraisse, mérite d'être signalé et peut devenir le point de départ de découvertes importantes, il n'est pas douteux qu'un fait mal observé peut retarder considérablement le progrès, soit en paralysant les travailleurs, soit en leur faisant faire fausse route.

En réalité, — les biologistes le disent et le répètent, — nos connaissances positives sur la composition chimique des êtres vivants se bornent à bien peu de chose. Ces êtres contiennent une multitude de corps différents. Nous n'en connaissons qu'un petit nombre, et presque toujours ce sont des corps possédant des propriétés spéciales bien tranchées, capables d'attirer l'attention ou permettant de les isoler facilement, telles les essences, les matières colorantes, les graisses, etc. Les autres, — probablement les plus importants, — nous échappent totalement, ou bien nos connaissances à leur sujet sont des plus rudimentaires.

Cependant la recherche du mécanisme de toutes les réactions, dont l'ensemble constitue la vie de la cellule, suppose la connaissance approfondie de tous les corps intermédiaires entre l'anhydride carbonique, l'eau, l'azote libre ou combiné, les sels minéraux d'une part, et de l'autre les composés organiques les plus complexes.

C'est à ce prix que l'on peut espérer jeter quelque lumière sur le captivant problème de la vie.

Faut-il dire que nous sommes encore bien loin de cet idéal!

Pour le moment, nous devons nous borner à accumuler des faits avec

le plus de précision possible, et chercher à établir les relations qui les relient entre eux, tout en évitant avec soin de considérer comme vérités démontrées les hypothèses, même les plus vraisemblables. Ces hypothèses doivent surtout nous guider dans nos travaux. C'est là presque toute leur utilité, mais elle est très réelle, car il serait antiscientifique de dire que la recherche des faits doit se faire au hasard et sans aucune idée directrice.

C'est pénétré de ces notions que nous avons abordé l'étude d'un groupe de corps très répandus dans les plantes et dont la connaissance est encore très imparfaite : les *tannoïdes*.

Nous publions aujourd'hui les résultats de nos recherches sur ceux que nous avons extraits de la rhubarbe de Chine.

APERÇU HISTORIQUE.

Tanins et Tannoïdes.

Parmi les différents groupes de principes immédiats, il en est peu qui aient été aussi fréquemment étudiés que celui des tanins, et il n'en est probablement aucun dont l'histoire soit aussi confuse et aussi obscure.

Cela tient à des causes multiples, parmi lesquelles il faut signaler, en tout premier lieu, les grandes difficultés auxquelles on se heurte lorsqu'on veut obtenir des produits purs.

Le tanin ordinaire ou gallotanin nous offre un exemple frappant de ce fait. Ce type des tanins a été l'objet d'un nombre très considérable de travaux; des savants éminents n'ont pas dédaigné de l'étudier, et cependant nous ne sommes pas encore fixé d'une façon positive sur sa nature, parce qu'on n'est pas encore parvenu à l'obtenir à l'état de pureté.

Il a été considéré, tour à tour, comme de l'acide gallique combiné à un principe gommo-résineux (DEYEUX), puis comme un glucoside (STRECKER), ensuite comme de l'acide digallique (SCHIFF).

Enfin, dans ces derniers temps, POTTEVIN (1) a démontré que le tanin ordinaire contient un glucoside de l'acide digallique et de l'acide digallique libre, celui-ci provenant de la décomposition de celui-là.

Toutefois, l'auteur n'ayant pas isolé le glucoside, un doute subsiste et

(1) POTTEVIN : *Sur la constitution du gallotannin*; Comptes rendus de l'Académie des sciences, Paris, 1901, p. 704.

nous sommes encore obligé de dire que le tanin de la noix de galle est *probablement* constitué par un mélange d'acide digallique et d'un ou de plusieurs glucosides de celui-ci.

Une des conséquences de cette difficulté de préparation des tanins à l'état pur, c'est que beaucoup d'auteurs se sont contentés de l'à-peu-près et ont donné des noms à des mélanges plus ou moins complexes qu'ils considéraient, à tort, comme des corps définis.

Une autre cause de l'obscurité qui règne dans l'histoire des tanins, c'est qu'en réalité ceux-ci n'existent pas comme groupe chimique fonctionnellement déterminé.

On a catalogué dans ce groupe des corps possédant quelques réactions communes, mais de constitution très différente. Il nous suffira de rappeler ici que les uns sont des glucosides et que les autres n'en sont pas.

Vu la diversité de ces corps, il n'est pas possible d'en donner une définition exacte, nette et précise. La plupart des auteurs ont la leur. La suivante, qui est due à HUSEMANN-HILGER et a été modifiée par WAAGE (1), paraît correspondre assez bien à l'idée qu'on se fait généralement aujourd'hui des tanins. - C'est un groupe de substances très répandues dans le règne végétal, plus riches en carbone et en oxygène que les hydrates de carbone, possédant le caractère d'acides faibles et devant être considérées le plus souvent, eu égard à leur constitution, comme des combinaisons étherées de l'acide gallique ou d'un autre acide analogue avec un membre du groupe des sucres, avec la phloroglucine ou avec un second acide spécifique. «

Le nom de « tannoïdes » a été employé d'abord par CHATIN. Il est à peu près généralement admis aujourd'hui pour désigner les tanins et leurs congénères, c'est-à-dire les corps présentant avec eux de grandes analogies de composition.

On conçoit aisément que pour faire une étude fructueuse et complète des tanins, il est indispensable d'étudier leurs congénères et spécialement les corps aux dépens desquels ils se forment et auxquels ils donnent naissance à la suite de diverses réactions.

Les dénominations de « tanins », « tannoïdes », tout comme celles d'« huiles essentielles », de « résines », etc., sont des dénominations empiriques, qui rendent des services pendant un certain temps, mais sont desti-

(1) KUNZ-KRAUSE : *Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenstoffe*; Pharmac. Centralhalle, Juni 1898, Nr. 23, S. 401

nées à disparaître dans un avenir plus ou moins éloigné, lorsque tous les corps qu'on range aujourd'hui sous ces appellations seront complètement connus et auront trouvé leur place dans une classification chimique rationnelle.

Il n'entre pas dans nos vues de faire ici l'histoire générale des tannoïdes; cela nous entrainerait beaucoup trop loin. Les lecteurs que la chose intéresse trouveront, du reste, toutes les indications désirables dans la monographie de BRAEMER (1), ainsi que dans le travail de KUNZ-KRAUSE que nous avons déjà cité : *Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenstoffe* (2).

Le tannin de la rhubarbe de Chine.

KUBLY (3) est le premier qui ait fait une étude quelque peu détaillée de ce tannin.

Les auteurs qui s'étaient occupés antérieurement de la question, s'étaient généralement bornés à constater la présence d'un corps donnant les réactions que l'on considérait alors comme caractéristiques des tanins.

Signalons toutefois que différents chimistes, notamment BRANDES, prétendaient également avoir retrouvé de l'acide gallique.

KUBLY s'est efforcé d'obtenir un corps pur et a donné le nom d'acide *rhéotannique* au produit qu'il a isolé; d'après l'auteur, celui-ci est un glucoside, qui se dédouble par ébullition avec les acides dilués, en fournissant de l'acide *rhéumique*, poudre d'un brun rougeâtre, et un sucre fermentescible.

KUBLY est d'avis que la rhubarbe de Chine ne contient pas d'acide gallique.

Il y a quelques mois, TSCHIRCH et HEUBERGER (4) ont également constaté la présence d'un tannin glycosidique dans la rhubarbe de Chine; ils l'ont appelé *rhéotannoglucoside*. Par ébullition avec les acides dilués, celui-

(1) L. BRAEMER : *Les tannoïdes*. Toulouse, 1900.

(2) *Pharmac. Centralhalle*, 1898, Nr 4, S. 4.

(3) KUBLY : *Chemische Studien der Rhabarbemurzel*; *Archiv der Pharm.*, 1868, S. 7.

(4) A. TSCHIRCH und HEUBERGER : *Untersuchungen über den Chinesisch Rhabarber*; *Schw. Wo chenschr. für Chem. und Pharm.*, 21 Juni 1902, S. 282.

D'après ces auteurs (loc. cit., p. 284), HUNKEL aurait également retrouvé un glucotannoïde. Je ne suis pas encore parvenu à me procurer le travail original qui a paru dans une revue américaine : *Pharmaceutical Archives*. Le court résumé du *Chem. Centralblatt*, 1901, t. 1, p. 414, est muet au sujet des tannoïdes.

ci se dédouble en donnant un sucre et un corps rouge qu'ils nomment *rouge* de rhubarbe (*rheumrot*).

A côté du sucre et du rouge de rhubarbe, les auteurs ont constaté, dans les produits de l'hydrolyse, la présence des acides gallique et cinnamique. Ils considèrent ceux-ci comme des produits de décomposition du rouge de rhubarbe.

Enfin, dans une note préliminaire, nous avons nous-même annoncé (1) que nous avons reconnu la présence, dans la rhubarbe de Chine, des acides cinnamique et gallique, et nous avons démontré que ce dernier s'y trouve sous trois états différents : en petite quantité à l'état libre, puis à l'état de composé soluble dans l'eau et enfin sous une forme insoluble dans l'eau.

Nous avons également annoncé que nous avons retrouvé, en outre, une *catéchine* et deux nouveaux glucosides : la *glucogalline* et la *tétrarine*.

RECHERCHES PERSONNELLES.

En étudiant, il y a plusieurs années déjà, un glucoside de l'acide chrysophanique que nous avons rencontré dans la rhubarbe de Chine (2), nous avons reconnu que l'acétone, que nous employons comme premier dissolvant, enlevait, à côté de différents dérivés de l'anthrachinone, des quantités relativement considérables d'un produit donnant les réactions que l'on attribue généralement aux tanins.

L'étude de ce produit nous parut digne d'être faite, d'abord parce qu'elle intéresse à la fois l'histoire générale des tanins et la pharmacologie; et ensuite, parce que nous entrevoyions la possibilité d'élucider le mode de formation des dérivés de l'anthrachinone : acide chrysophanique, émodine, rhéine, que l'on rencontre dans la rhubarbe, estimant que ceux-ci pourraient bien se former aux dépens des tanins.

Notre point de départ a été la recherche des acides gallique, cinnamique et paracoumarique (paraoxycinnamique).

Nous considérons la constatation de la présence de l'acide gallique comme particulièrement intéressante, parce que cet acide donne facilement par condensation des dérivés de l'anthrachinone.

(1) E. GILSON : *De la présence des acides gallique et cinnamique dans la rhubarbe de Chine*; Revue pharmac., juillet 1902.

(2) E. GILSON : *Les principes actifs de la rhubarbe*; Revue pharmac., juin 1898.

Nous nous bornerons à rappeler les faits suivants :

1^o Par condensation de deux molécules d'acide gallique, on obtient l'acide rufigallique ou hexaoxyanthrachinone;

2^o Par condensation d'une molécule d'acide gallique et d'une molécule d'acide benzoïque, on obtient l'antragallol ou trioxyanthrachinone;

3^o Par condensation d'une molécule d'acide gallique et d'une molécule d'acide cinnamique, il se forme du styrogallol, qui est la O-dioxyanthracoumarine.

Quant aux acides cinnamique et paracoumarique, nous les avons recherchés parce que leur présence avait été signalée dans les aloès (1), qui contiennent, comme la rhubarbe de Chine, des dérivés du méthylanthrachinone. Nous nous étions demandé si l'analogie entre ces deux produits n'allait pas plus loin encore et si la rhubarbe ne contenait pas également l'un des deux acides qu'on avait retrouvés dans les aloès, ce qui tendrait à prouver qu'il y a une relation entre les dérivés de l'anthrachinone et les acides cinnamique et paracoumarique.

Nous ne nous attarderons pas à décrire ici les nombreux essais que nous avons faits sans résultat positif; ces descriptions, longues et fastidieuses, seraient sans grand intérêt pour le lecteur et ne serviraient qu'à démontrer que ces recherches sont extraordinairement laborieuses et réclament énormément de temps et de patience.

Nous croyons néanmoins utile d'indiquer brièvement la marche qui nous a permis d'aboutir.

Ayant constaté la présence de l'acide cinnamique combiné dans un produit brut, nous l'y avons dosé, puis nous avons soumis le produit aux traitements les plus divers dans le but d'effectuer des séparations et d'obtenir, à l'état pur, le corps contenant de l'acide cinnamique.

Après chaque traitement, nous dosions cet acide dans les différentes portions obtenues, ce qui nous renseignait sur la réussite ou l'échec de nos essais et nous indiquait la voie à suivre. Après bien des tâtonnements, nous sommes arrivé à une méthode qui nous donnait un produit d'aspect résineux, contenant 14 à 15 % d'acide cinnamique et que nous ne parvenions pas à enrichir en ce corps. Nous avons essayé alors d'obtenir des cristaux et nous y sommes arrivé au moyen de l'éther acétique, ce qui nous a donné un corps complètement pur.

(1) D'après TSCHIRCH et PEDERSEN (*Archiv der Pharmac.*, Bd CCXXXVI, S. 200), l'aloès du Cap contient de l'acide paracoumarique, tandis que l'aloès des Barbades contient de l'acide cinnamique.

En opérant suivant le même principe, mais en effectuant des dosages d'acide gallique, nous avons isolé un deuxième produit.

Nous avons pris pour règle de n'employer dans nos recherches que des dissolvants neutres afin d'éviter, dans les limites du possible, toute cause d'altération.

Nous avons cru nécessaire de décrire longuement la plupart de nos opérations, parce que, dans ces sortes de recherches, les moindres détails ont souvent leur importance.

RECHERCHE DE L'ACIDE GALLIQUE.

Pour constater la présence de cet acide, nous avons estimé qu'il était indispensable de l'isoler en nature, parce qu'il n'était pas possible de le caractériser, avec certitude, à côté d'autres substances dont les réactions sont inconnues.

L'acide gallique pouvant se trouver dans la rhubarbe à l'état de liberté et à l'état de combinaison, nous l'avons recherché sous ces deux formes.

I. *Acide gallique libre.* — La rhubarbe en poudre est extraite par l'acétone. La solution acétonique est distillée et le résidu de la distillation est séché, puis traité par l'eau chaude. Après refroidissement, on filtre.

On obtient ainsi une solution aqueuse A et un résidu insoluble B.

La solution aqueuse A est agitée avec de l'éther jusqu'à épuisement.

Les liquides étherés réunis sont distillés; le résidu de la distillation est repris par l'eau chaude; après refroidissement, le liquide aqueux est additionné d'un excès de chlorure de sodium, puis, après plusieurs heures de repos, il est filtré. La solution saline est alors agitée à plusieurs reprises avec de l'éther. Celui-ci est distillé. Le produit de la distillation est repris par l'eau, la solution filtrée est additionnée de quelques gouttes d'acide acétique, puis d'acétate neutre de plomb jusqu'à cessation de précipité. Après avoir été bien lavé, le précipité est mis en suspension dans l'eau, puis décomposé par l'hydrogène sulfuré. On filtre ensuite pour éliminer le sulfure de plomb et l'on évapore la solution à petit volume.

Par refroidissement, il se forme des cristaux qu'on purifie par dissolution dans l'eau chaude et cristallisation.

Ces cristaux donnent les réactions de l'acide gallique.

Ils sont peu solubles dans l'eau froide, facilement solubles dans l'eau chaude. Ils se dissolvent également dans l'alcool et l'éther, difficilement dans ce dernier liquide. Ils sont insolubles dans le benzène. Ils colorent le

cyanure de potassium en rose. Leur solution aqueuse précipite les sels ferriques en bleu noirâtre. Elle ne précipite pas la gélatine.

II. *Acide gallique combiné.* — La solution aqueuse A, qui a été privée de l'acide gallique libre par agitation répétée avec de l'éther, est additionnée d'acide chlorhydrique en quantité telle que le liquide contienne 5 % d'acide, puis elle est soumise à l'ébullition pendant un quart d'heure. Après refroidissement, la solution acide est agitée à plusieurs reprises avec de l'éther, la solution étherée est distillée. Le résidu de la distillation est repris par l'eau. La solution aqueuse filtrée, puis concentrée, abandonne un corps que l'on purifie par cristallisation.

Ce corps est de l'acide gallique. Nous l'avons identifié comme plus haut.

Ainsi donc, la partie soluble dans l'eau de l'extrait acétonique contient, outre de l'acide gallique libre, de l'acide gallique combiné.

Pour rechercher l'acide gallique combiné dans la partie de l'extrait acétonique insoluble dans l'eau, nous avons opéré comme il suit.

Le résidu B, insoluble dans l'eau froide, est soumis à l'ébullition pendant deux heures avec de l'acide chlorhydrique à 5 %. Après refroidissement, le liquide, préalablement filtré, est agité avec de l'éther; celui-ci est distillé et le résidu de la distillation est repris par l'eau chaude. La solution étant refroidie, on la filtre et on la concentre.

On obtient ainsi des cristaux que l'on purifie par de nouvelles cristallisations.

Ces cristaux donnent les réactions de l'acide gallique.

D'après ce que nous venons de voir, la rhubarbe de Chine contient de l'acide gallique sous trois formes :

- 1° A l'état libre;
- 2° A l'état de composé soluble dans l'eau;
- 3° A l'état de composé insoluble dans l'eau.

Il est probable que la petite quantité d'acide gallique libre provient du dédoublement des deux autres composés.

RECHERCHE DES ACIDES CINNAMIQUE ET PARACOUMARIQUE.

Pour rechercher ces acides, nous avons préparé un extrait acétonique, comme pour la recherche de l'acide gallique.

Cet extrait séché est traité par l'eau bouillante; après refroidissement, le liquide est décanté et le résidu insoluble est soumis au même traitement jusqu'à ce que l'eau n'enlève presque plus rien.

Le produit brunâtre, d'aspect résineux, que l'on obtient ainsi est soumis à l'ébullition pendant deux heures avec de l'acide chlorhydrique à 5 %. Après refroidissement, le liquide est agité à plusieurs reprises avec de l'éther; l'éther est distillé.

Le produit de la distillation, dissous dans l'alcool faible, est additionné d'un excès de carbonate de baryum (1), puis évaporé à sec. On reprend la masse par l'eau, on filtre, on additionne la solution d'un excès d'acide chlorhydrique, puis on l'agite avec de l'éther.

Par distillation de la solution étherée, il reste un produit cristallisé que l'on purifie par sublimation.

Ce corps se dissout dans l'alcool, l'éther, le benzène et l'eau bouillante; par refroidissement, il cristallise. Il fond à 133°.

Oxydé par le permanganate, il dégage l'odeur caractéristique de l'aldéhyde benzoïque.

C'est donc bien de l'acide cinnamique.

Après avoir retrouvé les acides gallique et cinnamique et avoir constaté qu'ils se trouvaient principalement dans la rhubarbe à l'état de combinaison, nous avons cherché et nous sommes parvenu à isoler les corps aux dépens desquels ils se forment.

A la suite de différents essais, nous nous sommes arrêté à la méthode générale suivante.

MÉTHODE GÉNÉRALE D'ANALYSE DES TANNOÏDES DE LA RHUBARBE DE CHINE.

La rhubarbe (2) en poudre grossière est introduite dans un appareil à déplacement et extraite par l'acétone à froid, à cinq reprises, chaque fois à deux jours d'intervalle.

Les solutions acétoniques sont concentrées par distillation jusqu'à ce qu'elles aient une densité de 1,000.

Cette solution, vigoureusement agitée, est additionnée, petit à petit, d'abord de la moitié de son volume, d'un mélange à parties égales d'acétone et d'éther, puis d'éther pur, jusqu'à ce que le précipité, qui était primitivement volumineux, s'agglomère, devienne collant et semi-liquide. Cette précipitation exige environ un volume d'éther.

On laisse alors le mélange en repos pendant quelques heures, jusqu'à

(1) Ce procédé de purification au carbonate de baryum a déjà été employé par EIGEL, TSCHIRCH et PEDERSEN, loc. cit., p. 202.

(2) Toutes nos recherches ont été faites avec de la rhubarbe Shensi, provenant de chez Caesar et Loretz, à Halle.

ce que le liquide surnageant le précipité soit parfaitement clair; à ce moment, on le décante.

Cela nous donne un précipité I et une solution II.

Précipité I. — Celui-ci est formé principalement par des glucosides dérivés du méthylantrachinone. Nous n'avons pas à nous en occuper pour le moment.

Solution II. — On distille l'éther et une partie de l'acétone. Après refroidissement, on ajoute une quantité telle de ce dernier liquide, que la solution ait une densité de 1.000.

Cette solution, énergiquement agitée, est additionnée lentement, progressivement, d'abord de son volume d'un mélange d'une partie d'acétone et deux parties de benzène, puis de son volume de benzène pur. Cette addition provoque la formation d'un précipité constitué de gouttelettes, qui se réunissent bientôt au fond du ballon.

On abandonne alors le mélange au repos. Après deux ou trois jours, on voit généralement se former une couche cristalline blanchâtre qui tapisse les parois du ballon. Néanmoins cette couche blanchâtre n'apparaît quelquefois qu'après la deuxième ou la troisième précipitation.

Après quatre jours de repos, on décante soigneusement le liquide supérieur, qui doit être clair et limpide; quant au précipité liquide, on le dilue avec environ son volume d'acétone. Cette fois, le corps cristallin blanchâtre, dont nous venons de parler et qui avait passé dans la solution primitive, ne se dissout plus.

La solution acétonique, tenant en suspension le corps blanc, est précipitée, comme nous l'avons indiqué ci-dessus, d'abord par un mélange d'une partie d'acétone et de deux parties de benzène, puis par le benzène pur. On cesse l'addition de benzène lorsque le liquide supérieur est jaune brunâtre. Après quatre jours, on sépare soigneusement le liquide du précipité. Celui-ci est soumis, une troisième et une quatrième fois, au même traitement, c'est-à-dire qu'il est dissous dans l'acétone, puis précipité par le benzène. Finalement, on réunit les différentes solutions acétonobenzéniques.

Nous avons donc un précipité (III) et une solution (IV).

Précipité III. — Celui-ci est traité par l'acétone. La solution acétonique (IV) est filtrée. Il reste sur le filtre un corps blanc (V) que l'on lave parfaitement à l'acétone, puis que l'on sèche.

Nous décrirons plus loin ce produit. Pour le moment, nous l'appellerons A.

Solution IV. — On réunit les différentes solutions acétonobenzéniques, on distille l'acétone et la plus grande partie du benzène. On laisse ensuite refroidir, puis on sépare par décantation la solution benzénique (VIII) du précipité (VII). On lave le précipité, qui adhère au ballon, avec du benzène, on décante le liquide de lavage, puis on élimine, par distillation, le benzène qui mouille encore le précipité. On dissout maintenant celui-ci dans une petite quantité d'eau chaude et l'on verse lentement la solution, tout en agitant, dans dix fois son volume d'eau contenue dans un capsule chauffée au bain de vapeur. On continue à chauffer, pendant une demi-heure environ, en agitant fréquemment, puis on laisse refroidir et déposer jusqu'au lendemain. On décante alors la solution aqueuse et on la conserve. Quant au résidu insoluble, il est soumis une deuxième fois au même traitement par l'eau chaude. Le lendemain, on décante le liquide aqueux et on le réunit au premier.

Nous avons donc une solution aqueuse (X) et un résidu insoluble dans l'eau (IX).

La *solution aqueuse* (X) est filtrée, concentrée au bain de vapeur jusqu'à consistance légèrement sirupeuse, puis abandonnée au repos dans un endroit frais. Après quelques jours, on voit se former de petits cristaux blancs, soyeux. Lorsqu'ils n'augmentent plus en nombre, on les essore, on les lave à l'eau distillée et on les sèche.

Ce produit, que nous appellerons provisoirement B, sera étudié plus loin.

Le *résidu insoluble dans l'eau* (IX), après avoir été séché, est dissous dans quatre fois environ son poids d'acétone, la solution acétonique est additionnée de deux fois son volume d'éther, et le mélange est laissé au repos pendant quelque temps. Lorsque la solution (XII) s'est complètement séparée du précipité (XI), on la décante, on la filtre et on la distille jusqu'à consistance légèrement sirupeuse; le liquide est alors dilué avec quatre fois son volume d'acétone, puis précipité, d'abord par la moitié de son volume, d'un mélange à parties égales d'acétone et de benzène, puis par son volume de benzène pur. Le lendemain, lorsque le liquide est bien clair, on le décante soigneusement pour le séparer du précipité liquide qui s'est formé et on en distille la dixième partie environ.

L'acétone distillant la première, le liquide s'enrichit en benzène, ce qui donne lieu à la formation d'un précipité.

Après un jour de repos, on décante la solution acétonobenzénique et l'on en distille environ la huitième partie, ce qui produit un nouveau précipité.

Le liquide décanté est soumis au même traitement trois ou quatre fois, jusqu'à ce que l'acétone soit complètement éliminée et que la solution ne contienne plus que du benzène.

Nous avons donc maintenant une série de précipités qui se sont produits successivement dans un liquide de plus en plus riche en benzène. Ces précipités (1), qui ont été laissés dans les ballons dans lesquels ils se sont produits, sont séchés, puis additionnés d'une petite quantité d'éther acétique, suffisamment pour que le mélange ait une consistance légèrement sirupeuse.

Après un temps plus ou moins long, quelques heures ou quelques jours, suivant les circonstances, on voit se produire, dans le liquide provenant de l'un des derniers précipités formés, de fins petits cristaux blancs et, bientôt après, tout le liquide sirupeux se prend en une masse cristalline. Le même phénomène se produit successivement dans trois ou quatre ballons, ou même dans un plus grand nombre, suivant la façon dont la précipitation a été conduite.

Il ne faut pas se hâter de considérer l'opération comme terminée; il arrive souvent que les premiers précipités formés ne commencent à cristalliser qu'après cinq ou six jours.

Notons, cependant, que le tout premier précipité ne fournit généralement pas de cristaux.

Lorsque la cristallisation est terminée, ce qui demande environ sept à huit jours, on réunit les cristaux, on les essore et on les lave avec un mélange de quatre parties d'éther ordinaire et cinq parties d'éther acétique.

Le corps que l'on obtient ainsi, et que nous désignerons par C, sera étudié plus loin, en même temps que les deux autres que nous avons isolés.

On peut encore recueillir une certaine quantité du corps C par simple concentration des éthers acétiques de cristallisation, mais il est plus avantageux d'évaporer le tout à sec, de dissoudre le résidu dans l'acétone, puis de précipiter successivement par le benzène par le procédé que nous avons décrit plus haut, c'est-à-dire en distillant à plusieurs reprises une petite quantité du liquide. Les différents précipités obtenus sont ensuite traités par l'éther acétique.

Nous donnons, dans le tableau ci-après, le résumé de la méthode que nous venons d'exposer.

(1) Parmi les précipités formés en dernier lieu, il arrive souvent que l'un ou l'autre contienne déjà des cristaux du produit C.

TABLEAU GÉNÉRAL résumant la méthode d'analyse des tannoides de la rhubarbe de Chine.

L'extrait acétonique de la rhubarbe est précipité par l'éther.

PRÉCIPITÉ I.

Est formé principalement des glucosides dérivés du méthyl-anthrachinone.

SOLUTION II.

On distille l'éther et l'on précipite la solution acétonique par le benzène.

PRÉCIPITÉ III.

Il est traité par l'acétone.

SOLUTION IV.

On distille l'acétone et la plus grande partie du benzène.

RÉSIDU INSOLUBLE V.

Corps A.
Glucogalline.

SOLUTION VI.

Il est traité par l'eau chaude.

SOLUTION VIII.

Contient principalement les dérivés du méthylanthrachinone qui n'étaient pas combinés.

PRÉCIPITÉ IX.

Il est dissous dans l'acétone, la solution est précipitée par l'éther.

SOLUTION X.

Par concentration, elle donne le corps B.
Catichine.

SOLUTION XII.

On distille l'éther, on dissout le résidu dans l'acétone, on précipite la solution, en plusieurs fois, par le benzène.

PRÉCIPITÉ XI.

PRÉCIPITÉS XIII.

Ils sont additionnés d'éther acétique. On obtient des cristaux. Corps C.
Tétrarine.

SOLUTION XIV.

Analyse du corps A (*glucogalline*).

Pour purifier ce produit, il suffit de le faire cristalliser dans l'alcool méthylique. Toutefois, s'il est souillé par de grandes quantités de corps jaunes, il est avantageux de l'extraire d'abord, à plusieurs reprises, par l'acétone bouillant, qui dissout de préférence les produits jaunes, puis de le faire cristalliser dans l'alcool méthylique. On obtient ainsi un corps blanc formé de fins cristaux. Par cristallisation lente dans l'eau, on peut obtenir de gros cristaux.

Notre Collègue M. STÖBER a bien voulu se charger de la description de ces cristaux, ainsi que de ceux de deux autres corps dont nous parlerons plus loin.

Nous sommes heureux de pouvoir lui présenter ici nos plus vifs remerciements.

Glucogalline.

Cristaux très petits (0^{mm},1 à 0^{mm},2) ressemblant à première vue à de petits cubes; ils sont monocliniques

$$\beta = 103^{\circ}24'$$

Formes : $a = \{100\}$, $b = \{010\}$, $c = \{001\}$ (FIG. 1).

Les faces b et c sont lisses et brillantes, les faces a , au contraire, légèrement cannelées suivant l'axe vertical.

Macles suivant c (001) (FIG. 2).

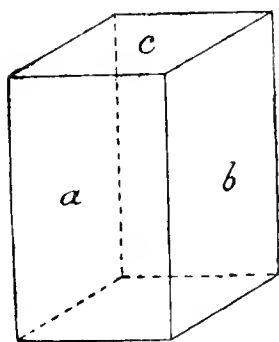


FIG. 1.

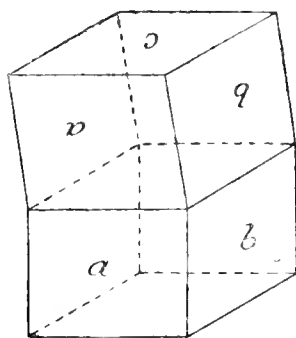


FIG. 2.

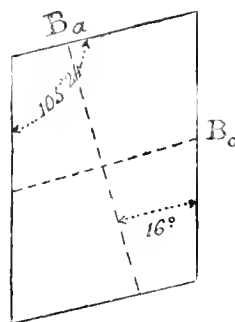


FIG. 3.

Clivage assez parfait suivant (010). Le plan des axes optiques est parallèle à (010) et la bissectrice aiguë forme avec l'axe vertical un angle de 16° (FIG. 3, coupe suivant b); sur les faces c , qui sont sensiblement perpendiculaires à la bissectrice aiguë, on voit, en lumière monochromatique, une figure d'interférence très nette. L'angle des axes optiques, mesuré dans l'air, sur les faces c , est d'environ 55° (lumière de sodium). Les cristaux sont optiquement négatifs. Les cristaux maclés s'éteignent sur (010) presque simultanément, puisque l'axe d'hémitropie est presque parallèle à un axe d'élasticité optique.

Ce corps est soluble dans l'alcool à 80 %, l'alcool méthylique et l'eau ; il est très peu soluble dans l'alcool absolu, l'acétone et l'éther acétique. Il est insoluble dans le chloroforme, le benzène et l'éther de pétrole.

Il se dissout facilement dans les alcalis caustiques et les carbonates alcalins.

La potasse caustique le colore en rouge brunâtre, le carbonate de soude en jaune brunâtre et l'ammoniaque en beau rouge rosé.

Avec les sels ferriques, il donne une coloration bleu noirâtre, et avec le cyanure de potassium (réaction de SYDNEY-YOUNG pour l'acide gallique), une coloration rose très pâle, qui n'est pas à comparer à celle que l'on obtient, dans les mêmes conditions, avec l'acide gallique.

La solution aqueuse est précipitée par les acétates neutre et basique de plomb ainsi que par l'émétique, mais elle ne précipite ni par la gélatine ni par l'albumine.

Sous l'action de la chaleur, il brunit, puis fond en se décomposant vers 200°.

Action des acides minéraux dilués, à l'ébullition, sur le corps A.

Pour étudier cette action, nous avons dissous 2 grammes du produit dans 100 centimètres cubes d'acide sulfurique dilué à 6 % et nous avons fait bouillir dans un appareil à reflux pendant une heure. Après refroidissement du liquide, nous l'avons agité, à plusieurs reprises, avec de l'éther.

Par distillation des liquides éthers, nous avons obtenu un produit blanc cristallin, ce qui prouve que le corps avait été décomposé.

Soupçonnant que nous nous trouvions en présence d'un glucoside, nous avons recherché le sucre. A cet effet, nous avons additionné la solution aqueuse acide d'un léger excès de carbonate de baryum en poudre, puis, après avoir chauffé, nous avons filtré la solution et nous l'avons évaporée à consistance sirupeuse.

Après quelques jours, le liquide a commencé à cristalliser et n'a pas tardé à se prendre complètement en une masse cristalline.

Ce produit présentait les caractères d'un sucre ; nous l'identifierons plus loin.

Une série d'essais, que nous croyons inutile de décrire ici, nous a démontré que le produit A se dédoublait facilement et que, pour le décomposer, il n'était nécessaire ni d'employer de l'acide sulfurique à 6 % ni de le soumettre à ébullition pendant une heure. De plus, nous avons reconnu

qu'on obtenait un produit beaucoup plus pur en employant, pour neutraliser l'acide sulfurique, le carbonate de plomb fraîchement précipité au lieu du carbonate de baryum.

Tenant compte de ces faits, nous avons décomposé une grande quantité du produit A, en le faisant bouillir pendant quelque temps avec de l'acide sulfurique très dilué, que nous avons neutralisé par le carbonate de plomb.

La méthode que nous avons suivie pour cette décomposition est, à peu de chose près, identique à celle que nous décrirons plus loin, à l'occasion du dosage des éléments constitutifs du produit A. Cette méthode donne des corps très purs.

Identification du produit soluble dans l'éther.

Ce produit possède une saveur légèrement acide et astringente. Il se dissout facilement dans l'eau chaude, difficilement dans l'eau froide. Par refroidissement de sa solution aqueuse, il cristallise en fines aiguilles, blanches, soyeuses.

Il est très soluble dans les alcools méthylique et éthylique, ainsi que dans l'acétone. Il se dissout difficilement dans l'éther, il est insoluble dans le benzène, tout au moins à froid.

Sa solution aqueuse est colorée en bleu noirâtre par les sels ferriques et en rose par le cyanure de potassium. Cette coloration, qui disparaît après quelque temps, réapparaît par simple agitation du liquide (réaction de SYDNEY-YOUNG). Chauffé au-delà de 200°, il brunît, fond et se décompose, en donnant naissance à un dégagement gazeux.

Ce sont là les réactions de l'acide gallique.

Ces résultats sont confirmés par le dosage de l'eau de cristallisation et par les combustions.

L'acide gallique cristallise, comme on sait, avec une molécule d'eau de cristallisation, qu'il perd à 100°. La perte de poids qu'il subit de ce chef est de 9,58 %, et nous avons trouvé comme moyenne des deux analyses suivantes : 9,595 %.

	I.	II
Substance séchée à 18°-20°	3,0376	2,1212
Perte à 100°	0,292	0,2032
Perte %	9,61	9,58

Les combustions ont été faites avec le produit séché à 100°. Voici les résultats qu'elles ont donnés :

	I.	II.	
Substance	0.2575	0.2664	
CO ₂	0.4659	0.4805	
Eau	0.0855	0.0879	
			Calculé pour :
			C ₇ H ₆ O ₅
C %	49.34	49.18	49.42
H %	3.68	3.66	3.53

Ce produit est donc bien de l'*acide gallique*.

Identification du produit soluble dans l'eau, insoluble dans l'éther.

Ce produit se présente en petits cristaux mamelonnés, d'un blanc légèrement jaunâtre. Pour l'avoir parfaitement blanc, il suffit de décolorer sa solution au charbon.

Séché à la température ordinaire, il fond vers 80°; séché à 50°, il fond vers 144°; chauffé plus fortement, il brunit, puis se charbonne en dégageant l'odeur de caramel.

Il possède une saveur sucrée; il est facilement soluble dans l'eau, à peine soluble dans l'alcool absolu, soluble dans l'alcool faible, insoluble dans l'éther.

Sa solution aqueuse présente les réactions suivantes :

Elle réduit énergiquement la liqueur cupro-potassique.

Elle donne un miroir métallique avec l'azotate d'argent ammoniacal en présence de la soude caustique.

Elle donne une coloration violette avec l' α naphтол et l'acide sulfurique.

Elle fait tourner vers la droite le plan de la lumière polarisée.

Additionnée de levure de bière, elle donne naissance à un abondant dégagement d'anhydride carbonique.

Chauffée pendant quelque temps au bain de vapeur avec du chlorhydrate de phénylhydrazine et de l'acétate de sodium, elle donne lieu à la formation d'un précipité jaune, formé de fines aiguilles cristallines.

Ce corps est donc incontestablement un sucre réducteur dextrogyre.

Pour identifier ce sucre, nous avons déterminé son pouvoir rotatoire spécifique, nous en avons préparé l'osazone et nous l'avons soumis à l'action de l'acide nitrique.

Détermination du pouvoir rotatoire spécifique.

Pour faire cette détermination, il importait d'avoir un produit de composition stable, et comme nous avons reconnu que le corps séché à la température ordinaire, en présence de l'acide sulfurique concentré, puis à 50°, perdait une certaine quantité d'eau, nous en avons fait le dosage et nous avons trouvé que cette quantité correspondait à une molécule d'eau pour un sucre de la formule $C_6H_{12}O_6 + H_2O$.

Cela résulte des chiffres que nous donnons ci-dessous :

	I.	II.	
Substance séchée à 18°-20°	1.7016	0.7098	
Perte à 50°	0.1546	0.0646	
			Calculé pour :
			$C_6H_{12}O_6 + H_2O$
Perte %	9.08	9.1	9.09

Nous avons fait deux déterminations, la première avec le produit séché à la température ordinaire, la seconde avec le produit séché à 50°.

Ces déterminations ont été faites entre 18° et 20° avec des solutions à 10 % et avec le tube de 20 centimètres. Le sucre présentant le phénomène de la multirotation, nous n'avons fait la lecture au polarimètre que vingt-quatre heures après la préparation de la solution.

Nous avons trouvé :

Pour le produit contenant une molécule d'eau $[\alpha]_D = 47.65$. Pour le produit anhydride $[\alpha]_D = 52.46$.

D'après TOLLENS (1), le pouvoir rotatoire spécifique du d. glucose déterminé dans les conditions dans lesquelles nous nous sommes placé est de 47.92 pour le produit hydraté et de 52.74 pour le produit anhydre.

Préparation de l'osazone.

On dissout 1 gramme de sucre, 2 grammes de chlorhydrate de phénylhydrazine et 3 grammes d'acétate de sodium dans 20 centimètres cubes d'eau et on chauffe la solution au bain de vapeur pendant une demi-heure.

L'osazone se précipite sous forme de fines aiguilles cristallines jaunes.

(1) TOLLENS : *Handbuch der Kohlenhydraten*, S. 45.

Après refroidissement du liquide, on amène le précipité sur un filtre, on le lave d'abord à l'eau distillée, puis à l'alcool faible, enfin on le fait cristalliser dans l'alcool.

Cette osazone fond vers 204°-205°. Toutefois, la façon de chauffer a une influence notable sur son point de fusion; si on chauffe lentement, elle fond plus bas.

Action de l'acide nitrique.

Recherche des acides saccharique et mucique.

On introduit dans une capsule 5 grammes du sucre, on ajoute 25 centimètres cubes d'acide nitrique D. 1.15 et l'on évapore lentement presque jusqu'à sec au bain de vapeur, on ajoute un peu d'eau et l'on évapore de nouveau jusqu'à ce que le liquide sirupeux commence à se colorer en brun, on le laisse alors refroidir et on l'abandonne au repos.

Le lendemain, on constate que la solution n'a pas changé d'aspect, elle ne contient pas de cristaux, ce qui dénote l'absence d'acide mucique.

Après avoir fait cette constatation, on additionne le liquide d'environ son volume d'eau, on le chauffe au bain de vapeur et on ajoute, petit à petit, du carbonate de potassium, jusqu'à ce que la réaction soit fortement alcaline. On ajoute alors un excès d'acide acétique, puis on laisse refroidir.

Après quelque temps, on voit se produire un abondant précipité cristallin de saccharate acide de potassium. On recueille les cristaux, on les essore, on les lave avec un peu d'eau et on les purifie par cristallisation dans l'eau chaude.

Pour préparer le saccharate d'argent, on dissout le sel acide de potassium dans l'eau chaude, on neutralise exactement la solution par l'ammoniaque, puis on la précipite par l'azotate d'argent. On amène le précipité sur un filtre, on le lave à l'eau distillée, puis on le sèche.

Nous avons dosé l'argent dans ce sel par simple incinération.

Voici les résultats de ces dosages :

	I.	II.	
Substance	0.3666	0.3214	
Argent	0.1858	0.1630	
			Calculé pour :
			$C_6H_8O_8Ag_2$
Argent %	50.69	50.71	50.87 %

Il est donc démontré que le sucre oxydé par l'acide nitrique fournit de l'acide saccharique.

Il résulte des caractères et des réactions que nous venons d'exposer que le sucre réducteur que nous avons isolé est du *d. glucose*.

Ce sucre était d'une pureté exceptionnelle.

Par l'action des acides dilués à l'ébullition, le *produit A* se dédouble donc en donnant de l'*acide gallique* et du *d. glucose*.

Nous l'avons appelé *glucogalline*.

Les déterminations et dosages suivants nous apprendront si l'*acide gallique* et le *d. glucose* sont les seuls corps qui se forment par dédoublement du produit, et dans l'affirmative, dans quel rapport ils sont unis.

Dosage de l'acide gallique.

On dissout 1 gramme de glucogalline dans 60 centimètres cubes d'acide sulfurique à 2 1/2 % et l'on fait bouillir la solution pendant dix minutes. Après refroidissement, on agite le liquide, à plusieurs reprises, avec de l'éther pur complètement dépourvu d'alcool. On cesse les agitations lorsque l'éther ne dissout plus rien; on distille alors les solutions étherées dans un ballon taré et on sèche le résidu de la distillation à 100° jusqu'à poids constant, puis on le pèse.

Ce résidu est formé d'acide gallique anhydre.

Voici les résultats de ces dosages :

	I.	II.
Substance.	1.226	1.100
Acide gallique	0.623	0.5613
Acide gallique %	50.81	51.02

Dosage du d. glucose.

On pourrait doser le sucre dans la solution aqueuse acide qui a servi au dosage de l'acide gallique, mais pour éviter les pertes résultant des agitations répétées avec l'éther, nous avons opéré sur une nouvelle partie de substance.

On décompose donc 1 gramme de glucogalline par l'acide sulfurique dilué, comme nous l'avons dit plus haut.

Lorsque la décomposition est terminée, on additionne la solution chaude, petit à petit, de carbonate de plomb fraîchement précipité. Lorsque tout dégagement d'anhydride carbonique a cessé, on chauffe encore quelque

temps et l'on s'assure que la réaction du liquide est neutre. On laisse alors refroidir la solution, puis on l'additionne de son volume d'alcool à 92°. Le lendemain, on la filtre, on évapore l'alcool et l'on s'assure, au moyen de l'hydrogène sulfuré, qu'elle ne contient plus de plomb; au besoin, on filtre. On introduit ensuite la solution claire dans une capsule tarée, on l'évapore jusqu'à consistance légèrement sirupeuse, puis on l'abandonne à la température ordinaire.

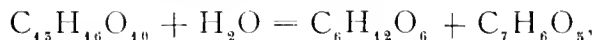
Après quelque temps, la cristallisation commence; lorsqu'elle est terminée, on sèche le produit, d'abord à la température ordinaire en présence de l'acide sulfurique concentré, puis à 50°.

Le glucose que l'on obtient ainsi est anhydre.

Résultats des dosages :

	I.	II.
Substance	0.8452	1.0654
Glucose	0.4559	0.5760
Glucose % ₀	53.94	54.06

Si la glucogalline se dédouble d'après l'équation



nous aurions dû trouver :

Glucose	54.21 % ₀
Acide gallique.	51.20 % ₀

et nous avons trouvé en moyenne :

Glucose	54.00 % ₀
Acide gallique.	50.92 % ₀

Ces résultats démontrent que la glucogalline se dédouble sous l'influence des acides dilués à l'ébullition, en donnant une molécule d'acide gallique et une molécule de d. glucose, à l'exclusion de tout autre corps.

Il nous reste à donner les résultats des combustions et des déterminations cryoscopiques.

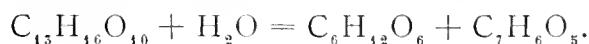
	I.	II	III.	
Substance	0.2683	0.2736	0.2612	
CO ₂	0.4604	0.4700	0.4484	
Eau	0.1224	0.1265	0.1186	
				Calculé pour :
				C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀
C % ₀	46.79	46.84	46.86	46.98
H % ₀	5.06	5.13	5.01	4.81

Ces résultats confirment ceux des dosages.

Déterminations cryoscopiques :

	I.	II.
Eau	14,9336	14,6318
Congélation	4°,105	4°,105
Substance	0,457	0,6014
Congélation de la solution	3°,930	3°,883
Poids moléculaire	323	342
Poids moléculaire théorique	»	332

L'ensemble des résultats de ces dosages et déterminations nous permet de conclure avec certitude que la *glucogalline* a pour formule $C_{15}H_{16}O_{10}$ et qu'elle résulte de l'union d'une molécule de *d. glucose* et d'une molécule d'*acide gallique*, avec perte d'une molécule d'eau. Hydrolysée, elle se dédouble d'après l'équation suivante :



Analyse du corps B (*catéchine*).

Le corps B, obtenu par la méthode que nous avons décrite page 382, n'est pas pur. Il est souillé par des produits brunâtres, dont on ne parvient pas à le débarrasser par cristallisation dans l'eau, ces produits étant solubles à chaud et se précipitant par refroidissement.

Pour le purifier, on le dissout dans l'eau chaude et l'on additionne le liquide, petit à petit, tout en agitant, d'une solution diluée d'acétate basique de plomb. On arrête l'addition de réactif lorsque le liquide, qui était primitivement brun foncé, est devenu jaune clair. On filtre alors la solution chaude et on la traite par un excès d'hydrogène sulfuré à chaud. On filtre une deuxième fois pour séparer le sulfure de plomb produit, puis on laisse refroidir.

On voit bientôt se former des petits cristaux blancs qui finissent par envahir tout le liquide. Le lendemain, on essore les cristaux et on les lave à l'eau. Finalement, on les purifie par plusieurs cristallisations dans l'eau additionnée de quelques gouttes d'acide acétique.

Le corps purifié par ce procédé est parfaitement blanc. Il est formé de fines aiguilles cristallines. Chauffé, il se ramollit lentement, progressivement; il devient transparent vers 167° C, mais il ne coule pas. Il se boursoufle et se décompose vers 175° C.

Il est facilement soluble dans l'eau chaude, l'acétone et l'alcool; peu

soluble dans l'eau froide et l'éther; insoluble dans le benzène. Les sels ferriques colorent sa solution aqueuse en vert.

Le produit séché à l'air libre, puis, dans le vide, en présence de l'acide sulfurique concentré, a perdu, après deux jours, 19,92 % de son poids. Il est alors anhydre, car on peut ensuite le chauffer à 100° et même à 120° sans qu'il subisse de perte de poids. La chaleur n'est cependant pas sans action sur lui, car si on le chauffe pendant quelque temps dans l'étuve à eau, il prend une coloration rougeâtre et devient moins soluble dans l'acide acétique glacial.

En présence du chlorure de calcium, il perd lentement son eau de cristallisation. Il faut environ dix jours pour qu'il soit complètement anhydre.

Les premières propriétés que nous venons de signaler — aspect des cristaux, caractères de solubilité, coloration de la solution par les sels ferriques — indiquaient la *catéchine*.

Pour l'identifier avec certitude, nous avons soumis une partie du produit à la distillation sèche.

Cette opération nous a fourni de la *pyrocatechine*. Nous avons, en effet, obtenu un corps volatil, cristallisant facilement en longues aiguilles, soluble dans l'eau, l'alcool et l'éther. Après plusieurs cristallisations dans le benzène, il fond à 104°. Sa solution aqueuse est colorée en vert par les sels ferriques.

Les combustions faites avec le produit séché à la température ordinaire dans le vide, en présence de l'acide sulfurique concentré, ont donné les résultats suivants :

	I.	II.	III.	
Substance	0.3180	0.3261	0.3236	
CO ₂	0.7189	0.7367	0.7357	.
Eau	0.1466	0.1494	0.1473	
				Calculé pour :
				C ₁₈ H ₁₄ O ₆
C %	61.64	61.60	61.99	62.07
H %	5.12	5.08	5.05	4.83

Les déterminations cryoscopiques ont été faites avec le produit séché à la température ordinaire, dans les mêmes conditions que pour les combustions. Elles nous ont donné les résultats suivants :

	I.	II.
Acide acétique	16.5218	14.4490
Congélation	3 ^o ,668	3 ^o ,675
Substance	0.3818	0.2696
Congélation de la solution	3 ^o ,404	3 ^o ,438
Poids moléculaire	317	306
Poids moléculaire de C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290	»

Jusque dans ces derniers temps, on était loin d'être d'accord sur la formule de la *catéchine*. On lui avait successivement attribué une vingtaine de formules différentes (1).

Aujourd'hui, grâce à une série de travaux qui ont été publiés à peu près simultanément par KOSTANECKI et TAMBOR (2), PERKIN et YOSHITAKE (3), KARNOWSKI et TAMBOR (4) et KOSTANECKI et KREMBS (5), on peut considérer la formule C₁₅H₁₄O₆ comme définitivement établie.

Nos résultats confirment du reste pleinement ceux de ces auteurs, car nous étions arrivé à la même formule qu'eux, sans avoir eu connaissance de leurs travaux, ceux-ci ayant paru tout dernièrement, alors que cette partie de notre travail était déjà achevée.

Notre catéchine séchée à l'air libre contient, comme nous l'avons démontré plus haut, une certaine quantité d'eau de cristallisation. Maintenant que la formule de la catéchine anhydre est établie, il nous reste à déterminer avec combien de molécules d'eau elle cristallise. Les dosages de l'eau, dont nous donnons ci-dessous les résultats, nous renseigneront à ce sujet.

	I.	II.	
Substance séchée à l'air libre.	1.6392	0.7196	
Perte dans le vide en présence d'acide sulfurique	0.3265	0.1436	
			Calculé pour :
			C ₁₅ H ₁₄ O ₆ + 4H ₂ O
Perte % ₀	19.92	19.96	19.89

Le produit séché à l'air libre contient donc 4H₂O.

(1) Voir H. RUPE : *Die Chemie der natürlichen Farbstoffe*, p. 299.

(2) KOSTANECKI und TAMBOR : *Zur Kenntniss des Katechins*; Ber. Deutsch Chem. Ges., 24 Mai 1902, Nr 10.

(3) A. G. PERKIN und E. YOSHITAKE : *Bestandteile des Gambier und Acacia Katechu*; Proceedings Chem. Soc., 12. Juni 1902, Bd XVIII, SS. 139-140. — *Bestandteile des Acacia- und Gambierkatechins*; J. Chem. Soc. London, LXXI, 1660-1673, Aug.

(4) KARNOWSKI und J. TAMBOR : *Zur Kenntniss des Katechins*; Ber. Deutsch. Chem. Ges., 12. Juli 1902, Bd XXXV, SS. 2048-2049.

(5) ST. V. KOSTANECKI und R. G. KREMBS : *Zur Kenntniss des Katechins*; 12. Juli 1902, Bd XXXV, SS. 2410-2411.

Une question se pose maintenant. Existe-t-il plusieurs catéchines et, dans l'affirmative, la catéchine de la rhubarbe de Chine peut-elle être identifiée avec l'une de celles que l'on connaît?

GAUTHIER (1) a décrit les cinq catéchines suivantes :

	FORMULES :	POINTS DE FUSION :
Catéchine du bois d'acajou . . .	$C_{42}H_{54}O_{16}$	164°-165°
Id. du cachou brun. . .	$C_{42}H_{56}O_{16}$	140°
Id. du cachou jaune . . .	$C_{42}H_{56}O_{16}$	188°-190°
Id. A du Gambir . . .	$C_{40}H_{38}O_{16}$	204°-205°
Id. B id. . . .	$C_{42}H_{58}O_{16}$	176°-177°
Id. C id. . . .	$C_{40}H_{38}O_{16}$	163°

KOSTANECKI et TAMBOR (2) n'ont étudié qu'une seule catéchine qu'ils s'étaient procurée dans le commerce. Ils ont trouvé qu'elle avait pour formule $C_{15}H_{14}O_6 + 4H_2O$.

A.-G. PERKIN et E. YOSHITAKE (3) prétendent avoir isolé trois catéchines isomères ne se distinguant les unes des autres que par leur point de fusion et leur contenu en eau de cristallisation.

La *catéchine A*, $C_{15}H_{14}O_6 + 3H_2O$, se rencontre dans le *cachou* véritable provenant de divers *acacias*. Elle fond à 204°-205°.

La *catéchine B*, $C_{15}H_{14}O_6 + 4H_2O$, provient des *gambirs*. Elle fond à 175°-177°.

La *catéchine C*, $C_{15}H_{14}O_6$, cristallise sans eau de cristallisation. Elle est contenue également dans les *gambirs*. Elle fond à 235°-237°.

Il existe donc probablement plusieurs *catéchines*. La chose cependant ne nous paraît pas suffisamment démontrée, la catéchine perdant facilement son eau de cristallisation et subissant aisément des modifications, dont la nature ne nous est pas encore connue.

La catéchine que nous avons isolée de la rhubarbe de Chine est donc identique à celle que l'on rencontre dans les cachous et les gambirs, et si ces produits en contiennent réellement plusieurs, elle s'identifie avec la b. catéchine de PERKIN et YOSHITAKE.

A notre connaissance, on n'a jamais signalé la présence de la catéchine dans les végétaux contenant d'autres tannoïdes que l'acide cachoutannique, produit qui se forme aux dépens de la catéchine, probablement par déshydratation.

(1) GAUTHIER : *Sur les catéchines*; Comptes rendus de l'Académie des sciences, Paris, 1878, p. 671.

(2) ST. V. KOSTANECKI und P. TAMBOR : *Loc. cit.*, S. 1867.

(3) A. G. PERKIN et YOSHITAKE : *Loc. cit.*

L'acide cachoutannique accompagnant toujours la catéchine, la rhubarbe doit également en contenir une certaine quantité, tout au moins après dessiccation.

Analyse du corps C (*tétrarine*).

Pour obtenir ce produit complètement pur, il suffit de le faire cristalliser deux ou trois fois dans l'éther acétique. Mais il est plus avantageux de le dissoudre dans l'acétone et d'ajouter de l'éther ordinaire, petit à petit, pour précipiter une matière colorante brunâtre. On arrête l'addition d'éther lorsque la solution est à peu près incolore. On filtre alors la solution, on élimine l'éther par distillation, on ajoute de l'éther acétique, puis on distille l'acétone.

Il reste donc finalement une solution dans l'éther acétique. Par refroidissement, elle cristallise. On recueille les cristaux et on les lave avec un mélange d'éther ordinaire et d'éther acétique, comme nous l'avons dit dans la méthode générale d'analyse.

Obtenu par cristallisation dans l'éther acétique, ce produit, que nous appellerons à l'avenir *tétrarine*, se présente sous forme d'un corps pulvérulent parfaitement blanc, formé de fins cristaux microscopiques.

On peut l'obtenir en cristaux plus volumineux et bien formés en le dissolvant dans l'acétone et en le précipitant dans sa solution par addition d'éther ou de benzène. On doit arrêter l'addition de liquide précipitant dès qu'on voit apparaître un léger trouble. La cristallisation commence bientôt et se poursuit lentement.

Les cristaux dont la description suit ont été obtenus par ce dernier procédé.

Tétrarine :

Tablettes en apparence rectangulaires, très minces; leur épaisseur est inférieure à 0^{mm},05; elles sont en réalité tricliniques, mais se rapprochent beaucoup de la symétrie monoclinique.

$$\alpha = 89^{\circ}11', \quad \beta = 105^{\circ}32', \quad \gamma = 123^{\circ}9'.$$

$$a : b : c = 0,915 : 1 : ?$$

$$\text{Formes : } a = \{100\}, \quad b = \{010\}, \quad c = \{001\}, \quad m = \{1\bar{1}0\} \quad (\text{FIG } 4).$$

$$\text{Angles : } (100) : (001) = 71^{\circ}54';$$

$$(100) : (0\bar{1}0) = 124^{\circ}19';$$

$$(100) : (1\bar{1}0) = 55^{\circ}23';$$

$$(001) : (1\bar{1}0) = 79^{\circ}11';$$

$$(0\bar{1}0) : (001) = 99^{\circ}18' \text{ (calculé } \cdot 99^{\circ}27').$$

Les cristaux ont une tendance au développement hémédrique, car les faces (010) (110) sont ordinairement, en partie au moins, remplacées par une surface courbe fortement inclinée sur l'axe vertical. Les faces c , m , b , sont planes et brillantes, mais les faces a sont le plus souvent ondulées ou cannelées.

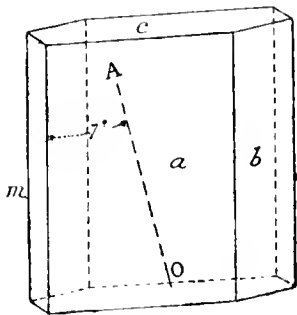


FIG. 4.

Clivage suivant (100). Le plan des axes optiques paraît être perpendiculaire à (100) et sa trace sur (100) forme avec l'axe vertical un angle de 7° (FIG. 4, A-O); un axe optique est presque perpendiculaire à (100). Les axes sont rapprochés; leur angle mesuré dans l'air sur les faces a est de 33° . Dispersion des axes optiques : $> v$; optiquement négative.

La *tétrarine* est facilement soluble dans l'alcool à 80° , dans l'alcool méthylique et dans l'acétone. Elle est moins soluble dans l'alcool absolu et l'éther acétique. Elle est insoluble dans l'eau, l'éther, le chloroforme, le benzène et l'éther de pétrole. Elle se dissout dans les solutions de soude caustique et dans l'ammoniaque. Elle fond en se décomposant vers 204° - 205° .

Action des acides minéraux dilués à l'ébullition sur la tétrarine.

Cette action est particulièrement intéressante à étudier; c'est elle, en effet, qui nous a dévoilé la nature du produit. En milieu aqueux, cette action est lente. Pour décomposer 2 grammes du produit par l'acide sulfurique à 7.5 %, il faut prolonger l'ébullition pendant quinze heures.

Nous avons reconnu que la décomposition était beaucoup plus rapide en solution méthylique faible et nous nous sommes arrêté au procédé suivant.

On dissout 5 grammes du produit dans 100 centimètres cubes d'alcool méthylique, on ajoute 150 centimètres cubes d'acide sulfurique à 10 % et on fait bouillir, dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant, pendant trois heures.

On distille ensuite le liquide jusqu'à ce que les gouttelettes qui se réunissent à la partie inférieure du tube du réfrigérant deviennent laiteuses, ce qui indique que l'alcool méthylique est éliminé. Ce trouble est dû à de l'acide cinnamique, soluble dans l'alcool méthylique, peu soluble dans l'eau, et qui est entraîné à la distillation par la vapeur.

Pour ne pas perdre ce produit, on additionne la solution méthylique distillée d'un excès de soude caustique, on chasse l'alcool méthylique par évaporation dans une capsule, puis on ajoute la solution alcaline à la solution aqueuse acide qui n'a pas distillé.

Cette dernière solution, qui doit encore posséder une réaction fortement acide, est agitée à plusieurs reprises avec de l'éther, jusqu'à ce que ce dissolvant n'enlève plus rien.

Nous avons ainsi une solution aqueuse acide (I) et une solution éthérée (II).

ANALYSE DE LA SOLUTION AQUEUSE (I).

Recherche du sucre.

Cette solution est chauffée au bain de vapeur, puis additionnée, petit à petit, d'un léger excès de carbonate de plomb fraîchement précipité. Lorsque la solution est complètement refroidie, on y ajoute un volume d'alcool à 92° et on laisse déposer. Le lendemain, on filtre, on élimine l'alcool par distillation, on s'assure au moyen de l'hydrogène sulfuré que le liquide ne contient plus de plomb; au besoin, on filtre. Enfin, on concentre la solution jusqu'à consistance légèrement sirupeuse et on l'abandonne au repos. Elle ne tarde pas à se transformer complètement en une masse cristalline.

Ce corps possède une saveur sucrée. Il se dissout dans l'eau et l'alcool faible. Sa solution aqueuse est dextrogyre, elle fermente, elle réduit la liqueur cupro-potassique et fournit les autres réactions des sucres réducteurs (voir p. 388).

Identification du sucre.

Pour identifier ce sucre, nous avons opéré de la même manière que pour le glucose provenant du dédoublement de la glucogalline, c'est-à-dire que nous avons déterminé son pouvoir rotatoire spécifique, nous en avons préparé l'osazone et nous l'avons oxydé par l'acide nitrique.

Détermination du pouvoir rotatoire spécifique.

Nous avons employé pour cette détermination le sucre provenant des dosages, parce qu'il était plus pur et, de plus, nous l'avons préalablement décoloré au charbon.

Nous nous sommes placé dans les mêmes conditions que pour le sucre provenant de la glucogalline.

Nous avons obtenu :

Pour le produit anhydre : $[\alpha]_D = 49,20$.

Après cristallisation du sucre dans l'alcool méthylique, nous avons trouvé $[\alpha]_D = 52,12$.

Rappelons que, d'après TOLLENS, le pouvoir rotatoire spécifique du d. glucose anhydre est de 52.74.

Préparation de l'osazone.

Pour le procédé de préparation, voir page 389.

L'osazone obtenue fond à 204°-205°.

Action de l'acide nitrique.

Recherche des acides saccharique et mucique.

Pour le mode opératoire, voir page 390.

Les dosages de l'argent dans le saccharate ont donné les résultats suivants :

	I.	II.	
Substance.	0.1856	0.2588	
Argent.	0.0940	0.1314	
			Calculé pour :
			$C_6H_8O_8Ag_2$
Argent % ₁₀	50.65	50.77	50.87

Ce sucre est donc le même que celui que nous avons retrouvé dans les produits de décomposition de la *glucogalline*, c'est du *d. glucose*.

ANALYSE DE LA SOLUTION ÉTHÉRÉE (II).

On distille complètement l'éther et l'on reprend le résidu de la distillation, à plusieurs reprises, par le benzène à chaud. Après refroidissement complet des solutions benzéniques, on les filtre et on les réunit.

Ce traitement nous fournit un résidu insoluble dans le benzène (III) et une solution benzénique (IV).

ANALYSE DU RÉSIDU INSOLUBLE DANS LE BENZÈNE (III).

Ce produit se dissout facilement dans l'eau chaude et, par refroidissement de sa solution, il cristallise en fines aiguilles.

Sa solution aqueuse se colore en bleu noirâtre par les sels ferriques et en rose par le cyanure de potassium.

Il donne les autres réactions de l'acide gallique (voir p. 387).

Les combustions, dont nous donnons les résultats ci-dessous, ont été faites avec le produit purifié par cristallisation dans l'eau et séché à 100°. Il était donc anhydre.

	I.	II.	
Substance.	0.2556	0.2696	
CO ₂	0.4613	0.4878	
Eau	0.0847	0.0893	
			Calcule pour :
			C ₇ H ₆ O ₈
C %	49.21	49.33	49.42
H %	3.68	3.68	3.53

Ce corps est donc bien de l'acide gallique.

ANALYSE DE LA SOLUTION BENZÉNIQUE (IV).

On distille le benzène, on dissout le résidu de la distillation dans l'alcool, on ajoute un peu d'eau, puis un excès de carbonate de baryum et l'on évapore à sec dans une capsule. Finalement, on pulvérise le produit et on l'extrait par l'éther.

Nous avons maintenant un résidu insoluble dans l'éther (V) et une solution étherée (VI).

ANALYSE DU RÉSIDU INSOLUBLE DANS L'ÉTHÉR (V).

On extrait ce résidu par l'eau bouillante, on filtre la solution et, après refroidissement, on l'additionne d'un léger excès d'acide chlorhydrique, puis on l'agite à plusieurs reprises avec de l'éther.

Par distillation de la solution étherée, on obtient un produit blanc jaunâtre que l'on purifie par sublimation.

Ce corps se présente en cristaux blancs, lamellaires. Il est peu soluble dans l'eau froide, plus soluble dans l'eau bouillante et cristallise en paillettes par refroidissement de cette solution. Il se dissout facilement dans l'alcool, l'éther et le benzène.

Il est entraîné par la vapeur d'eau à l'ébullition.

Il fond à 133°.

Chauffé avec une solution diluée de permanganate de potasse et de l'acide sulfurique, il dégage l'odeur caractéristique de l'aldéhyde benzoïque.

Les combustions du produit nous ont donné les résultats suivants :

	I.	II.	
Substance.	0.2845	0.2761	
CO ₂	0.7591	0.7361	
Eau	0.1432	0.1393	
			Calculé pour :
			C ₉ H ₈ O ₂
C %	72.76	72.70	72.97
H %	5.59	5.60	5.50

Ce corps est donc incontestablement de l'acide cinnamique.

Analyse de la solution étherée (VI) (*rhéosmine*).

Par distillation de la solution, on obtient un produit qui reste liquide pendant quelque temps, puis cristallise en longues aiguilles. Lorsque la cristallisation commence, elle se poursuit rapidement; en quelques instants, elle est terminée et le fond du ballon ou de la capsule est tapissé de fines aiguilles blanches, soyeuses, d'un aspect irisé tout particulier.

Le produit est très peu soluble dans l'eau; il se dissout plus à chaud qu'à froid. Par refroidissement de la solution, le produit se précipite partiellement sous forme de fines gouttelettes; mais, après quelque temps, on voit se former de longues aiguilles cristallines incolores et transparentes. Par cristallisation dans le benzène, on obtient des cristaux plus gros.

Les cristaux qui sont décrits ci-dessous ont été obtenus en solution benzénique.

Rhéosmine :

Aiguilles rhombiques allongées suivant l'axe vertical, mais ordinairement très minces (0^{mm},05 à 0^{mm},15) :

$$a : b : c = 0,886 : 1 : ?$$

$$\text{Formes : } m = \{110\}, \quad b = \{010\} \quad (\text{FIG } 5).$$

$$\text{Angle : } (110) : (\bar{1}10) = 83^{\circ}8'.$$

Les cristaux relativement épais ne montrent pas les facettes b (010).

Le plan des axes optiques est perpendiculaire à l'allongement et la bissectrice aiguë est la normale à (010); les axes optiques apparaissent nettement sur les faces m (110); l'angle de ces axes, mesuré dans l'air sur les faces m , est de 80° (lumière de sodium).

Le produit est très soluble dans les alcools méthylique et éthylique, dans l'acétone et dans l'éther, moins soluble dans le benzène, insoluble dans l'éther de pétrole. Il est également insoluble dans les carbonates alcalins, mais il se dissout dans les alcalis caustiques. On peut le précipiter de ces solutions par l'anhydride carbonique.

Il fond à 75°,5. Chauffé plus fort, il distille.

Obtenu comme nous venons de le dire, il possède une odeur particulière peu prononcée, rappelant la rhubarbe de Chine; mais si l'on purifie le produit par le bisulfite (comme nous le dirons plus loin), on constate que cette odeur disparaît presque complètement; celle qui persiste est très faible; elle rappelle plutôt la coumarine.

Cette odeur provient-elle de la présence d'un corps étranger ou est-elle due à l'altération du produit lui-même? Pour le moment, il ne nous est pas possible

de nous prononcer. Nous reviendrons plus tard sur ce point.

Les combustions du produit ont donné les résultats suivants :

	I.	II.	III.	
Substance.	0.2849	0.2532	0.2536	
CO ₂	0.7571	0.6729	0.6743	
Eau	0.1908	0.1726	0.1716	
				Calculé pour :
				C ₁₀ H ₁₂ O ₂
C %	72.46	72.47	72.50	73.17
H %	7.44	7.57	7.51	7.31

Ces résultats correspondent le mieux à la formule C₁₀H₁₂O₂.

Déterminations cryoscopiques.

Nous avons employé d'abord l'acide acétique glacial.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

	I.	II.	III.
Acide acétique	15.688	14.9674	14.911
Congélation	3°,685	3°,685	3°,497
Substance	0.2952	0.6110	0.508
Congélation	3°,292	2°,850	2°,770
Poids moléculaire	186	190	187
Poids moléculaire calculé pour C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164		

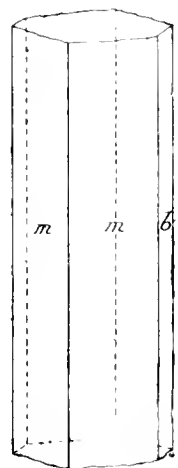


FIG. 5.

Ces résultats nous paraissant trop élevés, nous avons recommencé une nouvelle série d'opérations en prenant comme dissolvant le benzène.

Voici les résultats auxquels nous sommes arrivé dans ces conditions :

	I.	II.
Benzène	13.456	14.271
Congélation	4°,790	4°,432
Substance	0.4046	0.3792
Congélation de la solution	4°,298	4°,000
Poids moléculaire	152	153.7
Poids moléculaire calculé pour $C_{10}H_{12}O_2$	164	

Pour les calculs, nous avons dû prendre $K = 25$, comme il convient généralement de le faire pour les corps contenant un hydroxyle. En prenant $K = 50$, nous arrivions à un poids moléculaire de plus de 300, ce qui n'était pas possible.

On voit que les combustions et les déterminations cryoscopiques ne nous ont pas donné des résultats très satisfaisants. Nous pourrions en donner la raison plus loin, lorsque nous connaîtrons les propriétés de ce corps.

Il nous a été impossible d'identifier ce produit avec aucun des nombreux corps organiques connus. Nous nous trouvons donc en présence d'un corps nouveau ; nous l'avons appelé *rhéosmine* (1).

Constitution de la rhéosmine.

Il n'entre pas dans nos intentions d'étudier ici, d'une façon complète, la constitution de la *rhéosmine*, ce qui nous entrainerait trop loin. Nous nous réservons de revenir plus tard sur ce sujet.

Nous pouvons cependant déjà affirmer, dès maintenant, que la *rhéosmine* contient un groupement aldéhydique. Les faits suivants le prouvent.

La *rhéosmine* réduit énergiquement et avec production de miroir mé-

1) Au moment où nous avons publié une communication préliminaire (*Revue pharm.*, juillet 1902), dans laquelle nous avons employé, pour la première fois, le nom de *rhéosmine*, nous n'avions pas encore constaté que le traitement par le bisulfite faisait presque complètement disparaître l'odeur du produit.

tallique l'azotate d'argent ammoniacal en présence de la soude caustique (réactif de TOLLENS).

Elle se combine au bisulfite de sodium pour donner un composé cristallisé, qui se dédouble sous l'influence de l'acide sulfurique ou du carbonate de soude et régénère la *rhéosmine*.

Elle se combine à l'hydroxylamine pour donner une oxime.

Elle colore en rose violacé les solutions de fuchsine décolorées par l'anhydride sulfureux. Toutefois, la coloration est beaucoup moins intense que celle que l'on obtient avec d'autres aldéhydes.

Dans certaines conditions, elle donne naissance à de petites quantités de produits bruns, d'aspect résineux, insolubles dans le benzène. Or, on connaît la grande tendance de beaucoup d'aldéhydes à se résinifier.

Ce que nous savons de la constitution de la *rhéosmine* nous permet d'expliquer les résultats médiocres des combustions et des déterminations cryoscopiques.

En effet, les aldéhydes sont des corps éminemment aptes à se transformer par oxydation, polymérisation, condensation, etc., et l'on sait combien il est difficile d'obtenir certaines aldéhydes à l'état de pureté parfaite. Il est donc rationnel d'admettre que le produit que nous avons brûlé et dont nous avons déterminé la grandeur moléculaire était déjà partiellement transformé.

L'étude de l'oxime confirme cette manière de voir et nous permettra de vérifier l'exactitude de la formule $C_{10}H_{12}O_3$ que nous avons donnée plus haut.

Préparation de l'oxime.

Pour préparer l'oxime, nous avons dissous deux parties de rhéosmine dans une solution diluée de soude caustique et, après dissolution, nous avons ajouté de l'eau de façon à avoir vingt parties de liquide, auquel nous avons ajouté une solution d'une partie de soude caustique et d'une partie de chlorhydrate d'hydroxylamine dans vingt parties d'eau.

Après quarante-huit heures, le liquide, préalablement filtré, a été saturé par un courant d'anhydride carbonique, puis agité avec de l'éther. Celui-ci a dissous l'oxime, qui avait été mise en liberté par l'anhydride carbonique. La solution étherée a été distillée et le résidu dissous dans l'eau chaude. Après refroidissement, la solution aqueuse filtrée a été abandonnée

à l'évaporation dans le vide. L'oxime ne tarde pas à cristalliser. Lorsque la cristallisation est terminée, les cristaux sont amenés sur un filtre, lavés avec un peu d'eau et finalement séchés.

L'oxime se présente en cristaux lamellaires, blancs, brillants, peu solubles dans l'eau, facilement solubles dans l'alcool et l'éther.

Voici les résultats des combustions et des dosages d'azote. Ces derniers ont été faits par la méthode de DUMAS.

Combustions :

	I.	II.	
Substance.	0.2004	0.2307	
CO ₂	0.4913	0.5660	
Eau	0.1364	0.1558	
			Calculé pour :
			C ₁₀ H ₁₅ NO ₂
C %	66.85	66.90	67.03
H %	7.56	7.50	7.26

Dosage de l'azote :

	I.	II.	
Substance.	0.3013	0.3075	
Azote en volume	20.1 cm ⁵	21 cm ⁵	
	(à 19°, barom. 760)	(à 18°, barom. 760)	
Azote en poids	0.0236	0.0243	
			Calculé pour :
			C ₁₀ H ₁₅ NO ₂
Azote	7.83	7.90	7.82

Ces résultats démontrent l'exactitude de la formule C₁₀H₁₅O₂ que nous avons attribuée à la rhéosmine.

Nous venons de voir que la rhéosmine contient le groupement $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{—C—H} \end{array}$, caractéristique des aldéhydes, mais nous savons qu'elle contient deux oxygènes; le second atome d'oxygène pourrait bien appartenir à un OH phénolique. En effet, la rhéosmine se colore en rouge par le réactif de MILLON, elle se dissout dans les alcalis caustiques, et l'anhydride carbonique la précipite de ces solutions.

Ce ne sont là, évidemment, que des indications, et nous nous gardons bien de nous prononcer pour le moment.

TABLEAU résumant la méthode suivie pour la recherche des produits de décomposition de la tétrarine.

La solution aqueuse acide contenant les produits de décomposition de la tétrarine est agitée avec de l'éther.

<p>SOLUTION AQUEUSE I.</p> <p>Est traitée par le carbonate de plomb, etc.</p> <p><i>d. glucose.</i></p>	<p>SOLUTION ÉTHÉRÉE II.</p> <p>Est distillée.</p> <p>Le résidu est traité par le benzène.</p>
<p>SOLUTION BENZÉNIQUE III.</p> <p>Est distillée. Le résidu est repris par l'eau, additionné de carbonate de baryum, puis extrait par l'éther.</p>	<p>RÉSIDU INSOLUBLE IV.</p> <p>Est purifié par cristallisation dans l'eau.</p> <p><i>Acide gallique.</i></p>
<p>SOLUTION ÉTHÉRÉE V.</p> <p><i>Rhéosmine.</i></p>	<p>RÉSIDU INSOLUBLE VI.</p> <p>Est traité par l'eau. Puis la solution est additionnée d'un acide, et agitée avec de l'éther.</p> <p><i>Acide cinnamique</i></p>

D'après ce que nous venons de voir, les acides dilués à l'ébullition décomposent donc la *tétrarine* en quatre corps bien définis : *acide cinnamique*, *acide gallique*, *rhéosmine* et *d. glucose*. Mais ces corps sont-ils les seuls qui se forment? N'en avons-nous laissé échapper aucun? Pour élucider ces questions et afin de pouvoir établir incontestablement la formule d'après laquelle s'effectue la décomposition, nous avons fait le dosage des quatre produits que nous avons isolés.

DOSAGES DES PRODUITS DE DÉCOMPOSITION DE LA TÉTRARINE : D. GLUCOSE, ACIDE GALLIQUE, ACIDE CINNAMIQUE ET RHÉOSMINE.

Décomposition de la tétrarine.

Pour éviter les actions secondaires, nous avons préféré effectuer la décomposition en milieu aqueux, sans addition d'alcool méthylique.

On introduit donc 2 grammes de *tétrarine* en poudre fine et 150 centimètres cubes d'acide sulfurique à 7 1/2 %, dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant et l'on fait bouillir le mélange jusqu'à ce que le produit soit entièrement dissous, ce qui exige quinze heures environ.

Par refroidissement, l'acide cinnamique cristallise. Sans se préoccuper de ces cristaux, on agite la solution à plusieurs reprises avec de l'éther complètement dépourvu d'alcool, jusqu'à ce qu'il ne dissolve plus rien, ce qui demande une dizaine d'agitations.

Nous avons ainsi une solution aqueuse acide qui contient le *glucose* et une solution étherée qui renferme les acides *gallique*, *cinnamique* et la *rhéosmine*.

Dosage du d. glucose.

La solution aqueuse acide est introduite dans un vase conique chauffé au bain de vapeur et additionnée, petit à petit, de carbonate de plomb fraîchement précipité.

Lorsque le liquide est neutre, on le laisse refroidir, on l'additionne d'un volume d'alcool à 92°, puis on l'abandonne au repos jusqu'au lendemain. On filtre alors le liquide, on élimine l'alcool par distillation et, après s'être assuré qu'il ne précipite plus par l'hydrogène sulfuré, qu'il ne contient donc plus de plomb, on l'introduit dans une capsule tarée et on l'évapore jusqu'à consistance légèrement sirupeuse. On le laisse en repos jusqu'à ce que la cristallisation soit terminée, puis on le sèche, d'abord dans le vide en présence de l'acide sulfurique concentré, puis à 50° jusqu'à poids constant.

Résultats de ces dosages :

	I.	II.
Substance.	2.000	2.152
Glucose	0.5552	0.5818
Glucose %	27.76	27.03

Dosage de l'acide gallique.

On distille la solution étherée, on dissout le résidu de la distillation dans l'acétone, on ajoute du benzène, enfin, on distille complètement l'acétone, de sorte qu'il reste une solution benzénique. Après refroidissement complet, on filtre la solution et lave le résidu insoluble, à plusieurs reprises, avec du benzène. La solution benzénique contient l'acide cinnamique et la

rhéosmine; le résidu insoluble est formé d'acide gallique souillé par quelques impuretés brunâtres qui paraissent devoir être des produits de décomposition de l'acide gallique et du sucre.

On dissout l'acide gallique impur dans l'eau chaude, on laisse refroidir la solution, on la filtre, puis on l'évapore dans une capsule tarée. On sèche le produit de l'évaporation, d'abord à la température ordinaire, puis à 100° jusqu'à poids constant, finalement on le pèse.

Le produit ainsi obtenu est de l'acide gallique anhydre.

Résultats de ces dosages :

	I.	II.
Substance	2.000	2.152
Acide gallique	0.4876	0.5218
Acide gallique %	24.38	24.24

Dosage de l'acide cinnamique.

On distille la solution benzénique qui contient l'acide cinnamique et la rhéosmine, on dissout le résidu de la distillation dans l'éther et l'on agite vigoureusement cette solution, pendant dix minutes environ, avec une solution de carbonate de soude à 10 %.

L'acide cinnamique passe en solution aqueuse, la rhéosmine reste en solution dans l'éther.

On sépare exactement la solution aqueuse alcaline de la solution étherée et on l'additionne, petit à petit, d'un excès d'acide chlorhydrique.

On agite alors la solution aqueuse acide à plusieurs reprises avec de l'éther, jusqu'à ce que celui-ci n'enlève plus rien. On distille l'éther, on sèche le résidu de la distillation à la température ordinaire et on le pèse.

La distillation de la solution étherée et la dessiccation de l'acide cinnamique sont des opérations qui doivent être faites avec beaucoup de précaution, ce corps se volatilisant avec une extrême facilité.

Résultats de ces dosages :

	I.	II.
Substance	2.000	2.152
Acide cinnamique	0.4824	0.5079
Acide cinnamique %	24.12	23.60

Dosage de la rhéosmine.

Pour faire ce dosage, il suffit de recueillir soigneusement la solution étherée qui a été agitée avec le carbonate de soude, de la distiller, de sécher et de peser le résidu.

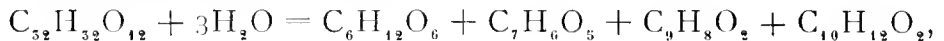
Résultats de ces dosages :

	I.	II.
Substance	2.000	2.152
Rhéosmine	0.5214	0.560
Rhéosmine %	26.07	26.02

Voici les moyennes des résultats des dosages des divers corps qui se forment par hydrolyse de la tétrarine.

Sucre.	27.39 %
Acide gallique.	24.31 %
Acide cinnamique	23.86 %
Rhéosmine	26.04 %

En admettant que les acides dilués à l'ébullition décomposent la tétrarine d'après l'équation suivante :



nous aurions dû trouver théoriquement :

Sucre.	29.60 %
Acide gallique.	27.96 %
Acide cinnamique	24.34 %
Rhéosmine	26.97 %

Les résultats de nos analyses s'accordent parfaitement avec les exigences de la théorie si l'on tient compte, d'abord des causes d'erreur inhérentes à ces sortes de dosages et, surtout, du fait que, par suite de l'action prolongée de l'acide sulfurique à chaud, les produits du dédoublement doivent avoir été partiellement décomposés, et, en réalité, nous constatons que ce sont les corps les plus altérables, l'acide gallique et le sucre, qui nous ont donné les résultats les plus faibles.

Les acides dilués à l'ébullition décomposent donc la *tétrarine* en fournissant exclusivement du *d. glucose*, de l'*acide gallique*, de l'*acide cinnamique* et de la *rhéosmine*. Ce glucoside résulte donc de l'union d'une molécule de chacun de ces corps avec perte de trois molécules d'eau ; par conséquent, il doit avoir pour formule : $C_{32}H_{32}O_{12}$.

Cette manière de voir est du reste confirmée par les combustions et les déterminations cryoscopiques dont nous donnons les résultats ci-dessous.

Combustions :

	I.	II.	III.	
Substance.	0.3404	0.3034	0.2922	
CO ₂	0.7835	0.6974	0.6751	
Eau	0.1671	0.1503	0.1435	
				Calculé pour :
				C ₃₂ H ₃₂ O ₁₂
C %	62.76	62.68	63.00	63.15
H %	5.45	5.50	5.46	5.26

Déterminations cryoscopiques :

	I.	II.
Acide acétique	14.347	13.208
Congélation	3°,512	3°,538
Substance.	0.4134	0.4556
Congélation de la solution.	3°,332	3°,318
Poids moléculaire	624	611
Poids moléculaire calculé pour C ₃₂ H ₃₂ O ₁₂	608	

Il est donc bien établi que la *tétrarine* a pour formule C₃₂H₃₂O₁₂ et que les acides dilués à l'ébullition la dédoublent suivant l'équation que nous avons donnée plus haut.

A côté des tannoïdes purs et bien définis que nous avons isolés et que nous venons de décrire, nous avons également constaté la présence dans la rhubarbe de Chine d'un produit correspondant à l'acide rhéotannique de KUBLY, au tannoglucoside de TSCHIRCH.

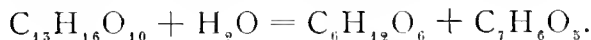
Nous avons préparé ce produit par divers procédés sans parvenir à le faire cristalliser, et les analyses que nous en avons faites nous ont démontré que nous n'avions pas affaire à un produit pur, mais à un mélange. Dans ces circonstances, nous nous sommes momentanément abstenu de l'étudier, estimant que les résultats d'analyses faites dans ces conditions sont nécessairement sujets à caution.

CONCLUSIONS.

Le prétendu tanin de la rhubarbe de Chine n'est pas un corps unique, comme on l'avait cru jusque dans ces derniers temps. Sa composition, au contraire, est des plus complexe.

Au courant des recherches que nous venons d'exposer, nous en avons isolé trois corps purs, parfaitement définis : une *catéchine* et deux glucosides nouveaux, que nous avons appelés *glucogalline* et *tétrarine*. Cette dernière nous a donné par dédoublement un autre corps nouveau : la *rhéosmine*.

1° *Glucogalline* : $C_{15}H_{16}O_{10}$. — Ce glucoside se dédouble par hydrolyse en *d. glucose* et *acide gallique* d'après l'équation suivante :



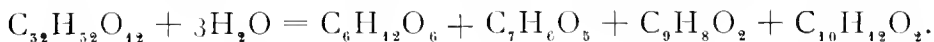
L'existence d'un glucoside de l'acide gallique a été soupçonnée dans divers végétaux, mais jusqu'ici on n'était pas parvenu à l'isoler à l'état pur.

La solution aqueuse de la glucogalline ne précipite ni la gélatine ni l'albumine ; ce n'est donc pas un tanin au sens restreint du mot.

Ses réactions de colorations sont de nature à la faire confondre avec l'acide gallique et le gallocatéchine. Si elle est en réalité contenue dans certains végétaux, elle pourrait bien avoir induit en erreur plus d'un chimiste, et surtout plus d'un botaniste.

2° *Tétrarine* : $C_{32}H_{32}O_{12}$. — Ce glucoside est particulièrement intéressant, par sa complexité d'abord (1), et par la nature de ses constituants ensuite. Sous l'influence des acides dilués à l'ébullition, il se décompose en quatre corps différents : *d. glucose*, *acide gallique*, *acide cinnamique* et *rhéosmine*. Celle-ci est une aldéhyde qui n'avait pas encore été isolée jusqu'ici. Elle a pour formule $C_{10}H_{12}O_2$.

La décomposition de la tétrarine se fait d'après l'équation suivante :



Catéchine. — Celle-ci a pour formule : $C_{15}H_{14}O_6 + 4H_2O$. Elle est identique à celle ou à l'une de celles que l'on rencontre dans les cachous et les gambirs.

La *glucogalline* et la *tétrarine* sont les deux premiers glucotannoïdes que l'on ait obtenus à l'état cristallisé et pur. Les corps de cette classe qui

(1) Jusqu'ici on ne connaissait pas de glucoside se dédoublant en donnant naissance à quatre corps définis.

ont été décrits jusqu'ici sont tous amorphes et la plupart ne sont probablement que des mélanges plus ou moins complexes.

Nous attirons l'attention des biologistes sur la coexistence dans le même organe végétal de *tannoïdes* appartenant à trois groupes différents : au groupe de l'*acide gallique*, la *glucogalline* et la *tétrarine*, au groupe du *styrolène*, la *tétrarine*, et au groupe de l'*acide protocatéchique*, la *catéchine*.

Ce fait, qui n'a pas encore été observé, est intéressant au double point de vue du mode de formation des tannoïdes et de l'interprétation de leur rôle physiologique. En effet, il nous paraît de nature à démontrer que les tannoïdes appartenant à ces différents groupes ne sont pas aussi éloignés les uns des autres qu'on le croit généralement, puisqu'ils peuvent se former en même temps et exactement dans les mêmes conditions.

La présence de dérivés de l'acide gallique dans la rhubarbe de Chine rend vraisemblable l'hypothèse de la formation des dérivés de l'anthrachinone aux dépens des tannoïdes. Nous ne pouvons en dire plus pour le moment. La voie est ouverte à de nouvelles recherches dans cette direction.

La présence de l'acide cinnamique dans la rhubarbe de Chine et dans l'aloès des Barbades (1), qui contiennent l'une et l'autre des dérivés de l'anthrachinone, est-elle due au hasard, ou bien cet acide intervient-il soit directement, soit indirectement dans la formation de ces dérivés? Nous ne saurions nous prononcer pour le moment. Toutefois, le fait nous a paru digne d'être signalé.

La découverte des corps nouveaux que nous venons de décrire permettra d'expliquer l'action thérapeutique de la rhubarbe de Chine avec plus de précision qu'on ne l'a fait jusqu'ici.

Cette action est très différente de celle du sené, de l'aloès, du cascara sagrada, drogues qui contiennent également des dérivés du méthylantrachinone possédant des propriétés purgatives (2).

La rhubarbe de Chine jouit, comme on sait, de propriétés purgatives et astringentes; les premières doivent être attribuées aux dérivés du méthylantrachinone, les secondes aux tannoïdes.

Il nous paraît probable qu'elle possède, en outre, des propriétés antiseptiques qu'il faudrait attribuer principalement à la tétrarine ou à ses produits de décomposition.

(1) L'aloès du Cap contient un acide voisin de l'acide cinnamique, l'acide paracoumarique, qui est l'acide paraoxycinnamique.

(2) Voir TSCHIRCH : *Versuch einer Theorie der organischen Abfuhrmittel welche Oxymethylantrachinone enthalten*, Schweiz. Wochenschr. für Chem. und Pharm., 1898, N° 23.

Tels sont, brièvement résumés, les principaux résultats de nos recherches sur les tannoïdes de la rhubarbe de Chine.

Nous espérons que les faits précis que nous apportons contribueront au progrès de la connaissance des tannoïdes et des tanins, et pourront rendre quelque service aux sciences biologiques et médicales.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1. *Claude Bernard* : Phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux. Paris, 1878-1879.
2. *Pottevin* : Sur la constitution du gallotanin; Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris, 1901, p. 704.
3. *Kunz-Krause* : Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenstoffe; Pharm. Centralh., Nr 23, Juni 1898.
4. *L. Braemer* : Les tannoïdes. Introduction critique à l'histoire physiologique des tanins. Toulouse, 1890.
5. *Kubly* : Chemische Studien der Rhabarberwurzel; Archiv der Pharm., 1868, S 7.
6. *A. Tschirch und K. Heuberg* : Untersuchungen über den Chinesischen Rhabarber; Schw. Wochenschr. für Chem. und Pharm., 21. Juni 1902, S. 282.
7. *E Gilson* : De la présence des acides gallique et cinnamique dans la rhubarbe de Chine; Revue pharmaceutique, juillet 1902.
8. *Id.* Les principes actifs de la rhubarbe; Ibid., juin 1898.
9. *Tschirch und Pedersen* : Beiträge zur Kenntniss der Aloe; Archiv der Pharm., Bd CCCXXVI, 3. Heft, 1898, S. 200.
10. *Tollens* : Handbuch der Kohlenhydrate.
11. *H. Rupe* : Die Chemie der natürlichen Farbstoffe. Braunschweig, 1900.
12. *Kostanecki und J. Tambor* : Zur Kenntniss des Catechins; Ber. deutsch. chem. Ges., Nr 10, 24. Mai 1902.

13. *A. G. Perkin und E. Yoshitake* : Bestandteile des Gambirs und Acacia Katechu; Proceedings Chem. Soc., vol. XVIII, pp. 139-140, 12 June 1902
14. *Id.* J. Chem. Soc., vol. LXXXI, pp. 1160-1173, août 1902.
15. *Karnowski und J. Tambor* : Zur Kenntniss des Katechins; Ber. deutsch. chem. Ges., Bd XXXV, SS. 2408-2409, 12. Juli 1902.
16. *St. von Kostanecki und R. G. Krembs* : Zur Kenntniss des Katechins; Ibidem, Bd XXXV, SS. 2410-2411, 12. Juli 1902.
17. *Gauthier* : Sur les catéchines; Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris, 1878, p. 671.
18. *Hunkel* : Beitrag zur Chemie des Rhabarbers; Pharmac. Archives, Bd III, pp. 201-216; Ann. Arbor. Mich. Pharmac. Schule d. Univ. v. Mich.; Chem. Centralbl., 1901, Bd I, S. 414.
19. *Tschirch* : Versuch einer Theorie der organischen Abführmittel welche Oxymethylanthrachinone enthalten; Schw. Wochenschr. für Chem. und Pharmac., 1898, Nr 23.
-

TABLE DES MATIÈRES.

	PAGES.
Introduction	371
Aperçu historique	373
Tannins et tannoides	373
Le tannin de la rhubarbe de Chine	375
RECHERCHES PERSONNELLES	376
Recherche de l'acide gallique	378
Recherche des acides cinnamique et paracoumarique	379
Méthode générale d'analyse des tannoides de la rhubarbe	380
TABLEAU RÉSUMANT LA MÉTHODE D'ANALYSE	384
ANALYSE DU CORPS A (<i>Glucogalline</i>)	385
Action des acides minéraux dilués, à l'ébullition, sur le corps A	386
Identification du produit soluble dans l'éther	387
Identification du produit soluble dans l'eau, insoluble dans l'éther	388
Détermination du pouvoir rotatoire spécifique du sucre	389
Préparation de l'osazone	389
Action de l'acide nitrique sur le sucre. Recherche des acides saccharique et mucique	390
Dosage de l'acide gallique dans la glucogalline	391
Dosage du d. glucose dans la glucogalline	391
ANALYSE DU CORPS B (<i>catechine</i>).	393
ANALYSE DU CORPS C (<i>tétrarine</i>).	397
Action des acides minéraux dilués à l'ébullition sur la tétrarine	398
Analyse de la solution aqueuse I. — Recherche du sucre	399
Identification du sucre	399
Détermination du pouvoir rotatoire spécifique	399
Préparation de l'osazone	400
Action de l'acide nitrique sur le sucre. Recherche des acides saccharique et mucique	400
Analyse de la solution étherée II	400
Analyse du résidu insoluble dans le benzène III (<i>acide gallique</i>)	400
Analyse de la solution benzénique IV	401
Analyse du résidu insoluble dans l'éther V (<i>acide cinnamique</i>)	401
Analyse de la solution étherée VI (<i>rhéosmine</i>).	402
Constitution de la rhéosmine	404
Préparation de l'oxime	405
TABLEAU RÉSUMANT LA MÉTHODE SUIVIE POUR LA RECHERCHE DES PRODUITS DE DÉCOMPOSITION DE LA TÉTRARINE	407
Dosage des produits de décomposition de la tétrarine.	407
Décomposition de la tétrarine	407
Dosage du glucose.	408
Dosage de l'acide gallique.	408
Dosage de l'acide cinnamique	409
Dosage de la rhéosmine	410
Conclusions	412
Index bibliographique	415

L'Élément nucléinien

PENDANT LES CINÈSES DE MATURATION DES SPERMATOCYTES

CHEZ

Batrachoseps attenuatus

ET

Pletodon cinereus

PAR

F. A. JANSSENS

&

R. DUMEZ

PROFESSEUR

ASSISTANT

A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN

AU LABORATOIRE D'ANATOMIE COMPARÉE

(Mémoire déposé le 15 avril 1903.)

L'Élément nucléinien

PENDANT LES CINÈSES DE MATURATION DES SPERMATOCYTES

CHEZ

BATRACHOSEPS ATTENUATUS et PLETODON CINEREUS

INTRODUCTION.

Il paraît peut-être superflu de revenir encore sur un sujet aussi universellement étudié que les phénomènes de la spermatogénèse chez les batraciens. Les divisions de maturation en particulier ont été traitées tant de fois et dans un si grand nombre d'espèces que nous ne nous serions pas décidés à entreprendre de nouveau ce même travail si, en parcourant le mémoire de EISEN (1900) sur la spermatogénèse du *Batrachoseps*, nous n'avions été frappés de certains détails qui nous paraissaient assez extraordinaires pour mériter une revision. D'ailleurs, dans un travail tout récent, THOS. H. MONTGOMERY (oct. 1902) remet cette question à l'ordre du jour en présentant une explication nouvelle, du moins dans l'histoire des batraciens. Grâce à l'obligeance de Monsieur le Dr H. LEBRUN, nous avons pu nous procurer les animaux nécessaires pour ce travail; nous nous faisons un devoir de le remercier pour l'obligeance avec laquelle il a mis son précieux matériel à notre disposition.

Nous devons faire remarquer que notre intention n'est aucunement de présenter ici une description complète et détaillée de tout le cycle d'évolution des cellules sexuelles mâles, mais de rectifier quelques points dans l'histoire des cinèses de maturation telle qu'elle a été faite par EISEN et MONTGOMERY. De plus, l'étude des stades préparatoires à ces cinèses et du synapsis des repos n'étant pas encore complètement terminée, sera réservée pour un travail ultérieur. Nous nous limitons donc à l'élément nucléinien des cinèses de maturation.

Les testicules de *Batrachoseps* que nous avons eus à notre disposition ont été fixés au liquide de GILSON, au liquide de FLEMMING et à la solution

forte de CARNOY et LEBRUN. Ces liquides, les deux derniers surtout, se sont montrés très bons fixateurs pour notre objet, et en particulier la liqueur au chloroforme a donné des préparations d'une finesse extrême. Par contre, le liquide de EISEN ne nous a pas fourni de résultats convenables. Les cellules sont très fort rétractées sur des préparations d'objets - fixés - au chlorure d'iridium; elles sont détachées les unes des autres et laissent entre elles de grands vides. Ceci peut avoir une certaine utilité pour faire apparaître les limites cellulaires, mais l'avantage est largement compensé par l'état *empâté* de tous les éléments cellulaires. Les tassements polaires entre autres n'ont jamais de netteté. On y trouve toujours des masses plus ou moins confluentes et indéchiffrables analogues à celles figurées par EISEN (1901). Les coupes faites après enrobage à la paraffine ont été généralement colorées à la méthode de HEIDENHAIN suivie de rouge Congo. Pour l'étude des plus fins détails, nous nous sommes servis des meilleurs instruments, des objectifs apochromatiques de ZEISS, du condensateur achromatique à immersion de BECK, du bull's-eye aplanatique de BAKER et d'un filtre de lumière à l'acétate de cuivre (1). Les dessins qui accompagnent notre note ont tous été faits par l'un de nous dans ces conditions, de même que les photographies ont été prises avec les mêmes instruments et le même éclairage. Sauf pour la méthode de fixation, nous nous sommes de cette façon rapprochés le plus possible des conditions dans lesquelles EISEN a travaillé.

I. Préparation à la première cinèse.

Il nous serait pour le moment absolument impossible de décrire et d'interpréter toute l'évolution de l'élément nucléinien dans les auxocytes depuis la télophase de la dernière cinèse spermatogoniale jusqu'à la prophase de la première division de maturation. Nos observations sur toute cette période de la spermatogénèse, qui précède la première apparition de l'élément nucléinien et qui correspond aux stades synapsis décrits dans les plantes et beaucoup d'animaux, ne sont pas assez complètes pour nous permettre une interprétation satisfaisante des figures si discutées qu'on y

(1) Nous préparons l'acétate de la façon suivante : on fait une solution concentrée à chaud d'acétate de cuivre et on y ajoute un peu d'acide tartrique, on laisse refroidir et reposer pendant plusieurs jours, puis on ajoute deux volumes de glycérine, qui dissout le tartrate de cuivre et communique au liquide une teinte bleue plus parfaite. Le liquide est employé dans l'aigu qui a été détrempé par l'un de nous dans son travail sur les tritons.

rencontre. Pour le moment, nous désirons communiquer au lecteur quelques nouvelles observations ainsi que quelques remarques sur leur description et leur explication d'après le travail de EISEN et celui de MONTGOMERY.


Nous ne pouvons cependant passer sous silence un fait qui nous avait frappé depuis longtemps tant dans les tritons que dans le *Batrachoseps* et que nous venons de retrouver avec une plus grande évidence dans le *Pleodon cinereus*. Dans les premiers stades de la formation des anses du bouquet, les filaments nucléiniens commencent à s'épaissir à partir du pôle nucléaire tourné vers la sphère. Plus profondément, on trouve, comme l'a décrit JANSSENS (1901), une masse nucléaire encore indéchiffrable. Il arrive que les chromosomes naissants sont en relation avec deux filaments différents à la limite de cette masse. Parfois, ces derniers semblent entrer dans le chromosome et devoir le constituer. Cette apparence est particulièrement évidente dans le PHOT. 40 et surtout 41 en *1 a* et *b*. Cette disposition rappelle quelque peu certaines figures de SCHÖNFELD. Si de telles apparences se retrouvaient dans beaucoup de chromosomes en formation et si on pouvait poursuivre la soudure graduelle de ces filaments à travers les stades subséquents, on serait peut-être amené à admettre que ces deux filaments constituant les chromosomes sont ceux qu'on voit reparaitre lors du clivage longitudinal des anses du bouquet. Ce serait un acheminement vers une solution objective du phénomène de la réduction. Notre opinion n'est pas entièrement faite à ce sujet, mais pour le moment nous estimons que certaines observations positives sont contraires à cette interprétation. Tout d'abord, ces figures sont loin d'être ordinaires; elles sont même rarement aussi claires. En second lieu, souvent un chromosome aboutit à deux filaments qui sont sur le prolongement l'un de l'autre, PHOT. 40 et 41, 2. En outre, un chromosome naissant est parfois en relation avec plusieurs filaments, de telle manière qu'il devient très difficile à l'observateur de faire un choix, 3 et 4, PHOT. 41. Enfin, et ceci est plus grave, dans l'évolution subséquente, on voit souvent l'un des deux filaments prendre le dessus sur l'autre, PHOT. 42, chrom. 1, *A b*. Nous n'en pouvons dire davantage actuellement. Nous attendons du matériel nouveau pour nous éclairer sur cette question.

A. *Stade de bouquet parfait.*

Le stade que EISEN (1900) désigne sous ce nom est caractérisé d'après lui par les particularités suivantes : au pôle du noyau opposé à celui occupé par la sphère se trouvent des masses compactes de matière chromatophile

désignées par lui sous le nom de « chromoplastes ». De ces masses partent douze « leaders » ou chromosomes. Ils traversent le noyau suivant des lignes parallèles et vont se terminer *librement* au pôle du noyau du côté de la sphère. Voici d'ailleurs la description que cet auteur donne lui-même de ce stade dans le dictionnaire qui termine son mémoire : « Bouquet Stage. — The spireme leaders have contracted and formed twelve segments of about equal size, one end of which is attached to the chromoplast, the other being free, and ending in the vicinity of the spheres, thus forming a figure resembling a bouquet » (1900, p. 96).

EISEN est le premier qui ait décrit longuement le stade du bouquet dans les spermatocytes ou auxocytes mâles des batraciens. Il a le mérite d'avoir appelé l'attention sur un stade très important et très long de l'évolution de ces éléments. Sa description de ce stade (p. 32) ainsi que la figure schématique qu'il en donne sont malheureusement très fautives et nous craignons beaucoup qu'il n'en reste rien après des études consciencieuses et impartiales. Pour le moment, nous voulons relever deux points importants de cette description : 1^o combien trouve-t-on de « leaders » de EISEN dans les auxocytes de *Batrachoseps*? 2^o comment ces productions se terminent-elles dans le noyau tant du côté de son pôle que du côté opposé?

1^o Si nous examinons des coupes de cellules qui passent suivant l'axe du noyau, donc parallèlement aux « leaders » de EISEN, nous sommes frappés du grand nombre de ces derniers. PHOT. 1, 2, 3 Il est cependant toujours malaisé sur des coupes pareilles de se faire une idée exacte du nombre de « leaders » aboutissant au pôle, parce qu'ils se cachent souvent mutuellement et se trouvent dans des plans différents. De plus, il est difficile de savoir si le noyau qu'on examine se trouve entièrement dans la coupe qu'on considère. Ce triple inconvénient disparaît quand on étudie une coupe équatoriale d'un noyau coupant les « leaders » transversalement. A un examen superficiel, on est déjà convaincu que le nombre des bâtonnets coupés dépasse de beaucoup la douzaine, PHOT. 5 et FIG. 1. Le nombre des sections oscille dans un grand nombre de coupes examinées autour du chiffre 24. On en trouve très fréquemment 18 à 22, souvent 23 ou 24, parfois 26. Le chiffre 26 représenté dans la FIG. 1 est quelque peu intrigant. Il s'explique cependant par ce fait que parfois ces filaments, au lieu d'être tout droits, sont courbes. Il suffit que cette courbure prenne la forme d'un  pour que la coupe puisse l'entamer trois fois. Dès ce moment, le chiffre s'interprète très facilement. Quand on examine des

noyaux coupés parallèlement aux - leaders -, on trouve parfois des filaments décrivant une courbe semblable dans leur trajet à travers le noyau, PHOT. 3.

Il est donc absolument certain qu'au stade du bouquet parfait on trouve dans les auxocytes mâles de *Batrachoseps* 24 - leaders - dirigés vers la sphère de la cellule. L'un de nous (1) a déjà attiré l'attention sur la discordance entre cette numération et celle de EISEN. Au moment où ces pages s'écrivaient, il n'avait pas le *Batrachoseps* à sa disposition pour le comparer aux tritons et aux salamandres. Nous pouvons dire maintenant que le *Batrachoseps* n'est pas un batracien aberrant à ce point de vue, mais qu'il rentre dans la règle générale (JANSSENS, 1901, fig. 33).

2° Y a-t-il donc 24 chromosomes dans les auxocytes mâles des batraciens? Non, évidemment. Les - leaders - de EISEN ne sont en effet pas l'homologue d'un chromosome. Ces bâtonnets se réunissent deux à deux dans le fond distal du noyau et il se forme ainsi 12 anses dont les branches sont tournées du côté de la sphère cellulaire. L'un de nous a décrit longuement cette disposition dans le triton et la salamandre. Elle constitue certainement le caractère le plus distinctif des spermatocytes de premier ordre ou des auxocytes mâles dans les batraciens. Alors que dans les cellules somatiques (spermatogonies) les anses chromatiques tournent leur côté courbe vers la sphère, ici les anses sont orientées par leurs branches vers le reste de la figure achromatique, ou le pôle de la dernière figure cinétique.

Depuis, KINGSBURY (1902), qui ne semble pas avoir eu connaissance du travail de JANSSENS, a retrouvé la même disposition dans un batracien américain, le *Desmognathus fusca*. Si cet ouvrage a réellement été fait sans aucune idée préconçue, il confirme absolument notre manière de voir. Voici comment cet auteur s'exprime à la p. 113 : - ... and, in the bouquet - stage, instead of twelve - leaders - there are twenty-four, as may be seen - from the transsection, fig. 4. In other words, one - wreath - does not - represent two chromosomes joined by a chromoplast, but a single chromosome bent in the forme of a horseshoe - .

Les - leaders - de EISEN sont donc certainement en continuité deux à deux dans le fond du noyau. Ils ne vont nullement se perdre là dans une masse chromoplastique qui leur donne naissance, comme le veut EISEN. Nous comptons revenir dans un travail ultérieur sur la valeur et le rôle des - chromoplastes - de cet auteur.

Mais nous pouvons nous demander maintenant si du côté de la sphère

(1) JANSSENS, 1901, p. 75.

les branches des anses restent indépendantes. Ceci semble absolument hors de doute pour EISEN.

KINGSBURY (1962) soutient *la même chose* : les chromosomes chez le *Desmognathus* tournent leurs deux extrémités libres au moins à *la fin* vers la sphère ou - idiosome - et leur courbure se trouve au pôle opposé sans cependant plonger dans une masse chromoplastique : - Their free ends, - typically at least, are toward the idiozome, so that they form a more or - less irregular horseshoe (p. 112). - Il suivait d'ailleurs en cela la manière de voir de MONTGOMERY (1909, p. 352) chez le *Peripatus* (1).

Nous ne pouvons pas admettre cette manière de voir chez le *Batrachoseps*. Nous avons, en effet, observé une continuité parfaite entre les divers - leaders - au pôle des noyaux au stade bouquet. Il est très difficile de poursuivre les - leaders - qui viennent s'attacher à la membrane même du noyau : le filament nucléinien s'infléchit brusquement à cet endroit et revient vers le fond du noyau en se tenant presque parallèlement à la branche descendante. Nous sommes parvenus à rendre cet aspect d'une façon assez claire sur le PHOT. 2. Cependant nous remarquons que les deux branches de cette espèce d'angle n'étant presque jamais en même temps dans le plan de la vision nette, il devient très difficile de les avoir en même temps sur la plaque. Dans la cellule *a* (PHOT. 2), on voit malgré cela que le - leader - droit se recourbe brusquement et revient obliquement vers le fond du noyau. Mieux que toute description, la FIG. 3 pourra rendre notre interprétation. Cette figure n'est nullement un schéma, mais une simplification de ce que nous avons observé dans un noyau. Nous avons indiqué par un simple trait un certain nombre d'anses que nous avons dessinées sur le même plan, alors que dans la nature elles sont dans des plans différents. De cette façon, il est très aisé de se faire une idée exacte du parcours du filament nucléinien. Nous devons donc admettre qu'il y a continuité parfaite entre les - leaders -, et que ceux-ci ne représentent pas encore les chromosomes individualisés et segmentés, et par conséquent que les 24 branches du stade du bouquet parfait ne se terminent pas librement au pôle du noyau. (JANSSENS, 1961.)

La difficulté de poursuivre le même filament dans une courbure faite à un angle aussi aigu peut expliquer comment EISEN et KINGSBURY ont cru voir là des bouts libres des - leaders -. Il faut, en effet, prêter toute son

(1) Voyez aussi à ce point de vue une note de JANSSENS dans l'*Anatomischer Anzeiger*, 30 janvier 1962 : « Die Spermatogenese bei den Tritonen . . . »

attention pour voir cette continuité. Ici nous avons pu reconnaître l'avantage du microscope binoculaire de WATSON. Armé de son objectif à imm. hom. 1/8 et des oculaires 4 de ZEISS, il fait voir ce détail avec une entière évidence. C'est à l'aide de cet instrument que nous avons pu dessiner la FIG. 3.


Si on regarde un noyau du côté où toutes les anses viennent aboutir au pôle, on ne voit en réalité que 12 points de contact avec la membrane du noyau. Ces figures sont d'une observation très délicate et il est bien rare qu'on les trouve sous l'objectif. EISEN aurait-il vu cet aspect, et son erreur trouve-t-elle son origine dans cette observation imparfaitement interprétée? Cela est possible, mais son travail ne nous renseigne pas à ce sujet.

Le stade du bouquet parfait *dure longtemps*. Ce fait est accusé par la masse considérable de cellules qu'on trouve à cette étape de développement sur une assez forte longueur du testicule. C'est dans les premiers temps de ce stade que la continuité des anses au pôle s'observe le plus aisément. Plus tard, l'observation en devient beaucoup plus difficile. Nous ne pouvons pas préciser jusqu'à présent à quel moment les anses s'individualisent, mais nous pensons que ce phénomène a lieu à peu près au moment de la division longitudinale de l'élément nucléinien. Jusqu'ici nous sommes parfaitement d'accord avec la description de THOS. H. MONTGOMERY (1902) dans son dernier travail sur le *Pletodon cinereus* et le *Desmognathus fuscus*.

Pendant tout le stade du bouquet parfait, *les anses sont simples*. Il n'y a pas moyen d'y démontrer *la moindre dualité*. Dans les préparations très décolorées, le filament se montre très ténu et même sur de telles préparations on ne voit *pas le moindre indice d'une division longitudinale*. Le filament nucléinien est bien *un*. Nous ne voulons pas affirmer par là qu'avant le long stade dont nous parlons en ce moment il n'y ait eu accolement de filaments plus fins. Nous réservons cette question. Les travaux de von WINIWARDER (1900) et SCHOENFELD (1901) font, en effet, supposer qu'il pourrait bien en être ainsi dans les premiers stades de l'évolution des auxocytes. D'ailleurs, quand même un accolement pareil aurait eu lieu entre filaments voisins, on peut toujours se demander quelle est sa signification. Nous en sommes pour le moment réduits à de pures conjectures à ce sujet.

Un fait qui nous a frappés, c'est qu'à ce moment les axes des filaments sont tous équidistants au sein du noyau. Ces filaments apparaissent d'ailleurs plus ou moins épais d'après les méthodes de fixation et de coloration ou de décoloration employées. De plus, sur des coupes transversales de noyaux qui sont restés très colorés, on voit, FIG. 4, autour de chaque axe de

filament, une sorte de gaine plus pâle et s'étendant sur un espace plus ou moins grand tout autour du filament axial d'une anse. Cette gaine appartient évidemment à l'anse en question. Le chromosome s'étend-t-il encore plus loin et *tous les chromosomes se touchent-ils?* Nous ne le savons pas. Il semble qu'il ne doit pas en être ainsi, attendu que les chromosomes qui sont voisins de la membrane touchent à cette dernière par la gaine dont nous parlions, FIG. 1. - Remarquons que quand les anses sont clivées tout de leur long, on voit encore une gaine analogue en certains endroits autour de deux chromosomes-sœurs. Parfois cette gaine est unique, FIG. 2 a; parfois on en trouve une autour de chaque moitié, FIG. 2; parfois la gaine semble plus dense et plus colorée que le reste, FIG. 2 a; d'autres fois la gaine semble vide, FIG. 2 c. Faut-il rapprocher ces faits de ce qui a été signalé dans le travail récent de SURTON (1902, ses fig. 4 et 8)? Nous nous occuperons de cette question dans un mémoire ultérieur.

Nous ne pouvons pas terminer cette partie de notre étude sans parler d'un phénomène qui est de nature à rendre parfois les interprétations moins faciles. Pendant le long stade qui précède le bouquet, qui est analogue au synapsis des végétaux, des poissons et des mammifères, ainsi que au commencement du stade du bouquet, l'orientation dont nous venons de parler est bien nette, PHOT. 1, 2. Plus tard, le noyau semble pivoter sur lui-même de telle manière que bien souvent les branches des anses du bouquet finissent par avoir une direction qui formerait un angle voisin de 90° avec celle qu'ils avaient d'abord. Dans une étude récente d'IVAR BROMAN (1901), cet auteur observe des mouvements de diverses parties cellulaires dans les spermatides en voie d'évolution. Dans ces cellules, le noyau se retourne de 180° . L'un de nous a observé des retournements analogues dans les spermatocytes de second ordre des tritons. Aux télophases de l'hétérotypie, on observe un groupe de filaments réunissant les deux masses polaires et vers le milieu de ce faisceau on reconnaît les épaissements formant la petite plaque fusoriale ou -Zwischenkörper-. Pendant le stade du repos qui suit, les noyaux des spermatocytes II se retournent chacun de 90° à peu près. Parfois, ce retournement se fait dans le même plan et en sens inverse et alors le faisceau prend la forme d'un **S**. D'autres fois, les deux noyaux se retournent dans le même sens et alors le faisceau, toujours reconnaissable à sa petite plaque granuleuse, affecte à peu près la forme d'un  à très courtes branches. Parfois enfin, le mouvement s'exécute dans deux plans perpendiculaires et dans ce cas on ne peut suivre le trajet du faisceau d'union sur

une même coupe. Lors de ces divers mouvements, on ne peut guère dire avec certitude si le protoplasme cellulaire tout entier a suivi les mouvements du noyau ; il est toutefois certain, comme dans le cas d'IVAR BROMAN, que le mouvement s'est communiqué en partie au protoplasme cellulaire.

Ici, dans le *Batrachoseps*, cela ne semble pas être le cas, car dans les mêmes coupes les bouquets le plus rapprochés des auxocytes les plus jeunes ont tous leurs branches orientées vers la sphère, tandis qu'à mesure que le bouquet se développe et surtout aux environs des cystes renfermant les anses clivées longitudinalement, les branches des anses forment avec l'axe cellulaire passant par la sphère un angle qui va jusqu'à atteindre 90°. On dirait que tout l'appareil nucléaire se meut comme un tout indépendant du protoplasme cellulaire. Le parallélisme des branches peut se conserver malgré ce mouvement. Il ne se perd qu'après l'individualisation des chromosomes.

B. *Clivage longitudinal des chromosomes.*

Sur une coupe longitudinale du testicule de *Batrachoseps*, on trouve ce stade sur toute la largeur de la section entre la masse de cellules en bouquet et les figures hétérotypiques. Il entreprend en même temps un grand nombre de cellules et se reconnaît à première vue par l'aspect moins régulier que présente l'élément nucléinien dans les noyaux.

Le clivage des anses suivant toute leur longueur se fait tandis que leur orientation est encore très régulière et c'est à cette circonstance que nous devons de pouvoir l'affirmer avec *la plus entière certitude*.

Examinons en effet un noyau dans lequel la coupe passe perpendiculairement aux branches des anses et comptons y le nombre de filaments sectionnés. Nous remarquerons que cette numération est très facile 1° à cause de la coloration parfaitement franche du noir d'HEIDENHAIN et 2° parce qu'on peut très bien poursuivre ces filaments sur une grande profondeur en faisant jouer la vis micrométrique. Le nombre de filaments ainsi coupés oscille autour du chiffre 48. On peut s'en convaincre par la vue du PHOT. 6 et l'examen de notre FIG. 2. Ces filaments sont toujours groupés par deux. Les groupes jumeaux sont donc environ au nombre de 24. Ici encore une fois, il peut arriver qu'une même anse clivée est coupée plusieurs fois, mais dans ce cas on trouve presque toujours ses segments dans la coupe suivant une partie de leur longueur. Nous pensons qu'il en est ainsi pour les trois

groupes jumeaux 1, 2, 3, FIG. 2. De plus, nous sommes ici aux environs du coude de l'anse formée par les deux branches 4 et 5, *ibid.* Nous pouvons donc affirmer, sans crainte de nous tromper, que les deux moitiés des 12 chromosomes jumeaux proviennent dans le *Batrachoseps* de la division longitudinale des 12 anses indivises du bouquet. En d'autres mots, les 12 chromosomes analogues à ceux du *PHOT. 33* et des *FIG. 4* et *6* ne doivent pas leur origine à l'entortillement suivi d'accolement des 24 branches du bouquet ou à un accolement quelconque des filaments libres immédiatement avant ce stade.

Par quel procédé se fait ce clivage longitudinal, nous ne le savons pas jusqu'à présent; mais de ce que nous ne pouvons pas répondre à cette question, il n'y a rien à tirer contre notre thèse. On pourrait peut-être dire que ces deux filaments proviennent d'un accolement qui se serait produit entre filaments divers pendant le stade du synapsis qui précède celui du bouquet.

Nous avons déjà dit que nous avons vu dans le *Batrachoseps* des images qui font songer à un tel rapprochement, mais nous avons démontré qu'il ne reste dans l'aspect des anses du bouquet rien qui révèle une telle structure. Les filaments constituant les anses sont simples. Nous ne voyons pas comment on parviendrait à établir que les deux filaments entortillés que nous trouvons en ce moment se trouvent en relation avec ces filaments primitifs qui *auraient* servi à constituer les 12 anses du bouquet.

D'ailleurs, pourquoi veut-on trouver une difficulté dans l'explication à donner à ce clivage longitudinal? N'observe-t-on pas un clivage longitudinal des chromosomes à chaque division somatique? Les moitiés qui se séparent ici ou bien à la métaphase ou bien à des prophases de la division seraient-elles aussi dues à un accolement, qui serait devenu invisible pour reparaitre à ce moment? Personne n'y songe. Nous croyons donc, jusqu'à *preuve* du contraire, que des chromosomes qui se montrent aussi simples que ceux que nous trouvons pendant le long stade du bouquet sont réellement des filaments indivis.

C. *Stade des chromosomes segmentés.*

À la fin du stade du bouquet, les anses se sont clivées suivant presque toute leur longueur, et les deux moitiés se présentent souvent enroulées l'une autour de l'autre, *PHOT. 13, 14, 15*. Le *PHOT. 4* montre en *a* un fragment

de chromosome divisé longitudinalement; le même photogramme représente encore d'autres tronçons au début de cette division longitudinale.

Sur une coupe transversale du noyau à ce stade, FIG. 2 et PHOT. 6, noyau *a*, on compte environ 24 sections présentant chacune deux moitiés, donc en réalité 48 sections groupées deux par deux. Ceci nous prouve à l'évidence que les deux moitiés-filles des bâtonnets ne proviennent pas de l'accellement suivi de l'entortillement des deux branches des chromosomes tels qu'ils se présentaient au stade précédent; en effet, dans ce cas on ne pourrait trouver dans le noyau, coupé transversalement, que 24 sections groupées deux par deux, et représentant les 12 chromosomes, dans chacun desquels les deux branches primitives se sont accolées. Nous sommes donc ici en présence d'une vraie division longitudinale et non d'un accellement.

Nous arrivons ainsi au stade des chromosomes segmentés et individualisés. A ce moment, l'élément nucléinien ne présente plus cette orientation régulière caractéristique du bouquet et de plus il s'est fragmenté en 12 tronçons composés chacun de deux moitiés longitudinales entortillées l'une autour de l'autre et présentant en général quatre bouts libres. Ce sont les chromosomes de la première cinèse de maturation divisés longitudinalement. Nous avons représenté dans la FIG. 4 une partie d'un des noyaux à ce stade: on peut distinguer sur ces chromosomes les deux moitiés longitudinales enroulées l'une autour de l'autre et ayant leurs bouts libres. Ces chromosomes doubles sont dispersés dans le noyau sans aucun ordre apparent et ne présentent plus aucune orientation en rapport avec celle que les - leaders - du bouquet présentaient. Le chromosome *a* de cette figure pourrait faire croire que la division en deux moitiés longitudinales n'est qu'apparente et résulte de l'enroulement des deux branches du même chromosome replié sur lui-même. Ceci n'est qu'une apparence et on parvient très souvent à voir que le bout qui présente la courbure est en réalité formé de 2 bouts superposés suivant l'axe du microscope ou même plus ou moins fusionnés. D'ailleurs, chez les batraciens, on ne pourrait plus actuellement douter de l'existence d'une division longitudinale très précoce, antérieure à la segmentation des anses, et qui ne peut pas être expliquée par un recollement après ce que nous avons dit au commencement de ce paragraphe.

Dans la suite, les deux moitiés de chromosomes se raccourcissent, gagnent visiblement en épaisseur et deviennent presque complètement ho-

mogènes. La FIG. 6 représente quelques chromosomes à ce stade, dont les deux moitiés sont encore bien séparées et enroulées l'une autour de l'autre. On pourra également remarquer sur cette figure combien les chromosomes peuvent différer entre eux de longueur : certains d'entre eux dépassent les autres de plus du double de leur longueur.

* * *

C'est ici que se présente la discussion de la nouvelle explication que THOS. H. MONTGOMERY (1902) prétend donner de toute l'évolution du système nucléinien dans les batraciens. L'explication que le savant américain veut mettre à la place de celle qui a été défendue jusqu'à présent par tous ceux qui ont étudié les spermatocytes dans ces animaux repose sur son étude du *Pletodon cinereus* et du *Desmognathus fuscus*. Nous remarquons que KINGSBURY (1902), qui s'est sensiblement inspiré des recherches de MONTGOMERY sur le *Peripatus*, s'est rangé cependant lui aussi à la manière de voir de tout le monde, quand il s'est agi de la double division longitudinale des chromosomes dans le *Desmognathus*. Pour MONTGOMERY (1902), les deux branches d'une de nos anses nucléiniennes correspondent à deux chromosomes différents des spermatogonies. Ils se divisent tout de leur long chacun à part lui et quand cette division est déjà fort apparente, à un stade donc relativement avancé, les deux chromosomes s'enroulent l'un autour de l'autre et ainsi se constituent les chromosomes enroulés ou les anneaux qui vont se mettre à l'équateur de la figure. Lors de la première cinèse sexuelle, les deux chromosomes temporairement unis se sépareront. La première division ou l'hétérotypie de FLEMMING sera donc une division réductionnelle au sens de WEISMANN. Cette explication se rapproche beaucoup de celle qui a été présentée récemment par R. SCHOCKAERT (1901-1902) pour les œufs du *Thysanozoon*. Bien souvent, dans le courant de notre travail tant sur les tritons que sur le *Batrachoseps*, cette explication tout obvie nous est venue à l'esprit. Nous nous sommes demandé par exemple si les anneaux de FLEMMING ne provenaient pas tout simplement de la fermeture des anses du côté du pôle et c'est bien là en substance la nouvelle explication de MONTGOMERY. Nous avons donc eu tout le temps de l'envisager sous toutes ses faces et nous l'avons fait, confessons-le, avec le désir d'arriver à donner une explication à cette réduction de nombre qui intrigue tout le monde. Nous devons, après cet examen et après une nouvelle étude de nos prépa-

rations tant de la salamandre et du triton que du *Batrachoseps* et du *Pleurodon*, en revenir à l'ancienne explication et dire que FLEMMING, HERMANN, MEVES, DRUENER, FARMER, MOORE, REINKE, EISEN, MAC GREGOR, JANSSENS et KINGSBURY ont donné la seule explication qui concorde avec les faits les plus évidents qui soient à observer dans cette question. D'ailleurs, des faits absolument analogues qui s'observent dans les cinèses de maturation des grains de pollen ont forcé FARMER, STRASBURGER, GRÉGOIRE et GUIGNARD à adopter la même explication pour les figures absolument analogues. Plus récemment, DESINETY a combattu victorieusement l'explication de Mc CLUNG et s'est rangé à la même opinion que les auteurs précités pour les spermatocytes des phasmes. Nous dirons par conséquent qu'il ne s'agit pas seulement du travail de MEVES, comme THOS. H. MONTGOMERY l'insinue, mais d'un grand nombre d'autres travaux qui sont faits avec beaucoup de soins, de l'aveu même de THOS. H. MONTGOMERY, par un grand nombre d'autres auteurs. Nous devons aussi faire remarquer que, si ces auteurs énoncent cette manière de voir *dans leurs textes*, ils le font en s'appuyant sur leurs figures assurément, mais surtout sur l'examen de leurs préparations.

Mais examinons la question derechef.

I. *Quels sont les arguments que THOS. H. MONTGOMERY met en avant pour prouver qu'une anse nucléinienne correspond à deux chromosomes.* Cette assertion avait besoin nous semble-t-il d'arguments bien puissants, puisqu'elle constitue la base d'une théorie nouvelle et directement contraire à tout ce qui a été écrit sur ce sujet. Quand l'un de nous a proposé cette explication (JANSSENS 1901 et 1902), il l'a donnée comme une simple possibilité et rien de plus. On est tout étonné de ne trouver dans le texte de THOS. H. MONTGOMERY *aucun argument* pour cette thèse. La seule tentative d'argument se trouve dans cette phrase : - the points of union are marked - in the fig. 2, 3, 5 et 6 by the letter K. Just at this point of junction can - be seen *in many cases*, though *not so clearly* as in *Peripatus*, a broad of - connecting linin thread, as in the chromosomes of fig. 5 -. Pour qui connaît l'irrégularité de structure de certains chromosomes au stade du bouquet, cet argument ne doit pas paraître très puissant, PHOT. 43. Nous sommes persuadés que si l'auteur voulait examiner les anses sans idée préconçue, il trouverait maints - broad of connecting linin thread - le long de la même anse. Dans le *Pleurodon*, on trouve maints chromosomes qui, au stade du bouquet, ne montrent aucune irrégularité aussi marquante, PHOT. 44. L'un de nous a d'ailleurs déjà appelé l'attention sur des faits semblables (JANSSENS

1901, p. 77); aussi pourrions-nous accorder cette partie de la thèse, qu'il ne s'ensuivrait encore rien quant à l'absence de double division longitudinale. Nous n'insistons donc pas.

L'auteur continue et, *sans en donner la moindre preuve* cette fois, il admet comme une chose évidente, sans même le dire expressément, que *les deux branches de l'anse s'enroulent l'une autour de l'autre* pour constituer les dyades enroulées qui, d'après tous les auteurs, se trouvent dans les spermatoctes 1 avant la mise au fuseau des chromosomes. Comme seul argument, nous trouvons les fig. 5 et 6. Dès ce moment, il devient évident qu'à la première cinèse deux chromosomes différents seront séparés par l'ascension polaire de l'hétérotypie.

Voyons la valeur de l'argument donné par les fig. 5 et 6.

Tout d'abord, ces figures sont fort schématisées. Par exemple, ce n'est pas seulement à la pointe des **V** ou à la courbure des **U** des anses que les chromosomes sont réunis par des filaments de « linine ». Et puis, et ceci constitue un fait de la plus haute importance, les deux stades représentés par les fig. 5 et 6 sont *très éloignés* l'un de l'autre. Il y a entre ces deux figures une longue série de stades intermédiaires. La question si importante de la sériation entre ici en jeu. Cependant, dans les testicules du *Pletodon*, la sériation des stades ne constitue pas une grande difficulté. Ce qu'il aurait fallu démontrer, c'est que la lumière de l'anneau est bien l'équivalent de l'espace existant entre les deux branches de l'**U** ou entre deux chromosomes voisins. Cette démonstration n'est pas donnée par la juxtaposition arbitraire de deux stades qui ne se suivent que de très loin.

Nous pourrions nous contenter de ces remarques. En effet, à celui qui émet une thèse il incombe de la prouver et tant que cela n'est pas fait personne ne devrait s'en préoccuper.

II. Examinons malgré cela l'explication fournie par l'auteur américain et voyons quels sont les arguments que nous pouvons fournir en faveur de notre thèse.

1° L'explication de MONTGOMERY laisse dans l'ombre et complètement inexplicées des difficultés que nous considérons comme insolubles dans son système.

a) Les chromosomes *des spermatogonies* de toutes les espèces de batraciens que nous avons examinées sont loin d'être égaux en longueur et en volume. A ce point de vue, le *Batrachoseps* et le *Pletodon* rentrent absolument dans la règle générale. Nous avons pu nous en convaincre pour le *Batracho-*

seps par l'examen des testicules des premiers mois de l'année et pour le *Pletodon* par des préparations faites sur un animal fort jeune. Dans les *spermatocytes*, on observe aussi de très grandes différences de grandeur entre les divers chromosomes d'une même figure hétérotypique. Dans une vue idéale, en supposant que les chromosomes auraient tous sensiblement la même longueur, l'accolement de deux bâtonnets des télophases des spermatogonies ne souffrirait pas grande difficulté. Mais en nous plaçant sur le terrain des faits observés, un tel accolement devient impossible, attendu qu'un chromosome d'une gonie quelconque, pas plus de la dernière que de toutes les autres, n'a jamais la même longueur que son voisin. Pour pouvoir soutenir cette opinion, il faudrait admettre 1° qu'il y ait dans la couronne polaire des dernières spermatogonies 12 paires de chromosomes de même longueur disposées irrégulièrement et 2° que ces chromosomes se réunissent deux à deux pendant l'évolution des auxocytes. Une telle explication est absolument fantastique et demanderait à être rigoureusement démontrée.

b) Dans l'explication de MONTGOMERY, il reste une deuxième difficulté, très grande à notre avis. La division longitudinale qui se produit, de l'aveu de MONTGOMERY même, dans les chromosomes des auxocytes devient *très évidente*, puis *tout à coup* elle devrait disparaître absolument pour ne reparaitre que dans les stades préparatoires du spermatocyte II. Quand certains auteurs ont parlé d'une apparition hâtive d'une deuxième division longitudinale, ils n'ont jamais indiqué cette division que fort discrètement et ils la font toujours reparaitre aux premières anaphases de l'hétérotypie. Nous ne pouvons pas admettre qu'une division aussi évidente que l'est celle figurée par MONTGOMERY lui-même ait une destinée aussi étrange, à moins qu'on ne nous en donne de très bonnes preuves.

2° Mais nous avons hâte d'en venir aux *arguments positifs* en faveur de la thèse généralement défendue. Nous devons nécessairement répéter ici des choses qui ont été souvent dites, mais nous ne voyons pas comment éviter cet inconvénient sans devenir très incomplets.

a) L'argument généralement mis en avant est celui de la similitude de forme des dyades depuis le moment où elles commencent à apparaître à travers tous les stades de leur évolution jusqu'à leur mise au fuseau. *C'est l'argument de la similitude des figures dans une sériation rationnelle.*

Nous avons démontré, p. 428, que les anses du bouquet subissent une division suivant toute leur longueur. Tout d'abord, les deux filaments ainsi formés sont presque accolés. Bientôt cependant, ils s'éloignent l'un de l'au-

tre et dans l'étape représentée par la FIG. 2 ils sont déjà assez éloignés. En même temps que les filaments jumeaux, ils s'éloignent et s'épaississent graduellement. Ils continuent à onduler à travers la cavité nucléaire se réunissant, se séparant, se croisant et dans leur ensemble se contournant en anses comme les filaments uniques du bouquet dont ils dérivent. A un certain moment, le sectionnement du peloton se produit et alors l'on voit apparaître les douze chromosomes doubles *ayant exactement le même aspect et les mêmes dimensions que ces filaments doubles ondulant à travers le noyau.*

Le raccourcissement et l'épaississement successifs fournissent à un observateur consciencieux une série non interrompue de figures jusqu'au moment de la mise au fuseau. C'est sur cet argument que tous les auteurs se sont fondés pour affirmer le clivage longitudinal de la première figure dans les batraciens. L'un de nous a donné, entre autres, une série très complète de figures pour les tritons, figures 4, 5, 7, 8, 9, 6, 10, 12. Nous en donnons ici une autre série plus complète encore en quelques photogrammes du *Batrachoseps*, 13, 14, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39. On peut dire qu'on peut poursuivre les diverses formes de chromosomes depuis la toute première apparition du clivage jusqu'à l'étirement produisant les anneaux. Ajoutons à cela que la forme incurvée des anses se conserve à travers toute cette évolution. S'il arrive parfois, *dans des cas bien rares*, que la courbure de l'anse est plus ou moins brusque, le plus souvent cependant elle a des contours mous et réguliers à travers toute l'évolution du spermatocyte, FIG. 4 et 6, PHOT. 13, 14, 24, 25, 27, 30, 31, 32, 33, 36. De plus, si parfois l'angle de l'anse est plus ou moins aigu, jamais à aucun stade de l'évolution nous n'avons vu les deux branches rigoureusement égales à partir de cet angle et *le plus souvent* elles sont *très inégales.*

b) Nous trouvons un second argument en faveur de la manière de voir généralement admise *dans les relations que les diverses parties d'une même anse ont entre elles et les relations d'anse à anse.*

1° Si les dyades provenaient de l'enroulement suivant toute leur longueur des deux branches d'une anse, on devrait observer d'une façon constante une continuité du filament double au moins d'un des côtés de la dyade. Or, c'est tout le contraire qui s'observe. Dans le *Batrachoseps*, les accollements secondaires sont très rares, FIG. 4, a. Dans la salamandre, ces figures sont très vulgaires; dans le triton, elles sont plus rares; ici, presque toutes les dyades ont 4 bouts libres, FIG. 4, 6, 7, PHOT. 24, 25, 26, 27, 30, 31, 32, 33, 36, 37, 38.

2° Si les deux branches des anses s'étaient enroulées pour produire les dyades, celles-ci ne pourraient plus conserver de relations avec leurs voisines. Les filaments de linine, comme on les appelle vulgairement, se seraient brisés pendant ce mouvement d'ailleurs absolument incompréhensible. Or cela n'est pas le cas. L'observation nous montre que, quand les 12 chromosomes doubles sont déjà bien visibles, ils conservent entre eux les *relations* sous la forme de *filaments chromatophiles étirés*, qui prouvent qu'ils se sont formés dans la situation et avec la forme qu'ils présentent à ce moment, PHOT. 24 et 25 et dans presque tous les cas.

3° Si les deux bouts libres d'une même anse se rapprochaient pour commencer l'enroulement, on ne verrait pas de filaments les réunissant, PHOT. 26 à gauche. Ces filaments chromatophiles, absolument de la même nature que ceux dont nous parlions sous le n° 2, présentent des figures d'étirement bien nettes. D'ailleurs, MEVES avait déjà signalé des faits analogues dans la salamandre.

c) Enfin, nous trouvons un argument nouveau dans la numération des sections des anses, quand on observe celles-ci du côté vers lequel leurs bouts libres sont dirigés, ainsi que dans l'orientation de ces anses. Cet argument est absolument nouveau et à notre avis il entraîne la conviction. Depuis le stade de la division longitudinale des douze anses, on compte régulièrement de 18 à 24 couples de filaments, quand ces derniers se présentent de manière à avoir une direction parallèle aux rayons visuels de l'observateur. Dans chaque cyste, on trouve toujours au moins un noyau qui permette de faire cette numération. Cette observation peut se faire à tous les stades presque jusqu'au moment de la mise au fuseau.

Elle prouve :

1° Que les anses conservent plus ou moins leur parallélisme à travers toute leur évolution. Nous avons déjà insisté sur ce fait. On a vu, en effet, que toute la masse nucléaire subit dans son enveloppe une rotation allant jusqu'à 90°. Ce déplacement est déjà terminé quand le clivage n'a pas encore commencé. Depuis ce moment, les anses ne changent plus de place. Ces figures ne se laissent pour ainsi dire pas reproduire par la photographie. Cependant, les PHOT. 24, 27, 32, 33, donnent une certaine idée de cette disposition (voyez aussi l'explication des planches). Au moment de la mise au fuseau, les anses seront facilement prises par les filaments rétracteurs partant des centres cinétiques et n'auront plus qu'à subir l'étirement sans presque changer d'orientation, PHOT. 35, 36 et 38. Cette permanence dans la situa-

tion aide beaucoup à la numération des anses et exclue complètement l'idée d'un remaniement total, comme celui qui serait dû à l'enroulement de leurs deux branches.

2° Si ces deux branches s'enroulaient réellement avec disparition de la division longitudinale pour former de nouvelles dyades, on n'aurait en coupe que 12 groupes de 2 filaments. Nous l'avons déjà dit, à travers tous les stades on compte toujours beaucoup plus de 12 groupes jumeaux. D'ordinaire, on en trouve une vingtaine et très souvent exactement 24 et cela dans tous les cystes et à tous les stades. Le chiffre des tronçons coupés oscille entre 40 et 48. — *Supposons encore* que la deuxième division longitudinale *reste apparente* (ce qui est d'ailleurs contraire à l'observation des anses vues par le côté, tant dans le *Batrachoseps* que dans le *Pletodon*). Dans ce cas, on devrait compter en coupe douze *tétrades* ou au moins vingt-quatre groupes jumeaux rapprochés deux par deux. Mais même cela est contraire à l'observation. Parfois, deux dyades voisines figurent un groupe quaterne, mais en règle très générale les dyades sont parfaitement isolées. Enfin dans tous les cas, elles prennent dans la masse nucléaire une direction indépendante des dyades les plus voisines. Nous devons dire que ce sont ces dernières considérations qui ont eu raison de tous nos doutes *même dans les cas les plus difficiles*.

III. Il y a en effet certaines figures dont l'interprétation complète nous a échappée et dont nous devons nous occuper maintenant.

1° Tout d'abord il y a dans l'évolution des auxocytes des batraciens un stade que l'un de nous a rencontré dans son étude des tritons et que l'on pourrait appeler le stade de *tension nucléaire*. Avant ce stade, on peut douter si les anses sont libres à leurs extrémités polaires. Après ce stade, beaucoup d'anses ou de dyades se terminent librement par leurs deux extrémités à l'intérieur de la masse nucléaire. Il semble donc, comme JANSSENS (1901) l'avait dit, que ce stade correspond aussi dans le *Batrachoseps* au phénomène de l'individualisation des chromosomes. Quoi qu'il en soit de cette question, ce stade correspond à un état de tension tant de la surface du noyau que des filaments nucléiniens. Il est impossible, disons-le, de l'interpréter complètement. Le phot. 17 en donne une idée vague et le dessin phot. 18 le reproduit avec le plus d'exactitude possible. A côté de certains filaments doubles externes, 1, 2, 3, 5, 6, phot. 18, qui constituent la dernière limite nucléaire, on trouve aussi des filaments doubles à l'intérieur du noyau, 2 et 7, même figure. On peut poursuivre ces filaments sur une assez forte lon-

gueur, puis ils se perdent dans des masses indéchiffrables, dans lesquelles on ne peut se reconnaître, 8, 9, 10, même figure. On pourrait dire que l'on se trouve ici en présence d'un *second synapsis*. Parfois, deux filaments doubles voisins deviennent parallèles au moins sur une certaine partie de leur longueur. Nous croyons qu'il en est ainsi par exemple en 11, même figure. Mais le plus souvent le voisinage n'est pas immédiat entre filaments parallèles. Ainsi les filaments 5, 6, 7, se trouvent respectivement aussi loin des filaments 1, 2, 3, que les branches des anses au stade du bouquet. Le stade de *tension nucléaire* dure peu de temps. Ce qui le prouve, c'est la pauvreté des préparations en stades de ce genre. Dans le cyste dans lequel on le trouve, il arrive de ne voir qu'une seule cellule exactement à ce stade. Dans les cellules qui les avoisinent, on trouve ou bien un acheminement vers un stade pareil, PHOT. 16, A, ou bien un relâchement évident, PHOT. 17, B. Dans les cystes qui renferment ces figures, on trouve toujours un certain nombre de noyaux où on peut compter le nombre de filaments qui traversent le noyau d'un pôle à l'autre. Dans le noyau *n* du PHOT. 20, nous en avons compté 48 exactement; dans le noyau *B*, PHOT. 16, nous en comptons 44.

Le noyau des PHOT. 19, 20, 21, 22, 23, nous a paru particulièrement intéressant. Il se trouve certainement à un stade très voisin de la *tension nucléaire*. Le PHOT. 19 a été obtenu par la superposition des trois PHOT. 20, 21, 22, qui sont à trois niveaux différents dans le même noyau. Quand on ne considérerait que le niveau représenté par le PHOT. 22, on dirait certainement qu'on se trouve en présence d'un argument en faveur de la théorie de MONTGOMERY, et cela en deux endroits différents : 1° en III₆, III₇, et 2° en III₁.

Examinons ces deux cas.

1° Le premier se résout immédiatement dès qu'on fait jouer la vis micrométrique. Si on l'*abaisse*, le filament III₆ disparaît et le filament double III₇ sort de la coupe, PHOT. 19, III₇. Si on la *remonte*, PHOT. 21, les filaments jumeaux III₇ deviennent flous et on voit avec netteté l'anse II₃ qui traverse le noyau d'un pôle à l'autre. L'accolement qui paraît évident dans la photographie disparaît au premier examen sérieux au microscope.

2° Le cas des filaments III₁, PHOT. 22, est tout différent. Ces deux filaments forment bien réellement une dyade; du côté inférieur, ils sont très distants l'un de l'autre et ils sortent de la coupe. Vers le centre du noyau, ils se réunissent et ils viennent s'engager sous la dyade III₂, sous laquelle ils se replient pour sortir aussi de la coupe à cet endroit. La question est

de savoir si cette dyade dérive de la division longitudinale d'une anse primitivement unique ou si elle provient de la réunion des deux branches d'une anse chromosomiale du stade du bouquet. La solution ne peut laisser de doute à un observateur attentif; en effet, on trouve à côté de cette dyade, dont l'interprétation semble difficile, d'autres anses absolument évidentes et dont la ressemblance avec les anses du bouquet est frappante. Remarquons surtout II₁, III₀, PHOT. 19, ainsi que I₃ (voyez aussi l'explication des planches). — De l'étude sérieuse de coupes de ce genre et aussi de l'étude des stades qui suivent il résulte avec une très grande probabilité que les dyades qui sortent de cette espèce de synapsis secondaire sont bien les mêmes que les anses divisées longitudinalement dans le long stade du bouquet. C'est ici surtout que la numération des filaments doubles nous a donné une conviction complète. Ce ne pourraient être, en effet, que les filaments jumeaux parallèles comme ceux du PHOT. 18 qui se seraient soudés. Mais alors le nombre d'anses aurait été réduit de moitié et au lieu de douze anses doubles nous ne devrions plus trouver que 6 anses quadruples, c'est-à-dire 6 chromosomes. — En effet, personne n'oserait prétendre, pensons-nous, que 1 et 5, PHOT. 18, sont les deux branches d'une même anse nucléinienne et cependant c'est ce qui devrait être défendu pour les besoins de la théorie de THOS. H. MONTGOMERY. Et à supposer encore par impossible qu'il en soit ainsi, cette concession ne sauverait rien, puisque nous devrions trouver dans ce cas dans tous les stades ultérieurs : 1^o *en coupe*, 12 filaments quadruples, ce qui n'est pas le cas, et 2^o *en vue latérale*, des chromosomes *droits* allant d'un pôle à l'autre et quadruples, ce qui n'est pas le cas non plus, puisque nous trouvons des anses jumelles ayant leurs bouts libres à un pôle et leur courbure à l'autre. Donc, ce qui sort du stade de *tension nucléaire* est très semblable à ce qui y est entré et n'en diffère que par la longueur moindre des anses et l'épaisseur légèrement plus forte de leurs filaments composants. C'est à la suite d'un raisonnement analogue à celui que nous formulons ici que l'on *s'accorde généralement* pour dire que les chromosomes de l'homéotypie, c'est-à-dire des spermatocytes II, sont les mêmes que les V doubles que l'on trouve aux télophases de l'hétérotypie. C'est, en effet, en se fondant sur l'analogie de forme et d'orientation que tout le monde se permet cette conclusion, quoique entre les deux étapes il y ait un stade de repos dans lequel les chromosomes deviennent méconnaissables. — Ici nous ne les perdons jamais aussi complètement de vue et en tous cas ce n'est que pour un temps beaucoup plus court qu'ils disparaissent *en partie*.

2° Nous avons aussi parfois eu sous les yeux dans le *Batrachoseps* des boucles énormes et très ouvertes comme nous n'en avons pas vu jusqu'à présent dans d'autres batraciens, tel le chromosome A du PHOT. 26 et surtout l'anneau 1 des PHOT. 28 et 29. C'est surtout ce dernier que nous a intrigués. Nous ne savons pas comment il peut avoir pris naissance. A l'intérieur de la boucle, en effet, on trouve d'autres chromosomes. Nous pensons que cette boucle s'est ouverte à la suite d'une poussée plus ou moins irrégulière venant de l'intérieur du noyau et ayant entraîné une partie de sa masse avec les chromosomes qui s'y trouvaient entre les deux moitiés de l'anse. En effet, les chromosomes qui sont à cheval sur l'une de ces branches 2 et 3, PHOT. 29, n'ont avec elle aucune relation organique et les relations existantes se comprennent sans peine en imaginant le chromosome fermé. Les anses, quoique toutes tournées avec leur concavité vers le spectateur et un peu vers le bas, ont d'ailleurs toutes l'air un peu dérangé. — Nous n'insistons pas, parce que l'interprétation d'une telle figure aberrante constitue une difficulté en toute hypothèse.

* * *

Quoique nous ayons réservé la question de l'évolution de la partie chromatophile dans les auxocytes pour un autre travail, nous devons cependant en dire un mot, puisque c'est bien là ce qui constitue la partie la plus importante du mémoire de EISEN. En effet, d'après l'auteur, tout le - chromosomic process - de la division se résume dans un arrangement de granules ou chromioles en chromomères et en chromosomes, compliqué de division de ces mêmes chromioles, en sorte que ce sont ceux-ci qui constituent la partie la plus importante du noyau, les chromomères et les chromosomes n'étant que des dispositions, des structures servant à les nourrir et à les distribuer convenablement durant les cinèses. - All the other constituents of the nucleus, such as chromo-
- somes, chromomeres and linoplasts are only temporary and not per-
- manent organizations. - (EISEN, 1900, p. 17.) En parlant des chromo-
- somes, il dit : - They arise, disappear, and are reformed as the case
- required; in fact, are mere convenient structures for the division and
- nourishment of the chromioles. - (Loco citato, p. 26.) Les chromioles au
- contraire jouent le grand rôle : - They undoubtedly constitute the most im-
- portant parts of the chromosomes, the fundamental elements which the
- other parts of the chromosomes only serve to nourish and to preserve. -
(Loco citato, p. 18.)

Nous devons avouer que nous avons eu beaucoup de peine à suivre l'auteur dans la description qu'il donne des arrangements que prennent ces granules chromatophiles. Essayons de donner en résumé ce - chromosomic process - pour les auxocytes.

Les *chromioles* des spermatogonies se trouvent *dispersés* isolément dans toute la cavité nucléaire. Le mouvement débute par le *groupement* de ces mêmes chromioles par *deux ou trois* pour former les premiers *chromomères*, qui *se réunissent en séries* et forment les - *leaders* - du stade du bouquet imparfait. Une *division de chromioles* intervient et nous trouvons *chaque chromomère* contenant *six chromioles* (loc. cit., p. 20), rangés par trois en deux séries longitudinales. Ceci est le premier indice de la division longitudinale des - *leaders* -.

Remarquons déjà ici que, à la page 71 de son mémoire, en parlant de ce même stade et des mêmes figures, l'auteur dit que chaque chromomère arrive à avoir six chromioles par la fusion de deux chromomères primitifs, et il ne parle plus de la division des chromioles.

La division longitudinale se poursuit maintenant et nous trouvons que *chaque leader* est composé de 4 *segments longitudinaux* formés de chromomères-filles à trois chromioles (p. 20, 21). A un stade plus avancé, les segments jumeaux sont formés chacun de leur nombre *définitif de chromomères*. Chaque chromomère contient de nouveau six chromioles, mais par fusion de deux chromomères cette fois. A ce moment, les - *leaders* - sont libres et dispersés dans le noyau : c'est le - *Bretzel-stage* - : chaque chromosome composé de deux moitiés longitudinales entortillées comprend *douze chromomères à six chromioles*, soit *six chromomères par chromosome-fille*; ensuite intervient une fusion plus ou moins complète des chromomères qui les rend indistincts et le chromosome paraît uni (p. 24). A ce moment, on peut voir sur des préparations *très favorables* que le chromosome-fille (à la métaphase) est moniliforme et formé de six articles ou chromomères contenant chacun six chromioles : - *A chromosome of Batrachoseps in the beginning of the metaphase of an auxocyte contains just six such beads, the beads being identical with chromomeres* (p. 18). -

Donc pour EISEN, la seule chose importante, c'est l'existence et la constance en nombre des chromioles, qui retiennent leur individualité à travers tout le cycle d'évolution des spermatogonies, auxocytes et spermatoctes. Les chromioles doivent, en effet, rester toujours en nombre constant : - *I have stated that in the early anaphase we find at each pole twelve*

- chromosomes, each one containing about six more or less distinct chromomeres, and that every such chromomere possesses about six chromioles. - This makes 432 chromioles in all for the daughter-nucleus (p. 21, 22). - Mais pour que, après la division suivante, le nombre soit maintenu, il faut qu'il intervienne une division de chaque granule en deux et, en effet, l'auteur trouve que le nombre de chromioles contenus dans la couronne équatoriale des spermatocytes II est de 864, ce qui donne encore pour chaque spermatoïde 432 chromioles; et il en conclut : - From this we are justified in assuming that during the confluent umbrella stage of the nucleus the chromioles have been doubled. The easiest way to explain this increase is to assume that each chromiole has been divided in two, ... (p. 22). -

Voilà donc, nous semble-t-il, l'évolution de l'élément chromatophile assez clairement exposée, d'après l'auteur. Nous avons été très soucieux de voir si ce processus si extraordinaire se vérifiait en tout point. Aussi nous sommes-nous attachés à suivre EISEN le plus possible dans la technique. A part le procédé de fixation, nous avons employé les mêmes colorants et des instruments aussi parfaits que les siens, aidés du même éclairage. Et en effet, l'auteur nous fait remarquer à plusieurs reprises qu'il est bien difficile de constater ces faits : - It is useless to endeavor to study these minute bodies without the aid of the very best optical appliances possible, and with the most careful treatment of the material. - (EISEN, 1899, p. 135.)

Nous pouvons dire que jamais, après un examen minutieux des préparations, nous ne sommes parvenus à voir nettement les granules dont parle l'auteur, et surtout que nous n'avons aucunement pu suivre les différentes étapes de tout ce processus qui paraît, il faut le reconnaître, un peu recherché. L'auteur lui-même reconnaît la grande difficulté qu'il y a à distinguer de si menus détails et il fait ressortir la nécessité de recourir à des préparations bien colorées et différenciées à point. Nous avons examiné une quantité de préparations à tous les degrés de coloration : depuis la coloration intensément noire jusqu'à la décoloration presque complète, et néanmoins les granules n'apparaissent nulle part. Nous laissons de côté, pour le moment, les chromosomes tels qu'ils se présentent à la figure de cinèse et nous ne nous occupons que de l'élément nucléinien au début du mouvement, c'est-à-dire au stade de bouquet parfait et de bouquet divisé longitudinalement.

Les parties colorées des anses chromosomatiques se présentent à ces stades comme des bandes très irrégulières, à bords épineux, dans lesquelles les parties chromatophiles sont distribuées d'une façon très inégale. L'un de

nous a déjà appelé l'attention sur cette irrégularité dans les éléments analogues du triton (1). Comme on le voit sur la FIG. 4, on ne peut pas parler ici de parties homologues disposées les unes derrière les autres sur rangées, comme des perles enfilées sur un cordon. On ne parvient aucunement à distinguer ces bandes en chromomères et bien moins encore à *compter* les chromomères qui se suivent dans une même bande. Il est bien vrai qu'à un grossissement un peu faible; l'aspect superficiel peut être comparé à celui que décrit EISEN, mais un examen plus attentif et surtout un simple essai de numération des chromomères doivent enlever tout doute sur cette question (2).

Mais du moins si nous ne sommes pas parvenus à voir les chromomères, nous aurions dû trouver les chromioles. Il est vrai qu'un moment, nous avons cru qu'en réalité ces éléments existaient chez le *Batrachoseps* aux stades préparatifs à la division, surtout que des dispositions analogues ont été décrites par presque tous les auteurs, tant dans les plantes que dans les animaux; mais encore une fois nous ne pouvons pas nous ranger à cette manière de voir. Ni les anses du stade bouquet, ni les segments longitudinaux du stade de la FIG. 4 ne sont composés d'un ensemble de granules englobés dans une substance non nucléinienne. Ils se montrent comme des bandes minces formées d'un ensemble de mailles très fines dont les nœuds peuvent être plus ou moins gros, donnant ainsi l'apparence de granules tantôt plus gros, tantôt plus petits, ici très nombreux, plus loin peu nombreux. Les FIG. 4 et 5 donnent une idée assez nette de l'aspect que présentent les « leaders » divisés en long avant qu'ils ne se soient contractés. Il est évident qu'il est parfois bien difficile de juger de la véritable structure de ces détails.

On peut avoir, par exemple, au point un de ces nœuds un peu plus gros sans voir la connection qu'il a avec d'autres nœuds semblables plus petits ou plus grands. L'idée de granules se présente naturellement à l'esprit quand on voit des images pareilles; aussi sommes-nous persuadés qu'il y a parfois des masses nucléiniennes d'aspect plus ou moins granuleux, mais ces masses sont très irrégulières et elles sont, au moins dans la grande majorité des cas, des nœuds d'un réseau plus ou moins complexe; ce ne sont que des endroits où la bande nucléinienne est plus fournie de matière chromatophile.

En examinant les photogrammes que nous donnons du stade de bou-

1) JANSSENS, 1901, p. 73.

2) Voyez aussi JANSSENS, 1901, p. 86.

quet, PHOT. 1, 2, 3, on pourra facilement se convaincre que les anses sont loin de présenter dans toute leur longueur l'aspect régulier que leur a donné EISEN dans ces figures 13 à 15. Encore faut-il bien remarquer que la photographie est un très mauvais moyen pour rendre des détails aussi délicats que ceux dont il est question ici.

Nous ne pouvons pas nous étendre plus longuement sur cette question. On pourrait, en effet, se demander ce que signifient ces nœuds et ces trabécules, s'ils constituent un minuscule réseau ou bien s'ils sont produits par de petites vésicules vacuolaires contenues dans la substance chromatophile. Dans une note préliminaire récente, V. GRÉGOIRE et A. WYGAERTS (décembre 1902) appellent l'attention sur le rôle de la vacuolisation dans l'évolution des parties nucléiniennes dans les cinèses somatiques. Nous laissons ces questions non résolues, puisque nous devons y revenir dans un autre travail. Les deux FIG. 4 et 5 et ce que nous venons de dire suffisent, nous semble-t-il, à montrer que EISEN doit au moins avoir assez fortement schématisé ses figures et sa description. Nous serions presque autorisés à nous servir d'une phrase de KINGSBURY (1902), qui pourtant a reconnu chez le *Desmognathus* des chromomères et des chromioles et qui croit que probablement les chromioles s'unissent en chromosomes, - though not in the fantastic way he - (EISEN) describes - (1902, p. 113).

D'ailleurs, l'examen des figures du mémoire d'EISEN montre assez clairement la difficulté qu'il a à soutenir sa manière de voir. Prenons ses figures 121 et 122, où il donne tous les stades de la formation des chromosomes de la première cinèse. Si nous essayons de compter le nombre de chromioles par chromomères dans la figure 121, nous arrivons à un nombre bien supérieur à celui qui doit être le nombre définitif. Nous trouvons *plus* de 6 chromioles dans beaucoup de chromomères avant leur division longitudinale ou plus de trois après cette division. Ainsi dans la figure 121 *a*, qui représente deux « leaders » divisés en long, nous pouvons compter dans tous les chromomères assez distincts au moins 4 granules, certains en ont même 6, ce qui porte le nombre pour chaque moitié longitudinale à environ 50 chromioles, si nous comptons 12 chromomères (121, *d*, à gauche). Ce nombre est notablement supérieur à 36, qui constitue d'après EISEN le *nombre définitif de chromioles par segment-fille*.

L'écart serait encore plus grand si nous les comptons dans la figure 121, *c*, où avec beaucoup de bonne volonté nous arrivons à environ trente chromomères ayant en moyenne chacun *trois* chromioles.

Nous pouvons examiner ici, par anticipation, la constitution des chromosomes définitifs. Là surtout, nous avons cherché vainement les chromioles. Déjà au stade représenté par la FIG. 6, où les chromosomes sont individualisés et dispersés dans le noyau, nous les voyons presque complètement homogènes. C'est à peine si on y remarque par places une légère teinte plus claire, correspondant probablement à une place où la nucléine est moins condensée; mais en fait de granules, nous n'en voyons pas traces même sur les coupes très fortement décolorées. Cette uniformité absolue de structure des chromosomes achevés est encore plus accentuée dans les objets « fixés » au chlorure d'iridium. D'ailleurs, les figures de EISEN (fig. 35 à 46) montrent très mal la structure typique décrite par lui : les « chromosomes » sont indistincts et les granules, là où ils sont visibles, prennent rarement une disposition en deux rangées longitudinales sur les bords des chromosomes.

Nous ne devons donc pas nous attendre à trouver dans les chromosomes de la métaphase la *structure régulière* qu'y trouve l'auteur. Les chromosomes montrent une homogénéité absolue, sauf quand la seconde division longitudinale apparaît. A ce moment, nous voyons très nettement que suivant la ligne médiane du chromosome-fille se montre sur toute sa longueur une ligne plus pâle, FIG. 7 à 9, qui va s'accroissant jusqu'à devenir la fente qui séparera en deux moitiés longitudinales les chromosomes-filles de la première cinèse, FIG. 10 à 13. Mais dans aucun cas les bords de ces chromosomes ne nous ont paru comme formés d'une suite de granules, bien loin de montrer la disposition et le nombre régulier décrits par EISEN. Nous ne parvenons pas à nous expliquer, du moins pour les chromosomes définitifs, comment l'auteur a pu voir des détails si réguliers, alors que nous ne trouvons qu'une homogénéité parfaite.

II. Cinèses sexuelles.

Dans cette dernière partie, nous ne ferons que relever certains points de la figure cinétique; en effet, les figures de division chez le *Batrachoseps* ne se montrent pas assez différentes de ce qu'on a décrit jusqu'ici dans les batraciens, pour mériter un développement in extenso de tout le processus; ce ne serait qu'une suite de répétitions de choses décrites déjà.

A. *Division longitudinale des chromosomes.*

La première division longitudinale des chromosomes, celle qui s'achèvera à la première cinèse, s'est produite à la fin du stade bouquet et s'est maintenue : les chromosomes arrivent ainsi à l'équateur de la première figure composés de deux moitiés longitudinales accolées et enroulées l'une autour de l'autre. Il est inutile de revenir sur la question maintes fois discutée de la signification de ces deux moitiés : nous la croyons résolue chez les batraciens. Nous nous serions même dispensés complètement de revenir sur cette question, si la note discordante de THOS. H. MONTGOMERY n'était venue, bien à tort à notre avis et malheureusement pour son auteur, remettre le tout en question.

Nous parlons donc ici seulement de la seconde division longitudinale, celle qui doit s'achever à la seconde cinèse. Cette division très précoce des chromosomes a été observée par la généralité des auteurs qui ont traité la spermatogénèse chez les batraciens; elle a été de plus observée chez certains animaux et chez les plantes. Pour la littérature de cet objet, nous renvoyons le lecteur à l'excellent résumé paru dans le deuxième fascicule du traité d'embryologie de KORSCHULT et HEIDER, 1903. Nous admettons que déjà pendant le retour polaire de la première division les chromosomes-filles se divisent longitudinalement, présentant ainsi la forme de **V** doubles à branches égales ou inégales d'après le mode d'insertion des chromosomes à l'équateur de la première figure. Ces **V** doubles représentent les deux chromosomes-filles qui seront séparés à la seconde figure.

Cette division longitudinale, déjà indiquée dans les travaux de FLEMING et MEVES, a été étudiée avec plus de soin dans les mémoires parus sur la spermatogénèse des batraciens. MAC-GREGOR (1899) la voit au retour polaire chez l'*Amphiuma*, JANSSENS (1901) chez les tritons et KINGSBURY (1902) chez le *Desmognathus fusca*. Il serait donc très étonnant de ne pas la trouver aussi chez le *Batrachoseps*. Et pourtant EISEN ne la décrit nulle part et ne la figure sur aucun noyau, et c'est à peine s'il trouve une indication de cette seconde division longitudinale dans la disposition régulière en deux séries des chromioles dans les chromosomes-filles des auxocytes. Ce détail a immédiatement attiré notre attention, et nous nous sommes mis tout de suite à l'examen de nos préparations. Aussi nous n'avons pas eu de peine à voir que la deuxième division est tellement évidente que même le moins habitué aux études cytologiques doit immédiatement la remarquer.

Nous reproduisons dans la planche un grand nombre de chromosomes de la première cinèse sexuelle à toutes les étapes, afin que le lecteur puisse les comparer aux figures du mémoire de EISEN; nous ajoutons à ces figures quelques photographies qui pourront faire voir la beauté de ces figures de division.

Les chromosomes de la première division se présentent avant leur mise au fuseau formés de deux moitiés longitudinales fortement accolées et enroulées l'une autour de l'autre. Leur grandeur est assez différente : on en trouve de très allongés à côté d'autres plus trapus.

Quant à l'insertion au fuseau, nous pouvons dire qu'elle peut se faire n'importe à quel endroit : nous en avons trouvés qui s'inséraient par leur milieu, FIG. 8, *a, c*, et 10, d'autres près de leur milieu, FIG. 7, *a*, 9, *a, e*, enfin beaucoup de chromosomes s'insèrent plus ou moins près d'une de leurs extrémités, FIG. 7, *b, d, c*, 9, *b, c, f* : nous avons donc des insertions de tout genre jusqu'aux subterminales. Nous n'avons cependant trouvé aucune insertion nettement terminale.

La division longitudinale des chromosomes-filles se montre très précoce; déjà au début de l'ascension polaire, alors que le point d'insertion commence à peine à se relever vers le pôle et que les bouts libres sont encore enroulés, on voit déjà dans la partie étirée vers les centres d'attraction l'indice de la division. Celle-ci ne se montre pas tout de suite comme une ligne continue, mais sous la forme d'une série de taches plus claires comme des vacuoles distribuées tout le long de la ligne médiane du chromosome-fille, FIG. 8, 9. Les taches claires se fusionnent bientôt en une ligne continue, et nous trouvons enfin au retour polaire les deux moitiés longitudinales bien individualisées, formant le groupement bien connu des **V** doubles, dont les branches sont égales si l'insertion était médiane, ou dont l'une branche est plus ou moins longue que l'autre dans le cas d'insertion non médiane, FIG. 10, 11, 12, 13, PHOT. 7, 8, 9. Remarquons que les branches-filles des **V** doubles peuvent être enroulées l'une autour de l'autre, FIG. 11, 12, 13.

Cette seconde division est très nette sur les couronnes polaires vues de face. La FIG. 14 représente une de ces couronnes montrant les 12 chromosomes sous la forme de **V** doubles ou de **X**. Cette forme en **X** résulte évidemment de ce que les deux chromosomes-filles se croisent à l'endroit de leur insertion.

Nous pouvons donc conclure en disant que la double division longitudinale à la première figure se montre chez le *Batrachoseps* exactement comme chez les autres batraciens.

Il est encore un autre point que nous devons mentionner : EISEN trouve à l'une des extrémités de chaque chromosome un fragment de chromoplaste. Le ou les chromoplastes du stade bouquet se sont, d'après l'auteur, fragmentés en 12 parties, et une partie reste adhérente à chaque chromosome. L'auteur dit lui-même qu'il est extrêmement difficile de retrouver ces chromoplastes, qui sont indiqués seulement par la présence à leur intérieur de granules qu'il désigne sous le nom de « endochromatic granules ». Nous avons vainement cherché ces restes de chromoplastes avec leurs granules; les chromosomes de la figure de division ne montrent à aucune de leurs extrémités une partie autrement constituée. Nous inclinons assez à croire que EISEN a pris pour des restes du chromoplaste les parties des chromosomes-filles qui sont encore accolées au commencement du retour polaire, donc les extrémités des branches encore enroulées alors que les parties médianes sont déjà assez fortement étirées vers les pôles, FIG. 7, 8, 9. Quant aux « endochromatic granules », nous y revenons de suite.

La télophase de la première division est marquée par un tassement des chromosomes aux pôles de la figure. C'est ce que EISEN désigne sous le nom de « confluent umbrella stage ». Il attache une grande importance à ce stade : en effet, il doit permettre au chromoplaste attaché jusqu'ici à une des extrémités des chromosomes en **V** d'aller se loger à la pointe du **V**, c'est-à-dire au milieu du chromosome de la seconde division, où EISEN croit devoir les placer pour avoir pu nettement les distinguer. L'ensemble des chromosomes forme pendant ce stade une masse informe, compacte, d'où sortent encore quelques prolongements. Plus de traces de chromosomes, tous se sont fusionnés si intimement qu'on ne devine pas même leurs contours : « The chromosomes in the amphiasier or anaphase have become confluent, and formed an umbrella like body, in which the individual chromosomes cannot be distinguished as such » (EISEN, 1900, p. 96). Voilà comment EISEN a vu et figuré la télophase. LEBRUN, dans son dernier mémoire sur les batraciens (1902, p. 48), décrit également des télophases de ce genre : « Dans la figure 56, le tassement est devenu une fusion; tous les chromosomes forment maintenant une boule mamelonnée; les mamelons indiquent encore les branches des chromosomes, qui bientôt ne tarderont pas à être résorbés, au fur et à mesure que la masse régularisera ses contours. Il y a certainement une fusion complète des chromosomes à ce stade de la cinèse chez le *Diemyctilus*; car avec les meilleurs objectifs et à la meilleure lumière, il est impossible de distinguer quoi que ce soit; la

- surface apparaît lisse et sans aucune solution de continuité. - Il ajoute que c'est la première fois qu'il observe cette fusion dans la couronne polaire intérieure de l'œuf. D'autres auteurs ont figuré le même phénomène dans d'autres objets.

Nous ne pouvons pas admettre une fusion *aussi complète* pour le *Batrachoseps*; la FIG. 15 représente un tassement polaire vu de face et rend parfaitement ce que nous avons de nombreuses fois observé à ce stade. Pour plus de conviction, nous avons photographié un autre tassement, PHOT. 10, a. Il est bien évident que la fusion des chromosomes n'est pas aussi intime qu'on pourrait le croire d'après les observations de EISEN. On y distingue parfaitement les chromosomes, non seulement sur les bords où les bouts libres font saillie, mais même dans la masse centrale, où ils apparaissent comme des bandes plus sombres sur le fond plus ou moins obscur de la masse totale. Nous n'avons d'ailleurs aucune fois observé, sur des préparations *bien fixées*, des masses compactes et homogènes à contours réguliers. Nous croyons, malgré ce que les auteurs en disent, que ces aspects doivent tenir à un manque de fixation: il est assez concevable que la masse des chromosomes doit avoir à ce moment une tendance assez marquée à se fusionner, et que cette fusion se présentera quand la fixation n'est pas assez rapide pour la prévenir. C'est ce que l'un de nous a observé chez les tritons: - Il arrive qu'aux télophases tous les chromosomes se confondent en une masse informe, dans laquelle il est impossible de reconnaître quoi que ce soit. Quand la fixation est bien réussie, ce fait ne se présente pas; quand, au contraire, la fixation est moins bonne, ce fait se présente toujours. - (JANSSENS, p. 86.)

Les masses chromatophiles des télophases, telles que EISEN les a observées, contiennent des éléments dont nous devons dire un mot sans nous y étendre longuement. Ce sont ses *granules endochromatiques*. Ceux-ci se présentent sous la forme de granules très réfringents dispersés dans la masse polaire. Ils ne sont pas propres aux chromosomes, mais proviennent des fragments de chromoplastes emportés par les chromosomes, et c'est grâce à ces granules qu'on peut distinguer ces chromoplastes à travers toute l'évolution de la cellule. En effet, il retrouve ces granules dans les chromoplastes des spermatogonies et des auxocytes au stade du bouquet, et en fait des éléments permanents et caractéristiques.

Nous ne sommes pas parvenus à trouver ni dans les masses de tassement, ni dans les chromoplastes, des éléments qui correspondent

aux granules endochromatiques. Cependant, nous avons trouvé que les chromoplastes ou masses chromatophiles du stade bouquet, et parfois les tassements polaires, laissent voir à leur intérieur des taches plus claires que le fond, des vacuoles : certains chromoplastes en sont même littéralement criblés; aussi croyons-nous que EISEN a eu sous les yeux ces vacuoles et qu'il les a prises pour des granules et ceci s'explique surtout si on admet un manque de déshydratation des préparations, ce qui communique aux vacuoles une réfringence particulière. Ce fait a aussi été observé par l'un de nous chez les tritons. (JANSSENS, 1901, p. 76.)

B. *Seconde figure.*

Les chromosomes de la télophase chez le *Batrachoseps* ne passent pas immédiatement à la seconde figure; il y a, en effet, entre les deux cinèses une tendance vers le repos. L'élément nucléinien subit certains changements dans sa constitution, et EISEN distingue plusieurs stades. Nous ne nous étendrons pas sur tous ces changements, sur lesquels nous devons revenir prochainement. Disons donc en résumé que les chromosomes se séparent plus ou moins et prennent une apparence réticulée analogue à celle qu'ont les - leaders - du stade du bouquet : on les trouve à ce moment vacuoleux et réunis par des anastomoses. De cette façon, le noyau présente une série de bandes plus ou moins parallèles dont les contours sont très irréguliers, comme le montrent les PHOT. 10, 11, 12. Le noyau-fille prend alors très souvent la forme de croissant, PHOT. 11, 12. On peut remarquer dans le PHOT. 11 le centrosome qui se trouve au centre de l'échancrure du croissant et qui a été nettement reproduit sur la photographie. Les deux cellules-filles restent encore attachées l'une à l'autre par un reste du fuseau ou - Zwischenkörper -, PHOT. 12 (1).

Nous pourrions reproduire ici ce que nous avons dit de la constitution de l'élément nucléinien pendant la préparation à la première division, et des chromioles retrouvés par EISEN dans les chromosomes de seconde division, mais nous renvoyons à la première partie : tout ce que nous y avons dit s'applique également ici.

Il est inutile de nous étendre longuement sur la seconde figure, puisqu'elle ne diffère que par quelques détails de ce qui a été décrit à plusieurs

(1) Le photogramme rend très mal ces deux détails, qui sont très bien visibles sur le cliché photographique.

reprises par les autres auteurs. Les chromosomes, après avoir subi quelques modifications, se montrent avant la mise au fuseau sous la forme de **V** doubles, parmi lesquels on retrouve les mêmes variétés qu'à la première figure : **V** à branches égales et inégales résultant d'insertions médianes ou subterminales. Ils se mettent au fuseau, la ligne de séparation des deux **V** étant parallèle au plan équatorial, **PHOT. 10**. L'ascension polaire se fait, un tassement se forme de nouveau, qui plus tard se résout en bandes parallèles réticulées. On trouve la plupart de ces aspects sur le **PHOT. 12**.

Avant de terminer, nous attirons l'attention sur le chromosome *a* de la couronne polaire inférieure du **PHOT. 12**. Il se présente sous la forme d'un bâtonnet simple légèrement épaissi à son extrémité polaire : il donne l'idée d'une insertion terminale ou quasi-terminale : nous n'avons vu qu'une fois un chromosome pareil ; aussi croyons-nous que cette insertion est très rare chez les batraciens.

CONCLUSIONS.

1° Dans le stade que EISEN désigne sous le nom de « perfect bouquet stage », nous avons trouvé 24 « leaders » au lieu de 12 comme il l'a décrit ; de plus, ces « leaders » ne viennent pas se terminer librement au pôle du noyau, mais sont en continuité les uns avec les autres et se réfléchissent à ce pôle à angle très aigu. Enfin, les « leaders » forment en réalité deux à deux les branches de douze anses chromosomiales.

2° La constitution de l'élément nucléinien, au stade bouquet et pendant les cinèses de maturation, ne répond pas à la description qu'en donne EISEN. On n'y voit pas les granules ou chromioles si importants de cet auteur : les anses du bouquet se présentent comme des bandes réticulées ; les chromosomes formés sont, au contraire, homogènes ou à peu près.

3° Les anses chromosomiales du stade du bouquet sont primitivement simples.

4° La première division longitudinale se fait au stade bouquet par la division en long des 24 « leaders », ce qui donne 48 filaments groupés deux par deux, enroulés l'un autour de l'autre.

5° Les chromosomes peuvent s'insérer au fuseau par tous les points de leur longueur.

6° La seconde division longitudinale des chromosomes-filles est très précoce : elle apparaît déjà nettement au début de l'ascension polaire et est terminée avant la couronne polaire.

7° Les chromosomes pendant la télophase viennent se tasser au pôle, mais sans se fusionner si intimement qu'on ne puisse plus les distinguer.

8° Contrairement à ce que dit MONTGOMERY, les deux divisions qui se suivent dans l'hétérotypie des batraciens sont deux clivages longitudinaux des anses chromosomiales du bouquet.

9° Le stade de *tension nucléaire* peut très bien s'interpréter dans cette hypothèse.

Si nous avons voulu rendre notre description complète, nous aurions dû encore nous étendre sur les changements que subit l'élément nucléinien entre les dernières cinèses spermatogoniales et les auxocytes et entre les deux cinèses de maturation ; c'est intentionnellement que nous avons laissé ces phénomènes un peu de côté : ils sont assez intéressants pour mériter une étude plus approfondie, et nous avons l'intention d'y revenir dans un travail ultérieur spécial.



BIBLIOGRAPHIE.

- 1901 *Broman, Ivar* : Ueber gesetzmässige Bewegungs- und Wachstumserscheinungen (Taxis und Tropisformen) der Spermatiden, ihre Centalkörper, Idiosomen und Kerne; Arch. f. mikr. Anat., Bd 59.
- 1899 *Eisen, G.* : The chromoplasts and chromioles; Biol. Centralbl., Bd 19.
- 1900 *Id.* : The spermatogenesis of *Batrachoseps* — Polymorphous spermatogonia, Auxocytes and Spermatocytes; Journ. of Morph., vol. 17.
- 1902 *Grégoire, V., & H'yaerts, A.* : La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques; Beihefte zum Botanischen Centralblatt, Bd XIV, Heft 1, 1903
- 1899 *Gregor, Mc* : The spermatogenesis of *Amphiuma*; Journ. of Morph., vol. 15.
- 1901 *Janssens, F. A.* : La spermatogénèse chez les tritons; La Cellule, t 19.
- 1902 *Id.* : Die Spermatogenese bei den Tritonen; Anatomischer Anzeiger, 30. Januar.
- 1902 *Kingsbury* : The spermatogenesis of *Desmognathus fusca*; Amer. Journ. of Anat., vol. 1.
- 1902 *Lebrun, H.* : Les cinèses sexuelles chez *Diemyctilus torosus*; La Cellule, t. 20.
- 1900 *Montgomery, Thos. H. jr* : The spermatogenesis of *Peripatus Balfouri* up to the formation of the spermatid; Zool. Jahrbücher, Abth. f. Anat. u. Ontog., Bd 14.
- 1902 *Id.* : The heterotypic maturation mitosis in Amphibia and its general significance; Biolog. Bulletin, vol. IV.

- 1901-1902 *Schockaert, R.* : L'ovogénèse chez le Thysanozoon Brocchi; La Cellule, t. 18 et 20.
- 1901 *Schoenfeld* : Spermatogénèse chez le taurcau; Arch. de Biologie, t. 18.
- 1902 *Sutton* : On the morphology of the chromosome group in Brachystola magna; Biological Bulletin, vol. IV, 1. Dec.
- 1900 *von Winiwarter* : Recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des mammifères; Archives de Biol., t. 17.

EXPLICATION DES FIGURES ET PHOTOGRAMMES.

Toutes les figures ont été dessinées à l'obj. apochromatique 2 mm. O. N. 130 de ZEISS avec les oculaires compensateurs indiqués pour chaque figure. Les fig. 1-15 et les phot. 1-39 sont du *Batrachoseps*, les phot. 40-44 du *Platodon*.

Batrachoseps attenuatus.

PLANCHE I.

FIG. 1. Coupe optique d'un noyau au stade du bouquet parfait. Le nombre de sections des anses est de 26. On trouve en outre un nucléole rond. — Oc. 18.

FIG. 2. Coupe optique du stade de bouquet à anses divisées longitudinalement. Le nombre de sections est de 48 environ. — Oc. 18.

FIG. 3. Noyau au stade de bouquet; cette figure est simplifiée; quelques chromosomes y sont figurés par une ligne. On voit aussi la place des chromoplastes. — Oc. 12.

FIG. 4 et 5. Chromosomes individualisés montrant les deux moitiés longitudinales et leur constitution. — Oc. 18.

FIG. 6. Chromosomes plus avancés devenus homogènes et montrant encore les deux moitiés longitudinales entortillées. — Oc. 12.

FIG. 7, 8, 9. Chromosomes de la première cinèse sexuelle au début de l'ascension polaire. Les parties moyennes étirées vers les pôles montrent nettement le commencement de la seconde division longitudinale. Les extrémités sont sur la plupart encore enroulées l'une autour de l'autre. — Oc. 12.

FIG. 10, 11. Parties de figures de première division à la métaphase. Les V doubles sont déjà formés par la deuxième division longitudinale. — Oc. 12 et 18.

FIG. 12, 13. Les chromosomes arrivent au pôle. V doubles à longues branches enroulées. — Oc. 12.

FIG. 14. Couronne polaire complète vue de face montrant les 12 chromosomes en V doubles ou X. — Oc. 12.

FIG. 15. Télophase vue de face. Le tassement polaire laisse encore voir les chromosomes, dont les branches longues font saillie sur la masse centrale. — Oc. 12.

PLANCHE II.

PHOT. 1 et 2. Auxocytes au stade de bouquet parfait; le clivage longitudinal des anses n'a pas encore commencé. On voit nettement l'orientation des anses

vers la sphère. En **2**, *a*, on voit deux anses dont les extrémités tournées vers la sphère s'infléchissent vers le fond, indiquant la parfaite continuité des anses du pôle (voir FIG. **3**).

PHOT. **3**. Stade un peu plus avancé. Une des anses montre nettement sa courbure du côté opposé à la sphère.

PHOT. **4**. Encore plus avancé. On voit plusieurs anses en coupe transversale sous la forme de groupes binaires, indiquant la division longitudinale. En *a*, on voit déjà nettement une anse clivée.

PHOT. **5**. Coupe équatoriale du bouquet parfait non clivé. Il y a plus de 24 sections transversales d'anses. Correspond à la FIG. **1**.

PHOT. **6**. Même chose, mais ici le clivage a apparue. Correspond à la FIG. **2**. (Le photogramme est peu net.)

PHOT. **7**. La cellule supérieure montre des chromosomes au début du retour polaire (première cinèse). La division longitudinale est manifeste. Correspond à la FIG. **7**, *e*, *d*, **8**, **9**, **10**.

PHOT. **8** et **9**. Retours polaires. Les chromosomes montrent la forme de **V** doubles. Correspondent aux FIG. **12** et **13**

PHOT. **10** et **11**. Télophases à différents états : en *a*, tassement polaire correspondant à la FIG. **15**; d'autres couronnes polaires montrent la vacuolisation des bandes chromosomiales.

PHOT. **12**. Couronnes polaires entrant en repos. On voit des vacuoles énormes dans les tassements polaires. En *a*, un chromosome à insertion terminale ou quasi-terminale.

PLANCHE III.

PHOT. **13**. Le premier clivage est déjà assez avancé. On voit une anse presque entièrement.

PHOT. **14**. Anse semblable au photogramme précédent.

PHOT. **15**. Branche droite d'une anse au même stade. L'autre branche est très courte. Correspond au chromosome du PHOT. **34**.

PHOT. **16**. *A*, acheminement vers le stade de tension nucléaire; *B*, noyau à un stade très voisin dans le même cyste. On y compte 22 filaments doubles.

PHOT. **17**. *A*, noyau dans le stade de tension nucléaire; *B*, noyau en état de relâchement.

PHOT. **18**. Noyau en état de tension nucléaire, dessiné avec l'apochr. 2 m., o. n. 1,30, oc. 12, au niveau de la table de travail) Filaments doubles tendus *1*, *2*, *3*, *4*, *5*, *6*. Masses composées de plusieurs filaments et d'une interprétation plus difficile ou impossible, *7*, *8*, *9*, *10*, *11*.

PHOT. **19**. Photogramme obtenu par la superposition des PHOT. **20**, **21**, **22**; les chiffres romains correspondent respectivement I à **20**, II à **21**, III à **22**. Cette

photographie a été retouchée avant d'être clichetée. Des anses figurées ici, seule I_1 se termine de part et d'autre dans la coupe.

PHOT. 20. La dyade I_1 est une anse complète dont la concavité est tournée vers l'observateur; ses deux extrémités se terminent à l'intérieur de la coupe; I_2 , anse qui sort de la coupe par ses deux côtés; du côté supérieur, elle embrasse l'anse double II_1 ; elle sort de la coupe, PHOT. 22, en III_8 ; I_3 se relève à gauche et sort de la coupe en 22, III_4 ; du côté droit, elle sort aussi de la coupe; I_4 est l'anse qui embrasse la partie supérieure de la dyade, PHOT. 22, III_4 ; elle se retrouve dans les trois coupes; u , noyau du même cyste, dont les anses sont parallèles aux rayons visuels, donc coupées perpendiculairement par le plan de la vue nette. En faisant jouer la vis du microscope, on compte exactement 48 filaments groupés par paires.

PHOT. 21. II_1 , anse qui se termine à l'intérieur de la coupe à gauche et à droite (PHOT. 22, III_0); II_2 , voyez explication PHOT. 20, I_2 ; II_3 , anse s'engageant par le dessus dans une masse d'analyse difficile, PHOT. 22, III_3 , et sortant de la coupe des deux côtés; II_4 se retrouve PHOT. 22, III_7 , et sort de la coupe par les deux côtés; n'est pas à confondre avec la dyade I_3 , PHOT. 20.

PHOT. 22. III_0 , voyez PHOT. 21, II_1 ; III_1 , anse dont les deux moitiés s'écartent assez fort l'une de l'autre par le bas, sort de la coupe des deux côtés; III_2 , voyez PHOT. 20, I_4 ; III_3 , masse indéchiffrable dans laquelle l'anse II_3 , PHOT. 21, s'engage; III_4 , voyez PHOT. 20, I_3 ; III_5 , petit filament double qui sort de part et d'autre de la coupe, voyez PHOT. 19; III_6 , partie inférieure de l'anse II_3 , PHOT. 21; III_7 , voyez II_4 , PHOT. 21; III_8 , voyez I_2 , PHOT. 20, et II_2 , PHOT. 21.

PHOT. 23. Région de la coupe des PHOT. 19, 20, 21 et 22. On y voit des noyaux en relâchement.

PHOT. 24. Trois chromosomes, dont deux ont des attaches qui prouvent leur formation sur place et excluent l'idée d'un enroulement tardif des deux parties d'une même dyade. Les chromosomes tournent leur concavité vers le spectateur et vers la gauche.

PHOT. 25. Deux chromosomes presque terminés. On remarquera 1^o l'incurvation en anse, 2^o les filaments de linine qui relient a) les deux parties d'une même dyade, b) les extrémités d'une des anses, c) les parties latérales des anses entre elles. Même remarque que pour le PHOT. 24.

PLANCHE IV.

PHOT. 26. Région analogue à celle des PHOT. 28 et 29. Voyez surtout le chromosome *A*, dont les branches sont très écartées.

PHOT. 27. Trois anses chromosomiales incurvées du même côté et ayant tous leurs bouts libres.

PHOT. 28. Document pour le dessin 29. Le chromosome *I* se voit sur une grande partie de sa longueur.

PHOT. 29. Chromosome énorme, *I*, dont les deux bouts libres, *A* et *B*, sont tournés vers l'observateur. Les chromosomes *4*, *5*, *6* et *7*, y sont rattachés par des filaments de linine. Les autres, même ceux qui chevauchent sur lui, *2* et *3*, n'ont pas d'attaches avec lui. Mêmes grossissements que PHOT. 18.

PHOT. 30 et 31. Chromosomes presque achevés incurvés en anse.

PHOT. 32 et 33. Quatre chromosomes en anse presque achevés tournant leurs bouts tous libres vers l'observateur. On remarquera l'aplatissement des dyades. Ce sont de vraies bandelettes entortillées. Nous reconnaissons dans cet aplatissement le premier indice de la deuxième division longitudinale, qui devient évidente peu de temps après, dès les premières anaphases de l'hétérotypie. Le PHOT 33 est le dessin de la cellule du milieu du PHOT. 32. Mêmes grossissements que PHOT. 18.

PHOT. 34. Anse presque achevée à branches très inégales, correspondant probablement à une anse analogue à celle des PHOT. 15 et 24 à droite, ainsi que à une insertion subterminale.

PHOT. 35. Chromosomes se mettant au fuseau. Les anses ont quelque peu tourné sur elles-mêmes, toutefois, de moins de 90°.

PHOT. 36. Figure un peu antérieure à celle du PHOT. 35. Les chromosomes ont encore leur orientation normale. Les anses sont tournées vers l'observateur. Les deux corpuscules centraux, déjà fort éloignés, peuvent se voir vers le haut du photogramme aux environs de deux taches.

PHOT. 37. Chromosome *I* à insertion subterminale.

PLANCHE V.

PHOT. 38. Insertion quasi médiane. La forme d'anse se reconnaît encore. Les extrémités libres sont tournées vers l'observateur.

PHOT. 39. Idem sur toute la ligne, mais anaphase plus avancée.

Pletodon cinereus.

PHOT. 40. Partie d'un noyau sortant du stade correspondant au synapsis. *I* et *2*, anses en formation. L'anse *I* semble être constituée par *a* et *b*.

PHOT. 41. *C* et analogues sont des blocs de la dernière spermatogonie *1*, *2*, *3*, *4*, anses naissantes. Si pour *I* la formation semble se faire par l'accrolement de *a* et *b*, cela n'est déjà plus aussi évident pour *2*, et l'est beaucoup moins encore pour *3* et *4*.

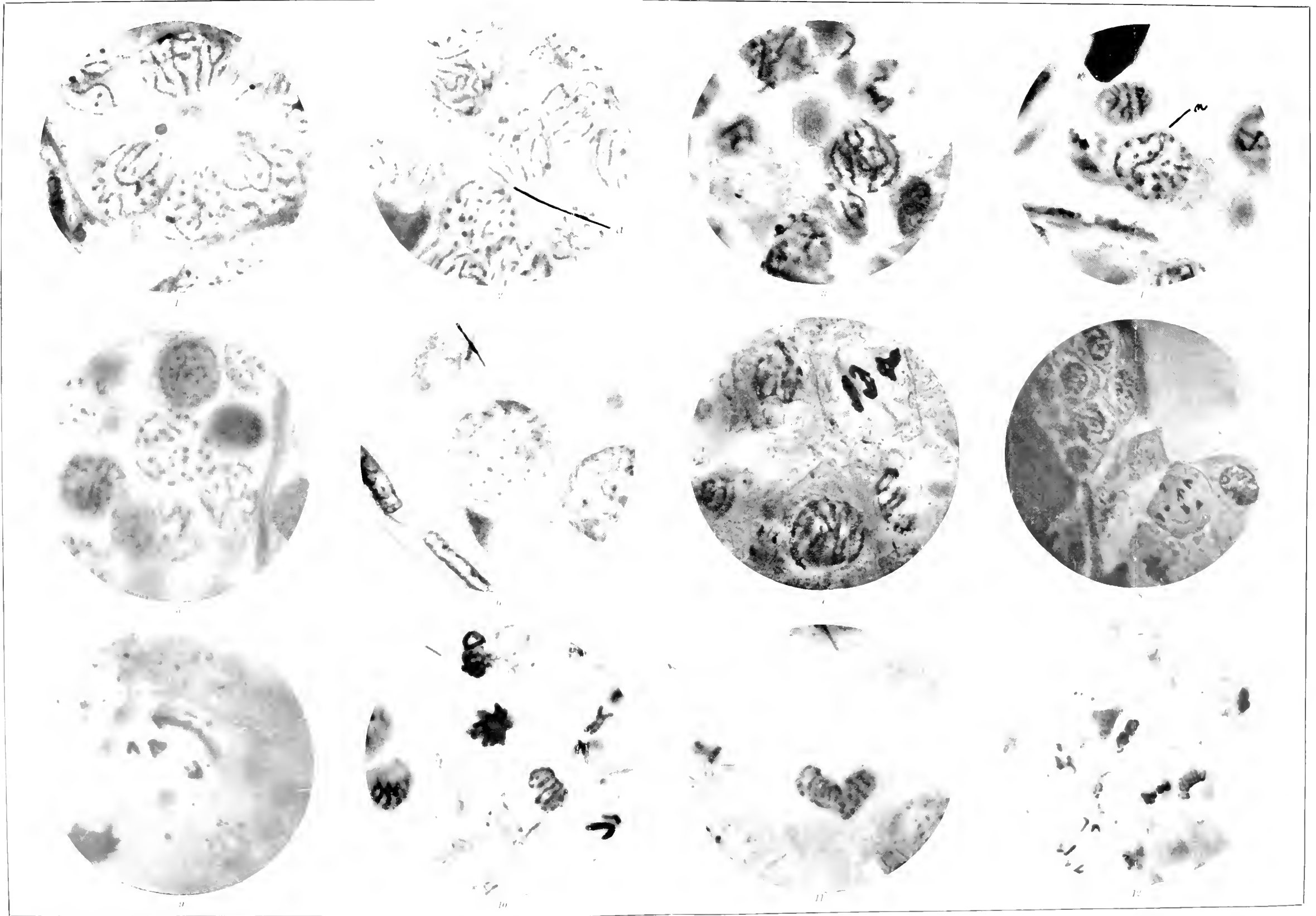
PHOT. 42. Noyau plus avancé se rapprochant du bouquet parfait. Des deux branches *A* et *b* de l'anse *I*, la première seule a servi à la formation de l'anse chromosomiale définitive.

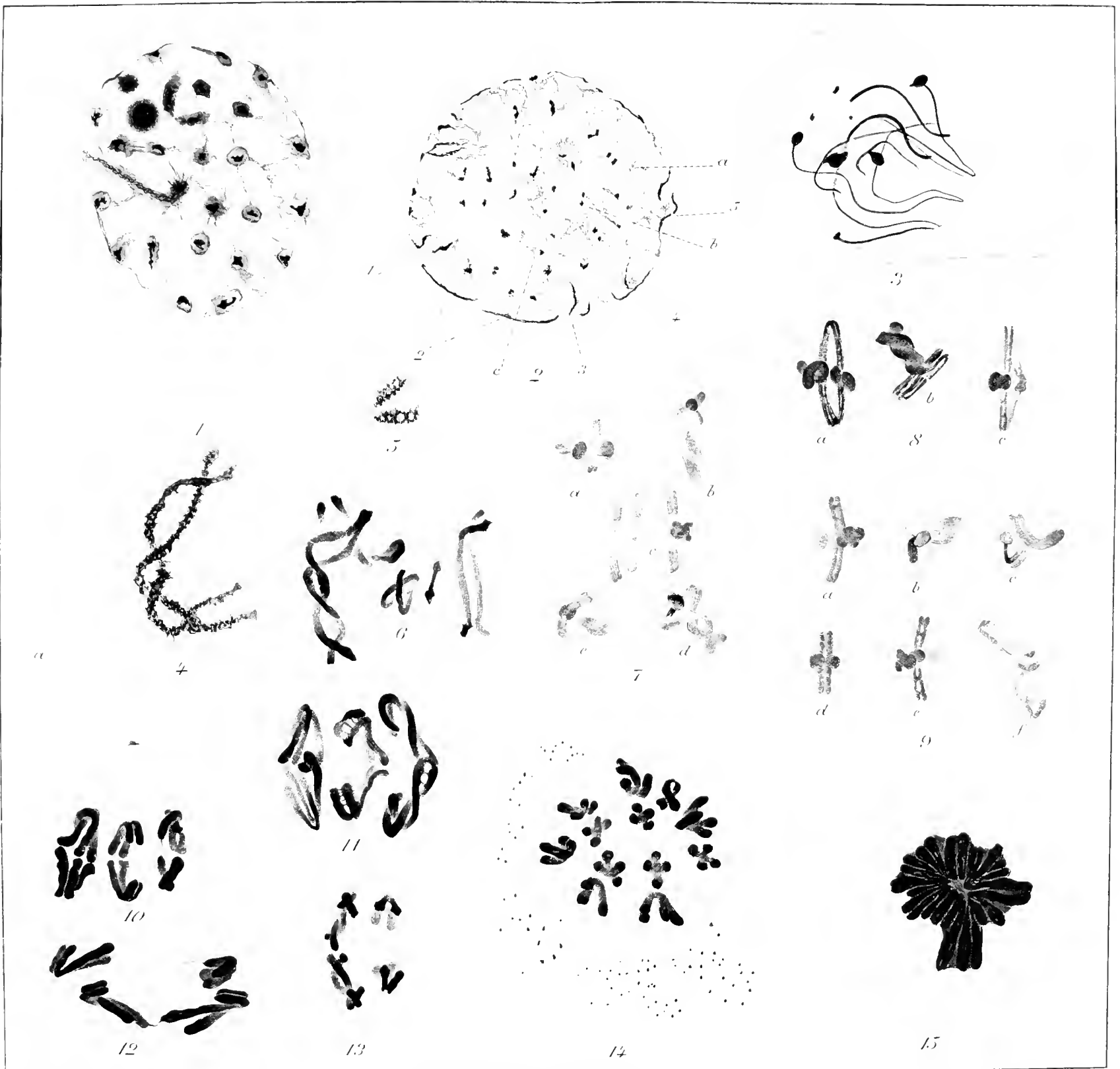
PHOT. 43. Une anse chromosomiale du bouquet parfait. Cette anse est très régulière et cependant on y reconnaît encore plusieurs solutions de continuité.

PHOT. 44. Anses plus avancées, plus uniformes.

TABLE DES MATIÈRES.

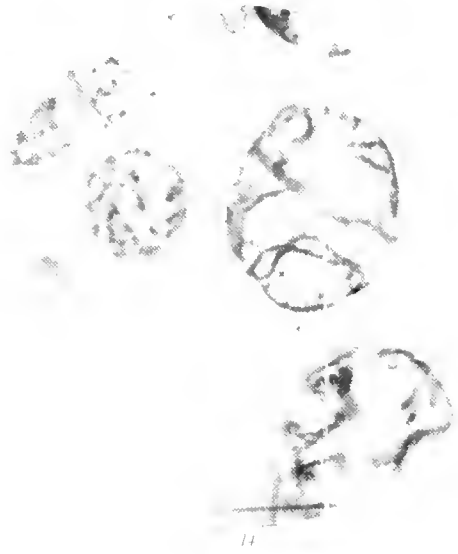
Introduction	421
I. Préparation à la première cînése	422
A. Stade de bouquet parfait	423
B. Clivage longitudinal des chromosomes	429
C. Stade des chromosomes segmentés	430
Discussion de l'opinion de THOS. H. MONTGOMERY	432
II. Cînéses sexuelles	446
A. Division longitudinale des chromosomes	447
B. Seconde figure	451
Conclusions	452
Bibliographie	455
Explication des figures et photogrammes.	457







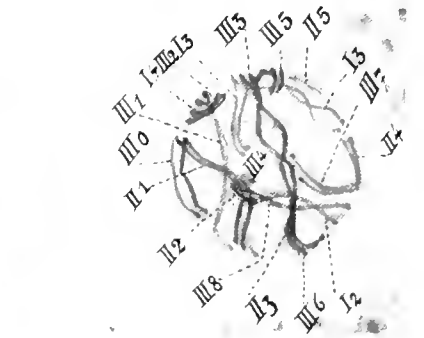
1



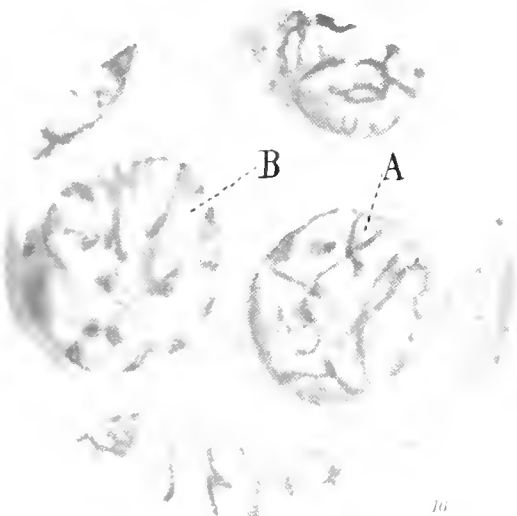
11



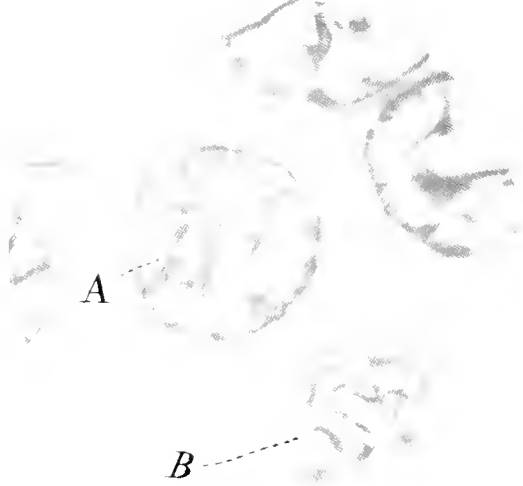
15



19



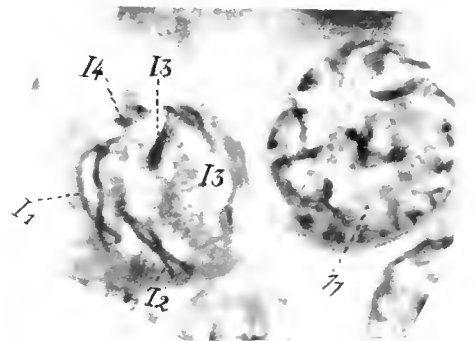
16



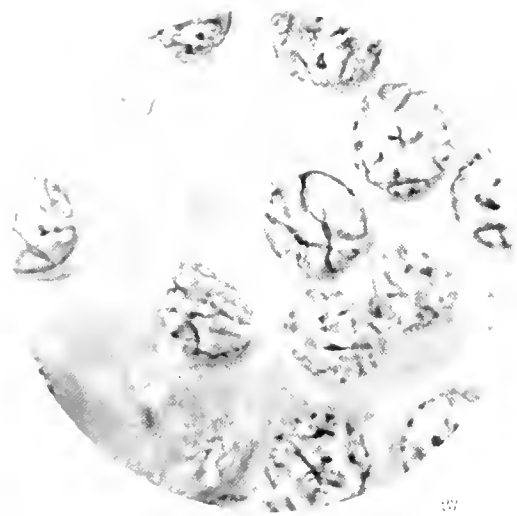
17



18



20



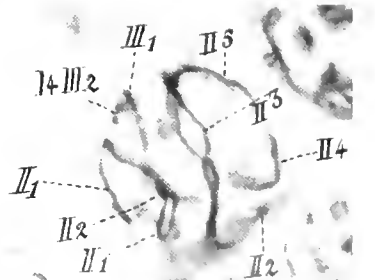
23



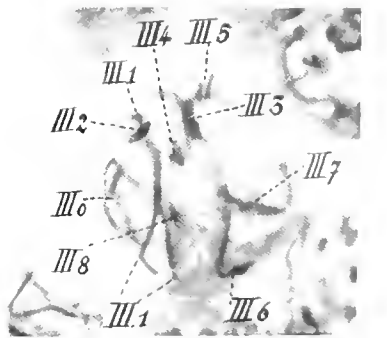
25



27



28



29

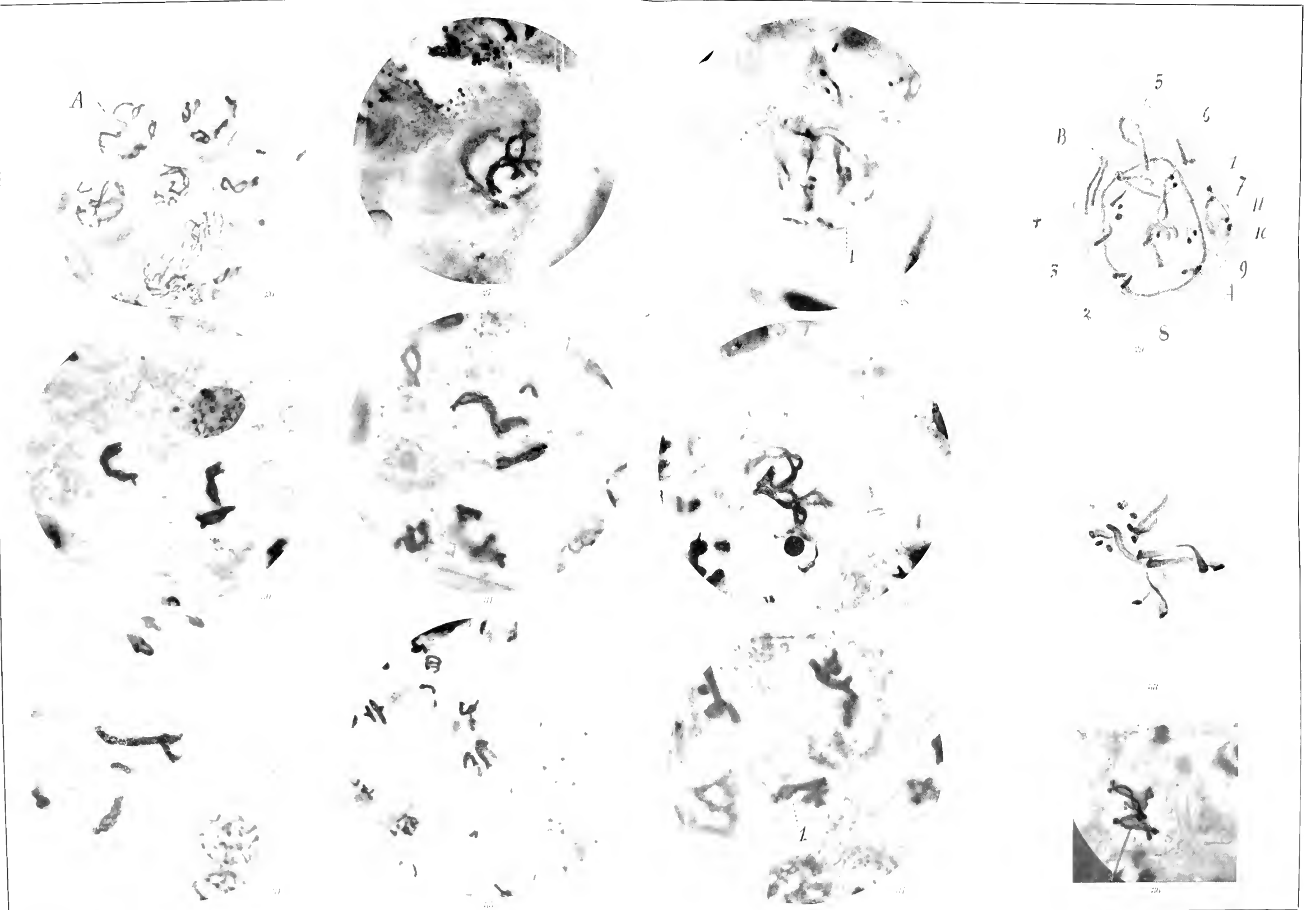




TABLE DES MATIÈRES DU TOME XX.

I. La vésicule germinative et les globules polaires chez les batraciens, par HECTOR LEBRUN	5
II. L'ovogénèse chez le Thysanozoon brocchi, par RUFFIN SCHOCKAERT.	101
III. Nouvelles recherches sur le Nebenkern et la régression du fuseau caryocinétique, par ARTHUR BOLLES LEE	179
IV. Le « Bios » de Wildiers ne joue pas le rôle d'un contrepoison, étude expérimentable, par ABEL AMAND	223
V. Hémolyse et antihémolyse, par M. IDE.	261
VI. Système nerveux, système circulatoire, système respiratoire et système excréteur de la Neritina fluviatilis, par J. LENNSEN.	287
VII. A propos du noyau de la levure, par F. A. JANSSENS	335
VIII. Étude microchimique et cytologique d'une Torula rose, par F. A. JANS- SENS et AD. MERTENS	351
IX. Les tannoïdes de la Rhubarbe de Chine, par EUGÈNE GILSON	369
X. L'élément nucléinien pendant les cinèses de maturation des sperma- tocytes chez Batrachoseps attenuatus et Pletodon cinereus, par F. A. JANSSENS et R. DUMÉZ	419

J HTB L WH 19TH J

