

Recherches sur la structure et le développement de l'oeuf et de son follicule chez les chitonides / par Paul Garnault.

Contributors

Garnault, Paul, 1860-
Duval, Mathias, 1844-1907
Royal College of Surgeons of England

Publication/Creation

[Paris] : [publisher not identified], [1888]

Persistent URL

<https://wellcomecollection.org/works/vtysqy74>

Provider

Royal College of Surgeons

License and attribution

This material has been provided by This material has been provided by The Royal College of Surgeons of England. The original may be consulted at The Royal College of Surgeons of England. where the originals may be consulted. This work has been identified as being free of known restrictions under copyright law, including all related and neighbouring rights and is being made available under the Creative Commons, Public Domain Mark.

You can copy, modify, distribute and perform the work, even for commercial purposes, without asking permission.



Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
<https://wellcomecollection.org>





Honorable respectueux

Seul Garnault

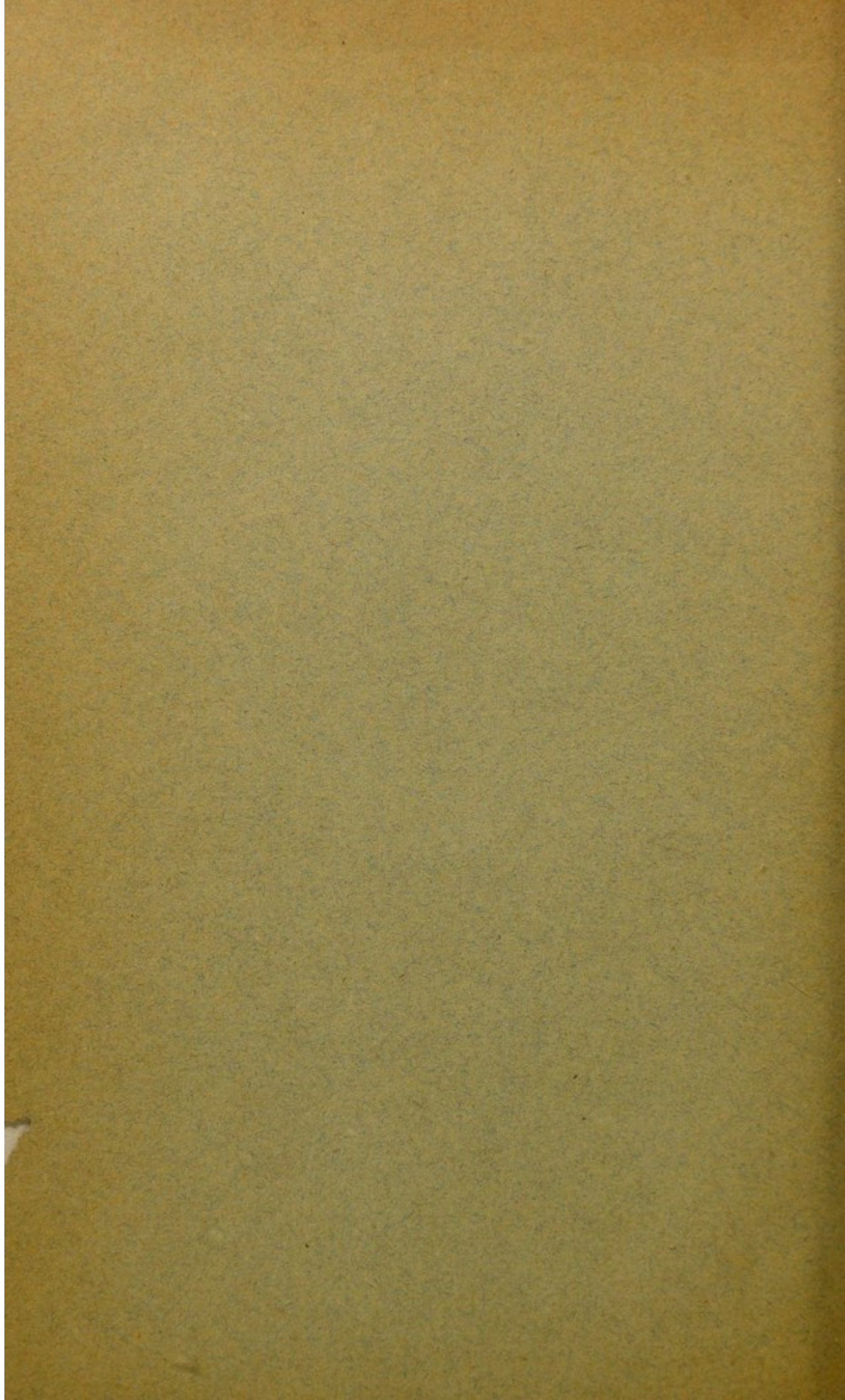
196 bis

10.

P. Garnault.

Prof. et pellicule des Clitoniades.







RECHERCHES
SUR
LA STRUCTURE ET LE DÉVELOPPEMENT DE L'OEUF
ET
DE SON FOLLICULE CHEZ LES CHITONIDES

PAR
PAUL GARNAULT
Docteur ès sciences naturelles *et en Médecine*
Chef des travaux de zoologie à la Faculté des sciences de Bordeaux.

I

Dans un travail qui vient de paraître ¹, M. Arthur Bolles-Lee, parlant des recherches de M. Sabatier sur la spermatogénèse, s'exprime en ces termes : « En 1882, parut un mémoire de Sabatier contenant des observations et une théorie qui ne tendent à rien moins qu'à renverser de fond en comble tout l'ensemble des faits acquis par les recherches laborieuses dont les phénomènes de la spermatogénèse ont été l'objet, pendant ces dernières années, en Allemagne, en Angleterre et en France, et à faire admettre une doctrine de la néogénèse des noyaux que la cytologie a déclarée inadmissible. »

Je ne veux pas, dans ce travail, discuter à un point de vue général l'ensemble des théories bien connues du savant professeur de Montpellier. Je me bornerai à faire remarquer, comme Bolles-Lee, qu'elles sont profondément ébranlées par la seule comparaison avec les nombreux et remarquables travaux qui ont paru dans ces dernières an-

¹ *La Spermatogénèse chez les Némertiens à propos d'une théorie de Sabatier (Recueil de Zoologie suisse, t. IV, fasc. 3).*

nées sur la cytologie, en général, et sur la spermatogénèse et l'ovogénèse, en particulier. Mais il n'en est pas moins vrai que, suivant en cela une méthode rigoureusement scientifique, M. Sabatier s'est élevé à ses conceptions générales par de nombreux et considérables travaux de détail. C'est donc chacun de ces travaux qu'il importe de reprendre, afin de vérifier, tout d'abord, si les faits et les interprétations avancés ne sont pas exacts, et essayer, en cas de désaccord, d'expliquer la cause de la divergence des opinions. Il y a toujours, au point de vue scientifique, un grand avantage à reprendre les travaux qui servent de base aux doctrines nouvelles ; M. Bolles-Lee vient de faire, après M. Sabatier, l'étude de la spermatogénèse chez les Némertiens. J'ai repris de même, avec l'esprit dégagé de toute préoccupation systématique, l'étude du développement du follicule chez les Chitons.

M. Arthur Bolles-Lee a démontré que le développement des spermatozoïdes, chez les Némertiens, rentrait exactement dans le cadre général de la spermatogénèse tracé par la Valette-Saint-Georges, et il attribue avec raison, je crois, à l'insuffisance des procédés dont s'est servi Sabatier, l'inexactitude de ses observations.

Dans une monographie publiée au mois de juillet dernier ¹, nous avons occasion de le constater aussi, tous les travaux récents sur la spermatogénèse faits avec les ressources de la technique actuelle, font rentrer les processus divers de ce phénomène dans le schéma tracé par la Valette-Saint-Georges. La lecture du mémoire de M. Bolles-Lee, l'examen de ses figures nous ont laissé cette conviction que les Némertiens ne font pas exception à la règle générale.

Avant d'exposer et de discuter les résultats de mes recherches sur le développement de l'œuf et du follicule chez les Chitons, qu'il me soit permis de citer intégralement un passage d'une note ² de M. Sa-

¹ P. Garnault, *Recherches anatomiques et histologiques sur le Cyclostoma elegans* (Thèse Paris, 1887, et Actes de la Société Linnéenne de Bordeaux, t. XLI).

² Sabatier, *Sur les cellules du follicule de l'œuf et sur la nature de la sexualité* (Comptes rendus de l'Institut, juin 1883).

batier, qui me paraît résumer à peu près complètement ses théories sur le développement et la signification morphologique des cellules folliculaires.

Dans la première partie de cette note, M. Sabatier rappelle qu'il est d'accord avec MM. Roule et Fol pour affirmer que les cellules folliculaires de l'œuf des Ascidies se forment dans l'œuf, pour se porter ensuite à sa périphérie. Mais ces auteurs croient que c'est aux dépens du noyau et même avec la participation du nucléole de l'œuf que se forment les noyaux des cellules folliculaires, tandis que lui admet un tout autre mode de développement; je laisse la parole à M. Sabatier.

« Je persiste donc à penser, ainsi que je l'avais avancé dans un mémoire publié dans la *Revue des sciences naturelles de Montpellier*, que les cellules folliculaires naissent par voie endogène dans le sein du vitellus, au voisinage et parfois même à une certaine distance du nucléus.

« Comme M. Fol, j'ai observé des phénomènes semblables chez des vertébrés supérieurs et inférieurs; chez les Poissons, les Amphibiens, le Chien, le Chat, le Veau et chez la Femme, j'ai constaté cette élimination du sein du vitellus de corpuscules destinés à devenir les cellules du follicule de Graaf. Mais la priorité de cette observation me paraît appartenir à M. Cadiat (*Traité d'anatomie générale*, 1881). Seulement M. Cadiat pense que ces noyaux se forment sous la paroi propre de la cellule, tandis que c'est plutôt dans les parties centrales. J'ai reconnu également dans ces corpuscules les corps décrits par M. Balbiani, sous le nom de vésicule embryogène. Quant à Nussbaum, qui en voit à tort l'origine dans la division muriforme du nucléus (*Maulbeerformiger Kerntheilung*), il est juste de dire qu'il a reconnu leur marche centrifuge pour aller constituer les cellules folliculaires.

« Je tiens à dire que ces faits d'élimination d'éléments cellulaires produits par génération endogène m'ont beaucoup frappé par leur généralité, dans l'étude comparée que je poursuis, depuis quelque

années, de la spermatogénèse et de l'ovogénèse. Ces faits m'ont conduit à des vues théoriques sur la nature et l'origine de la sexualité des éléments reproducteurs. Ces éléments me paraissent posséder d'abord deux principes de polarités opposées; l'un centripète (cellule ovulaire, blastophore), localisé dans le noyau et une portion du protoplasme; l'autre centrifuge, localisé dans cette autre portion du protoplasme aux dépens de laquelle se forment les autres éléments centrifuges (cellules du follicule, globules polaires, couches périvitellines, *zona radiata*, spermatoblastes, etc.). Toute cellule dans laquelle les deux polarités sont dans un état réciproque d'équilibre, est dans un état de neutralité sexuelle plus ou moins grande et est susceptible de parthénogénèse; mais si une modification biologique fait disparaître un des deux éléments, l'équilibre est rompu; une des deux polarités devient prédominante et la cellule acquiert par cela même une sexualité déterminée. L'élimination de l'élément centrifuge donne naissance à l'élément femelle, l'élimination de l'élément centripète produit l'élément mâle. Il peut y avoir plusieurs degrés dans la sexualité, et la sexualité complète peut n'être acquise que progressivement par des éliminations successives. »

Je dois dire, après cette citation, que la théorie générale de la spermatogénèse exposée par M. Sabatier, et que son interprétation du blastophore, *cytophore*, comme du résidu central femelle d'une cellule hermaphrodite dont la partie périphérique mâle serait représentée par les spermatocytes, ne repose, en dehors des travaux personnels de Sabatier et des recherches anciennes de M. Duval, sur aucune donnée positive; elle est en contradiction avec la plupart des travaux récents sur la spermatogénèse ¹.

¹ Nous nous rattachons complètement à la manière de voir de MM. Bloomfield et Jensen, qui considèrent la signification du Cytophore, dont la présence et la constitution sont si variables, comme purement physiologique.

On pourrait rapprocher de la manière de voir de M. Sabatier les recherches de MM. van Beneden et Julin sur la spermatogénèse de l'*Ascaris megalocephala*. Mais leur observation est isolée, d'ailleurs, et n'a pas été vérifiée. Elle se relie intimement à la théorie de la pseudokaryokinèse des globules polaires soutenue par M. van Be-

Les travaux de Carnoy, van Beneden, Marck, Hertwig, Trinchese, et mes propres observations sur la formation des globules polaires, ne peuvent pas permettre d'accepter la théorie de Sabatier sur leur origine intravitelline. La présence incontestable de globules polaires dans des œufs parthénogénétiques ne permet pas davantage d'admettre sur leur signification physiologique la théorie de Sabatier, qui n'est d'ailleurs qu'une variante de celle déjà émise par Minot et acceptée par Balfour.

Que reste-t-il donc à M. Sabatier? La genèse intra-vitelline des cellules folliculaires. Nous espérons mettre hors de doute par l'exposé de nos recherches sur l'ovogénèse des Chitons que, non seulement l'origine intra-vitelline des cellules folliculaires chez ces animaux doit être repoussée, mais même la participation directe de l'œuf, par son noyau, à leur formation.

Nous avons lu avec intérêt dans le travail récent de M. Roule¹ sur la *Ciona intestinalis*, le résumé de ses dernières opinions sur le développement et la signification des cellules folliculaires chez les Ascidies. Nous n'acceptons en aucune façon l'homologie qu'il prétend établir entre l'œuf et le cytophore, d'un côté, entre les spermatocytes et les globules polaires, de l'autre. Nous l'avons dit ailleurs, les éléments homologues sont pour nous l'œuf et la spermatogonie, et les spermatocytes équivalent à des cellules de segmentation.

Nous repoussons, plus complètement que ne le fait M. Roule, toute communauté de nature entre les cellules folliculaires et les globules polaires, car les phénomènes qui leur donnent naissance sont tout à fait indépendants, et leur signification est très différente. Mais si l'on accepte avec M. Roule, comme démontré que les cel-

neden, que l'ensemble des recherches des auteurs, et en particulier celles de MM. Carnoy, Zacharias, Boveri, sur les Ascarides, rendent bien invraisemblables.

Enfin la manière de voir de la Valette-Saint-Georges, qui homologue la *Cysten-haut*, que l'on rencontre dans les spermatogemmes de nombreux animaux à la membrane folliculaire de l'œuf, suppose démontré, ce qui est justement en question, c'est-à-dire que la membrane folliculaire est formée par l'œuf.

¹ Roule, *Monographie de la Ciona intestinalis*, p. 167 (*Annales du Musée de Marseille*, t. II).

lules folliculaires des Ascidies dérivent directement¹ de l'œuf et que la vésicule germinative prenne part à leur formation, on peut regarder comme justes ses réflexions, qui diffèrent complètement des

¹ Si MM. Fol et Roule sont d'accord sur ce point, les auteurs qui ont étudié la question ne sont pas unanimes; M. de Lacaze-Duthiers, notamment, n'admet en aucune façon ce processus dans son travail sur la Molgule. M. Giard (*C. R.*, juin 1881) admet, chez la *Lithonephria*, que des cellules extérieures à l'œuf pénètrent dans le vitellus, vont quelquefois jusqu'au voisinage de la vésicule germinative, et sont capables de se segmenter. Enfin MM. E. van Beneden et Julin, dans leur magnifique travail sur la « Morphologie des Tuniciers » (*Arch. de Biologie*, t. VI), sont arrivés à des conclusions que je crois devoir citer en entier. Elles correspondent entièrement à celles que l'on trouvera exposées à la fin de ce travail, et elles sont en contradiction formelle avec les théories de M. Sabatier, tant au point de vue de la genèse de l'œuf qu'au point de vue de l'origine et de la signification des cellules folliculaires.

« 1° Chez la Claveline de Risso, l'épithélium folliculaire procède exclusivement des cellules folliculeuses de l'épithélium germinatif;

« 2° Cet épithélium primitif se résout en deux assises secondaires; l'une, interne, répond à la couche du testa; l'autre, externe, à ce que nous appelons l'*épithélium folliculaire secondaire*. Les éléments du testa sont des cellules qui dérivent exclusivement des cellules folliculeuses primitives. Elles ne sont jamais entièrement plongées dans le vitellus, mais seulement saillantes dans la substance de l'œuf;

« 3° L'épithélium folliculaire se subdivise, au moment où l'œuf arrive à maturité, en deux nouvelles assises cellulaires: l'interne, adhérente à la membrane ovulaire, devient la couche spumeuse de l'œuf pondu; l'externe reste en place, à la face interne de la membrane anhiste du follicule;

« 4° L'enveloppe ovulaire anhiste qui prend naissance après la subdivision de l'épithélium primitif du follicule en deux assises adjacentes, ne peut être une production de l'ovule; elle procède de l'épithélium folliculaire. Elle a le même aspect que la membrane anhiste qui se continue sur le pédicule folliculaire et jusque sous l'épithélium ovarien. Cette dernière a probablement la valeur d'une membrane basale. Elle n'est certainement pas formée de cellules endothéliales. Les membranes qui entourent l'œuf mûr dans le follicule sont donc au nombre de cinq: la couche du testa, l'enveloppe ovulaire anhiste, l'épithélium interne du follicule, l'épithélium externe du follicule, la membrane anhiste du follicule; toutes dérivent de l'épithélium folliculaire primitif. »

Ce que j'ai vu chez les Chitons me porte à croire que, malgré tous les travaux dont elle a été l'objet, l'ovogénèse des Ascidies aurait besoin d'être étudiée de nouveau.

M. Balbiani, dans une note très importante (*Zoologischer Anzeiger*, 1883), considère les corps intravitellins de l'œuf des Géophiles qui, d'après lui, seraient dérivés du noyau, comme l'origine des cellules folliculaires. Cette manière de voir ne repose pas sur une observation directe, mais c'est plutôt une hypothèse que les travaux de MM. Fol, Roule et Sabatier paraissent rendre très vraisemblable à M. Balbiani. La question de l'origine et du sort des corps vitellins chez les Arachnides et les Myriapodes demande donc, elle aussi, de nouvelles observations.

conclusions de M. Sabatier, qui tendrait à faire considérer son procédé d'évolution des cellules folliculaires comme tout à fait général.

« La formation des couches protectrices de l'ovule, dit M. Roule, n'est donc pas, chez les Ascidies, en dehors des faits connus; au contraire, il est possible de la rattacher au développement si fréquent d'un follicule par le choix, dans une segmentation abondante, d'une cellule qui évolue seule en ovule, tandis que les autres persistent autour d'elle pour lui former une enveloppe..... D'autre part, la plupart des ovules sont entourés par une coque de protection, qui tantôt est fournie par des organes annexes, tantôt est empruntée à la substance même de l'ovule; dans ce dernier cas, la cellule ovulaire primitive se segmente un certain nombre de fois, et, parmi l'amas de cellules qui résultent de cette segmentation, une seule sera susceptible d'être fécondée, tandis que les autres se grouperont autour d'elle pour lui former une coque de protection.

« Dans le cas particulier des Ascidies — et peut-être aussi d'autres animaux — un phénomène spécial intervient. La vésicule germinative, le noyau si volumineux des ovules jeunes, disparaît en partie, dans tous les développements embryogéniques, lorsque le moment de la fécondation approche, et les portions de cette vésicule, qui ne doivent plus faire partie de l'œuf sont rejetées au dehors avec une partie du vitellus (globules polaires); il me paraît que la genèse des enveloppes chorionnaires des ovules d'Ascidies est une sorte d'extension, d'utilisation de ce rejet des globules polaires. Il semble en effet que, puisque l'œuf possède, d'une manière générale, la faculté d'émietter une partie de sa vésicule germinative, les œufs de certains animaux peuvent utiliser cette propriété et la pousser à l'excès, en séparant de leur vésicule germinative, ou plutôt, du réseau chromatique de cette vésicule au fur et à mesure qu'ils grossissent, de petites portions qui émigrent dans le vitellus et autour desquelles une partie de ce vitellus se condense pour former des éléments qui s'étalent à la périphérie de l'ovule et constituent la coque. Je ne veux

pas dire par là que les cellules de cette coque correspondent à des globules polaires; j'entends seulement que cette propriété des œufs de rejeter une partie de leur vésicule germinative sous forme de globules polaires, qui ne jouent aucun rôle et ne sont que des corpuscules de rebut, est détournée dans certain cas de ce but pour servir à la production du follicule. »

Nous ne pouvons songer à énumérer les cas où, comme le dit très bien M. Roule, il se produit à la suite d'une segmentation abondante, c'est-à-dire dans un tissu embryonnaire, un choix d'une cellule qui seule évolue en ovule, tandis que les autres persistent autour d'elle pour lui former une enveloppe. Ces cas, fort nombreux dans la science, peuvent être considérés comme typiques et normaux. Nous espérons arriver à démontrer que les Chitons rentrent absolument dans ce cadre d'évolution¹.

II

Mes recherches ont surtout porté sur le *Chiton cinereus*, qui se trouve en abondance à Arcachon. J'ai pu suivre, chez cet animal, tous les phénomènes de l'évolution de l'œuf, depuis sa première apparition, jusqu'aux derniers stades de son développement. Les exemplaires de cette espèce que j'ai pu étudier, m'ont été fournis avec la plus grande obligeance par M. Durègne, ingénieur des télégraphes, directeur de la station zoologique de cette localité; je lui adresse ici tous mes remerciements. J'ai pu étudier d'une façon presque aussi complète l'évolution de l'œuf du *Chiton fascicularis*. Je suis heureux d'exprimer ici ma vive reconnaissance à M. le professeur de Lacaze-Duthiers, qui a bien voulu m'envoyer de Roscoff, de magnifiques échantillons de cette espèce, et m'accorder dans ses *Archives* une généreuse hospitalité.

¹ Je ne puis songer, dans ce travail très spécial, à discuter complètement la question de la signification des cellules folliculaires; on pourra consulter avec fruit les travaux de Minot, de Sabatier, de Nussbaum, Hyatt, A. Thompson, la Valette-Saint-Georges, Will, Fol, Roule, Bolles-Lee.

J'adopterai, dans l'exposition de mes recherches, la méthode suivante, que je crois être la plus convenable; je décrirai tout d'abord les phénomènes que j'ai pu observer sur les deux espèces qui ont servi à mes études; je comparerai ensuite mes résultats à ceux obtenus par mes prédécesseurs.

L'ovaire des Chitons est trop connu pour que je songe ici à le décrire; je me bornerai à dire que c'est un sac bosselé plutôt que lobulé, formé par une paroi externe conjonctive, ordinairement très mince, revêtue d'un épithélium germinatif. Sur la paroi, font saillie vers l'intérieur, des lames formées par l'adossement à elle-même de cette membrane conjonctive; au centre de ces replis, se trouve un fin réseau lacunaire. Ils sont revêtus par le même épithélium, aux dépens duquel se développent aussi des œufs.

J'ai dû commencer mon travail par l'étude des objets frais observés rapidement dans l'eau de mer ou dans le sang de l'animal ou bien encore dans le vert de méthyle. Lorsque je voulais fixer les œufs avant de les étudier, je procédais de la même manière que M. Sabatier : l'animal étant placé sur le dos, je fendais l'ovaire et déposais dans le réceptacle formé par la carapace, quelques gouttes de liquide chromo-acéto-osmique¹. Après un séjour de quelques minutes (8 à 10), je lavais complètement à l'eau distillée et colorais par le picrocarmin, je lavais de nouveau et montais dans la glycérine formiquée. J'ai obtenu aussi d'excellents résultats en traitant directement par le picrocarmin et terminant l'opération comme ci-dessus. Ce ne sont pas là les seuls procédés de fixation et de coloration que j'aie cru devoir employer, mais ceux-là permettent d'apercevoir dans

¹ Je me suis servi des liquides de Flemming, mais je préfère de beaucoup celui de Fol, qui contient moins d'acide osmique :

| | |
|------------------------------------|---------|
| Acide chromique à 1 pour 100 | 25 vol. |
| — osmique à 1 pour 100 | 2 — |
| — acétique à 2 pour 100 | 5 — |
| Eau | 68 — |

les dilacérations tous les phénomènes susceptibles d'être étudiés par ce procédé d'observation, toujours nécessaire, mais toujours insuffisant.

La figure 1 est la représentation d'une préparation que je possède encore. Elle représente un fragment de l'ovaire du *Chiton cinereus*, qui a été traité directement par le picrocarmin et monté dans la glycérine formiquée. On peut déjà voir, dans cette préparation, des faits assez nombreux. L'un d'eux possède une grande importance. Les œufs, à l'âge où ils sont représentés dans cette figure, possèdent un cytoplasma homogène ; ils renferment un gros noyau clair sphérique et un nucléole opaque. Les œufs font saillie à la surface de l'ovaire et prennent au fur et à mesure qu'ils s'accroissent, un aspect claviforme de plus en plus marqué, qui se remarque surtout sur les plus gros du groupe dessiné. On peut passer, comme on le voit, en se rapportant au dessin, de l'œuf bien développé aux cellules de l'épithélium germinatif, par des transitions parfaitement graduées ; mais ce genre de préparation est absolument insuffisant pour faire l'étude des premiers états du développement de l'œuf, et nous devons pour cela avoir recours à des méthodes plus parfaites, mieux appropriées au but à atteindre.

On peut cependant déjà reconnaître, par ce simple procédé, que tous les œufs présentent à leur surface un certain nombre de noyaux de forme parfaitement déterminée, à contours nettement arrêtés, qui se voient dans tous les cas avec la plus grande évidence, bien que l'on ne puisse jamais arriver à les colorer d'une façon très intense. Ces noyaux, logés sous une membrane, font une légère saillie à la surface de l'œuf, et se voient très nettement sur les bords de la coupe optique ; mais en relevant le tube du microscope, on les reconnaît successivement sur toute la surface de l'œuf. La première opinion qui vienne à l'esprit, à la suite de cette observation, c'est que l'œuf est entouré d'une membrane formée de cellules dont les limites sont invisibles. Ces cellules sont légèrement saillantes dans leur partie moyenne qui contient le noyau.

Le plus gros des œufs représentés dans la figure 1 présente un intérêt tout particulier. On voit que le pédicule est entouré à distance par une membrane plissée renfermant des noyaux semblables à ceux que nous avons observés à la surface de l'œuf et à ceux que nous pouvons reconnaître dans les cellules de l'épithélium germinatif. Cette membrane se continue évidemment, d'un côté avec l'épithélium ovarien et de l'autre, avec la capsule qui entoure le reste de l'œuf.

La membrane qui entoure l'œuf renferme donc des noyaux, qui, j'insiste sur ce point, *ne sont point libres sous la membrane, ne lui sont point faiblement accolés, mais sont logés dans son intérieur*. C'est là un point capital, sur lequel je ne puis avoir de doute ; j'ai plusieurs fois, sous le compresseur, vérifié ce fait, qui concorde d'ailleurs parfaitement avec les résultats obtenus par d'autres procédés.

Il était difficile, même avec cette seule observation, de supposer que la capsule de l'œuf fût constituée autrement que par des cellules aplaties soudées les unes aux autres. Elle serait donc alors formée, en réalité, de deux feuillets renfermant entre eux un protoplasma cellulaire réduit et un noyau encore bien visible. Mais comme on n'aperçoit plus de soudures intercellulaires, on a pu supposer que la membrane était anhiste, les noyaux dans cette hypothèse s'y trouvant simplement accolés. Cette dernière opinion est déjà renversée par notre première observation, mais pour élucider complètement la question et pour donner une preuve irréfutable de la constitution cellulaire de cette membrane, j'ai eu recours au procédé de Recklinghausen. Un fragment d'ovaire (je me suis servi du *Chiton cinereus* et du *Chiton fascicularis*) est lavé rapidement, mais complètement, sous un léger filet d'eau distillée. Cette petite opération doit toujours être faite très soigneusement. On fait alors passer sur l'objet un filet de la solution de nitrate d'argent à 1/500, ou bien on l'agite dans la solution. L'opération réussit toujours très bien lorsqu'elle est faite par un beau soleil. On doit s'arrêter dès que les œufs commencent à prendre une teinte grise. Le lavage doit être ensuite fait très soi-

gneusement à l'eau distillée, et on monte dans la glycérine. On voit alors un aspect tel que celui qui est dessiné dans les figures 15 et 16. La figure 16 représente un œuf vu de profil dont le pédicule s'est brisé; en *a* est le noyau de l'œuf, en *b* son nucléole. La surface de l'œuf présente des lignes droites d'un noir intense, limitant des polygones hexagonaux ou pentagonaux. Cette observation complète la précédente; notre hypothèse se vérifie et à chacun des noyaux de la surface correspond un corps cellulaire mis en évidence par le dépôt d'argent. Ce dépôt est dû à la réduction produite en présence de la lumière par le ciment qui unit la membrane de la cellule aux cellules voisines. La membrane qui entoure l'œuf n'est donc pas anhiste; elle renferme des noyaux qui correspondent chacun à une cellule élémentaire.

En examinant un lambeau entier d'ovaire traité par le nitrate d'argent en présence de la lumière, nous pouvons compléter les notions précédemment acquises. Sur le fond gris de la paroi ovarienne, revêtue de cellules indiquées par le trait noir de leur ciment intercellulaire, se détachent les œufs à tous les états du développement: les uns, vus d'en haut, c'est-à-dire par leur grosse extrémité, les autres de profil; et sur ceux-ci, on constate très nettement la continuité entre leur calotte cellulaire et l'épithélium ovarien.

Les membranes intercellulaires de l'épithélium ovarien ne sont pas droites, mais en zig-zag, et cet aspect est d'autant plus visible, que l'imprégnation est plus légère et plus délicate. La raison en est facile à comprendre: les ondulations étant très serrées et très peu amples, un abondant dépôt d'argent empâte la ligne de soudure, qui, alors, paraît droite.

Les membranes intercellulaires des éléments anatomiques qui constituent la capsule des gros œufs, sont toujours indiquées par des lignes droites, tandis que chez les œufs plus jeunes, elles sont indiquées par des lignes en zig-zag. En effet, comme nous le verrons bientôt, ces cellules suivent une évolution de la forme épithéliale vers la forme franchement endothéliale et aplatie des cellules de revête-

ment. Cette évolution est accompagnée d'une augmentation dans le dépôt du ciment qui imprègne les membranes intercellulaires. De là, empâtement par l'argent de la ligne de soudure qui devient droite.

Dans les œufs inclinés sur leur pédicule, on aperçoit, je le répète, d'une façon qui ne laisse pas prise au doute, la continuité du revêtement folliculaire de l'œuf avec l'épithélium ovarien.

Les jeunes œufs apparaissent comme des saillies brunes plus ou moins volumineuses, suivant leur âge, sur la membrane de l'ovaire. Un fait important et qui pour moi n'est pas douteux, bien qu'il soit assez difficile à voir nettement, c'est que les jeunes œufs, dès qu'ils peuvent être distingués comme tels, sont recouverts par des cellules dont on aperçoit les cloisons. Ces cloisons sont peu distinctes, il est vrai, car ces cellules, à ce moment, comme le montreront les coupes sont des cellules jeunes, et dont les membranes, par conséquent, sont peu développées.

Si on étudie avec soin le réseau cellulaire dessiné à la surface des œufs d'âge moyen, le nombre des cellules paraît plus considérable que chez les gros œufs ; mais, chez ces derniers, elles atteignent une plus grande taille.

Il est possible que, pendant les phénomènes d'accroissement de l'œuf, les cellules qui recouvrent le dôme continuant seules à s'accroître, rejettent les autres, dès lors destinées à s'atrophier vers le pédicule en voie de formation. Cette explication me paraît très vraisemblable ; nous aurons d'ailleurs à y revenir. Sur les œufs de taille moyenne, on voit dans le réseau cellulaire des dispositions telles, qu'à côté de grosses cellules, s'en trouvent de très petites. Rien de semblable n'existe plus sur les grands œufs. Y a-t-il là une prolifération tardive des éléments anatomiques ? Sont-ce là des cellules restées plus petites et qui regagneront plus tard le temps perdu, ou bien faut-il voir dans cette observation le résultat d'une erreur si facile à commettre avec des objets traités par le nitrate d'argent et incomplètement lavés ? Je ne serais guère disposé à admettre cette dernière explication, car j'ai fait avec beaucoup de soin de

nombreuses préparations, et dans chacune j'ai toujours pu constater cette disposition au moins sur quelques œufs. Cependant, je réserve encore mon opinion sur ce fait, d'ailleurs fort peu important en soi.

Je dois dire encore que l'on peut constater, tant par la méthode du nitrate d'argent, que par les méthodes précédentes, que les cellules folliculaires sont saillantes à la surface des œufs jeunes et même d'âge moyen. Leur noyau se trouve contenu au milieu d'un protoplasma parfaitement homogène, sans granulations ni vacuoles.

Je ne me suis pas tenu à ces procédés d'investigation; je les ai complétés par la méthode des coupes. Toutes mes sections ont été faites sur des objets inclus dans la paraffine par le chloroforme. J'ai essayé, pour la fixation des réactifs très divers, mais je m'en suis définitivement tenu au liquide chromo-acéto-osmique, avec la formule de Fol et à l'acide azotique à 3 pour 100. Les meilleures substances que j'aie employées pour les colorations en masse, sont le picrocarmin et surtout le carmin aluné et l'hématoxyline. J'ai fait aussi avec grand avantage des colorations sur la lame de préparations fixées par la liqueur chromo-acéto-osmique, avec le violet de gentine appliqué suivant l'excellente méthode de Bizzozero. J'ai employé de la même manière la safranine suivant la méthode d'Herman, mais avec beaucoup moins de succès.

J'ai représenté deux sections de l'ovaire du *Chiton cinereus* dans les figures 2 et 3. La paroi conjonctive de l'ovaire est très mince, et se trouve recouverte du côté interne par une couche de cellules épithéliales qui s'adossent à elles-mêmes pour constituer des replis saillants dans l'intérieur de l'ovaire. Ces replis portent sur toute leur longueur de nombreux ovules.

La couche épithéliale est ordinairement composée d'un plan unique de cellules. Mais aux points où naissent de jeunes œufs, et où les œufs déjà avancés dans leur évolution se rattachent par leur pédicule à la paroi, on constate un épaissement notable de l'épithélium, qui se trouve composé d'un nombre variable de plans

cellulaires. On peut voir, dans les figures 2 et 3, que les jeunes œufs, *c*, naissent au milieu d'un petit bourgeon épithélial. On ne voit dans mes dessins que des œufs déjà différenciés et faciles à reconnaître comme tels; mais il arrive souvent qu'en examinant une coupe, il est assez difficile de dire quelle sera, parmi les cellules qui composent le bourgeon épithélial, celle qui deviendra l'œuf. Quelquefois, comme on le voit en *d*, fig. 2, l'œuf naît profondément au sein de l'épithélium germinatif ¹ très près de la paroi conjonctive de l'ovaire.

Dans la cellule qui doit devenir un œuf, se passent les phénomènes suivants. Le noyau acquiert rapidement une taille considérable et son contenu tend à prendre rapidement un aspect réticulé. La chromatine, qui, dans les cellules de l'épithélium germinatif, est disposée en peloton, se fragmente, et chaque fragment tend à se ramasser en boule. La chromatine est alors intimement mêlée à l'achromatine qui forme dans le noyau un véritable réseau. Il n'y a aucun doute que le réseau ne dérive du peloton suivant le procédé indiqué par Carnoy. (*Biologie cellulaire. La Cytodiérèse chez les Arthropodes.*) Mais peu à peu, par voie de concentration progressive, la séparation des deux substances se fait et aboutit à la formation d'un nucléole unique. Il n'est donc pas étonnant qu'on trouve fréquemment quatre ou cinq nucléoles dans les œufs d'âge moyen, tandis que dans les œufs plus près de l'état adulte il n'y en a ordinairement qu'un seul.

On peut voir dans la figure 4, sur un œuf de *Chiton cinereus*, et dans la figure 20, sur un œuf de *Chiton fascicularis*, quelle est ordinairement la constitution du noyau dans un œuf d'âge moyen. Il a une membrane distincte, le réseau achromatique est encore légèrement colorable par l'hématoxyline et même par le procédé de Bizzozero, tandis que, dans l'œuf mûr, il ne se colore plus. Tous les ponts de substance nucléoplasmique convergent vers un amas principal, ordi-

¹ Je n'insiste pas ici sur la signification du terme *épithélium germinatif*. Je n'ai rien à ajouter à ce que j'ai dit sur ce sujet dans un travail récent. (*Recherches sur le Cyclostoma elegans, loc. cit.*, p. 119.)

nairement assez voisin du centre, mais distinct du nucléole. Le réticulum d'achromatine est beaucoup plus net chez le *Chiton fascicularis* que chez le *Chiton cinereus*.

Le nucléole est une masse sphérique volumineuse, excentriquement placée dans le noyau. Le nucléole peut être homogène, mais il se présente fréquemment chez les œufs d'âge moyen avec un des aspects représentés dans les figures 4 et 19, A.B. Au milieu d'une masse qui se colore bien par le vert de méthyle, le carmin, l'hématoxyline, le violet de gentiane, se trouvent des corpuscules sphériques au nombre de deux à cinq, qui se colorent avec beaucoup plus d'intensité. Dans l'œuf adulte et même dans les œufs à la phase d'expansion, on ne rencontre plus de nucléoles avec cet aspect ; le nucléole homogène se colore d'une façon intense et uniforme, fig. 2, 3, 5. Quant au réseau achromatique, il perd complètement, dans l'œuf adulte, sa colorabilité ; sa disposition en réseau devient beaucoup moins nette ; il se présente déjà avec l'aspect qu'il possède dans les gros œufs de la figure 3, bien que ceux-ci ne soient pas encore à une phase très avancée de leur évolution.

Dans les œufs très jeunes, le noyau acquiert tout d'abord un développement très considérable par rapport au protoplasma, qui s'accroît très lentement ; mais bientôt le vitellus se développe avec rapidité et devient très volumineux par rapport à son noyau.

Je dois encore, avant de terminer cette description de l'œuf, parler de certaines formations qui apparaissent dans l'œuf avant que ne se soit formé le dépôt des granulations vitellines. Le cytoplasma est loin d'être homogène ; il renferme des taches ordinairement nombreuses, colorables par tous les réactifs du noyau. Ces taches, que l'on peut très bien voir dans nos figures 2, 3, 4, 5 sont très nettes dans les coupes faites après fixation par le réactif chromo-acéto-osmique et coloration par le carmin aluné de Grenacher. Ces corps, malgré la facilité avec laquelle ils se colorent, n'ont jamais l'aspect de véritables noyaux. Ils sont assez nets et assez bien délimités, dans les plus jeunes œufs, mais toujours irréguliers et déchiquetés chez

les œufs plus avancés en âge. Ils peuvent être très petits (fig. 2) ou très gros (fig. 4). *Ils se trouvent dans toutes les parties du cytoplasma ovulaire et n'ont avec le noyau aucun rapport d'origine, mais de simples rapports de contiguïté.* Ils ne sortent jamais du cytoplasma de l'œuf. Ils présentent, dans quelques cas, un aspect en bissac¹ qui pourrait faire supposer qu'ils sont capables de se diviser ; mais cette seule preuve ne peut être considérée comme suffisante. Ces corpuscules sont ordinairement entourés par un protoplasma moins colorable, comme on le voit figure 5 ; ils disparaissent sans retour et ne laissent dans l'œuf adulte aucune trace de leur éphémère existence. J'aurai occasion de revenir sur leur nature et leur signification, dans la discussion des résultats obtenus par les auteurs.

Si maintenant, abandonnant l'œuf lui-même, nous essayons de vérifier et de compléter par l'étude des sections les notions préalablement acquises sur la nature du follicule, nous y trouvons une preuve nouvelle et évidente de sa structure cellulaire.

Les œufs, avons-nous dit, se différencient comme tels au milieu d'un bourgeon épithélial. Les cellules qui le recouvrent s'aplatissent et forment une membrane cellulaire qui contient des noyaux renfermés chacun dans leur cellule correspondante. Chaque cellule est évidemment limitée par deux membranes, d'abord écartées, car elles renferment du protoplasma autour du noyau, mais qui s'appliquent de plus en plus l'une contre l'autre, au fur et à mesure que leur taille augmente et que leur protoplasma disparaît. Bientôt enfin ces deux membranes n'en forment plus qu'une seule constituée par deux feuillets élémentaires qui ne sont plus distincts, qu'au point où se trouve le noyau.

Les figures 2 et 3 représentant des coupes de l'ovaire du *Chiton cinereus* faites au printemps, au moment de la grande poussée germinative, me paraissent suffisamment claires sur tous ces points. On y voit très bien aussi que le follicule des jeunes œufs, de même

¹ La figure 4 où ce corps est parfaitement limité, est absolument exceptionnelle.

que l'enveloppe cellulaire qui entourent le pédicule des œufs plus âgés, se continuent avec l'épithélium ovarien.

On ne voit pas toujours aussi nettement ces faits, surtout si on fait les coupes à une époque d'arrêt dans l'évolution des œufs; car alors les cellules qui entourent les œufs formés depuis un certain temps, sont déjà aplaties; et souvent il arrive que la section ne rencontre dans la membrane aucun noyau. Ces faits négatifs, faciles à interpréter, ne peuvent, après les démonstrations fournies par les divers procédés que nous avons indiqués, introduire quelque doute dans notre esprit. L'œuf à ce moment se pédiculise de plus en plus rapidement et il restera fixé par ce pédicule à l'ovaire, jusqu'à la fin de son évolution.

Les cellules folliculaires peuvent, chez les Mollusques, se comporter de deux façons très différentes. Elles peuvent se trouver en très grand nombre autour de l'œuf comme dans la *Sépia*. Elles ne forment pas, à proprement parler, une enveloppe autour de l'œuf, mais se nourrissant assez facilement elles-mêmes, à cause de l'étroitesse du tube ovarien, elles servent aussi à nourrir l'œuf qui s'accroît à leurs dépens par toute sa surface. Au contraire, sur les parois de l'immense sac ovarien des chitons, où doit se faire le développement d'œufs innombrables et très volumineux, ces œufs, pour pouvoir arriver à terme, doivent rester en relation avec leur paroi sans gêner leurs nombreux voisins; aussi se pédiculisent-ils et sont-ils reliés à l'ovaire par le follicule, comme le sont, par leur filet au réservoir du gaz, les ballons que l'on est en train de gonfler. Ces cellules de revêtement ne jouent en aucune façon, pendant le développement de l'œuf, le rôle de pabulum, mais forment une membrane peu coûteuse à nourrir qui rattache solidement l'œuf à l'ovaire pour ne se rompre que lorsque l'évolution de l'œuf est terminée. L'enveloppe folliculaire, en se modifiant par un processus curieux, deviendra la membrane de l'œuf mûr que nous décrirons bientôt.

Entre les cas extrêmes de la *Sépia* et des Chitons, on en trouve d'intermédiaires, tels que celui que nous avons décrit chez le *Cyclostoma elegans*.

Il se produit dans les œufs fixés à l'ovaire, des modifications très curieuses, que nous étudierons tout d'abord chez le *Chiton cinereus*. On voit, dans la figure 4, le phénomène à ses débuts. Avant que l'on ait pu constater l'apparition des granulations vitellines dans le cytoplasma de l'œuf, il se produit, en face de chacune des cellules folliculaires, une véritable bosse formée par l'expansion du vitellus. Au début, ces bosses sont plus développées au voisinage de l'extrémité libre de l'œuf et diminuent en se rapprochant du pédicule ; mais cette différence disparaîtra bientôt, quand l'œuf sera plus avancé.

La figure 6 représente le stade suivant : l'œuf, dont les contours sont seuls représentés, est vu d'en haut ou de face, son aspect rappelle vaguement celui d'une fleur épanouie. Les expansions vitellines ressemblent à des pétales disposés suivant une spire. On voit, au sommet de chaque pétale, en *c*, le noyau de la cellule folliculaire correspondante. Ce noyau, qui est un peu aplati, est contenu dans un espace clair, qui doit être considéré comme représentant le corps de la cellule folliculaire. Cet aspect est plus net encore dans la figure 7, car les expansions vitellines, développées au maximum, placent le corps de la cellule folliculaire dans la situation la plus favorable pour qu'on puisse l'observer. Les mêmes apparences se voient encore dans la figure 8 ; mais, dans la figure 9, le noyau paraît appliqué intimement sur le vitellus et l'on ne comprendrait guère, en voyant cette figure isolée, qu'il se trouve contenu entre les deux feuillets de sa cellule. A cette époque, en effet, le corps protoplasmique de la cellule folliculaire déjà vieille disparaît complètement ; le noyau lui-même, jusque-là facilement colorable, devient difficile à teindre par les réactifs ; les deux parois de la cellule folliculaire s'appliquent intimement l'une à l'autre, pour n'en former qu'une seule qui deviendra après les modifications que nous allons décrire, la *coque* ou le *chorion* des auteurs.

On peut voir, dans les figures 8, 9, 10, apparaître en *e*, dans les parties latérales de l'œuf, deux vacuoles dont la taille ne fera plus qu'augmenter. Ces vacuoles, que l'on ne voit dans les dessins que

sur les parties latérales des expansions vitellines, en occupent, en réalité, toute la périphérie, car je ne représente évidemment que des coupes optiques. Il semble que les vacuoles apparaissent tout d'abord dans le protoplasma vitellin très près de la membrane, car on peut voir, au début de leur formation, une couche de granules placée entre la vacuole et la paroi folliculaire; mais cette couche disparaît bientôt. Il est aussi difficile d'indiquer la cause prochaine de la formation de la vacuole que celle de l'expansion du vitellus.

Il est fort difficile de comprendre la cause de la forme, singulière et régulière à la fois, des expansions vitellines. Leur sommet correspond exactement au noyau de la cellule extérieure. Quelle relation y a-t-il entre ces deux faits? c'est ce que je ne saurais dire.

Faut-il attribuer la forme des expansions à ce que les cellules folliculaires seraient moins résistantes et se laisseraient mieux déprimer dans leur partie moyenne?

Tout cela est fort singulier et sans analogie. Peut-être doit-on considérer les expansions vitellines, qui augmentent la surface du vitellus pendant le développement de l'œuf et qui se rétractent ensuite, comme des productions amœboïdes.

Beaucoup d'œufs jouissent en effet de la propriété d'émettre des prolongements amœboïdes; mais nous n'en connaissons aucun où les phénomènes soient comparables sous le rapport de l'intensité et de la durée avec ceux que nous avons décrits chez les Chitons.

C'est à partir de ce moment que commence la dernière période du développement de l'œuf, marquée par la rétraction de ses expansions et la formation du *chorion*. Ces derniers stades sont représentés dans les figures 11 et 12 à la chambre claire; et schématiquement, figure 14. L'œuf adulte est représenté dans la figure 13.

L'apparition de la vacuole périphérique détermine autour des expansions vitellines la formation d'un bourrelet circulaire. Je ne saurais mieux exprimer les choses, qu'en comparant le bourrelet à un cratère ancien au milieu duquel l'extrémité libre de l'expansion vitelline, surmontée de son noyau, ferait saillie, comme un cône de

nouvelle formation; tel est l'état représenté par la figure 41. Peu à peu l'expansion vitelline se contracte, se retire vers le centre de l'œuf, entraînant avec elle la portion de la cellule folliculaire qui contient le noyau et qui lui reste adhérente, figures 42, 44, B. A ce moment, le cône central est donc en voie d'affaissement.

Il est évident que la saillie des bords augmente au fur et à mesure que s'exagère l'invagination. La membrane s'épaissit peut-être un peu pendant que le phénomène s'accomplit, mais je ne suis pas absolument certain de ce fait. Quoi qu'il en soit, après que le vitellus s'est complètement rétracté, son ancienne loge reste vide et toutes ses parois se plissent. Il se forme, en effet, des plis longitudinaux ou parallèles au grand axe de l'expansion. Ces plis se continuant de la portion basale de la cellule folliculaire à la portion invaginée, produisent au niveau des bords du cratère, des sortes d'égueulements. Il se forme aussi, sur la membrane folliculaire de très nombreuses rides transversales; les parois du cratère s'appliquent l'une à l'autre et tout le système est en voie d'affaissement. Les figures deviennent alors très compliquées et seraient à peu près inintelligibles, sans l'observation attentive de toutes les transitions.

Nous arrivons enfin à la description de l'œuf adulte, qui se trouve représenté dans la figure 13. On le trouve avec cet aspect, soit libre dans la cavité de l'ovaire, soit suspendu par son pédicule très atrophié aux parois, qu'il abandonne avec la plus grande facilité. On voit encore quelquefois sur les œufs libres le pédicule flottant, *k*; mais il doit bientôt se résorber, car on ne l'aperçoit plus sur la plupart des œufs. C'est évidemment à l'orifice du pédicule que correspond le micropyle. Il n'y a pas, en effet, d'autre ouverture à la surface de l'enveloppe folliculaire. L'œuf à ce moment est parfaitement sphérique, il présente une tache claire qui est le noyau.

On voit ordinairement, à la surface de l'œuf fraîchement tombé dans la cavité ovarienne, des saillies difficiles à décrire, qui ont la forme de celles qui sont représentées en *a*, fig. 13; mais le plus souvent ces saillies, beaucoup moins développées, se présentent

avec l'aspect de $a' a'$. On peut, en laissant des œufs séjourner dans l'eau, voir les saillies de la forme a' se transformer en saillies de la forme a . Ces saillies de formes diverses correspondent à une cellule folliculaire modifiée suivant le schéma de la figure 14. Le mouvement de rétraction des expansions vitellines, que nous avons déjà indiqué, s'accroît (fig. 11 et 12) et chacune d'elles entraîne toujours à sa suite, la partie de la cellule folliculaire qui lui adhère et qui contient le noyau. La cellule folliculaire réduite à son noyau et à ses membranes accolées et probablement épaissies, se plisse de plus en plus et il se produit enfin des figures telles que $a' a'$ de la figure 13, expliquées par la figure schématique 14, c . La figure 13 serait, je le répète, absolument inintelligible, sans le secours des précédentes observations.

Je ne m'attarderai pas à décrire les apparences $a' a'$ de la figure 13. Il suffit de comprendre comment elles ont pu se produire.

La saillie a de la figure 13 montre très clairement quelle est sa constitution. On voit en p les bords du cratère au fond duquel se trouve le noyau c difficile à colorer par les réactifs, mais cependant reconnaissable. La partie de la membrane qui est invaginée présente de nombreux plis qui, partant des bords du cratère, viennent rejoindre le noyau. Comme on le voit dans cette figure, le vitellus, en se rétractant, n'a entraîné la portion invaginée que jusqu'au niveau du col rétréci qui se trouve au point où la cellule folliculaire développée s'unit au reste de l'enveloppe.

En somme, à cet état, les cellules folliculaires ont une forme assez comparable à celle des bonnets carrés que les prêtres placent sur leur tête. Mais pour que la comparaison soit tout à fait exacte, il faut supposer que la couverture est plus profondément invaginée, et que le petit pompon, qui est représenté dans nos cellules par le noyau, se trouve compris entre les deux feuillets du bonnet.

Nous avons indiqué, figures 17 et 18, deux stades de l'évolution de l'œuf du *Chiton fascicularis* représentés l'un (17), à la phase d'expansion, l'autre (18), à la phase de rétraction. Ces figures nous pa-

raissent assez claires pour qu'il soit inutile de les expliquer en détail. Tout y est comparable à ce que nous avons vu chez le *Chiton cinereus*. On voit, figure 17, que le noyau des cellules folliculaires est porté à l'extrémité des expansions vitellines correspondantes, on voit aussi en *ee* la formation de la vacuole périphérique. Comme on peut le constater figure 18, sur un œuf plus près de la maturité, mais qui a été dessiné à un grossissement plus faible que le précédent, l'invagination des cellules folliculaires est très peu considérable et le protoplasma ovulaire abandonne leur région nucléaire sans l'avoir attirée bien loin vers le centre. La surface de l'œuf du *Chiton fascicularis* présente donc à tous les stades un aspect fort différent de celle du *Chiton cinereus*. Les expansions vitellines pendant les premiers âges de l'œuf sont peu développées et, chez l'œuf adulte, la rétraction est très faible; mais tous les phénomènes sont conçus sur un même plan.

Nous devons, en terminant, nous demander quel nom mérite le tégument qui revêt l'œuf mûr des Chitons. On doit évidemment lui conserver le nom d'enveloppe folliculaire, car il n'est autre chose que le produit d'une transformation directe de cette enveloppe qui méritait évidemment chez le jeune œuf le nom de follicule. Les termes *coque* ou *chorion* ne sont pas applicables ici, car ils indiquent une origine tout à fait différente.

III

DISCUSSION DES RÉSULTATS OBTENUS PAR LES AUTEURS ¹.

Je dois dire tout d'abord que les deux espèces de Chiton que j'ai observées sont dioïques; je n'ai jamais rencontré de spermatozoïdes

¹ Kowalevsky, dans son mémoire sur l'embryogénie du *Chiton Poli*, indique les auteurs qui ont étudié les enveloppes de l'œuf des Chitons. Je ne pense pas qu'aucun de ces travaux ait aujourd'hui un grand intérêt. Je regrette cependant de n'avoir pu me procurer le travail de Löwen (1856, *Archiv für naturgeschichte*), bien qu'il remonte déjà à une date reculée, et qu'il ne soit cité ni par Jhering ni par Sabatier.

dans l'ovaire. Mes observations sur ces deux points concordent parfaitement avec celles de Jhering et de Sabatier.

Si nous suivons pas à pas Jhering¹ dans sa description, il nous paraît que les aiguillons décrits par lui sur la membrane de l'œuf du *Chiton squamosus* correspondent aux poches ou saillies folliculaires soulevées par le vitellus que nous avons décrites chez le *Chiton cinereus*. Jhering les décrit de la façon suivante : « Ces aiguillons sont prismatiques à cinq pans, presque cylindriques, et sont terminés en haut par une tête évasée en une coupe, dont les bords présentent cinq dents. » Il doit y avoir un noyau au fond de la coupe, ce que ne dit point Jhering. De plus, contrairement à son opinion, ces aiguillons doivent présenter un canal central.

Je crois devoir reproduire ici la description que Jhering donne de la coque du *Chiton fascicularis*. J'emprunte à M. Sabatier sa traduction : « Le chorion ou coque du *Chiton fascicularis* est bien différent de celui du *Chiton squamosus*. Là, les saillies en aiguilles font à peu près défaut. La coque, assez épaisse, est irrégulière comme surface et comme épaisseur, et est parcourue irrégulièrement par de nombreux sillons. La substance de la coque n'est pas homogène, car elle renferme de nombreuses vacuoles.

« En dehors, sur la coque, est appliquée directement une membrane délicate, anhiste, que l'on peut apercevoir encore sur l'œuf mûr, et dans laquelle sont contenus un petit nombre de noyaux allongés, et aplatis. La coque est immédiatement appliquée sur la masse granuleuse du vitellus, qui manque de membrane vitelline. Sur les œufs tout à fait jeunes, au contraire, cette membrane anhiste à noyaux recouvre directement la surface de l'œuf, de telle sorte que la coque fait complètement défaut entre les deux. On peut conclure de là, dit expressément Jhering, que la coque est formée par cette membrane anhiste ou membrane folliculaire et il faut par suite la désigner comme chorion. Chez le *Chiton squamosus*, les œufs jeunes, encore

¹ Jhering, *Beitrage zur kenntniss der Anatomie von Chiton* (*Morphologisches Jahrbuch*, t. IV).

dépourvus de pointes, sont également entourés d'une membrane folliculaire proprement dite, que l'on ne peut plus apercevoir sur l'œuf mûr. »

Je reprends point par point la citation de Jhering. Si l'on compare sa description de la *coque* du *Chiton fascicularis* à la mienne, on voit qu'il n'a eu aucune idée de son mode de développement et de sa véritable structure. Il n'a pas reconnu que les saillies peu développées que l'on voit à la surface de l'œuf, dans cette espèce, constituent un des extrêmes d'une série dont l'autre extrême est représenté par l'œuf du *Chiton squamosus*. Les appendices de la membrane ovulaire de l'œuf du *Chiton cinereus* représentant l'intermédiaire entre les simples rugosités du *fascicularis* et les aiguillons du *squamosus*. Il croit qu'il y a autour de l'œuf jeune du *Chiton fascicularis* une membrane folliculaire anhiste. J'ai, je l'espère, démontré suffisamment sa structure cellulaire; d'ailleurs les figures de Jhering sont absolument insuffisantes. Le terme *membrane folliculaire* qu'il emploie pour désigner la membrane périovulaire pourrait faire croire qu'il a compris sa véritable origine; mais il ne fournit aucune observation précise sur son développement. Cependant, il faut le reconnaître, il est sur ce point très près de la vérité. Il est aussi exact, lorsqu'il affirme que l'œuf ne possède pas de membrane vitelline; mais nous ne sommes plus de son avis lorsqu'il nous dit que, dans l'œuf adulte, la *coque* existe au-dessous de la membrane anhiste aux dépens de laquelle elle se serait formée. La *coque*, nous l'avons vu, n'existe pas en réalité, elle se confond avec la membrane folliculaire épaissie et invaginée. Ce que Jhering a pris pour une membrane anhiste enveloppante n'est autre chose que la projection optique des bords du cratère d'invagination ou des rebords qui surplombent les plis secondaires de la membrane. Il est impossible de tomber dans cette erreur, lorsqu'on a suivi le développement tout entier. Rien n'est plus facile au contraire, lorsqu'on se trouve de prime abord en présence des membranes fortement invaginées et complètement affaissées. Jhering dit enfin que la membrane folliculaire n'est plus indiquée

dans l'œuf mûr du *Chiton squamosus*. Nous n'avons pas vu les œufs de cette espèce, mais il est infiniment probable que la *coque* de ces œufs est construite sur le même plan que chez les autres Chitons, et ce plan était inconnu à Jhering.

Nous arrivons maintenant à la discussion du mémoire de M. Sabatier¹. Cet auteur a surtout étudié le *Chiton Poliï* (*Philippi*) qu'il croit être le même que le *Chiton squamosus*. Le premier point de l'ovogénèse indiqué par Sabatier soulève une objection capitale. « Les ovules, dit-il, font saillie à la surface de l'ovaire, dans sa cavité. Ils sont entourés par une membrane anhiste très délicate, qui est une dépendance du tissu conjonctif des parois de l'ovaire, et que Jhering considère à tort comme devant donner naissance à la coque ou chorion. A mesure que l'œuf grossit, il se dégage peu à peu de la paroi ovarienne à laquelle il reste rattaché et suspendu par un court pédoncule formé par la membrane anhiste que nous venons de voir. » Nous avons montré par des preuves qui nous semblent irréfutables, au moyen du nitrate d'argent, méthode non employée par M. Sabatier, que la membrane folliculaire avait une structure cellulaire et nous avons vu aussi, par la méthode des coupes, dont M. Sabatier ne s'est point servi davantage, que cette membrane est constituée par l'épithélium ovarien entraîné par l'œuf et modifié. Ces phénomènes, il faut le reconnaître, rentrent dans le cadre de l'immense majorité des faits connus.

Pour que la membrane anhiste, qui, d'après M. Sabatier, entoure l'œuf, soit une dépendance du tissu conjonctif de l'ovaire il faut admettre que l'œuf se développe dans l'intérieur de ce tissu conjonctif. M. Sabatier figure chez les ascidies une membrane semblable. Il admet que les œufs s'y forment aux dépens des cellules interstitielles du tissu conjonctif de la paroi. Il faut donc supposer qu'il admet chez les Chitons une pareille origine de l'œuf. J'ai suivi l'évo-

¹ Sabatier. *La constitution de l'œuf et de ses enveloppes chez les Chitonides*. Montpellier, 1886.

lution de l'œuf chez les Chitons, chez le *Cyclostoma elegans* chez plusieurs Pulmonés, et je puis affirmer que, chez ces animaux aussi bien que dans l'immense majorité des cas que nous fournit la bibliographie, les cellules sexuelles se développent aux dépens d'un épithélium germinatif et non pas aux dépens des cellules conjonctives interstitielles de la paroi ovarienne.

Chacune des saillies coniques que Jhering a décrites sans indiquer leur mode de développement, présenterait cinq soubassements coniques renfermant chacun un noyau¹ éphémère. Chacun d'eux représenterait, pour M. Sabatier, une cellule. Seule la saillie centrale se développerait; on y voit un noyau placé à une hauteur variable. C'est bien là le noyau qui a échappé à Jhering et qui doit se trouver chez l'adulte au fond de la coupe terminale que ne décrit pas M. Sabatier. Ce savant admet que tous ces noyaux seraient dus à des corpuscules chromatinés qui se développeraient dans le vitellus, au voisinage, mais indépendamment de la vésicule germinative et de la tache, et qui, se portant du centre de l'œuf vers la périphérie, sortiraient du vitellus et soulèveraient la *membrane anhiste* qui l'entoure. Dans cette description, un seul point est exact, et ces corps colorables n'ont aucun rapport d'origine avec la vésicule germinative. Nous les avons déjà décrits. Je dois ajouter qu'ils ne présentent jamais l'aspect d'un véritable noyau; ils ne sortent jamais du vitellus, bien qu'on en voie quelques-uns à la surface. Les noyaux du follicule sont contenus dans leurs cellules respectives et ne sont jamais libres entre le vitellus et la membrane. Ces corps se colorent par les réactifs de la chromatine; mais ne sait-on pas déjà que les meilleurs réactifs de la chromatine colorent les enclaves albuminoïdes du vitellus². Rien, dans la structure de ces enclaves vitellines, ne rappelle un noyau, si ce n'est leur colorabilité. Cela me paraît être un abus des mots, de dire qu'ils sont formés de chromatine, parce que,

¹ Je n'ai rien vu de pareil dans les animaux que j'ai étudiés et je ne puis me prononcer sur ce fait d'ailleurs secondaire que je n'ai pu contrôler.

² Carnoy, *Biologie cellulaire et Cytodiérèse des Arthropodes*.

de même que cette substance, ils se colorent par le vert de méthyle, le carmin, le violet de gentiane, et encore toujours d'une façon diffuse. Nous ne pouvons actuellement, à mon avis, désigner sous le nom de chromatine que les substances colorables qui se trouvent dans le noyau ou qui en dérivent d'une façon évidente. Nous ne sommes pas assez avancés pour affirmer l'identité de cette substance, dont la composition et les fonctions sont encore mal connues, avec d'autres corps d'origine différente qui n'ont avec elle que ce caractère commun d'absorber comme elle certains réactifs colorants.

M. Sabatier affirme que ces prétendus noyaux sont, au moment de leur sortie, souvent entourés de protoplasma hyalin. Alors même que l'œuf renferme des granules vitellins, ceux-ci ne sortent pas avec lui. L'auteur compare le phénomène à celui de la formation des globules polaires. Pour lui, cellules folliculaires et globules polaires sont des formations homologues. C'est le corps des cellules folliculaires, qui paraît plus ou moins saillant, suivant les cas et suivant la façon dont il se présente, que M. Sabatier a pris pour du protoplasma hyalin. Dans le cas qui nous occupe, toute homologie entre les globules polaires et les cellules folliculaires doit donc être formellement repoussée.

Nous abordons un point du travail de M. Sabatier, où il est extrêmement difficile de concilier ses observations avec les nôtres. Cette difficulté est encore accrue par cette raison que M. Sabatier et moi, avons étudié des espèces différentes.

« Peu à peu, la masse du protoplasma de la saillie augmente, et cette dernière tend à s'accroître. Mais la membrane capsulaire anhiste s'oppose à ce que la saillie s'élève perpendiculairement à la surface de l'œuf, et cette dernière est obligée de se courber et de se coucher à la surface du vitellus, où elle prend la forme et l'aspect d'un panache fortement incliné et rabattu (pl. XII, fig. 15, 16, 17). La membrane anhiste, soulevée, se distingue fort bien, et on peut aisément juger de son influence sur la forme actuelle des saillies.

« Le noyau de la cellule folliculaire s'est éloigné de la surface de l'œuf et est remonté vers le sommet de la saillie. Si, à ce moment, l'œuf est observé après un séjour dans l'eau de mer suffisant pour que, par endosmose ou autrement, la membrane anhiste se soit rompue, les pointes folliculaires se redressent, et l'œuf prend l'aspect représenté pl. XII, fig. 5, dans lequel les saillies, redressées, mais molles, un peu irrégulières, claires, séparées du vitellus coloré par une surface encore indécise et irrégulière, renferment un noyau placé vers le sommet et pourvu d'un nucléole évident. »

L'observation attentive du texte de M. Sabatier me porte à croire que, dans l'observation du développement des saillies, il n'a pas distingué nettement les mamelons primordiaux, dus à la présence du corps des cellules folliculaires, des saillies sous-jacentes, formées plus tard par l'expansion du vitellus.

Le mouvement d'expansion du vitellus, qui distend les cellules folliculaires, et sa rétraction, qui en produit l'invagination, ont complètement échappé à M. Sabatier, qui décrit, comme des phases du développement de ses cellules folliculaires des stades où la rétraction est déjà complète. Sa prétendue membrane anhiste enveloppante n'est autre chose, à mon avis, que la projection optique des bords du cratère, qui se continuent avec la partie basale de la cellule folliculaire. Cette partie basale semble passer, comme un pont, sur la saillie folliculaire, située dans un plan de vision inférieur. On a donc l'illusion d'une membrane générale enveloppante; mais ce n'est là qu'une illusion.

Quant aux noyaux qui entreraient à la base des grandes saillies, je n'en puis parler, car je n'ai rien vu de semblable dans les deux Chitons que j'ai étudiés. M. Sabatier admet, pour ces noyaux situés à la base des grandes saillies, la même origine intra-vitelline et la même expulsion. Ce procédé de formation, indiqué par M. Sabatier, avec quelques réserves, il est vrai, n'est certainement pas celui qui donne naissance à ces noyaux, s'ils existent.

« La membrane anhiste se romprait ensuite; les œufs tombe-

raient dans l'ovaire, et leurs saillies se redresseraient. » Nous avons vu que, chez le *Chiton cinereus*, l'œuf devient libre non pas par déchiscence, mais par la rupture d'un pédicule nettement différencié, qui se continuait avec la paroi ovarienne, et qui se brise au point de contact. Si la *membrane anhiste* paraît à M. Sabatier avoir disparu, c'est qu'il a observé des œufs, sans avoir suivi l'évolution entière, à un moment où les saillies folliculaires étaient évaginées et où le phénomène optique dont il a été parlé ne pouvait, par conséquent, pas se produire. Nous avons eu l'occasion de constater ce phénomène de l'évagination dans les œufs adultes du *Chiton cinereus*. M. Sabatier voit ensuite reparaître une membrane anhiste, qu'il ne veut pas confondre avec la première. Il me paraît évident que, suivant que les cellules folliculaires s'invaginent ou s'évagincent, phénomène qui paraît être sous la dépendance de l'imbibition et de l'osmose, la membrane enveloppante apparaît ou disparaît successivement.

M. Sabatier pense que, malgré des différences extérieures, au premier abord très sensibles, la *coque* du *Chiton fascicularis* se développe de la même façon que celle du *Chiton Polii* ou *squamosus*. Je partage absolument cette manière de voir ; le *Chiton cinereus* peut servir de transition entre ces formes d'évolution extrêmes, que l'on rencontre chez le *fascicularis* et le *Polii* ; mais cette évolution commune est, je crois l'avoir démontré, fort différente de celle qui est indiquée par M. Sabatier.

J'arrive enfin aux observations de cet auteur sur le noyau. Il a rencontré d'ordinaire un nucléole ; quelquefois il en a vu quatre ou cinq ; mais il ne dit rien de la structure compliquée que présente souvent le nucléole. Il a vu que le nucléole, situé en dehors d'un réseau de granulations présentant un amas de principal, est toujours beaucoup plus réfringent et plus colorable que le réseau. Il conclut fort justement, pour l'œuf adulte : « que le nucléole et le réseau nucléaire ne sont point composés de substances identiques, et que ce dernier, même à l'état de sphère, ne cesse pas de se distinguer du nucléole. » Nous ne pouvons admettre complètement cette conclusion. De ce

que le nucléole et le réseau nucléaire, complètement distincts chez l'adulte, ne se présentent pas avec des caractères identiques, on n'en peut conclure que le nucléole ne soit formé par l'agglomération progressive de la chromatine, mêlée au réseau karyoplasmique. C'est ce que M. Guignard et bien d'autres observateurs ont nettement établi ; c'est un processus que nous avons déjà indiqué nous-même, dans le courant de ce travail, et constaté chez d'autres animaux.

IV

CONCLUSIONS.

J'ai démontré que, contrairement à l'opinion de M. Sabatier, l'œuf se développe aux dépens de l'épithélium germinatif tapissant l'ovaire ; que la membrane qui l'entoure est à tous les moments composée de cellules nucléées, provenant de la transformation des cellules sœurs de l'œuf. Cette enveloppe mérite donc le nom de *membrane folliculaire*. C'est la seule qui, contrairement aux opinions de Jhering et de Sabatier, existera jamais autour de l'œuf. On doit donc lui laisser ce nom, alors même qu'elle est épaissie et qu'elle présente un tout autre aspect. Les termes *coque* et *chorion* indiquent une origine très différente.

J'ai, par le fait même, montré que les enclaves vitellines colorables, probablement de nature albuminoïde, ne prennent aucune part à la formation des noyaux de la membrane. Je suis arrivé à la même conclusion en employant la méthode des coupes et l'imprégnation au nitrate d'argent.

J'ai décrit, le premier, avec soin, des faits très curieux, qui ont échappé à MM. Jhering et Sabatier : la formation des expansions vitellines et leur rétraction. Ces expansions, qui augmentent considérablement la surface de l'œuf, pendant son développement, et qui donnent naissance à la *coque* des auteurs, par la transformation de la membrane folliculaire, peuvent être considérées comme la plus

haute expression de la faculté que semblent posséder tous les œufs d'émettre des expansions amiboïdes.

J'ai décrit et interprété les apparences compliquées qui existent dans la membrane de l'œuf mûr.

J'ai enfin fourni, sur la structure du noyau, quelques observations qui seront reprises dans un travail ultérieur.

Dans la partie critique de mon mémoire, j'ai exposé les opinions des auteurs et expliqué, je crois, toutes les divergences d'interprétation qui existent entre eux et moi.

EXPLICATION DE LA PLANCHE VI. *et VII*

FIG. 1. Fragment de l'ovaire du *Chiton cinereus* fixé par le réactif chromo-acéto-osmique (formule de Fol), coloration au picro-carmin. Gross., 255 D.

On voit en *a*, la membrane cellulaire qui entoure l'œuf. On y distingue très nettement ses noyaux et les plis qu'elle présente.

2. Coupe de l'ovaire du *Chiton cinereus*. Fixation par l'acide azotique à 3 et demi pour 100. Coloration par l'hématoxyline alunée aqueuse. Gross., 660 D.

a, repli saillant dans la cavité de l'ovaire; *b, b*, œufs arrivés à un degré assez avancé de leur évolution; *c, c, c, c*, œufs plus jeunes; *d, d*, œufs très jeunes au milieu de l'épithélium germinatif; *k, k*, cellules folliculaires peu modifiées; *k' k'*, cellules folliculaires très modifiées entourant les gros œufs.

3. Coupe de l'ovaire du *Chiton cinereus*. Même traitement que ci-dessus. Gross., 760 D.

Les lettres ont la même signification que dans la figure précédente.

4. Oœuf du *Chiton cinereus* fixé par le réactif chromo-acéto-osmique de Fol; coloré par le picro-carmin. Gross., 255 D.

a, pédicule de l'œuf; *b*, l'une des expansions vitellines de l'œuf; *c*, noyau de la cellule folliculaire correspondante; *d*, enclave albuminoïde dans le cytoplasma; *e*, noyau; *f*, nucléole.

5. Coupe d'un œuf de *Chiton cinereus* un peu moins avancé que le précédent faite perpendiculairement à son grand axe. Acide azotique, 3 et demi pour 100; hématoxyline. Gross., 660 D.

a, coupe d'une cellule folliculaire passant par son noyau; *b*, coupe d'une cellule folliculaire très voisine du noyau, mais ne le rencontrant pas.

6. Oœuf de *Chiton cinereus* vu de face ou d'en haut. Fixation par le réactif chromo-acéto-osmique; coloration par le carmin aluné.

a, noyau; *b*, nucléole; *c*, noyau d'une des cellules folliculaires; *d*, l'une des expansions vitellines de l'œuf.

FIG. 7. Oeuf de *Chiton cinereus* vu de face. Fixation par le réactif chromo-acéto-osmique de Fol; coloration au picro-carmin.

a, noyau; *b*, nucléole; *c*, noyau d'une des cellules folliculaires; *d*, une des expansions de l'œuf.

8. Oeuf de *Chiton cinereus* vu de profil. Même traitement. *a*, noyau; *b*, nucléole; *c*, noyau d'une des cellules folliculaires; *d*, une des expansions de l'œuf; *e, e*, vacuoles; *k*, pédicule de l'œuf.

9. Oeuf de *Chiton cinereus* vu de face. Même traitement.

Les expansions vitellines sont arrivées à leur maximum de développement. N'ont été dessinées que celles qui se trouvaient dans un même plan de vision. Les lettres ont la même signification que dans la figure précédente.

10. Oeuf de *Chiton cinereus*. Même traitement; vu de face.

L'œuf a commencé à rétracter ses expansions qui sont moins développées que dans la figure précédente. Les lettres conservent la même signification.

11. Oeuf de *Chiton cinereus* vu de profil. Fixation par les vapeurs d'acide osmique; coloration au picro-carmin. Gross., 255 D.

Le mouvement de rétraction des expansions vitellines s'est accentué. *c*, noyau des cellules folliculaires; *e, e*, vacuoles périphériques; *p, p*, bords du cratère en voie de formation; *k*, pédicule de l'œuf.

12. Oeuf de *Chiton cinereus* vu de face. Fixation par les vapeurs d'acide osmique; coloration au picro-carmin. Gross., 255 D.

Le mouvement de rétraction des expansions de l'œuf s'est encore accentué. Les lettres conservent la même signification.

13. Oeuf complètement développé du *Chiton cinereus*. Fixation par le mélange chromo-acéto-osmique de Fol; coloration au picro-carmin. Gross., 255.

Les expansions de l'œuf se sont complètement rétractées; l'œuf est devenu sphérique.

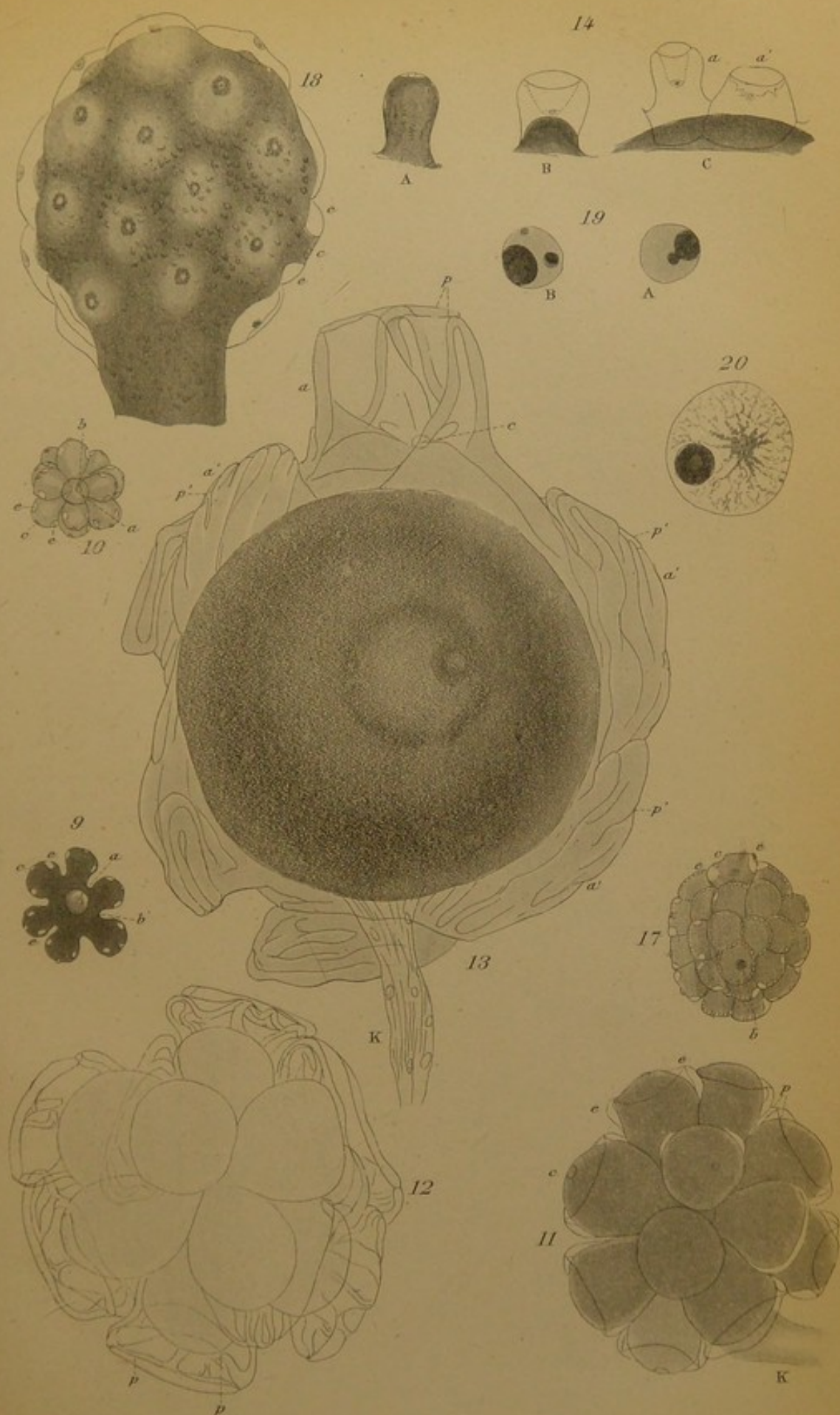
a, l'une des cellules de la membrane folliculaire ayant repris l'aspect qu'elle présentait à la fin du mouvement de rétraction de l'expansion vitelline correspondante; *c*, noyau de cette cellule folliculaire placé au fond du cratère dont les bords sont indiqués par la lettre *p*; *a' a' a'*, cellules de la membrane folliculaire entourant chacune une des expansions de l'œuf et qui se sont affaissées après leur rétraction. On voit en *p', p', p'*, des coupes optiques de la membrane folliculaire invaginée et plissée, passant comme des ponts au-dessus des plis et donnant l'illusion d'une membrane enveloppante anhiste; *k*, pédicule de l'œuf avec des noyaux atrophiés.

14. Figure représentant schématiquement les transformations qui se passent dans l'œuf et la membrane folliculaire.

15. Fragment d'ovaire du *Chiton fascicularis*; imprégnation au nitrate d'argent. Gross., 200 D.

On voit sur le fond de l'épithélium ovarien, représenté par les membranes de ses cellules, des œufs à tous les stades de développement et





Garnault del.

Himly sc.



