

MITTHEILUNGEN
AUS DER
ZOOLOGISCHEN STATION ZU NEAPEL
ZUGLEICH EIN
REPERTORIUM FÜR MITTELMEERKUNDE.

10. BAND.

MIT 40 TAFELN (1—22, 24—41) UND 2 ABBILDUNGEN IM TEXT, SOWIE
MIT DEM AUTORENREGISTER ZU BAND 1—10.

BERLIN,

VERLAG VON R. FRIEDELÄNDER & SOHN.

1891—1893.

Recherches sur la spermatogénèse chez quelques Invertébrés de la Méditerranée.

par

C. Pictet.

Avec les Planches 8—10.

Introduction.

Les auteurs qui ont étudié la spermatogénèse sont nombreux. Depuis près de cinquante ans, cette question a été l'objet de maintes recherches minutieuses, et l'on trouverait difficilement une branche de l'anatomie microscopique qui ait passionné plus de chercheurs et de savants distingués. Mais c'est principalement pendant ces dix dernières années que cette étude a pris une recrudescence extraordinaire, d'un côté grâce aux immenses perfectionnements apportés à la construction du microscope; d'un autre côté grâce à l'étude approfondie et à l'application méthodique des nombreux réactifs qui garnissent actuellement la table de travail de tout histologiste. C'est ainsi que l'on a pu arriver, au prix de laborieux efforts, à se faire une idée encore bien imparfaite, il est vrai, de la constitution tant morphologique que chimique de la cellule animale.

Ces notions acquises ont été d'un grand secours pour l'étude de la spermatogénèse. Cette étude, en effet, outre l'intérêt propre qu'elle offre, touchant les premiers développements et la maturation du spermatozoïde, nous fournit une excellente occasion d'observer la cellule animale prise isolément, de suivre pas à pas les phénomènes de sa naissance, de ses différents modes de multiplication, de son sort final, et de se faire une idée aussi précise qu'il est possible,

avec les moyens d'investigation que nous possédons actuellement, de la constitution intime de ses différentes parties, de leurs rapports entre elles, en un mot de la biologie cellulaire.

Cette étude, cependant, présente des difficultés sérieuses. En premier lieu, les spermatozoïdes ayant généralement de très petites dimensions, ce n'est guère qu'avec les grossissements les plus puissants et les plus parfaits que nous fournisse l'optique moderne, qu'on peut arriver à dévoiler leur structure. C'est à l'invention des objectifs à immersion homogène, on peut le dire, qu'est due la plupart des découvertes que la cytologie a enregistrées dans ces dernières années; et tout dernièrement encore, la fabrication des objectifs apochromatiques paraît devoir donner un nouvel essor à cette branche de l'histologie.

Et cependant, malgré la perfection de nos instruments, nous sommes obligés trop souvent de reconnaître notre impuissance à débrouiller la structure réelle de ces infiniment petits, et à entrer dans le domaine de la conjecture. Aussi ne devons-nous pas nous étonner en voyant les profondes divergences d'opinions qui existent souvent entre les auteurs, au point de vue de la constitution physique de la cellule animale.

En second lieu, ce n'est évidemment pas en examinant seulement les éléments cellulaires vivants qu'on pourra se faire une idée exacte de leur nature. On n'y arrivera qu'à l'aide d'un certain nombre de réactifs appropriés, qui seuls permettront de mettre en évidence les différentes parties de la cellule, et de reconnaître leur constitution chimique. — Malheureusement, les cellules spermatiques sont presque toujours d'une grande délicatesse; elles se modifient profondément sous l'influence des réactifs, jusqu'à devenir souvent méconnaissables. On ne peut donc faire agir ces derniers qu'avec une extrême prudence, et la forme et les dimensions des éléments doivent toujours être contrôlées sur le vivant.

Les spermatozoïdes affectent une grande diversité de forme et de structure. Souvent, dans des groupes d'animaux très voisins, et dont la ressemblance anatomique est presque absolue, les spermatozoïdes diffèrent totalement. Une étude complète de la spermatogénèse ne serait pas possible. Je me suis donc limité, en premier lieu, à quelques classes d'animaux chez lesquels l'évolution des spermatozoïdes était encore peu connue, ou présentait des particularités intéressantes. En second lieu, je ne me suis pas appliqué à décrire toutes les phases du développement des spermatozoïdes, depuis

L'origine première des produits sexuels jusqu'à leur maturité, le sujet étant en lui-même encore beaucoup trop vaste, et c'est seulement la dernière phase de ce développement dont nous nous occuperons ici spécialement.

On sait, en effet, que les cellules sexuelles subissent un nombre plus ou moins considérable de divisions, pour arriver en définitive à la formation d'un certain nombre de cellules qui, maintenant, se transformeront directement en spermatozoïdes. Ces cellules de la dernière génération ont été nommées spermatides par LA VALETTE ST. GEORGE.

Chaque spermatide se présente généralement sous la forme d'une cellule normalement constituée, formée par conséquent d'une gouttelette de protoplasma entourée d'une membrane, et renfermant un noyan. Ce noyan, possédant lui-même une membrane propre, est composé principalement de deux corps nettement différenciés : la substance nucléaire proprement dite, nucléine, ou chromatine des auteurs, et le suc nucléaire, achromatine (FLEMMING) ou caryoplasm (CARNOY). Outre le noyan, la cellule renferme souvent un corps particulier, le noyan accessoire (Nebenkern) dont nous aurons à nous occuper en détail.

Etant donné une cellule ainsi constituée, le problème est le suivant : Comment la spermatide va-t-elle se transformer en spermatozoïde ? Aux dépens de quelle partie de la cellule se formeront les différentes parties du spermatozoïde, et que vont devenir le noyan, le protoplasma et le Nebenkern de cette spermatide ? En d'autres termes, quelle est la composition du spermatozoïde au point de vue de la théorie cellulaire ? Voici le point que nous tâcherons d'élucider dans les pages qui suivent.

Cette étude a déjà été faite chez un grand nombre d'animaux, et a donné lieu à une légion de travaux, dans lesquels nous trouvons de grandes diversités d'opinions. Il serait à désirer cependant que cette question fût résolue, et voici pourquoi : le spermatozoïde est l'élément destiné à transmettre aux descendants les principes héréditaires de l'organisme mâle dont il provient, en donnant naissance à un nouvel être par sa fusion avec l'élément femelle. Il est donc d'un grand intérêt de savoir quelle est la partie de la cellule sexuelle qui est dépositaire de cet héritage ancestral, et qui se transmettra ainsi de descendant en descendant. L'étude de la spermatogénèse se relie ainsi directement à celle, si intéressante, de la fécondation.

Voici maintenant, en partant de ce point de vue, quelle est la division de ce travail. Après un court résumé historique de la question, se rapportant surtout aux recherches traitant de cette dernière phase de la spermatogénèse, je décrirai l'évolution des spermatozoïdes, telle que je l'ai étudiée chez quelques types pris dans différents embranchements du règne animal, et particulièrement sur les animaux marins inférieurs, encore peu connus sous ce rapport. Voici les espèces sur lesquelles mes recherches ont porté plus spécialement:

- 1) Les Echinides, en particulier *Strongylocentrotus lividus* Brdt.
- 2) Les Siphonophores, et particulièrement *Halistemma rubrum* Vogt.
- 3) Un Ptéropode: *Cymbulia Peronii* Cuv.
- 4) Un Céphalopode: *Sepia officinalis* L.
- 5) Une Annélide: *Eteone pterophora* Ehlers.
- 6) Un Tunicier: *Salpa virgula* Vogt.

Après avoir décrit la spermatogénèse chez ces espèces, il me restera à réunir brièvement les faits observés et à en tirer quelques conclusions générales. Je n'ai pas, cela va sans dire, la prétention de formuler une loi générale de la spermatogénèse en me basant seulement sur ces quelques cas isolés, car nos connaissances sur ce sujet sont encore trop imparfaites pour vouloir généraliser dans tout le règne animal des faits qui n'ont encore été observés avec soin que dans un nombre relativement restreint d'espèces; heureux seulement si cette étude peut contribuer dans quelque mesure à la connaissance de la question chez certains groupes d'animaux où elle n'a pas encore été spécialement étudiée.

Nous avons maintenant, grâce à un grand nombre de travaux spéciaux, des notions assez exactes sur la spermatogénèse des animaux supérieurs, en particulier des Mammifères, des Amphibiens et des Oiseaux. Parmi les Invertébrés, ce sont surtout les Mollusques Gastéropodes qui ont été beaucoup étudiés dernièrement, puis quelques Arthropodes. A côté de cela, il existe plusieurs groupes d'animaux chez lesquels cette question est encore à peine connue. Profitant donc de plusieurs séjours au bord de la Méditerranée, j'ai pu m'attacher à l'étude de quelques uns de ces groupes, en négligeant ceux dont la spermatogénèse a déjà été étudiée.

Ce travail a été fait dans les Stations Zoologiques de Villefranche, de Nice et de Naples, et je tiens à exprimer ici toute ma reconnaissance à Monsieur le Professeur H. Fol qui, après m'avoir

guidé dans le choix du sujet, a mis à ma disposition un matériel abondant, et toutes les ressources qu'offre son laboratoire. Je suis heureux aussi d'avoir l'occasion d'exprimer mes remerciements à Monsieur le Professeur CARL VOGT, qui m'a facilité l'accès de la Station Zoologique de Naples, ainsi qu'à M. le Professeur A. DOHRN, pour l'excellente hospitalité et toutes les facilités de travail dont on jouit dans son établissement.

Historique.

La découverte des spermatozoïdes date d'il y a plus de deux siècles. C'est en 1677, en effet, que LOUIS HAM les observa pour la première fois dans le liquide séminal de l'homme. Peu de temps après, LEEUWENHOEK en constata la présence chez plusieurs animaux, et leur donna le nom d'*animalcules spermatiques*. Leur étude fut reprise au siècle dernier par SPALLANZANI, et surtout au commencement de ce siècle par PREVOST et DUMAS (72). Mais tous ces naturalistes les regardèrent comme de petits animaux ayant une existence indépendante, de là leur nom d'*animalcules spermatiques*. Plusieurs aussi les considérèrent comme des parasites vivant dans la liqueur séminale, et les classèrent même dans différents groupes d'animaux; ainsi EHRENCBERG les rapprocha d'abord des Infusoires, d'autres les rangèrent parmi les Vers, à cause de leur ressemblance avec les Cercaires; on y décrivit même une organisation interne souvent assez compliquée.

Ce n'est guère que vers 1840 que l'on commença à étudier l'origine et le développement de ces *animalcules spermatiques*, et qu'on s'aperçut alors que ce n'étaient pas des animaux ayant une vie propre, mais bien des éléments provenant des tissus de l'animal chez lequel ils se développent, et s'individualisant ensuite, comme le sont, par exemple, les globules sanguins. C'est de cette époque que date l'étude de la spermatogénèse. Les *animalcules spermatiques* reçurent le nom de *spermatozoïdes* (DUVERNOY) ou *zoospores*.

Le premier travail qui s'occupe spécialement de la spermatogénèse est celui que R. WAGNER (81) publia en 1836 sur les spermatozoïdes des Oiseaux. Puis vinrent quelques mémoires plus ou moins importants de PELTIER (51—53), DUJARDIN (13, 14), v. SIEBOLD (78), HALLMANN (28); mais ce n'est guère, on peut le dire, qu'avec

le premier travail de KÖLLIKER (34) que commence vraiment l'histoire de la spermatogénèse.

Cet auteur décrit un nombre assez considérable de spermatozoïdes d'Invertébrés, auxquels il donne le nom de »Samenfäden«, à la place de »Samenthierehen«, et montre qu'ils se développent aux dépens des cellules tapissant les parois internes du testicule : les spermatozoïdes ne sont ainsi que des cellules transformées.

Mais il ne va pas tarder à modifier cette manière de voir. Dans un second mémoire (35) publié en 1847, il décrit les spermatozoïdes comme provenant, non pas d'une cellule tout entière, mais bien du noyau cellulaire, et même d'une partie seulement de ce noyau.

Enfin c'est en 1856 que dans un troisième mémoire (36) où il étudie la question à fond, il se voit amené à modifier encore une fois son opinion. Il résulte de ses observations que c'est le noyau tout entier de la cellule spermatique qui se transforme en spermatozoïde. Ce noyau, primitivement sphérique, s'allonge et se divise en deux parties, une antérieure plus dense, et une postérieure plus pâle. La première formera la tête, et la seconde la queue du spermatozoïde, qui reste enroulé à l'intérieur de la cellule mère, jusqu'à ce que, celle-ci se détruisant, le spermatozoïde se déroule et devienne libre.

Telle est, en peu de mots, la théorie de KÖLLIKER, qui regarde donc le zoosperme comme une production purement nucléaire. Dans un dernier travail (37) paru en 1855, il est resté fidèle à son opinion.

Cependant cette théorie ne fut pas longtemps sans être combattue. Dans un travail de HENLE (29) nous voyons que, d'après cet auteur, le protoplasma cellulaire prend aussi part à la formation du spermatozoïde. Cette opinion a été confirmée par SCHWEIGGER-SEIDEL (75) dans une remarquable étude parue en 1865, où il décrit avec une grande précision le processus de la spermatogénèse. Il en conclut que le spermatozoïde est une cellule entière transformée, qu'on peut assimiler à une cellule vibratile. Il distingue dans cette cellule trois parties principales : la tête, le segment moyen et la queue. La tête provient du noyau de la cellule spermatique, et les deux autres parties proviennent du protoplasma.

C'est à la même époque que commence la série des travaux sur la spermatogénèse, que LA VALETTE St. GEORGE a publiés sans relâche pendant ces vingt dernières années (39—45). Comme il serait trop long de les analyser tous en détail, bornons-nous à donner un résumé de la théorie à laquelle ses nombreuses recherches l'ont amené.

Le testicule jeune renferme un certain nombre de cellules, les spermatogonies, qui, par une série de divisions successives, finiront par donner naissance aux spermatozoïdes. Ces spermatogonies donnent d'abord naissance à des spermatoocytes, qui sont les produits de la première division. Après un nombre plus ou moins considérable de générations de spermatoocytes, nous arrivons à un produit de la dernière division, qu'il appelle les spermatides. Ce sont ces spermatides qui vont maintenant se transformer directement en produits du dernier ordre, c'est-à-dire en spermatozoïdes proprement dits, ou spermatosomes, et cela de telle façon que le noyau de la spermatide deviendra la tête, tandis que le protoplasma formera la queue du spermatozoïde.

Nous voici déjà en présence de deux théories diamétralement opposées: celle de KÖLLIKER, qui regarde le zoospermie comme une formation purement nucéaire, et celle de HENLE, SCHWEIGGER-SEIDEL, LA VALETTE, et beaucoup d'autres pour lesquels le zoospermie est une cellule entière transformée. Nous allons en voir apparaître une troisième, d'après laquelle le noyau disparaîtrait, sans prendre aucune part à la formation du spermatozoïde.

REMAK (73) a soutenu cette opinion pour la spermatogénèse des Amphibiens. LANGERHANS (35) décrivit chez l'*Amphioxus* la tête du spermatozoïde comme ne provenant pas du noyau, mais d'un petit corps brillant placé à côté du noyau. D'après ZENKER (84) les spermatozoïdes des Isopodes se formeraient sans le secours du noyau; METSCUNNIKOFF (49) soutient la même opinion pour l'Éervisse, BALBIANI (1) pour les Aphidiens. GRASSI (26) affirme que le même fait se présente chez les Chétognathes.

Cette dernière opinion cependant compte peu de partisans, et dans la plupart des cas que je viens de citer, une observation attentive a permis de reconnaître la présence du noyau dans les spermatozoïdes mûrs. Ainsi plusieurs auteurs, parmi lesquels NUSSBAUM (50), puis GILSON (24) l'ont démontré pour les Décapodes, BOLLES LEE (47) pour la *Sagitta*.

Telles sont les principales opinions émises au sujet du rôle du noyau dans la formation du spermatozoïde. Il serait trop long d'analyser ici tous les mémoires traitant cette question. Nous aurons du reste à y revenir en parlant de chaque type en particulier. Il nous reste à dire maintenant quelques mots d'un corpuscule sur lequel on a beaucoup discuté dans ces dernières années. C'est le noyau accessoire.

Il fut découvert en 1867 par LA VALETTE ST. GEORGE (39) qui lui donna le nom de Nebenkern, ou Nebenkörper. D'après lui, ce corpuscule serait formé par condensation d'une partie du protoplasme de la spermatide. Depuis lors, beaucoup d'auteurs l'ont signalé dans les cellules séminales, et lui ont attribué des origines diverses. Les uns, se rangeant à la première opinion de LA VALETTE, pensent que c'est une production cytoplasmique, ainsi METSCHNIKOFF (49), BALBIANI (1), et BüTSCHLI (9) chez les Arthropodes; KEFERSTEIN (33) chez les Mollusques; NUSSBAUM (50) chez l'Écrevisse. D'autres au contraire le font provenir du noyau, comme VAN BENEDEK (6) chez l'*Ascaris*, GROBBEN (27) chez les Décapodes, LEE (47) chez la *Sagitta*. Enfin GILSON (24) en nie positivement l'existence.

Dernièrement, le noyau accessoire a été étudié attentivement par LA VALETTE ST. GEORGE (40—45), PRENANT (62—71), et surtout par PLATNER (54—61), et il paraîtrait résulter de leurs observations que ce corpuscule provient du reste du fuseau achromatique qui se forme pendant la caryocinèse, et qui se condenserait en une petite masse à la fin de la division cellulaire. D'après PRENANT qui en a suivi l'évolution chez les Pulmonés et chez les Reptiles, ce fuseau se décomposerait en un certain nombre de granules, ou cytomicrosomes, qui se fusionnent ensuite en un seul corpuscule pour former le »Nebenkern«.

D'après PLATNER (55) on a souvent regardé comme Nebenkern des formations accessoires absolument différentes, et avec lesquelles il ne doit pas être confondu. Le vrai Nebenkern se développerait toujours aux dépens du fuseau achromatique. Dans un travail publié récemment (61) le même auteur divise le noyau accessoire en deux parties, dont l'une serait formée par le »Centrosoma«, c'est-à-dire le corpuscule polaire, ou centre attractif de la division cinétique, et l'autre par le reste du fuseau achromatique, pour lequel il propose le nom de »Mitosoma«.

Quant au rôle que joue le noyan accessoire dans la formation du spermatozoïde, les opinions ne sont pas moins divergentes. Pour plusieurs auteurs, il formerait la tête du zoosperme. C'est le sort que lui attribuent KEFERSTEIN (33), LA VALETTE ST. GEORGE (39), METSCHNIKOFF (49) et DUVAL (16, 17) chez les Mollusques; GROBBEN (27) chez les Décapodes. Chez les Insectes, d'après LA VALETTE ST. GEORGE (41) et BüTSCHLI (9) il formerait le segment moyen. D'après NUSSBAUM (50) il donne naissance, chez l'Écrevisse,

à la coiffe céphalique, et d'après PRENANT (71) il joue le même rôle chez les Reptiles, tandis que chez les Pulmonés (70) il se dissoit dans le cytoplasme qui forme ensuite la queue du spermatozoïde.

Enfin, plusieurs auteurs ont voulu voir en lui un homologue des globules polaires de l'œuf; ainsi VAN BENEDEEN et JULIN (6) chez l'*Ascaris*. Cette hypothèse a été émise aussi théoriquement par WEISMANN (83) et par WALDEYER (82).

Il résultera de ces nombreuses observations que le noyau accessoire existe dans la plupart des cellules séminales, mais que son rôle dans la formation des spermatozoïdes offre de grandes variétés dans la série animale.

Index bibliographique.

1. Balbiani, G., Mémoire sur la génération des Aphides. in: Ann. Sc. N. (5) Tome 11. 1869. pag. 49—68 Pl. 2.
2. Ballowitz, E., Untersuchungen über die Structur der Spermatozoen.
1. Theil: Die Spermatozoen der Vögel. in: Arch. Mikr. Anat. 32. Bd. 1888. pag. 401—473 Taf. 14—18.
3. — Das Retzius'sche Endstück der Säugetier-Spermatozoen. in: Internation. Monatschr. Anat. Phys. 7. Bd. 1890. pag. 211—223.
4. — Untersuchungen über die Structur der Spermatozoen. Zugleich ein Beitrag zur Lehre vom feineren Bau der contractilen Elemente. Die Spermatozoen der Insecten. 1. Coleopteren. in: Zeit. Wiss. Z. 50. Bd. 1890. pag. 317—408 Taf. 12—15.
5. — Untersuchungen über die Structur der Spermatozoen. 3. Theil: Fische, Amphibien und Reptilien. in: Arch. Mikr. Anat. 36. Bd. 1890. pag. 225—291 Taf. 11 und 12.
6. Beneden, E. van, et Ch. Julin, La spermatogénèse de l'Ascaride mégalocéphale. in: Bull. Acad. Belg. (3) Tome 7. 1884. pag. 312—342.
7. Bloomfield, J., The Development of the Spermatozoa. Part I. *Lumbricus*. in: Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 20. 1880. pag. 79—89 Pl. 6.
8. Brock, J., Über die Geschlechtsorgane der Cephalopoden. 1. Beitrag. in: Zeit. Wiss. Z. 32. Bd. 1879. pag. 47—49 Taf. 1.
9. Bütschli, O., Nähere Mittheilungen über Bau und Entwicklung der Samenfäden bei Insecten und Crustaceen. in: Zeit. Wiss. Z. 21. Bd. 1871. pag. 526—534 Taf. 40—41.
10. Carnoy, J. B., La biologie cellulaire. Lierre 1884. pag. 225—226.
11. Claus, C., Über *Halistema tergestinum*, nebst Bemerkungen über den feineren Bau der Physophoriden. in: Arb. Z. Inst. Wien. 1. Bd. 1878. pag. 45 Taf. 2.
12. Dönnitz, W., Über die Entwicklung der Spermatozoïden bei Schwimm-polyphen. in: Sitz. Ber. Ges. Nat. Freunde Berlin 1872. pag. 54.

13. Dujardin, F., Sur les zoospermes des Mammifères et sur ceux du Cochon d'Inde en particulier. in: Ann. Sc. N. (2) Tome 8. 1837. pag. 291—297 Pl. 9.
14. —— Sur les zoospermes de la Carpe. ibid. pag. 297—302 Pl. 9.
15. Du Plessis, G., Seconde note sur le *Vortex Lemani*. in: Bull. Soc. Vaud. Lausanne Vol. 14. 1876. pag. 257 Pl. 5.
16. Duval, M., Recherches sur la spermatogénèse étudiée chez quelques Gastéropodes pulmonés. in: Journ. Micr. Paris 3. Année 1879. et in: Revue Sc. N. Montpellier Tome 7. 1878.
17. —— Études sur la spermatogénèse chez la Paludine vivipare. in: Revue Sc. N. Montpellier Tome 8. 1879. et in: Journ. Micr. Paris 4. Année 1880.
18. Eisig, H., Monographie der Capitelliden des Golfes von Neapel. in: Fauna Flora Golf. Neapel 16. Monogr. 1857. pag. 140, 199, 226, 282, 671; Taf. 15, 23, 26, 28, 30.
19. Flemming, W., Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen. 2. Theil. in: Arch. Mikr. Anat. 18. Bd. 1880. pag. 233ff.
20. —— idem 3. Theil. ibid. 20. Bd. 1881. pag. 1—86 Taf. 1—4.
21. —— Weitere Beobachtungen über die Entwicklung der Spermatosomen bei *Salamandra maculosa*. ibid. 31. Bd. 1887. pag. 71—98.
22. Fol, H., Recherches sur la fécondation et le commencement de l'hérogénie chez divers animaux. in: Mém. Soc. Physiq. Nat. Genève Tome 26. 1879. pag. 260.
- 22a. —— voir plus loin pag. 107.
23. Gegenbaur, C., Untersuchungen über die Pteropoden und Heteropoden. Leipzig 1853.
24. Gilson, G., Étude comparée de la spermatogénèse chez les Arthropodes. in: La Cellule Tome 1. 1885. et Tome 2. 1886. 347 pagg. 15 Pl. et Tome 4. 1888. pag. 5—93 Pl. 16.
25. Graeffe, Ed., Beobachtungen über Radiaten und Wirmer in Nizza. in: Denkschr. Schweiz. Nat. Ges. 17. Bd. 1858. pag. 14.
26. Grassi, B., I Chetognati. in: Fauna Flora Golf. Neapel 5. Monogr. 1883. pag. 92—95 Tav. 13.
27. Grobben, C., Beiträge zur Kenntnis der männlichen Geschlechtsorgane der Decapoden. in: Arb. Z. Inst. Wien. 1. Bd. 1878. pag. 23—50 Taf. 3 u. 4.
28. Hallmann, E., Über den Bau des Hodens und die Entwicklung der Samenthiere der Rochen. in: Arch. Anat. Phys. 1840. pag. 467—474 Taf. 15.
29. Henle, F. G. J., Handbuch der systematischen Anatomie des Menschen. 1. Aufl. 1866. pag. 356; 2. Aufl. 1874. pag. 370.
30. Hertwig, O., Das Problem der Befruchtung und der Isotropie des Eies, eine Theorie der Vererbung. in: Jena. Zeit. Naturw. 18. Bd. 1884. pag. 276—315.
31. Jensen, O. S., Recherches sur la spermatogénèse. in: Arch. Biol. Tome 4. 1883. pag. 1—94, 669—747 Pl. 1, 2 et 20.
32. —— Untersuchungen über die Samenkörper der Säugetiere, Vögel und Amphibien. 1. Säugetiere. in: Arch. Mikr. Anat. 30. Bd. 1887. pag. 379—425 Taf. 12—14.
33. Keferstein, W., Spermatogenesis der Pulmonaten. in: Bronn's Klassen und Ordn. des Thierreichs 3. Bd. 2. Abthg. 1862—1866 pag. 1215.
34. Kölliker, A., Beiträge zur Kenntnis der Geschlechtsverhältnisse und der Samenflüssigkeit wirbelloser Thiere. Berlin 1841.

35. Kölliker, A., Die Bildung der Samenfäden im Blüschen. in: Nouv. Mem. Soc. Helvét. Sc. N. Vol. 8. 1847. pag. 1—82 Pl. 1—3.
36. — Über die Vitalität und die Entwicklung der Samenfäden. in: Verh. Physik. Med. Ges. Würzburg. 6. Bd. 1856. pag. 80—84.
37. — Die Bedeutung der Zellkerne für die Vorgänge der Vererbung. in: Zeit. Wiss. Z. 42. Bd. 1885. pag. 1—46.
38. Langerhans, P., Zur Anatomie des *Amphioxus lanceolatus*. in: Arch. Mikr. Anat. 12. Bd. 1876. pag. 328—330 Taf. 14.
39. La Valette St. George, A. v., Über die Genese der Samenkörper. 2. Mittheilung. in: Arch. Mikr. Anat. 3. Bd. 1867. pag. 263—273 Taf. 14.
40. — Spermatologische Beiträge. 1. Mittheilung. (*Bombyinator igneus*). ibid. 25. Bd. 1885. pag. 581—593 Taf. 24 und 25.
41. — Idem. 2. Mittheilung. (*Blatta germanica*). ibid. 27. Bd. 1886 pag. 1—12 Taf. 1 und 2.
42. — Idem. 3. Mittheilung. ibid. pag. 385—397 Taf. 14—16.
43. — Idem. 4. Mittheilung. ibid. 28. Bd. 1886. pag. 1—13 Taf. 1—4.
44. — Idem. 5. Mittheilung. ibid. 30. Bd. 1887. pag. 426—434 Taf. 25.
45. — Zelltheilung und Samenbildung bei *Forficula auricularia*. in: Festschrift zu v. Kölliker's 70. Geburtstage. 1887. pag. 49—61 Taf. 3 und 4.
46. Lee, A. Bolles, La spermatogénèse chez les Némertiens, à propos d'une théorie de Sabatier. in: Recueil Z. Suisse Tome 4. 1887. pag. 409—430 Pl. 19.
47. — La spermatogénèse chez les Chétognathes. in: La Cellule Tome 4. 1888. pag. 107—133 Pl. 1 et 2.
48. Leydig, Fr., Untersuchungen zur Anatomie und Histologie der Thiere. Bonn 1883. pag. 105—124 Taf. 7.
49. Metschnikoff, E., Recherches sur la spermatogénèse (en Russe). in: Arb. Versammel. Russ. Nat. Abth. Anat. Phys. 1868 § 56.
50. Nussbaum, M., Über die Veränderungen der Geschlechtsprodukte bis zur Eifurchung. in: Arch. Mikr. Anat. 23. Bd. 1884. pag. 155—213 Taf. 9—11.
51. Peltier, A., Observations microscopiques sur les animalcules. in: Bull. Soc. Sc. N. Paris 1835. pag. 92—95.
52. — Sur l'origine et le développement des zoospermes de la Grenouille. in: Proc. Verb. Soc. Philomath. Paris 1838. pag. 43—44.
53. — Observations sur le mode de formation et le développement des zoospermes chez les Batraciens. in: Compt. Rend. Tome 11. 1840. pag. 816.
54. Platner, G., Über die Spermatogenese bei den Pulmonaten. in: Arch. Mikr. Anat. 25. Bd. 1885. pag. 564—581 Taf. 23.
55. — Über die Entstehung des Nebenkerns und seine Beziehung zur Kerntheilung. ibid. 26. Bd. 1886. pag. 343—369 Taf. 14.
56. — Zur Bildung der Geschlechtsprodukte bei den Pulmonaten. ibid. pag. 599—621 Taf. 29 und 30.
57. — Über die Befruchtung bei *Arion empiricorum*. ibid. 27. Bd. 1886. pag. 32—72 Taf. 5 und 6.

58. Platner, G., Die Karyokinese bei den Lepidopteren als Grundlage für eine Theorie der Zelltheilung. in: Internat. Monatschr. Anat. Phys. 3. Bd. 1886. pag. 341—398 Taf. 17.
59. — Über die Bedeutung der Richtungskörperchen. in: Biol. Centralbl. 8. Bd. 1889. pag. 718—720.
60. — Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Theilungsscheinungen. 1. Zelltheilung und Samenbildung in den Zwittrerdriisen von *Limax agrestis*. 2. Samenbildung und Zelltheilung bei *Paludina vivipara*. in: Arch. Mikr. Anat. 33. Bd. 1889. pag. 125—145 Taf. 8 und 9.
61. — Idem. 5. Samenbildung und Zelltheilung im Hoden der Schmetterlinge. ibid. pag. 192—203 Taf. 13.
62. Prenant, A., Études sur la structure du tube séminifère des Mammifères. Recherches sur la signification des éléments qui le constituent. in: Bull. Soc. Sc. Nancy (2) Tome 9. fasc. 21, 1887. pag. 23.
63. — Observations cytologiques sur les éléments séminaux de la Scolopendre. ibid. pag. 30—31.
64. — Observations cytologiques sur les éléments séminaux des Gastéropodes pulmonés. ibid. pag. 33.
65. — Note sur la cytologie des éléments séminaux chez la Scolopendre. in: C. R. Soc. Biol. Paris (8) Tome 4. 1887. No. 31.
66. — Observations cytologiques sur les éléments séminaux de la Scolopendre et de la Lithobie. in: La Cellule Tome 3. 1887. pag. 415—442 avec 2 Pl.
67. — Note sur la cytologie des éléments séminaux chez les Gastéropodes pulmonés. in: C. R. Soc. Biol. Paris (8) Tome 4. 1887. No. 39.
68. — Recherches sur la signification des éléments du tube séminifère adulte des Mammifères. (Sur la question de la cellule de soutien). in: Internat. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887. pag. 358—370, 397—409 Taf. 14 und 15.
69. — Note sur la cytologie des éléments séminaux chez les Reptiles. in: C. R. Soc. Biol. Paris 8, Tome 5. 1888. pag. 3—4.
70. — Observations cytologiques sur les éléments séminaux des Gastéropodes pulmonés. in: La Cellule Tome 4. 1888. pag. 135—177 Pl. 1 et 2.
71. — Observations cytologiques sur les éléments séminaux des Reptiles. ibid. pag. 183—195 Pl. 3.
72. Prevost et Dumas, Observations relatives à l'appareil générateur des animaux mâles. Histoire et description des animalcules spermatiques. in: Ann. Sc. N. (1) Vol. 1 et 2. 1824.
73. Remak, R., Über Eihüllen und Spermatozoen. in: Arch. Anat. Phys. Jahrg. 1854. pag. 252—256.
74. Sabatier, A., Sur les formes des spermatozoïdes de l'Éledone musquée. in: Compt. Rend. Tome 106. 1888. pag. 954—956.
75. Schweigger-Seidel, F., Über die Samenkörperchen und ihre Entwicklung. in: Arch. Mikr. Anat. 1. Bd. 1865. pag. 309—335 Taf. 19.
76. Selenka, E., Zoologische Studien. 1. Befruchtung des Eies von *Toxopneustes variegatus*. Leipzig 1878. pag. 5—7 Taf. 2.
77. Siebold, C. Th. v., Über die Spermatozoen der Crustaceen, Insecten, Gastropoden und einiger anderer wirbellosen Thiere. in: Arch. Anat. Phys. Jahrg. 1836. pag. 13—53 Taf. 2 und 3.

78. Siebold, C. Th. v., Fernere Beobachtungen über die Spermatozoen der wirbellosen Thiere. *ibid.* 1837. pag. 381—439 Taf. 20.
79. — Über die Spermatozoïden der Locustinen. in: *Nova Acta Leop. Car.* 21. Bd. 1845. pag. 250 Taf. 14.
80. Vogt, C., Sur les Siphonophores de la mer de Nice. in: *Mém. Inst. Nation. Genève* Vol. 1. 1853 pag. 79.
81. Wagner, R., Die Genesis der Samenthierchen. in: *Arch. Anat. Phys.* Jahrg. 1836. pag. 225—231 Taf. 9.
82. Waldeyer, W., Über Karyokinese und ihre Beziehung zu den Befruchtungsvorgängen. in: *Arch. Mikr. Anat.* 32. Bd. 1888. pag. 1—123.
83. Weismann, A., Über die Zahl der Richtungskörper, und über ihre Bedeutung für die Vererbung. Jena 1887. 75 pagg.
84. Zenker, W., Über *Asellus aquaticus*. in: *Arch. Naturg.* 20. Jahrg. 1854. pag. 103—107.
-

Terminologie.

La terminologie de la spermatogénèse est fort embrouillée. Beaucoup de naturalistes se sont préoccupés de créer des noms nouveaux pour des choses déjà connues, d'où il résulte une grande confusion dans la signification attribuée à chaque terme par les différents auteurs. Il serait grand temps d'adopter une nomenclature et de s'y tenir, et c'est celle proposée par LA VALETTE ST. GEORGE qui me paraît la plus simple et qui est, du reste, la plus généralement adoptée aujourd'hui. C'est pour cette double raison que nous l'avons constamment employée et que nous la rappellerons ici en peu de mots.

Nous appellerons donc:

1) Spermatogonie, la cellule mère, qui donnera naissance à un certain nombre de générations de cellules filles destinées à former les spermatozoïdes.

2) Spermatocytes, les cellules filles engendrées par division de la spermatogonie. Ces spermatocytes subiront un nombre plus ou moins considérable de divisions, pour aboutir enfin à la formation d'un ordre de cellules qui ne se diviseront plus, mais dont chacune se transformera directement en un spermatozoïde. Ce sont les cellules de la dernière génération ou spermatides.

3) Spermatides, toute cellule qui doit donner directement naissance à un seul spermatozoïde.

4) Spermatozoïde, ou zoosperme, une spermatide transformée, et arrivée à maturité.

Toutes les fois que nous emploierons les termes vagues de

cellule sexuelle, cellule séminale, ce sera pour indiquer une ou plusieurs de ces générations sans vouloir préciser davantage.

Cependant les choses ne se passent pas toujours aussi simplement. Il arrive souvent, en effet, que les spermatocytes, par exemple, se divisent incomplètement. Leur noyau subit une série de fractionnements formant autant de noyaux fils, tandis que le protoplasme de la cellule mère reste commun et indivis. Nous nous trouvons alors en présence d'une spermato gemme, c'est-à-dire d'un amas protoplasmique renfermant un nombre variable de noyaux. Quelquefois, ces noyaux se rangent en cercle à la périphérie de l'amas protoplasmique central, qui prend alors le nom de cytophore, ou masse cytophorale (JENSEN). Il peut arriver, dans certains cas, qu'il reste au centre du cytophore un noyau qui n'est pas destiné à se transformer en spermatozoïde, c'est le noyau cytophoral (JENSEN).

Tels sont les principaux termes employés, qui sont, on le voit, d'une grande simplicité. Nous avons écarté, avec intention, le mot de spermatoblaste, dont on a souvent abusé, en lui donnant des significations diverses, et qui pourrait donc donner lieu à des équivoques.

Quant à la dénomination des différentes parties de la cellule, les cytologistes sont encore si peu d'accord entre eux, qu'il est difficile d'employer une nomenclature satisfaisante. J'ai adopté généralement le terme de nucléine pour indiquer la partie figurée du noyau, dont la réaction caractéristique est la coloration intense que lui communiquent le vert de méthyle, et en général tous les colorants nucléaires. Ce terme me paraît préférable à celui de chromatine, employé par FLEMMING, qui ne s'applique pas à une substance nettement définie, et dans lequel on peut, par exemple, ranger des nucléoles qui ne renfermeraient pas trace de nucléine. En outre, nous nous servirons constamment des deux termes suivants, adoptés par CARNOY, qui ont le mérite d'être clairs, et d'éviter une périphrase; ce sont: cytoplasma pour le protoplasme cellulaire, placé à l'extérieur du noyau, et caryoplasma pour le plasma nucléaire, qui se trouve à l'intérieur du noyau en compagnie de la nucléine.

Il reste encore à parler d'un corpuscule spécial, c'est celui découvert par LA VALETTE St. GEORGE, et décrit par lui sous le nom de Nebenkörper, ou Nebenkern. On ne peut guère le traduire en français que par noyau accessoire, comme l'a fait A. BOLLES LEE. Nous lui conserverons donc ce nom à défaut d'un

meilleur, en faisant remarquer toutefois que le corps en question n'est pas un noyau véritable, mais un corpuseule se trouvant dans la cellule à côté du noyau, et possédant des fonctions spéciales.

Technique.

Les spermatozoïdes, ainsi que la plupart des cellules séminales, sont d'une grande délicatesse, et résistent généralement fort mal à l'action des réactifs histologiques, ce qui rend souvent très difficile l'étude de leur constitution, tant physique que chimique. En outre, tel réactif, qui donnera d'excellents résultats pour une espèce, n'en donnera que de médiocres pour une autre, et ne sera d'aucun secours pour une troisième. On est ainsi astreint, à chaque pas, à de longs tâtonnements, avant d'avoir trouvé la méthode la mieux appropriée au cas présent. Je ne donnerai donc ici que quelques indications générales, renvoyant pour les détails aux méthodes exposées au commencement de l'étude de chaque type.

Si l'on veut se faire une idée exacte et complète de l'évolution des spermatozoïdes, il faut avoir recours à 3 méthodes principales:

- 1) l'examen sur le vivant.
- 2) les différentes méthodes de dissociation, et d'examen dans des liquides plus ou moins indifférents.
- 3) la méthode des coupes.

Disons tout de suite que cette dernière nous a toujours été de très peu d'utilité. En effet, lorsque les testicules ont passé par toute la série des réactifs employés pour la fixation, la coloration, l'enrobage, etc., les éléments séminaux se ratatinent considérablement, et deviennent souvent à peu près méconnaissables. Cette méthode n'est donc guère utile que pour donner un aperçu de la conformation générale du testicule, ou aussi dans l'étude de la caryocinèse, le noyau étant la partie de la cellule offrant généralement le plus de résistance aux réactifs. Dans ces cas là, les testicules ont été généralement fixés au liquide de FLEMMING, soit concentré, soit étendu (formule de Fol), puis colorés au carmin boracique ou à la cochenille, et montés dans la paraffine.

Les éléments séminaux ont toujours été scrupuleusement examinés à l'état vivant, afin de vérifier et de contrôler les données fournies par l'application des différents réactifs. Comme nous le verrons, en effet, on peut dire qu'il n'existe pas un seul réactif, soit fixateur, soit colorant, qui ne modifie pas plus ou moins fortement

la forme et les dimensions des cellules sexuelles, en particulier le protoplasma des spermatides, et le filament caudal des spermatozoïdes. Ajoutons que les mensurations et les croquis ont été pris autant que possible sur le vivant.

Mais il est rare que ce simple examen permette de distinguer autre chose que le contour des cellules et quelquefois du noyau. Pour se faire une idée de l'organisation cellulaire, il faut avoir recours à toute une série de réactifs, dont voici les principaux.

L'étude la plus importante est sans contredit celle du noyau cellulaire. Pour le mettre en évidence, nous avons généralement employé l'acide acétique en solution dans l'eau, d'une concentration variant de 0,1% à 2—3%. Cet acide a le grand avantage de faire ressortir très nettement le noyau, sans trop déformer le reste de la cellule. Il a en outre la qualité précieuse de dissoudre les couleurs d'aniline, aussi l'avons nous presque toujours additionné de violet de gentiane ou de Dahlia, suivant la formule de LA VALETTE ST. GEORGE, ou aussi de vert de méthyle (CARNOY).

Ces deux derniers colorants ont été presque exclusivement employés, après l'essai de toute une série de couleurs d'aniline, donnant des résultats généralement très inférieurs. Le Dahlia acétique surtout a l'immense avantage de fixer et de colorer en même temps d'une façon plus ou moins intense les différentes parties de la cellule. Le vert de méthyle a été seulement employé de préférence au Dahlia toutes les fois qu'il s'agissait de déterminer exactement la présence de l'élément nucléinien, et de le distinguer des nucléoles, noyaux accessoires, etc. qui restent incolores dans ce réactif.

J'ai essayé encore beaucoup d'autres moyens de fixation, dont les résultats ont été généralement inférieurs, quoique utiles dans certains cas. Ainsi l'on obtient souvent de belles préparations de spermatozoïdes par la fixation aux vapeurs osmiques, suivie de l'addition d'acide pyrogallique. Cette méthode, préconisée par A. BOLLES LEE, donne de splendides colorations d'un noir violacé, et d'une grande netteté. Le chlorure de platine et le permanganate de potasse (DU PLESSIS) donnent aussi une bonne fixation: mais, comme l'a fait aussi remarquer LEE (47), ils rendent fort difficile toute coloration ultérieure.

Tous ces liquides cependant, fort bons pour l'étude du noyau, ne sont guère appropriés à l'étude du cytoplasme, ni surtout à celle du noyau accessoire. Ainsi ce dernier, comme l'a fort bien vu LA VALETTE ST. GEORGÉ (41), disparaît sous l'influence de l'acide acéti-

que, pour ne laisser à sa place qu'une vacuole transparente. Il faut dans ce cas recourir aux liquides neutres, et LEE a proposé une solution neutre de Dahlia dans l'eau de mer. Malheureusement, cette matière colorante y est extrêmement peu soluble, et l'on obtient difficilement des colorations d'une intensité suffisante. Après de nombreux essais, je suis arrivé à trouver un réactif qui n'altère pas les différentes parties de la cellule, tout en permettant une bonne coloration. C'est le chlorure de manganèse; je l'emploie simplement en solution aqueuse à 5—10%, additionnée de quelques gouttes d'une solution concentrée de Dahlia dans l'eau. Ce liquide dissout le Dahlia un peu mieux que l'eau de mer, et surtout met admirablement en évidence toutes les parties constitutantes de la cellule. Il suffit de dilacerer une portion du testicule dans une gouttelette de ce liquide placée sur le porte-objet, pour obtenir d'excellentes préparations. Le noyau des spermatides se colore généralement en bleu, le Nebenkern en violet, et le cytoplasme prend une légère teinte violacée. Le seul défaut de ces préparations est de n'être pas durables, comme du reste la plupart des préparations faites directement sur le porte-objet avec des matériaux frais. On pourra cependant fort bien les conserver quelques jours, en empêchant l'évaporation du liquide par un lutage à la paraffine.

En résumé, nous avons toujours étudié la spermatogénèse sur du matériel frais, en observant en premier lieu les éléments vivants, puis en faisant agir les réactifs sous le microscope même, afin de suivre constamment les modifications qu'ils font subir aux cellules. C'est la seule manière d'éviter souvent de grossières erreurs, et les travaux faits uniquement sur des matériaux plus ou moins bien conservés, sont toujours sujets à caution. Pour se faire une idée des transformations que peuvent faire subir les réactifs aux éléments séminaux, j'ai reproduit (pl. 8 fig. 30—53) les différents aspects que prennent les spermatozoïdes d'un Oursin sous l'influence de la plupart des fixateurs usuels. On se rendra compte des différences profondes de forme et de dimensions qu'ils subissent, de la réfringence relative du noyau et du Nebenkern, si variable, que l'on comprend jusqu'à un certain point que l'on ait pu les prendre l'un pour l'autre; et cependant, le spermatozoïde de l'Oursin est un de ceux qui, à ma connaissance, se déforment le moins sous l'influence des réactifs.

Ajoutons encore que ces recherches ont été faites avec un excellent objectif apochromatique 2,5 mm, immersion à eau, de la

maison C. ZEISS. Dans quelques cas délicats j'ai employé en outre un apochromatique $\frac{1}{12}$ inch à immersion homogène (Ouv. Num. 1, 40) de POWELL et LEALAND.

I. Spermatogénèse chez les Echinides.

Méthode employée.

Ces recherches ont été faites pendant les mois de janvier et de février. Si à cette époque on ouvre le premier Oursin venu, l'on est à peu près sûr de trouver les glandes génitales pleines de produits sexuels à un état plus ou moins avancé de maturité. Les spermatozoïdes mûrs sont surtout fort abondants, tandis qu'il est souvent assez difficile de trouver des cellules séminales en voie de développement. Il faut pour cela choisir des individus chez lesquels les glandes génitales sont encore petites; en dilacérant alors une portion du testicule dans une goutte d'eau de mer, on obtiendra des préparations renfermant souvent des spermatozoïdes à des degrés assez variés de développement; c'est en même temps le meilleur moyen pour se rendre un compte exact de la forme et des dimensions des éléments spermatiques. Pour mettre en évidence les parties constitutantes de la cellule, j'ai presque constamment employé le chlorure de manganèse, en solution à 10 % dans l'eau, et saturé de Dahlia.

Ce liquide a le grand avantage de faire apparaître nettement le noyau et le Nebenkern, sans endommager la partie cytoplasmique de la cellule. Les spermatozoïdes y vivent encore pendant quelques instants, et prennent souvent une bonne coloration nucléaire avant d'être complètement fixés. Au bout d'un moment cette coloration s'accentue, et l'on voit alors le noyau coloré en bleu foncé, se distinguant nettement du Nebenkern, qui a pris une teinte violette, tandis que le cytoplasme reste à peu près incolore.

Parmi les autres réactifs employés, et qui donnent des résultats analogues, quoique inférieurs, je citerai le chlorure de zinc, en solution à 5 %; et le chlorure de platine à 1 %, qui fixe instantanément et avec beaucoup de fidélité, mais qui ne permet guère de coloration ultérieure.

Pour l'étude spéciale du noyau j'ai employé l'acide acétique à 1 ou 2 % additionné d'une petite quantité soit de Dahlia, soit de vert de méthyle. Je me suis toujours servi de ce dernier colorant, lorsqu'il s'agissait de déterminer exactement la place de l'éle-

ment nucléinien; il convient, dans ce cas, de laisser une portion du testicule pendant quelques heures dans une solution concentrée de vert de méthyle acide, puis de la décolorer pendant un temps égal dans l'acide acétique dilué, que l'on change plusieurs fois. Si l'on examine alors les cellules séminales, on s'aperçoit que la nucléine seule est colorée en vert foncé, tandis que tout le reste de la cellule, caryoplasma, noyau accessoire, nucléoles etc. est absolument incolore. Cette méthode, introduite par CARNOY, m'a toujours paru un moyen de contrôle indispensable, pour suivre sans se tromper les modifications de l'élément nucléaire. C'est à ma connaissance le seul réactif colorant dont la faculté élective soit aussi précise et constante, et je suis convaincu que dans l'étude de la spermatogénèse, beaucoup d'erreurs auraient pu être évitées par l'emploi systématique de ce réactif.

Comme moyen de contrôle, j'ai employé toutes les fois que cela était possible, les dissolvants de la nucléine, en particulier la soude ou la potasse caustique, en solution étendue dans l'eau. Toutes ces réactions se font, du reste, avec une grande facilité sous le microscope en déposant au bord de la lamelle une goutte du liquide que l'on soutire de l'autre côté avec un morceau de papier buvard, procédé trop connu pour que j'aie à m'y arrêter.

A titre de curiosité, j'ai soumis les spermatozoïdes de l'Oursin à l'action de toute une série de réactifs fixateurs. Les résultats, reproduits pl. 8, fig. 30—53, montrent d'une manière évidente l'extrême délicatesse de ces éléments, et la nécessité d'une bonne méthode jointe à l'examen à l'état vivant si l'on veut éviter de nombreuses erreurs.

Spermatogénèse.

J'ai étudié simultanément les espèces suivantes:

- 1) *Strongylocentrotus lividus* Brandt;
- 2) *Arbacia pustulosa* Gray;
- 3) *Echinus microtuberculatus* Blainv.;
- 4) *Sphaerechinus granularis* Ag.;
- 5) *Spatangus purpureus* Müll.

Les spermatozoïdes de ces espèces ayant une grande analogie, et leur développement n'offrant que des différences insignifiantes, je décrirai seulement ces phénomènes tels qu'ils se présentent

chez *Strongylocentrotus lividus*, qui est, de toutes ces espèces, la plus commune et la plus facile à se procurer.

Mon intention n'étant pas, comme je l'ai dit plus haut, d'étudier les premières phases de la spermatogénèse, nous passerons rapidement sur le développement des spermatoctyes, pour nous arrêter plus longuement sur l'évolution des spermatides et la formation des spermatozoïdes: en outre, quelques observations sur la fécondation chez ces animaux nous renseigneront sur le rôle physiologique des différentes parties constituantes du spermatozoïde.

Les spermatoctyes (pl. 8 fig. 1) sont, chez l'Oursin, des cellules sphériques, d'un diamètre variant de 8—12 μ , renfermant un gros noyau sphérique de 6—8 μ . Ce dernier paraît entièrement rempli d'un fin réticulum de nucléine très enchevêtré, à l'intérieur duquel on remarque un petit nucléole arrondi et réfringent. Ces cellules se divisent activement par caryocinèse (pl. 8 fig. 2—3), pour donner naissance aux spermatides; il faut remarquer cependant, qu'après un certain nombre de divisions cinétiques, on observe quelquefois, avant la formation des spermatides proprement dites, une dernière division qui ne se fait pas par cинèse, mais par simple étranglement du noyau. Dans ce cas, c'est le noyau seul qui se divise, pour donner ainsi naissance à une cellule binucléée, destinée à produire deux spermatozoïdes qui ne se sépareront que plus tard. Nous aurons à revenir sur cette question: occupons nous maintenant de la spermatide isolée et normale, telle qu'elle se présente à la fin de la dernière division.

Les spermatides (pl. 8 fig. 5) se distinguent des spermatoctyes d'abord par leurs dimensions plus faibles (7—8 μ), et surtout par la constitution de leur noyau. Ce dernier en effet, qui présentait auparavant une structure assez compliquée, tend de plus en plus à devenir homogène. Le nucléole a disparu, et le réticulum de nucléine se dissout complètement dans le caryoplasma pour former une gouttelette homogène et réfringente, entourée seulement d'une mince membrane nucléaire. Comme nous le verrons plus tard, ce fait se rencontre constamment au moment où commence la formation du spermatozoïde. A côté du noyau, le cytoplasma de la spermatide, finement granuleux, renferme encore un certain nombre de granulations très réfringentes. Ces petits globules, au nombre de 2—6, paraissent provenir des restes du fuseau de la dernière division, et sont analogues aux ecytomierosomes décrits par PRENANT (71) dans les cellules sexuelles des Reptiles.

Prenons donc pour point de départ la spermatide ainsi constituée, et suivons maintenant pas à pas sa transformation en spermatozoïde.

La partie du zoosperme qui apparaît en premier lieu est le filament caudal. On voit sortir de la spermatide un fil d'abord excessivement fin, puis s'épaississant à mesure que sa longueur augmente, et cela de la manière suivante: le cytoplasme de la cellule se met à couler le long de ce filament pour aller former à son extrémité une petite gouttelette, qui diminue à mesure que la queue se développe. Le volume primitif de la spermatide a diminué alors de la quantité expulsée pour la formation de la queue; il est donc évident que cette dernière est formée uniquement aux dépens du protoplasma cellulaire, et que le noyau n'y entre pour aucune part. Celui-ci en effet, pendant toute la génèse du filament caudal, est resté stationnaire et n'a pas changé de volume. En outre, pendant toute la première partie du développement, il n'est pas relié directement à la queue et ce n'est que plus tard, lorsque cette dernière est entièrement formée, qu'ils se soudent ensemble.

La queue se forme donc peu à peu par l'écoulement du cytoplasme de la spermatide (pl. 8 fig. 6—10); mais avant qu'elle soit arrivée à son entier développement, il se passe à l'intérieur de la cellule les phénomènes suivants.

Nous avons dit que la spermatide renfermait primitivement un certain nombre de petits granules réfringents, les cytomicrosomes. Ces granules, au nombre de 4 à 6, se fusionnent ensemble pour former d'abord deux, puis finalement un seul globule d'apparence homogène, ayant un diamètre de 2 μ environ (pl. 8 fig. 6—5); c'est le noyau accessoire, ou Nebenkern, qui examiné sur des cellules vivantes, ressemble beaucoup au noyau, à côté duquel il se trouve, et avec lequel on pourrait le confondre à première vue. Sa constitution chimique est cependant tout autre, ainsi que l'on peut s'en convaincre facilement en soumettant les cellules à l'action du Dahlia acétique, par exemple, qui colore le noyau véritable en violet foncé, tandis que le Nebenkern reste incolore et se distingue à peine du cytoplasme environnant. Le noyau accessoire ainsi formé persiste dans la cellule jusqu'à l'achèvement complet du filament caudal auquel, de même que le noyau, il reste absolument étranger.

Au sujet de l'origine du Nebenkern, nous sommes donc, comme on le voit, pleinement de l'avis de PLATNER (55), et de PRENANT (71), qui admettent que ce corpuscule n'est pas expulsé directement

du noyau, mais qu'il provient du dernier fuseau de division des spermatocytes, dont la partie achromatique de l'ancien noyau est restée dans le protoplasma cellulaire sous forme de granulations qui en se fusionnant forment le Nebenkern. Il est probable, en outre, que le corpuscule polaire du fuseau cinétique entre aussi dans la composition du Nebenkern, comme l'a décrit PLATNER (61) chez les Lépidoptères; je n'ai pas pu m'en assurer cependant d'une manière certaine, ne m'étant pas occupé spécialement du processus de la caryocinèse.

Il est facile de vérifier, en outre, que le noyau ne prend aucune part à la formation du Nebenkern, car pendant tous ces phénomènes, il reste quiescent, et son volume est le même avant qu'après (pl. 8, fig. 6—8). Jusqu'à ce moment, le noyau a conservé sa forme sphérique, mais bientôt il commence à s'allonger dans l'intérieur de la cellule, et prend peu à peu une forme conique. Le sommet du cône nucléaire se trouve alors placé près du point de naissance du filament caudal, tandis que le noyau accessoire se trouve du côté opposé, à la base du cône nucléaire, et un peu de côté (pl. 8 fig. 9 et 13).

La cellule entière, qui jusqu'à présent était sphérique, s'allonge un peu pour suivre le mouvement d'allongement du noyau. Son volume est encore assez considérable, mais il va diminuer rapidement. En effet le cytoplasme continue à couler le long du filament caudal. Il va former à son extrémité une gouttelette, aux dépens de laquelle la queue continuera à se développer. On observe souvent le long du filament deux ou trois petites gouttelettes en voie d'acheminement vers l'extrémité, où elles diminuent de volume à mesure que la queue s'allonge (pl. 8 fig. 13, 14, 17).

Au bout d'un certain temps, et lorsque le filament caudal a atteint son complet développement, le protoplasma cellulaire a complètement disparu autour du noyau. De là résulte que la partie antérieure de la queue, primitivement séparée du noyau par une couche de cytoplasme, se trouve maintenant appliquée contre lui, et paraît ainsi fixée au sommet du cône nucléaire, tandis que le Nebenkern reste attaché à l'extrémité opposée du noyau, c'est-à-dire à la base du cône (pl. 8 fig. 18). C'est cette apparence qui a fait croire à CARNOY (N° 10, pag. 225), que la queue partait de la pointe du cône nucléaire, qui formerait ainsi la partie postérieure de la tête du spermatozoïde, tandis que la base du cône serait située en avant dans le spermatozoïde mûr. Mais si l'on examine attentivement de

profil un spermatozoïde ainsi constitué, on peut se convaincre qu'il n'en est rien, et que l'on a affaire à un zoosperme qui n'a pas encore achevé son développement. En effet on voit alors clairement (pl. 8 fig. 18) que le filament caudal, au lieu de se terminer à la pointe du noyau, se continue sur toute sa longueur jusqu'à la base du cône.

Cette portion de la queue, appliquée contre le noyau, est formée évidemment par le reste du protoplasma de la spermatide. Quant à la membrane cellulaire, elle a peu à peu disparu, en se dissolvant probablement dans le cytoplasme, et l'on n'en retrouve plus aucune trace dans le spermatozoïde.

A ce degré de développement, la queue est déjà animée de mouvements très rapides, ce qui a pu faire croire que cette forme était celle des spermatozoïdes mûrs. Il n'en est rien cependant; car nous assistons bientôt au phénomène suivant: la portion antérieure de la queue, qui était jusqu'à présent appliquée contre la tête du spermatozoïde, s'en détache peu à peu. La pointe du cône nucléaire se sépare ainsi du filament caudal, et l'on voit distinctement que ce dernier reste attaché à la tête par la base du noyau, à l'endroit où se trouve fixé le Nebenkern. La tête du spermatozoïde se retourne donc complètement: le filament caudal, qui paraissait fixé à la pointe de la portion céphalique, se montre maintenant sous son véritable aspect, et part de la base du noyau (pl. 8 fig. 19).

Ce phénomène de redressement du spermatozoïde n'a pas toujours lieu au même degré de développement.

Dans certains cas ce retournement ne s'opère, comme nous venons de voir, que lorsque le filament caudal est entièrement formé, et qu'il ne reste plus de protoplasma autour du noyau. Mais il arrive souvent aussi que le redressement a lieu beaucoup plus tôt, lorsqu'il reste encore une notable quantité de cytoplasme dans la spermatide. L'évolution se produit alors lentement et d'une façon bien nette (pl. 8 fig. 15, 16). Lorsque le spermatozoïde est entièrement redressé, la dernière gouttelette de cytoplasme coule alors le long du filament caudal dont elle achève la formation.

Dans tous les cas, que ce soit au commencement de la formation du spermatozoïde ou près de la fin seulement, ce redressement a toujours lieu, et le zoosperme mûr a toujours la pointe du cône céphalique située en avant, et opposée à la queue.

Pour plus de certitude, j'ai opéré la fécondation artificielle, et j'ai eu nombre de fois l'occasion d'observer la pénétration du zoosperme

dans l'œuf. C'est toujours avec la pointe du cône céphalique placée en avant que la pénétration a lieu, tandis que les spermatozoïdes dont le redressement ne s'est pas encore effectué sont incapables de féconder, ce qui du reste était facile à prévoir à première vue.

Arrivé à ce degré de développement, le spermatozoïde paraît formé de 3 parties distinctes (pl. 8 fig. 19, 20): une antérieure, la tête, formée exclusivement par le petit cône nucléaire; une médiane, que nous nommerons le segment intermédiaire, formée par le Nebenkern; et enfin une postérieure, le filament caudal, dérivant du cytoplasme de la spermatide.

La tête du spermatozoïde a, comme nous l'avons déjà dit, la forme d'un cône à pointe effilée, long du 6μ environ et large de 2μ à sa base. Il est d'aspect homogène et fortement réfringent, cet aspect provenant de ce que le boyau nucléinien s'est peu à peu dissout dans le plasma nucléaire pour former ainsi une masse homogène où ces deux éléments sont intimement mélangés. La membrane nucléaire persiste toujours autour du cône céphalique, mais elle est très mince, et pour la mettre en évidence, il est nécessaire de soumettre les spermatozoïdes à l'action d'un réactif dissolvant la nucléine, la soude caustique par exemple. La membrane reste intacte, et l'on en constate alors aisément la présence.

Le segment intermédiaire, ou segment moyen, mérite une mention spéciale, et réclame une étude attentive. Nous avons vu qu'il se forme par la fusion des granulations répandues dans le protoplasma cellulaire, les cytomicrosomes de PRENANT, qui ont été éliminés lors de la dernière division cinétique. Le Nebenkern, quoique formé dans le cytoplasma de la spermatide, sans le secours du noyau, a cependant une origine nucléaire: il provient de la partie achromatique du noyau (*caryoplasm*) du spermatocyte. Arrivé à son complet développement, il présente un aspect homogène, et ressemble beaucoup au noyau. Il s'en distingue cependant par sa réfringence plus faible, et par la façon dont il se comporte vis-à-vis des réactifs colorants. Il suffit de soumettre le spermatozoïde à l'action du vert de méthyle acide pour se convaincre que le cône céphalique est le vrai noyau, et renferme seul de la nucléine, tandis que le noyau accessoire ne contient que du plasma incolore. C'est, comme nous le verrons plus loin, une formation secondaire, destinée à l'élimination des parties de la cellule séminale lesquelles, de nécessaires qu'elles étaient pour la caryocinèse, sont devenues inutiles lorsque la dernière division s'est effectuée, et qui n'a aucune

importance pour la fécondation: c'est un corpuscule de rebut. Mais gardons nous bien de l'assimiler aux globules polaires de l'œuf, comme cela a été admis par quelques auteurs. En effet on sait maintenant que la formation des globules polaires est une véritable division cinétique, dans laquelle le noyau se partage en deux parties égales. Le globule polaire est donc un véritable noyau renfermant de la nucléine, tandis que le noyau accessoire du spermatozoïde en est totalement dépourvu, et ne renferme qu'un plasma incolore. On commettrait donc une grave erreur en le considérant comme une sorte de globule polaire mâle.

Le segment moyen est fixé immédiatement en arrière du cône céphalique, sous la forme d'une petite sphère de $2\ \mu$ environ de diamètre. Il sert d'intermédiaire entre la tête et la troisième partie du spermatozoïde, le filament caudal, que nous allons étudier rapidement.

Chez tous les Oursins, la queue du spermatozoïde est filiforme. Sa longueur est d'environ $50\ \mu$, et son diamètre n'a guère qu'un à deux dixièmes de μ . Elle paraît formée d'un seul fil, et je n'ai jamais pu la décomposer en fibrilles comme l'a fait BALLOWITZ (2—5) pour les spermatozoïdes, plus gros il est vrai, de beaucoup d'animaux. A première vue, le filament caudal paraît fixé à l'extrémité postérieure du segment moyen. Mais si on l'examine attentivement, on verra qu'il traverse le Nebenkern, et vient se fixer à la base même du cône céphalique. Ce mode d'attache offre une bien plus grande solidité, pour résister aux mouvements ondulatoires très vifs dont la queue du spermatozoïde mûr est animée.

Telle est la manière dont s'accomplit la spermatogénèse chez les Oursins. Souvent cependant on observe de légères variantes dans le mode de développement. Ainsi il arrive fréquemment que lors de la dernière division des spermatocytes, les jennes spermatides ne se séparent pas complètement. On voit alors (pl. 8 fig. 11 et 12) une grosse cellule à deux noyaux, dans laquelle se développent bientôt deux noyaux accessoires, et qui formeront, par le processus décrit plus haut, deux spermaozoïdes qui ne se sépareront qu'à un degré plus ou moins avancé de maturité. Ce cas se présente du reste assez rarement chez les Oursins.

Nous avons décrit le développement des spermatozoïdes chez le *Strongylocentrotus lividus* Brdt. Ce développement est presque identiquement le même chez tous les Échinides que j'ai étudiés. Je ne m'y étendrai donc pas, et j'ai figuré seulement les spermatozoïdes mûrs de deux ou trois autres espèces communes dans la Méditerranée.

ranée (pl. 8 fig. 24—29). On verra qu'ils ne diffèrent pas sensiblement les uns des autres¹.

Il me reste à parler maintenant d'un phénomène fort curieux dont j'ai été témoin sur les spermatozoïdes du *Strongylocentrotus*: dans la grande majorité des cas, le spermatozoïde mûr a l'aspect que nous venons de décrire, et se compose de trois parties bien distinctes, tête, segment intermédiaire et queue. C'est sous cette forme qu'il pénètre dans l'œuf, et opère la fécondation. Mais il peut arriver que l'évolution du zoosperme ne s'arrête pas là. J'ai souvent observé en effet, sur des Oursins récoltés à la station zoologique de Villefranche pendant les mois de janvier et février le phénomène suivant.

Le segment intermédiaire, formé comme nous l'avons vu par le Nebenkern, se détache du cône céphalique et tombe (pl. 8 fig. 21). Il ne reste plus alors que des spermatozoïdes composés de deux parties seulement, la tête et la queue (pl. 8 fig. 22), et l'on voit dans le liquide séminal, à côté de cette nouvelle forme de zoospèrme, des globules réfringents qui ne sont que les noyaux accessoires éliminés, et qui ne tardent pas à disparaître.

Cette forme représente donc un degré de développement plus avancé. Il restait à savoir si ce n'était pas un cas anomal, et si des spermatozoïdes ainsi constitués étaient capables de féconder l'ovule. J'en ai fait l'expérience, et j'ai eu l'occasion d'observer plusieurs fois la pénétration dans l'œuf de ces spermatozoïdes sans segment moyen. La fécondation s'est toujours opérée normalement, et le fractionnement de l'œuf s'est effectué comme d'habitude. On peut donc admettre comme démontré que chez cet Oursin le noyau accessoire joue un rôle tout à fait secondaire, et que sa présence n'est absolument pas nécessaire à la fécondation, cette dernière pouvant s'accomplir indistinctement avec des spermatozoïdes possédant un segment moyen ou avec d'autres qui en sont privés.

Nous avons encore dans le phénomène d'élimination du Nebenkern une preuve de plus que le point d'attache du filament caudal est situé sur le cône céphalique même, sinon le segment moyen, en tombant, entraînerait la queue avec lui, ce qu'on n'observe jamais.

¹ Chez un Echinothuride (*Asthenosoma*) observé dernièrement aux Moluques, j'ai vu la spermatogénèse s'effectuer de la même façon. Les spermatozoïdes mûrs rappellent ceux des autres Échinides; ils sont seulement plus effilés. Le cône céphalique a 7μ de longueur sur 1μ de base. Il est suivi d'un segment moyen sphérique de 1μ de diamètre et d'une queue filiforme très fine.

Je parlais plus haut du redressement du spermatozoïde, qui s'effectue à des périodes assez variables de son développement. J'ai observé plusieurs fois le cas où ce phénomène n'avait lieu qu'après élimination du Nebenkern, donc à maturation complète (pl. 8 fig. 23). Ce sont alors les mouvements saccadés de la queue qui provoquent ce redressement d'un seul coup.

Fécondation.

J'ajouterai encore quelques mots sur l'acte de la fécondation chez les Échinides, sans m'attarder à la décrire en entier. ce qui serait inutile après les beaux travaux de FOL (22), de SELENKA (76) et des HERTWIG, et m'écarterait trop de mon sujet. Je veux donner ici seulement quelques considérations sur la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf, et sur son rôle dans la fécondation. Deux mots d'abord sur la technique.

FOL (N° 22, p. 55) recommande pour l'étude de la fécondation, l'emploi d'un compresseur à lames parallèles. Il place une goutte de sperme dilué sur le porte-objet et une goutte d'eau contenant les ovules sous le couvre-objet; puis en rapprochant les deux lames de verre sous le microscope il met les deux gouttes en contact. Ce dispositif me paraît très mauvais. et voici pourquoi.

Qu'arrive-t-il en effet lorsque les deux gouttelettes sont mises en contact? Comme le décrit FOL, les ovules plus denses que l'eau descendront, et les zoospermes remontent en nageant à leur rencontre. Il arrivera ainsi 9 fois sur 10 que cette rencontre aura lieu près du pôle de l'œuf opposé à l'œil de l'observateur et que la pénétration du zoosperme sera impossible à observer. Il n'est pas étonnant que cet auteur n'ait pu arriver à voir la pénétration qu'après des mois d'essais infructueux, comme il le dit lui-même. Voici un dispositif plus simple, qui permet d'observer la fécondation sans tâtonnements ni perte de temps.

On dépose une goutte d'eau contenant les ovules sur le porte-objet. On recouvre d'un couvre-objet, puis on dépose d'un côté une gouttelette de sperme dilué, tandis qu'on aspire l'eau du côté opposé de la lamelle avec un petit morceau de papier buvard; cette opération se fait avec la plus grande facilité sur la platine du microscope. Qu'arrive-t-il alors? Les spermatozoïdes, étant attirés horizontalement, viennent toucher l'œuf de côté, c'est-à-dire à l'endroit le plus propice à l'observation. Grâce à cette méthode élémentaire

on peut souvent dans une seule préparation, observer la pénétration des zoospermes dans sept ou huit ovules. On pourra aussi facilement rendre sa préparation permanente en faisant passer un réactif fixateur au moment précis où on le désire, puis en colorant sous la lamelle, toujours par le même moyen d'aspiration. Les œufs, très légèrement comprimés entre les deux lames de verre, resteront immobiles pendant toutes ces manipulations.

Étudions maintenant rapidement l'acte de la fécondation. Un spermatozoïde vient s'implanter, la pointe en avant, dans la membrane de l'œuf. Aussitôt, par un mécanisme non encore expliqué, la membrane vitelline se gonfle énormément et acquiert en une ou deux minutes une grande épaisseur. Ce phénomène est destiné, comme l'a montré FOL (22), à empêcher la pénétration de plus d'un seul spermatozoïde dans l'œuf. La membrane vitelline est traversée, au point où se trouve le zoosperme, par un fin canal occupé par la queue, dont la partie postérieure, située en dehors, continue à se mouvoir rapidement. Mais bientôt ces mouvements se ralentissent pour cesser tout à fait au bout d'un moment. Pendant ce temps, la tête du spermatozoïde a avancé. Après avoir traversé la membrane, elle a pénétré dans l'intérieur du vitellus, et marche à la rencontre du noyau femelle.

Étudions d'abord le cas d'un zoosperme dépourvu de segment moyen, et composé seulement de deux parties, la tête et la queue. Ce cas ne se présente que rarement, il est vrai, mais comme il est le plus simple, nous nous en occuperons d'abord.

Le spermatozoïde commence donc à progresser dans l'intérieur du vitellus. Le cône céphalique a encore gardé tout à fait sa forme primitive; il traîne à sa suite le filament caudal, dont une partie est encore à l'extérieur de l'œuf, et dont les mouvements aident à la progression en avant, due aussi probablement en partie à une attraction interne.

Arrivé à une certaine distance du noyau femelle, le zoosperme s'arrête, pour se transformer en pronucléus mâle (FOL). A ce moment le cône céphalique se détache de la queue, puis il se gonfle et prend une forme sphérique. C'est dans ce nouvel état qu'il va se remettre en marche à la rencontre du pronucléus femelle, avec lequel il se fusionnera, phénomène que nous n'avons pas à étudier ici.

La queue du zoosperme se trouve toujours en partie dans le vitellus, en partie à l'extérieur de l'œuf. La portion interne se dissout lentement dans le vitellus, tandis que la partie externe

disparaît peu à peu. Il est à remarquer que la longueur de la portion du filament caudal introduite dans l'œuf varie chaque fois. En effet, le noyau femelle est toujours placé excentriquement dans l'œuf, donc suivant le point de pénétration, le zoosperme aura un trajet plus ou moins long à parcourir pour se réunir au noyau femelle. Or, comme la séparation du cône céphalique de la queue, et sa constitution en pronucléus mâle a toujours lieu à une distance assez constante du pronucléus femelle, il en résulte forcément que la distance au contraire du noyau mâle à la périphérie, c'est-à-dire la longueur de la queue introduite dans l'œuf, variera dans d'assez grandes limites.

Analysons maintenant le rôle des deux parties du zoosperme dans la fécondation.

Nous avons vu que la tête, c'est-à-dire le cône antérieur du zoosperme, est formée uniquement par le noyau de la cellule sexuelle. Nous avons pris le cas d'un spermatozoïde sans segment moyen, c'est donc la tête seule qui se transforme en pronucléus mâle, c'est-à-dire en un noyau normalement constitué, possédant une membrane externe, un caryoplasma incolore et un élément nucléinien. Ce dernier s'était dissout dans le plasma nucléaire pendant la formation du spermatozoïde; maintenant que le noyau mâle a pénétré dans l'œuf, il se condense de nouveau en un boyau chromatique comme précédemment. Ce phénomène de dissolution de la nucléine dans le plasma nucléaire, que l'on observe chez la plupart des spermatozoïdes dans le règne animal, n'est que passager dans l'évolution de la cellule séminale, et résulte évidemment d'une adaptation secondaire utile à l'acte de la fécondation. En effet la formation du boyau nucléinien est nécessaire à la division par caryocinèse. Tant que les cellules sont en voie de division, au stade de spermatocytes par exemple, nous observons un boyau nucléinien. Au contraire, dès que les spermatides ont pris naissance, le rôle physiologique du noyau change. Il ne s'agit plus pour lui de se diviser, mais bien de prendre la forme la plus propice pour pénétrer dans l'œuf. Le boyau devenu inutile se dissout, et permet alors au noyau de la spermatide, maintenant homogène, de prendre facilement la forme qu'il doit avoir pour opérer la fécondation. Enfin, une fois arrivé dans l'œuf, il reprend sa forme primitive pour se conjuguer avec le noyau femelle et donner naissance à un nouvel organisme.

C'est donc un noyau normalement constitué qui pénètre dans l'œuf et opère la fécondation. Mais on pourrait objecter que ce

n'est pas seulement un noyau, car la queue du spermatozoïde est entrée aussi dans l'œuf à la suite du cône céphalique. Ne joue-t-elle pas aussi un rôle dans la fécondation, et cet acte important n'est-il pas opéré par la fusion de deux cellules entières et non pas de deux noyaux seulement? Je ne le crois pas, et voici pourquoi.

En premier lieu, nous avons vu plus haut que la portion du filament caudal introduite dans l'œuf était très variable, suivant la place du noyau femelle. Ainsi, tandis que la quantité de protoplasma de la cellule femelle reste constante, celle de la cellule mâle est variable, ce qui tendrait à prouver déjà que son importance n'est pas grande dans la fécondation. En second lieu, comme le pronucléus mâle se détache de la queue et marche seul à la rencontre du pronucléus femelle, il ne peut pas y avoir de fusion entre ce dernier et la queue du spermatozoïde, qui est simplement dissoute dans le vitellus. Sa masse est donc incommensurablement petite par rapport à celle du protoplasma ovulaire et paraît tout à fait négligeable.

Il nous reste encore à considérer le cas où la fécondation est opérée par un spermatozoïde du type ordinaire, c'est-à-dire formé de 3 parties, tête, segment moyen et queue. C'est ce cas qui se présente le plus fréquemment, et j'ai à plusieurs reprises observé la pénétration de ces spermatozoïdes dans l'œuf.

La fécondation s'opère absolument comme dans le cas précédent jusqu'au moment de la formation du pronucléus mâle. Il ne restait plus qu'à élucider si le segment moyen, c'est-à-dire le Nebenkern, prend part à la formation du pronucléus ou s'il y reste étranger. Une observation attentive m'a montré que c'est la dernière hypothèse qui est la vraie. Arrivé dans l'œuf, le cône céphalique se détache en même temps de la queue et du segment moyen, et forme à lui seul le pronucléus mâle, tandis que ces deux dernières parties se dissolvent dans le vitellus.

Ainsi pour résumer, la fécondation proprement dite, c'est-à-dire la fusion du pronucléus mâle avec le pronucléus femelle, est toujours opérée chez les Échinides par le noyau de la spermatide transformée en spermatozoïde, et rien que par ce noyau. Le cytoplasma de la cellule séminale pénètre, il est vrai, partiellement dans l'œuf, mais ne joue aucun rôle important dans la fécondation. Enfin le segment moyen n'est qu'un corpuscule de rebut servant à éliminer des substances devenues inutiles; il n'a aucune

utilité pour l'acte de la fécondation, cet acte pouvant s'opérer normalement avec des zoospermes qui en sont privés.

Bibliographie.

La spermatogénèse des Oursins n'a fait, jusqu'à présent, l'objet d'aucune recherche spéciale. L'abondance de ces animaux dans toutes les mers les auraient certainement fait choisir depuis longtemps comme objet d'étude, si l'extrême petitesse de leurs éléments séminaux n'avait fait reculer les premiers observateurs, qui se tournèrent vers des formes animales possédant des spermatozoïdes plus gros et plus faciles à étudier.

Quelques auteurs cependant se sont occupés de la question plus ou moins superficiellement. Déjà en 1841, KÖLLIKER (34) décrit les spermatozoïdes de l'*Echinus saxatilis*, et ajoute quelques remarques sur le développement de ceux de l'*Echinus esculentus*. Mais la description qu'il en donne est encore bien imparfaite, et il est impossible de reconnaître les spermatozoïdes d'un Échinide à l'examen de ses figures.

Dans ses belles recherches sur la fécondation, FOL (22) déclare que la tête du spermatozoïde ne provient pas du noyau de la cellule mère, mais seulement de sa partie protoplasmique. Il ajoute que le pronucléus mâle a tous les caractères d'un véritable noyau, quoique provenant uniquement de l'alliance des deux protoplasmes du spermatocyte et de l'œuf. Je ne sache pas, du reste, que FOL ait étudié spécialement la spermatogénèse des Échinodermes, et je ne doute pas qu'il n'ait abandonné aujourd'hui cette manière de voir, émise à cette époque sur des bases purement théoriques. Notons encore que FOL décrit les spermatozoïdes du *Toxopneustes lividus*, comme étant formés de deux parties, un cône céphalique régulier, avec le filament caudal implanté au milieu de la base du cône. Il ne parle pas de segment moyen. Comme on le voit, cette description concorde exactement avec celle que j'ai donnée des zoospermes sans segment moyen observés au laboratoire de Villefranche.

SELENKA (76) qui a étudié à la même époque la fécondation chez un Échinide voisin, le *Toxopneustes variegatus*, nous donne une description du spermatozoïde mûr, sans s'occuper de son développement.

Il y distingue trois parties: la pointe (cône céphalique), le cou (segment moyen) et la queue; ce sont donc des spermatozoïdes du type ordinaire. Mais voici comment il décrit la fécondation. D'après lui le segment moyen se gonfle, marche à la rencontre du noyau femelle, avec lequel il se fusionne, tandis que le cône céphalique et la queue sont résorbés. Cette manière de voir est donc diamétralement opposée à la mienne.

FLEMMING (20) s'est occupé aussi de la fécondation chez les Oursins, dans un de ses nombreux travaux sur la cellule animale. Il n'étudie pas la spermatogénèse chez ces animaux, et décrit seulement le spermatozoïde mûr, composé de trois parties; pour lui, la portion que nous avons appelée segment intermédiaire n'a pas cette signification, et il la regarde seulement comme une partie postérieure de la tête. Lorsque le spermatozoïde a pénétré dans l'œuf, cette partie postérieure, selon FLEMMING, se dissout avec la queue: ces deux parties réunies forment peut-être l'espace clair qui entoure la tête du spermatozoïde. FLEMMING est persuadé que c'est la nucléine de la cellule mâle qui est la matière fécondante par excellence; il admet comme possible, cependant, que les autres parties du spermatozoïde jouent aussi un rôle dans la fécondation. Mais il y a un point où je ne peux pas être de son avis, c'est lorsqu'il admet que le cône céphalique du zoosperme est formé uniquement par la nucléine du noyau. J'ai montré plus haut, en effet, que la tête du spermatozoïde, chez les Oursins, est un noyau complet.

Dans une étude de la fécondation et de ses rapports avec l'hérédité, O. HERTWIG (30) admet que la tête du spermatozoïde provient directement du noyau du spermatocyte. Mais il se base sur un travail de FLEMMING (19) tendant à prouver que la tête du zoosperme n'est pas formée par le noyau tout entier, mais seulement par la nucléine de ce noyau. Ces observations avaient été faites, du reste, sur la Salamandre et non sur des Oursins. En outre, dans un travail plus récent, FLEMMING (21) est revenu de cette manière de voir, et il admet maintenant que le noyau tout entier est employé à la formation du spermatozoïde. Cette réserve faite, l'étude de HERTWIG renferme beaucoup de faits et d'idées intéressants que je ne peux que confirmer. Je crois aussi du reste que c'est par la nucléine du noyau mâle que se transmet le principe héréditaire, et cette théorie offre une grande vraisemblance, mais il est bien difficile, pour ne pas dire impossible, de déterminer expérimentalement si les

autres parties du noyau, et principalement le caryoplasma, ne jouent pas aussi un rôle important, quoique probablement secondaire, dans la fécondation. Quant au filament caudal, HERTWIG admet aussi que ce n'est qu'un organe locomoteur, ne jouant aucun rôle dans la fécondation proprement dite.

Citons encore parmi les travaux relatifs aux Échinides quelques mots de CARNOY (10) dans sa Biologie cellulaire. Cet auteur décrit les spermatozoïdes de *Toxopneustes lividus* comme ayant le filament caudal implanté au sommet du cône, et non à sa base, et il ajoute que c'est dans cette position que le spermatozoïde pénètre dans l'œuf. J'ai décrit plus haut en détail le phénomène du redressement qui a évidemment échappé à CARNOY. J'ajouterai que sur des spermatozoïdes mûrs, il arrive aussi parfois que, grâce aux mouvements violents de la queue, cette dernière vient s'appliquer contre le cône céphalique, produisant l'apparence décrite par cet auteur. Mais je n'ai jamais vu un spermatozoïde ainsi constitué pénétrer dans l'œuf et je doute que le cas puisse se présenter.

Pendant l'impression de ce travail vient de paraître un intéressant mémoire de H. FOL, intitulé: Le quadrille des centres, un épisode nouveau dans l'histoire de la fécondation (Arch. Sc. Physiq. Nat. Genève (3) Tome 25, N° 4, Avril 1891). Cet auteur décrit avec un soin minutieux les premières phases de la fécondation, et la formation du premier amphiaster dans l'œuf des Oursins. Au moment de la pénétration du zoosperme dans l'œuf, il se détache de la pointe du cône céphalique un corpuscule spécial, le spermocentre, tandis que le proncléus ovarie possède aussi un corpuscule semblable, l'ovo-centre. Cet ovocentre provenant du deuxième amphiaster polaire, on pourrait admettre a priori, et comme cela a été décrit par PLATNER chez les Lépidoptères (61), que le spermocentre provient aussi de l'aster de la dernière division cinétique des spermatides. Mais nous avons vu que le centrosome de cet aster est employé, de même que les autres cytomicrosomes, à la formation du Nebenkern, qui occupe dans le spermatozoïde mûr une position exactement opposée à celle que demanderait la théorie, et qu'il ne reste pas ici, comme cela a lieu chez les Lépidoptères, isolé à la pointe antérieure du spermatozoïde. On n'observe dans l'étude de la spermatogénèse de l'Oursin aucune partie différenciée à la pointe du cône céphalique du zoosperme; ce cône est formé entièrement par le noyau de la sperma-

tide, et s'il s'en sépare une portion après la pénétration dans l'œuf, il est difficile d'admettre que ce soit autre chose qu'un simple morceau du noyau, et non pas un corpuscule originairement distinct.

Quoi qu'il en soit, l'observation de FOL présente un grand intérêt, et il serait à désirer que l'étude de ce spermocentre soit reprise chez d'autres formes de spermatozoïdes, afin d'élucider si sa présence est constante, et s'il provient toujours, comme l'a décrit PLATNER pour les Lépidoptères, du centrosome de la dernière division cinétique. Comme nous venons de le voir, ce mode d'origine me semble peu probable dans le cas qui nous occupe ici.

II. Spermatogénèse chez les Siphonophores.

Méthodes employées.

Le mode opératoire pour l'étude de la spermatogénèse chez les Siphonophores est à peu de choses près le même que j'ai décrit déjà pour les Oursins. C'est toujours l'examen des éléments frais dans l'eau de mer qui en forme la base. Chez l'*Halistemma rubrum* Vogt, que j'ai plus spécialement étudiée, les testicules sont facilement reconnaissables à leur couleur plus ou moins laiteuse. Il suffit généralement d'agiter l'eau dans laquelle se trouve la colonie pour que les testicules se détachent et tombent au fond du bocal. On n'a plus alors qu'à les dilacérer sur le porte-objet dans une goutte d'eau de mer, soit pure, soit additionnée de Dahlia. On reconnaîtra facilement le degré de développement des spermatozoïdes à la couleur des capsules séminales. Celles qui ne renferment encore que des spermatocytes sont presque transparentes, tandis que celles qui contiennent des spermatozoïdes mûrs sont entièrement blanches et opaques.

J'ai fait cette étude avant mes essais sur le chlorure de manganèse comme réactif histologique, aussi j'ai essayé beaucoup de liquides qui m'ont donné généralement d'assez mauvais résultats. Pour l'étude du noyau, il n'y a aucune difficulté, le vert de méthyle ou le Dahlia dans l'acide acétique dilué conviennent parfaitement. Mais comme toujours ces réactifs ne valent rien pour la partie protoplasmique des cellules séminales. J'ai eu recours dans ce cas à la so-

lution de RIPART et PETIT, recommandée par CARNOY, qu'on peut additionner de quelques gouttes d'acide osmique. Elle ne déforme pas trop les cellules, et le noyau se différencie assez nettement. Pour l'étude du filament caudal on obtient une très bonne fixation par la solution d'iode dans l'iodyure de potassium; le noyau accessoire y apparaît aussi assez nettement, mais toute coloration subséquente est rendue très difficile.

Pour l'étude générale de la spermatogénèse, le meilleur liquide est encore l'eau de mer au Dahlia, recommandée par LEE, et dont j'ai déjà parlé à propos des Échinides. En l'additionnant d'une trace de Dahlia acétique, on obtient une solution un peu plus chargée de matière colorante, et qui fera mieux apparaître le noyau et le Nebenkern, sans ratatiner les cellules, ce qui est d'une grande importance.

Tous les autres réactifs usuels, tels que l'acide osmique, le sublimé, la liqueur de FLEMMING etc. donnent de mauvais résultats, de même que les préparations montées à la glycérine ou au baume. Les cellules séminales des Siphonophores sont beaucoup trop délicates pour se prêter à ces opérations, et ce n'est que sur des matériaux frais qu'on peut faire une étude de quelque valeur.

Développement des spermatozoïdes.

Ces recherches ont été faites à la station zoologique de Villefranche, pendant les mois de janvier à mars. Elles ont porté particulièrement sur un Siphonophage assez abondant dans cette baie, l'*Halistema rubrum* Vogt. J'ai étudié aussi, mais plus superficiellement, les espèces suivantes: *Forshalia contorta* M. Edw., *Physophora hydrostatica* Forsk., *Gleba hippopus* Forsk. et *Praya maxima* Ggbr. Le développement des spermatozoïdes étant à peu près semblable dans toutes ces espèces, je le décrirai en détail seulement chez l'*Halistema*.

Si l'on examine un testicule encore très jeune, on le trouve rempli de grosses cellules sphériques ou ovalaires (pl. 8 fig. 54) longues de 25 à 30 μ . Ce sont les cellules mères des spermatozoïdes (spermatogonies de LA VALETTE).

Elles possèdent un gros noyau de 20 μ environ de diamètre, renfermant un boyau de nucléine bien visible, et un petit nucléole réfringent.

Ces cellules mères se divisent activement, et produisent un certain nombre de générations de cellules filles, ou spermatoctyes. Cette division se fait par caryocinèse (pl. 8 fig. 56). Les spermatoctyes de la dernière génération (pl. 8 fig. 55) sont des cellules sphériques, de 12μ de diamètre; leur noyau est assez considérable, et renferme un gros boyau de nucléine qui le remplit complètement. Ce boyau, d'un diamètre de $1,5 \mu$ paraît être continu, et l'on peut facilement en suivre les circonvolutions en élevant ou abaissant la vis micrométrique.

Ces spermatoctyes vont, en se divisant encore une fois, donner naissance aux spermatides, c'est-à-dire aux cellules qui se transformeront directement en spermatozoïdes. Cette dernière division paraît se faire non par caryocinèse, mais par simple étranglement du noyau, phénomène qui paraîtrait se présenter assez fréquemment chez les cellules sexuelles.

Les spermatides (pl. 8 fig. 57) ont un diamètre de $9-10 \mu$ avec un noyau de $6-7 \mu$. Ce noyau, chez les spermatides jeunes, semble être encore finement réticulé. Le cytoplasme est clair et renferme un certain nombre de granules réfringents.

Étudions maintenant le développement du spermatozoïde aux dépens de cette cellule, et voyons d'abord ce qui se passe dans le noyau.

Le réticulum de nucléine disparaît, et tout le noyau prend un aspect homogène, dû au mélange intime de la nucléine et du caryoplasma. Nous avons déjà observé ce phénomène chez les Échinides; aussi ne nous y arrêterons-nous pas ici; constatons seulement que dès maintenant, et jusqu'à la maturité du spermatozoïde, il n'est plus possible d'apprécier aucune structure dans l'intérieur du noyan, et que ses modifications se borneront à des changements de forme.

Pendant ce temps, il se passe un phénomène important dans le cytoplasme. Les granulations réfringentes qui y étaient répandues se fusionnent en une seule masse, qui devient un noyan accessoire (Nebenkern) (pl. 8 fig. 58). Ce dernier prend une forme sphérique, devient homogène, et se place latéralement contre le noyan, ce qui pourrait faire croire à première vue qu'il est d'origine nucléaire, tandis qu'un examen attentif nous a montré qu'il était formé uniquement par les granulations cytoplasmiques (cytomierosomes de PRENANT).

Jusqu'à ce moment, la cellule est restée sphérique. Elle va maintenant s'allonger pour former le filament caudal. A cet effet le

cytoplasme se rassemble sur un des pôles de la cellule, de telle sorte qu'il n'en reste, du côté opposé, qu'une très mince couche autour du noyau. La spermatide prend un aspect piriforme (pl. S fig. 59 et suiv.), puis cette protubérance cytoplasmique s'allonge de plus en plus en s'aminçissant, pour former ainsi la queue du spermatozoïde.

Pendant ce temps le noyau est resté à peu près stationnaire: notons seulement que par suite de l'écoulement du protoplasme dans la queue, le Nebenkern se trouve maintenant comprimé contre le noyau, qui s'est légèrement invaginé à cet endroit pour lui faire place.

Outre le noyau et le Nebenkern, on observe encore dans les jeunes spermatozoïdes deux globules brillants situés contre le noyau, et vers le point d'origine du filament caudal (pl. S fig. 60 et suiv.). D'après leur position, ces deux globules paraîtraient provenir du noyau, mais ils ont, d'un autre côté, une grande analogie avec les cytomicrosomes qui donnent naissance au Nebenkern, et je crois qu'ils peuvent leur être assimilés. Ils paraissent avoir la même constitution chimique, et ne renferment, dans tous les cas, pas trace de nucléine. On peut s'en convaincre en colorant les spermatozoïdes au vert de méthyle acétique: le noyau seul se colore d'une manière intense, tandis que soit le noyau accessoire, soit les deux corpuscules restent incolores. Ce sont des formations purement plasmatiques. Maintenant proviennent-ils originaiement du caryoplasma ou du cytoplasma de la spermatide, c'est ce que je n'ai pas pu élucider complètement. Il me paraît probable cependant que ce sont, comme les cytomicrosomes, des produits d'élimination de la dernière division caryocinétique des spermatoocytes.

Bientôt ces deux globules se fusionnent en un seul, qui s'éloigne un peu du noyau et vient se placer exactement au point d'origine de la queue (pl. S fig. 63, 64). Cette fusion s'opère généralement assez tôt, quelquefois aussi lorsque la queue a déjà atteint un certain développement (fig. 65—66).

On observe ici, comme c'est du reste le cas pour la spermatogénèse de beaucoup d'animaux, d'assez grandes variations dans l'ordre du développement des différentes parties du spermatozoïde. Ainsi quelquefois la queue est déjà assez développée avant que le noyau accessoire soit constitué, tandis que dans la règle c'est l'inverse qui a lieu. On voit souvent aussi le développement des spermatozoïdes commencer avant que la dernière division des sper-

matocytes en spermatides soit complètement achevée. On observe alors une grosse cellule à deux noyaux (pl. 8 fig. 67) qui émet deux prolongements protoplasmiques opposés (fig. 68); les deux spermatozoïdes jumeaux ne se séparent que lorsque les queues de cette cellule bipolaire ont atteint une grande longueur (fig. 69).

De toutes les parties de la cellule, le noyau est celle qui subit le moins de modifications, et dont le mode d'évolution est le plus constant. Pendant toute la durée de la formation du spermatozoïde, il reste homogène, réfringent, et dans une période de repos. On remarque seulement que de sphérique qu'il était primitivement, il devient ovalaire, puis s'aplatit d'un côté, pour procurer de la place au Nebenkern, qui se presse contre lui par suite de l'écoulement du protoplasme cellulaire. Il est facile de se convaincre que chez les Siphonophores, le noyau de la cellule sexuelle ne prend aucune part à la formation du filament caudal, et qu'il reste tout entier dans la tête du spermatozoïde.

Pour en revenir au développement de la queue, il suffit d'ajouter qu'elle s'allonge toujours plus en s'aminçissant. On observe généralement à son extrémité un léger renflement protoplasmique (pl. 8 fig. 65) qui disparaît peu à peu. L'accroissement se fait ainsi à la fois sur toute la longueur par l'amincissement du filament, et à l'extrémité, au dépens de cette gouttelette. La partie antérieure de la queue reste encore un certain temps plus élargie que l'extrémité, en laissant voir à sa base le corpuscule brillant dont nous avons parlé (pl. 9 fig. 70); puis elle se condense aussi en un fin filament. Le corpuscule reste encore visible quelque temps (fig. 71—72), puis il finit par disparaître complètement, en se fusionnant probablement avec le Nebenkern, ce qui serait une preuve de plus à l'appui de leur origine commune. Ce ne serait alors qu'un cytomicrosome qui est resté individualisé plus longtemps que les autres. Nous verrons plus loin que les spermatozoïdes de *Gleba hippopus* nous confirmeront cette hypothèse.

Le spermatozoïde mûr se compose alors de deux parties bien distinctes (pl. 9 fig. 73—75): 1^o la tête, ou corps, à peu près sphérique, et d'un diamètre de 5—6 μ : elle renferme deux éléments d'inégale grandeur, le noyau et le Nebenkern, dont la constitution paraît être semblable sur des spermatozoïdes frais; mais il suffit d'appliquer un colorant nucléaire tel que le vert de méthyle acide pour les distinguer nettement. On voit alors le noyau se colorer fortement, tandis que le Nebenkern, qui se distingue aussi par ses

dimensions plus faibles, reste absolument incolore. Autour de ces deux corpuseules, on voit encore la membrane cellulaire de la spermatide, très mince, enveloppant une faible couche de protoplasme dans laquelle le noyau et le Nebenkern sont immersés. C'est le reste du cytoplasme de la spermatide qui n'a pas été employé à la formation de la queue du spermatozoïde.

2^e le filament caudal a une longueur de 70—80 μ . Il est très fin et visible seulement sous un fort grossissement. Son point d'insertion sur la tête se trouve en face du sillon qui sépare le noyau du Nebenkern. Il est animé de mouvements ondulatoires très rapides.

Pour résumer, les spermatozoïdes de l'*Halistemma* sont de véritables cellules, normalement constituées. Les spermatides ont seulement changé de forme, sans perdre aucune de leurs parties, et nous retrouvons chez le zoosperme mûr une membrane cellulaire, un cytoplasme, un noyau et un Nebenkern. La tête du spermatozoïde est donc ici une cellule entière et non pas seulement un noyau, tandis que la queue peut être considérée comme un appendice vibratile, dérivant du cytoplasme, et servant à la locomotion. Je n'ai malheureusement pas pu observer la fécondation et la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf, je ne peux donc pas parler du rôle physiologique du noyau et du Nebenkern pendant cet acte. Dans tous les cas, ce spermatozoïde renferme un noyau normalement constitué, et pourvu de nucléine, il est donc probable que l'observation prouvera qu'il se fusionne avec le noyau femelle, comme cela a été établi déjà chez plusieurs formes animales.

J'ajouterais encore quelques mots sur les autres espèces que j'ai eu l'occasion d'étudier. Chez la *Physophora hydrostatica*, les spermatozoïdes sont tout à fait semblables à ceux d'*Halistemma*, sauf que leur taille est un peu plus considérable (7 μ): leur développement est le même. J'en dirai autant pour la *Forskalia contorta*. Chez la *Praya maxima* les spermatozoïdes sont aussi tout à fait analogues, mais le filament caudal se forme un peu différemment (pl. 9 fig. 77 et 7S). Au lieu d'envoyer un large prolongement qui s'amincit ensuite, comme nous avons vu pour l'*Halistemma*, la spermatide émet un fin filament, le long duquel coulent les gouttelettes de protoplasme qui servent à le former. C'est le même mode de développement que nous avons vu chez les Échinides, et qui est du reste la règle dans la majorité des animaux. Nous observons aussi que chez la *Praya*, le Nebenkern se forme très tard, et l'on voit

très distinctement sa provenance directe des cytomicrosomes de la spermatide. Les spermatozoïdes mûrs ont une tête de 7—8 μ , c'est-à-dire un peu plus grosse que chez la plupart des Siphonophores.

Enfin les spermatozoïdes de *Gleba hippopus* nous présentent un phénomène assez curieux. Nous voyons dans la tête trois corpuscules au lieu de deux comme chez les autres Siphonophores (pl. 9 fig. 79); et la réaction du vert de méthyle ou du Dahlia acétique nous montre que le plus gros de ces corps est le noyau de la cellule, tandis que les deux autres sont des noyaux accessoires. Nous avons donc ici deux Nebenkerns (on voit encore sur la figure un quatrième corpuscule, plus petit, qui n'est qu'un cytomicrosome qui va se fusionner avec un des noyaux accessoires). Remarquons en passant que l'un de ces deux noyaux accessoires occupe exactement la place du corpuscule que nous avons observé chez l'*Halistemma* au point d'origine du filament caudal. Il est donc probable qu'ils ont la même signification, mais que chez l'Hippopode les cytomicrosomes de la spermatide se réunissent en deux masses qui restent distinctes jusqu'à la fin, tandis que chez les autres Siphonophores ils finissent par se fusionner tous ensemble et forment un seul Nebenkern.

Sur une Eudoxie observée aux Moluques (*Diphyes*?) j'ai pu m'assurer que la spermatogénèse était semblable à celle des Physophorides. Les spermatides avaient un noyau homogène de 6 μ et un Nebenkern de 4 μ . Les testicules ne renfermaient malheureusement pas de spermatozoïdes entièrement mûrs.

Bibliographie.

L'immense littérature relative à la spermatogénèse renferme très peu de choses concernant les Siphonophores. Quelques auteurs seulement ont décrit plus ou moins exactement la forme des spermatozoïdes mûrs, sans s'occuper de leur origine, et il n'y a guère que DÖNITZ (12) qui nous donne quelques lignes sur leur développement.

Les spermatozoïdes de l'*Halistemma rubrum* ont été décrits en premier lieu par VOGT (80). D'après lui, »les zoospermes sont ronds, formés de deux globules dont le plus petit est superposé à l'autre«. Cette description de la tête du zoosperme est assez exacte, mais VOGT ajoute que malgré le grossissement employé, il n'a pas pu constater avec certitude la présence du filament caudal.

Les mêmes spermatozoïdes sont décrits quelques années plus

tard par GRAEFFE (25). Il remarque qu'ils ont des aspects différents dans les différentes capsules testiculaires, souvent sans queue, comme les décrivent VOGT; d'autres fois avec une queue très apparente. Il est probable que ces derniers sont des spermatides en voie d'évolution, dans lesquelles le filament caudal est encore d'une certaine épaisseur, ce qui lui a permis de le voir; du reste les figures qu'il en donne sont assez mauvaises, et ne permettent pas de reconnaître si l'on a affaire à des zoospermes de Siphonophore ou de tout autre animal.

CLAUS (11) donne une meilleure description des spermatozoïdes d'*Halistemma tergestinum*, qu'il reproduit assez exactement. Mais il dit: »Die Samenfäden bergen in dem rundlich elliptischen Kopf einen relativ großen, aus diehterem Plasma gebildeten Körper, welcher wohl dem Kern der kleinen Geißelzelle entspricht.« Or d'après sa figure, ce corpuscule n'est que le Nebenkern de la cellule, qu'il aura pris pour le noyau, erreur facile à comprendre si l'on n'a pas suivi le développement de la cellule, ou étudié la constitution chimique de ses parties.

Enfin DÖNITZ (12) dit, en parlant de la spermatogénèse chez les Siphonophores: »Die Genitalkapseln füllen sich dicht mit großen Zellen an, deren Inhalt sich zu charakteristischen lang geschwänzten Zoospermien umbildet, ohne dass der Zellkern sich bei diesem Vorgang betheiligt.«

Cette description est assez obscure; il est certain dans tous les cas, que l'auteur commet une grave erreur en prétendant que le noyau de la cellule sexuelle ne prend aucune part à la formation du spermatozoïde. Nous avons vu que c'est le contraire qui a lieu.

III. Spermatogénèse chez les Ptéropodes.

Méthode employée.

Mes recherches ont porté presque exclusivement sur la *Cymbulia Peronii* Cuv., que j'ai étudiée pendant les mois de mars et d'avril. A cette époque, il suffit de diluer une portion du testicule dans une goutte d'eau de mer pour trouver souvent, dans une seule préparation, les spermatozoïdes à des degrés de développement très variés.

On obtient de bons résultats avec le Dahlia en solution dans l'eau de mer, soit neutre, soit additionné d'une trace d'acide acétique, ou encore d'une goutte d'acide osmique. Si les cellules sont trop for-

tement ou trop uniformément colorées, il suffit de laver à l'acide acétique à 0,5 ou 1 % pour localiser la couleur dans les noyaux. Pour l'étude de l'élément nucléinien, j'ai toujours contrôlé mes observations par le vert de méthyle acétique. On obtient aussi de bonnes fixations au moyen de la teinture d'iode ou du permanganate de potasse, mais ces deux méthodes ne se prêtent pas à une coloration subséquente.

Spermatogénèse.

Si l'on examine le contenu d'un testicule jeune de *Cymbulia Peroni*, on y trouve d'abord un assez grand nombre de spermatogonies. Ce sont des cellules sphériques et isolées, de 30 à 40 μ de diamètre; leur protoplasme est finement granuleux, et renferme un gros noyau de 25 à 30 μ , avec un boyau de nucléine enroulé. Ces cellules se divisent activement, et donnent naissance à plusieurs générations de spermatocytes (pl. 9 fig. S1), d'abord par caryocinèse; puis, au bout d'un certain temps, il paraîtrait que les dernières divisions se font par simple étranglement (fig. S2; division acinétique, caryosténose de CARNOY).

A partir de ce moment, il arrive généralement que la division cellulaire est incomplète. Les noyaux seuls se divisent par sténose, tandis que le protoplasma des spermatocytes ne se scinde pas, ce qui produit de grosses cellules multinucléées. Dans la plupart des cas, la séparation complète du protoplasma des cellules filles cesse dès que la division directe des noyaux commence à s'opérer. De cette façon, le spermatocyte primitif donne naissance à une spermatogemme, renfermant un nombre plus ou moins considérable de noyaux, qui se rangent à la périphérie d'une masse protoplasmique commune. Il se forme ainsi un cytophore (JENSEN) analogue à ceux décrits par beaucoup d'auteurs chez d'autres formes animales.

Cependant il arrive souvent aussi que le cytoplasme du spermatocyte primitif ne reste pas commun à un grand nombre de noyaux, mais qu'il se divise aussi. Au lieu d'avoir alors de grosses spermatogemes qui donneront naissance à tout un faisceau de spermatozoïdes, nous voyons des cellules à quatre, trois ou deux noyaux, qui évoluent pour former chacune un nombre égal de spermatozoïdes.

Souvent même la division cellulaire s'effectue jusqu'au bout, avant que le spermatozoïde ne commence à se former, et nous avons alors sous les yeux la spermatide isolée, qui donnera naissance à un seul spermatozoïde.

Dans tous ces différents cas, c'est toujours le nombre des noyaux qui détermine le nombre final des spermatozoïdes. Que la cellule spermatique ait un ou plusieurs noyaux, que ce soit une spermatide isolée ou une grosse spermatogemme, chaque noyau formera un spermatozoïde, avec le concours, toutefois, du protoplasme adjacent. Voyons maintenant comment cette évolution a lieu, en étudiant d'abord la spermatide isolée pour suivre ensuite les diverses phases de son développement.

La spermatide (pl. 9 fig. 83) se présente sous la forme d'une cellule sphérique, de 10 à 12 μ de diamètre, entourée d'une fine membrane, et possédant un protoplasme finement granuleux, avec quelques granulations plus grosses, dont nous aurons à reparler. Son noyau est sphérique, d'un diamètre de 5—6 μ , et uniformément pourvu de nucléine dans toute sa masse. Nous constatons ici, comme nous l'avons déjà vu ailleurs, le phénomène de la dissolution de la nucléine dans le caryoplasma, au commencement de l'évolution du spermatozoïde. Le noyau est entouré d'une membrane très mince; on n'y remarque pas de nucléole.

Étudions maintenant la formation du zoosperme aux dépens de cette cellule. La partie qui se différencie en premier lieu est le filament caudal. Son origine présente ici une particularité curieuse. En effet, contrairement à ce qui a lieu généralement, où la queue part directement de la périphérie de la cellule, sans avoir primitivement de rapport avec le noyau, ici nous la voyons se former d'abord à l'intérieur de la cellule. Le protoplasme se condense et forme un filament qui part du noyau, et traverse la cellule jusqu'à sa périphérie, et ce n'est que lorsque le commencement de la queue est déjà visible à l'intérieur du cytoplasme, qu'elle continue à se développer et à pousser au dehors de la cellule (pl. 9 fig. 84) sous la forme d'un filament très fin.

La membrane cellulaire, qui était très mince, a maintenant complètement disparu. Alors, rien ne retenant plus le cytoplasme, celui-ci commence à couler en gouttelettes le long de la queue, qui s'allonge ainsi à ses dépens.

Ce mode d'origine de la queue m'a beaucoup surpris. En effet, à première vue, ce filament qu'on voit à l'intérieur de la cellule, et qui part directement du noyau, semblerait prouver que c'est aux dépens du noyau de la spermatide que se forme la queue du spermatozoïde. Il n'en est rien cependant comme j'ai pu m'en convaincre. Si nous appliquons les réactifs colorants du noyau, et surtout le

vert de méthyle, on voit facilement que le noyau seul se colore fortement, tandis que le filament reste absolument incolore. Pour acquérir plus de certitude encore, j'ai soumis les spermatides à l'action de la potasse caustique: dans ce cas, le noyau est immédiatement dissout, tandis que le filament persiste.

Mais la meilleure preuve de son origine cytoplasmique est la suivante: comme nous le verrons, le spermatozoïde mûr possède une queue d'une longueur de 300μ environ, et d'un diamètre de $0,8 \mu$. Son volume total est donc d'environ 150μ cubes. D'un autre côté, si nous mesurons les dimensions de la spermatide, nous trouvons que son volume total est de 200μ cubes, tandis que celui du noyau n'est que de 50μ cubes. Or ce dernier chiffre correspond exactement au volume de la tête du spermatozoïde mûr, que le calcul m'a montré être de 50μ cubes. Le noyau est donc employé entièrement à la formation de la partie céphalique, et il n'y a que le cytoplasme qui ait les matériaux nécessaires à la formation de la queue. En effet, si nous déduisons le volume du noyau, soit 50μ cubes environ, de celui de la cellule entière, c'est-à-dire de 200μ cubes, il nous reste 150μ cubes pour le cytoplasme, c'est-à-dire exactement le volume de la queue.

Pendant tout le commencement du développement, le noyau ne subit aucune modification. Ce n'est que lorsque le filament caudal a déjà atteint une certaine longueur qu'il commence aussi son évolution, dont nous allons nous occuper en détail.

De sphérique qu'il était, le noyau de la spermatide prend une forme ovalaire. En même temps, il s'éloigne du point d'origine de la queue, pour venir s'appliquer contre l'extrémité opposée et antérieure de la cellule. Là, il continue à s'allonger, et, n'étant pas retenu par la membrane cellulaire qui s'est dissoute, il sort de la cellule à mesure qu'il pousse à sa partie antérieure (pl. 9 fig. S5—S8).

Le noyau, en s'allongeant, ne reste pas longtemps cylindrique. Lorsqu'il a atteint une certaine longueur, il subit un aplatissement, qui lui fait prendre absolument la forme d'une feuille, plus ou moins allongée. La partie antérieure se termine en pointe, tandis que la partie postérieure, figurant la queue de la feuille est réunie au filament caudal (pl. 9 fig. 93, 97). Ajoutons que le noyau est maintenant complètement dégagé du protoplasme cellulaire, que l'on voit, sous la forme d'une grosse gouttelette, entourant l'origine de la queue.

Après s'être séparée du noyau, cette gouttelette continue son mouvement de descente, et se met à couler lentement le long du

filament caudal. Nous remarquons ici une formation semblable à celle qui a déjà été décrite par JENSEN (31) chez *Triopa*.

On voit en effet que la portion de la queue qui se trouve au-dessous de la gouttelette protoplasmique est filiforme et très mince, tandis que la partie qui se trouve soit à l'intérieur de la gouttelette, soit entre elle et le noyau, présente une certaine épaisseur. C'est donc aux dépens de cette goutte de cytoplasme que la queue s'épaissit subséquemment, et à mesure qu'elle descend vers l'extrémité postérieure.

Le filament caudal se développe ainsi en deux fois, d'abord sous la forme d'un fil très mince : puis ensuite ce filament s'entoure d'une nouvelle couche de protoplasme qui lui donne son épaisseur définitive. On peut donc regarder la queue primitive comme un filament axial, autour duquel vient s'ajouter secondairement une gaîne protoplasmique.

Cette formation se rencontre assez fréquemment dans le règne animal ; mais il faut remarquer ici que chez les spermatozoïdes mûrs, et même dans la portion épaissie des spermatozoïdes qui sont encore en voie d'évolution, on ne peut pas distinguer ces deux parties ; elles s'unissent intimement pour former un filament unique. Toutes deux du reste proviennent, comme je l'ai dit, du cytoplasme et non du noyau, et ont donc la même composition chimique. Les réactifs colorants de la nucléine les laissent, l'une comme l'autre, absolument intactes.

J'ai dit plus haut que le protoplasme de la spermatide renfermait un certain nombre de granules réfringents (pl. 9 fig. S3—S6). Ces granules, les cytomicrosomes de PRENANT, se fusionnent de bonne heure en un seul globule sphérique de 1 à 2 μ , qui constitue le noyau accessoire (Nebenkern) du jeune spermatozoïde (pl. 9 fig. S7, S8). Ce Nebenkern me paraît absolument l'homologue de celui qu'on retrouve chez les spermatozoïdes d'autres animaux, mais il faut remarquer qu'il n'a ici que peu d'importance, et que sa durée est très passagère. En effet, peu de temps après que les cytomicrosomes de la spermatide sont réunis pour former un globule unique, le protoplasme commence à se détacher du noyau, et à couler le long de la queue. A ce moment, et dès que le noyau est entièrement dégagé, le Nebenkern commence à se dissoudre dans le cytoplasme, et bientôt on n'en voit plus trace. Il servira, comme le reste du cytoplasme, à la formation de la queue.

Il est aisément de voir que ce corpuseule est de nature exclusive-

ment protoplasmique, car il n'entre jamais en rapport avec le noyau, et les réactifs de la nucléine ne le colorent pas. L'acide acétique, même à 0,5 %, le dissout, en ne laissant qu'une vacuole à sa place. Ce n'est donc qu'une formation secondaire, qui ne paraît pas avoir d'importance dans le développement du spermatozoïde.

Revenons maintenant à l'évolution du noyau. Nous avons vu qu'il s'aplatissait en forme de feuille. Ce phénomène ne se présente pas toujours au même stade de développement. Il arrive souvent que l'aplatissement commence dès que le noyau a atteint une longueur de 12 à 15 μ (pl. 9 fig. 88 et 93); tandis que quelquefois au contraire, le noyau s'allonge encore considérablement tout en restant cylindrique dans sa partie moyenne, et effilé en fuseau aux deux bouts (pl. 9 fig. 89—92). Il prend alors une forme plus ou moins contournée en tire-bouchon, et c'est plus tard seulement que l'aplatissement se produit. Ceci n'est, du reste, qu'une petite variante dans le développement, comme on en rencontre si souvent dans la spermatogénèse, et qui n'a aucune influence sur le résultat final.

Si l'aplatissement a lieu de bonne heure, le noyau continue alors à s'allonger sous la forme d'une feuille. A ce moment, son contenu est encore homogène: il renferme un caryoplasma hyalin, dans lequel la nucléine est également répandue. Mais bientôt, nous assistons à une modification très importante dans sa structure.

La nucléine se retire de la partie centrale, et vient s'amasser sur les bords de la feuille. Elle forme ainsi un bourrelet réfringent entourant le noyau, dont le centre reste occupé par le caryoplasma. Si l'on soumet alors les spermatozoïdes à l'action du vert de méthyle, on voit tout le pourtour du noyau fortement coloré, tandis que la partie centrale reste incolore. Nous assistons ici à un phénomène de retrait de la nucléine, analogue à celui que A. BOLLES LEE décrit chez les Némertiens (46), avec cette différence que chez ces animaux le retrait a lieu sur un des côtés de la cellule seulement, en forme de croissant, tandis qu'ici la nucléine vient se condenser sur toute la périphérie du noyau, en laissant le centre inoccupé. Chez la *Sagitta*, LEE (47) a aussi observé le même phénomène, et cette fois dans les deux directions, soit centripète, soit centrifuge.

Le noyau continue à s'allonger, et en même temps il commence à se tordre en tire-bouchon (pl. 9 fig. 98, 99). Il résulte de ceci que les deux cordons de nucléine qui limitent le noyau chacun d'un côté, s'enroulent l'un autour de l'autre, exactement comme le feraien les deux brins d'une corde. A mesure que le noyau s'allonge, le

mouvement de torsion continue (fig. 99—101), et dans le spermatozoïde mûr (fig. 102), on peut compter une trentaine de tours de spire consécutifs.

Pour en finir avec le développement du zoosperme, il nous suffit d'ajouter que le protoplasme cellulaire a continué pendant l'évolution du noyan à couler en gouttelettes le long du filament caudal, fournissant ainsi des matériaux pour son allongement, jusqu'à ce qu'il ait atteint ses dimensions définitives. Le spermatozoïde mûr se compose alors des deux parties suivantes (pl. 9 fig. 102) :

1^o la tête, ou plus exactement le corps. Cette partie est formée, comme nous l'avons vu, par deux cordons tordus en spirale l'un contre l'autre, et se termine en pointe effilée à la partie antérieure; son diamètre est d'environ $1\frac{1}{4}\ \mu$. En arrière, elle est reliée directement à la queue, sans aucun segment intermédiaire, et il est même difficile de déterminer exactement le point de séparation des deux parties, si l'on n'a pas recours aux matières colorantes. La tête provient uniquement du noyau de la spermatide, qui est employé entièrement à sa formation. Elle renferme donc à la fois la nucléine et le caryoplasma de la spermatide.

2^o la queue. Elle est cylindrique; sa longueur est de 300 μ environ, et son diamètre de 0,8 μ , ce qui fait pour tout le spermatozoïde une longueur de 450 μ , c'est-à-dire de près d'un demi-millimètre. Nous avons vu que la queue était formée originairement de deux parties distinctes, un fil axial et une gaine. Chez les spermatozoïdes mûrs, ces deux parties sont intimement soudées et il n'est plus possible de les distinguer l'une de l'autre. L'épaisseur de la queue est la même sur toute sa longueur, et elle se termine brusquement à l'extrémité postérieure.

Le spermatozoïde est animé de mouvements ondulatoires assez lents, qui le font progresser. Mais il semble aussi être doué d'un mouvement de rotation sur lui-même, qui le ferait avancer comme une hélice, grâce à la formation en spirale de la tête. Il est probable que ce mode de progression joue un rôle au moment de la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf. Mais je n'ai pas pu m'en assurer expérimentalement.

Je viens de décrire le développement d'un spermatozoïde isolé, mais ceci est l'exception. Dans la plupart des cas ils se développent en grappes, renfermant un nombre plus ou moins grand de spermatides réunies autour d'un cytophore central. Ce cytophore est

formé par le reste du protoplasme d'un gros spermatoocyte, dont le noyau s'est divisé un grand nombre de fois, pour donner naissance à autant de spermatozoïdes qu'il y a de noyaux fils. Il faut remarquer que, dans ce cas, tous les noyaux ainsi engendrés sont employés à la formation des spermatozoïdes, et que la cellule cytophorale ne garde pas de noyau propre, comme cela a lieu quelquefois. Lorsque les spermatozoïdes sont complètement développés, le reste du protoplasme du cytophore qui n'a pas servi à la formation des queues disparaît, ce qui permet aux zoospermes réunis en grappes de se séparer.

Dans beaucoup de cas aussi, les spermatozoïdes se forment par petits groupes, ou par paires (pl. 9 fig. 104—108). Mais, qu'ils se développent isolément ou réunis en plus ou moins grand nombre, l'évolution de chaque spermatozoïde est toujours identique; je n'ai donc pas à y revenir.

J'ajouterais encore deux mots sur la spermatogénèse chez une forme voisine de la *Cymbulie*, la *Tiedemannia neapolitana* van Ben. Un exemplaire de cet animal, capturé en janvier, montrait des spermatozoïdes à tous les degrés de développement, et j'ai pu me convaincre que sa spermatogénèse se rapproche beaucoup de celle de la *Cymbulie*. Les spermatides sont semblables, et possèdent un noyau sphérique et homogène de 4μ de diamètre. La principale différence est que chez la *Tiedemannia* le noyau s'allonge simplement, en se contournant légèrement, et ne se tord pas autant que chez la *Cymbulie*. La localisation de la nucléine sur la périphérie du noyau se présente aussi, mais elle est moins prononcée. Les spermatozoïdes mûrs sont analogues, mais on compte moins de tours de spire dans la portion céphalique.

Bibliographie.

Le seul auteur qui ait étudié, à ma connaissance, la spermatogénèse chez les Ptéropodes est GEGENBAUR (23), qui donne une description, assez exacte pour l'époque, du développement des spermatozoïdes chez la *Tiedemannia*. Cet auteur décrit la formation des spermatogémmes, qui se transforment en faisceaux de spermatozoïdes formés de deux parties, une antérieure contournée en spirale, et une postérieure filiforme. Mais il ne s'occupe nullement du rôle que remplissent les différentes parties de la cellule séminale dans la

composition du zoosperme, et sa description qui ne se rapporte guère qu'à l'aspect extérieur des cellules, n'a plus pour nous qu'un intérêt purement historique.

IV. Spermatogénèse chez les Céphalopodes.

Méthode employée.

J'ai choisi comme représentant de la classe des Céphalopodes la *Sepia officinalis* L. qui est commune dans toute la Méditerranée. Si l'on dilacère au printemps une portion du testicule de cet animal, on est sûr d'y rencontrer des spermatozoïdes à tous les degrés de développement. Pour en étudier la structure, les meilleurs résultats m'ont été donnés par l'emploi du Dahlia en solution neutre dans l'eau de mer. Cette matière colorante a la propriété de pénétrer dans les spermatozoïdes de la Seiche sans les tuer, en leur donnant un aspect très favorable à l'étude.

Quoique cette coloration ne soit pas purement nucléaire, vu la neutralité de la solution, le noyau s'y colore cependant plus fortement que le reste de la cellule, et on a l'immense avantage que, les éléments restant vivants un certain temps, on est certain que leur forme et leur structure n'ont pas été altérées, comme cela arrive toujours plus ou moins en employant les agents fixateurs.

Cette propriété des spermatozoïdes de *Sepia* de se colorer assez fortement pendant la vie est assez rare chez les cellules animales, et en fait un objet très propice à l'étude de la spermatogénèse.

La solution de Dahlia dans le chlorure de manganèse, que j'ai essayée dernièrement, donne aussi d'excellents résultats pour l'étude générale du développement. Les cellules y vivent un certain temps, en se colorant d'une façon remarquable.

Pour l'étude spéciale du noyau, j'ai toujours employé le vert de méthyle en solution dans l'acide acétique à 1 %, soit seul, soit précédé d'une fixation par les vapeurs osmiques.

Spermatogénèse.

Le stade d'évolution le plus jeune que j'aie observé chez la *Sepia officinalis* est celui de spermatoocytes (pl. 10 fig. 109 et 110). Ce sont des cellules sphériques, de dimensions variables, suivant le nombre de divisions qu'elles ont déjà subies; elles possèdent un

gros noyau sphérique renfermant un rétienlum de nucléine. Ces cellules se divisent activement par caryocinèse, jusqu'au moment où elles ont atteint un diamètre de $15\ \mu$ environ. A ce moment, il s'opère encore une dernière division (fig. 111), qui m'a paru se faire par simple étranglement (division acinétique), et dont le résultat serait la formation des spermatides, c'est-à-dire des cellules qui vont se transformer directement en spermatozoïdes, sans subir de nouvelle division.

Il m'a semblé que la dernière division seule s'effectuait par voie acinétique. Il y a cependant un fait qui semblerait prouver qu'il n'en est pas toujours ainsi. En effet, la division des spermatocytes en spermatides s'effectue en général complètement avant que le développement des spermatozoïdes ne commence; chaque cellule renferme alors un noyau, et donne naissance à un seul zoosperme. Cependant il arrive très souvent aussi que la dernière division du noyau des spermatocytes n'entraîne pas la division du reste de la cellule, et il se forme des cellules à deux noyaux, produisant deux zoospèrmes qui ne s'individualiseront que plus tard.

Mais on observe aussi de grosses cellules à trois, quatre, ou plusieurs noyaux, quelquefois même formant un véritable cytophore, et il est probable, dans ce cas, que tous les noyaux qui ont pris naissance dans l'intérieur de cette cellule unique se sont formés par une série de divisions successives du noyau primitif de la cellule par voie acinétique.

Ceci n'a du reste pour nous qu'une importance secondaire. L'important est de constater que chacun des noyaux de la cellule cytophorale va se transformer en un spermatozoïde, avec la participation du protoplasme adjacent. Maintenant, que les spermatides soient réunies en un cytophore ou qu'elles soient isolées, le développement du spermatozoïde est identiquement le même. Prenons donc pour l'étudier le cas le plus simple, qui est celui d'une spermatide isolée.

Immédiatement après sa naissance aux dépens du spermatocyte, la spermatide (pl. 10 fig. 112) se présente sous la forme d'une petite cellule sphérique, mesurant 5 à $10\ \mu$ de diamètre, entourée d'une membrane très mince, et renfermant, à l'intérieur d'un cytoplasma faiblement granuleux, un noyau sphérique de $5\ \mu$ de diamètre. Sa nucléine a encore une apparence réticulée, mais elle va bientôt perdre cet aspect pour devenir homogène, et se répartir uniformément dans le noyau. On remarque en outre dans le cytoplasme de la spermatide un ou plusieurs corpuseules réfringents.

La première ébauche de la formation du spermatozoïde est représentée par la naissance d'un filament excessivement fin, émergeant de la membrane cellulaire (pl. 10 fig. 113). Son lieu d'origine par rapport au noyau varie d'une cellule à l'autre; tantôt il se forme près du noyau, tantôt du côté opposé, et il est facile de constater qu'il ne se trouve pas originairement en rapport avec lui, et qu'il provient donc uniquement du cytoplasme.

Ce filament acquiert une certaine longueur sans que la spermatide change de forme. Mais bientôt le noyau commence à s'allonger. De sphérique qu'il était, il prend une forme ovalaire, en s'orientant dans le sens du filament caudal. Dès qu'il commence son évolution, on voit disparaître le réticulum nucléinien, dont la substance se répand uniformément dans le noyau, qui devient pour un certain temps entièrement homogène (pl. 10 fig. 115, 116).

Mais cet état n'est que passager. En effet, l'allongement continuant à s'accentuer, le noyau prend la forme d'un bâtonnet légèrement renflé à sa partie médiane, et pendant ce temps la nucléine vient se condenser au milieu du bâtonnet, de façon à laisser aux deux extrémités un espace clair où il ne reste plus qu'une gouttelette de caryoplasma hyalin, entourée par la mince membrane nucléaire (pl. 10 fig. 117, 118).

Nous assistons ici au même phénomène de retrait de la nucléine, que nous avons déjà constaté chez d'autres spermatozoïdes. Mais ici il affecte une nouvelle disposition, et le noyau se trouve être composé de trois zones, l'antérieure et la postérieure ne renfermant que du plasma nucléaire, tandis que toute la substance chromatique s'est condensée dans la zone médiane. Nous verrons bientôt quel est le rôle de chacune de ces parties dans la formation du spermatozoïde.

Examinons en détail le développement ultérieur du noyau ainsi constitué. A sa base, et près de la naissance de la queue, on observe l'apparition de deux petits granules réfringents, placés contre la membrane nucléaire, et paraissant formés par condensation du caryoplasma en cet endroit (pl. 10 fig. 115, 116). Ces corpuscules ne renferment pas de nucléine, car le vert de méthyle ne les colore pas.

Le noyan, en continuant à s'allonger, forme un petit bâtonnet cylindrique de 10—12 μ de long sur 2 μ de large. On voit alors ces deux granules dont je viens de parler, s'allonger dans le même sens que le noyau, et former deux petits trabécules parallèles (pl. 10 fig. 117, 118). Ils émergent bientôt hors de la membrane

nucéaire (fig. 119), et atteignent une longueur d'environ $5\ \mu$. L'un d'eux vient s'appliquer contre la base de la queue, en formant ainsi un trait d'union entre cette dernière et la tête du spermatozoïde, tandis que le second reste isolé, devient pointu à son extrémité, et forme un petit piquant ayant l'aspect d'une seconde queue rudimentaire (pl. 10 fig. 121, 122). Ces deux trabécules sont séparés de la portion chromatique du noyau, ou tête proprement dite, par une gouttelette du caryoplasma hyalin, et ils forment ensemble un véritable segment intermédiaire, reliant la tête à la queue du spermatozoïde.

Pendant ce temps, le filament caudal a continué sa croissance, et la spermatide tout entière a pris une forme ovalaire, en suivant l'évolution du noyau. La membrane cellulaire, déjà très mince, devient de moins en moins visible, et finit par disparaître entièrement. Le résultat de ce phénomène est le suivant: le cytoplasme, n'étant plus retenu par la membrane, se met à couler le long du filament caudal, laissant ainsi le noyau à nu (pl. 10 fig. 119—122). Il continue à descendre, et diminue de volume à mesure que la queue s'allonge à ses dépens. Il faut remarquer qu'on n'observe ici ni fil axial ni gaîne comme nous avons vu chez les Ptéropodes; la queue reste très mince, et paraît formée d'un seul filament. Lorsqu'elle est entièrement formée, elle atteint une longueur de $100\ \mu$.

J'ai dit plus haut qu'on observait dans le protoplasme de la spermatide un ou plusieurs corpuscules réfringents (pl. 10 fig. 112). Ces granulations ne sont que les eytomicrosomes de la cellule qui se réunissent pour former un tout petit noyau accessoire (Nebenkern). Ce dernier n'a ici que fort peu d'importance. Il est intéressant de constater sa présence, qui paraît être un fait assez général dans la plupart des formes animales dont la spermatogénèse a été étudiée attentivement, mais il n'est pas possible de lui attribuer ici aucun rôle important dans la formation du spermatozoïde, et son existence n'est pas de longue durée.

On pourrait croire, à première vue, que c'est de lui que proviennent les deux trabécules du segment moyen, ou peut-être aussi la coiffe céphalique du spermatozoïde, mais il est aisé de se convaincre du contraire. Si nous examinons en effet les figures 115—118 (pl. 10), nous voyons que soit la coiffe céphalique, soit le segment moyen sont déjà formés, tandis qu'on voit encore le petit Nebenkern inactif au milieu de la spermatide. Il reste ainsi tant que le noyau est encore entouré du cytoplasme. Dès que ce dernier se met à

coulcer le long de la queue, le noyau accessoire se dissout dans le plasma cellulaire et disparaît (pl. 10 fig. 119, 120). On n'en observe alors plus trace, et il est probable que sa substance est utilisée en même temps que le cytoplasme pour la formation du filament caudal.

Je viens de décrire le développement d'une spermatide isolée. Il arrive cependant plus fréquemment, comme nous l'avons vu plus haut, qu'elles sont réunies par groupes de deux ou trois (pl. 10 fig. 127—130), ou même en véritables cytophores (pl. 10 fig. 131, 132). Dans ces différents cas, le mode de développement de chaque spermatozoïde est absolument identique à celui qui a lieu dans les spermatides isolées, comme on peut s'en convaincre par l'examen des figures. Chaque noyau évolue individuellement pour former la tête d'un spermatozoïde, tandis que le protoplasme adjacent est employé à la construction de la queue. Lorsque les zoospermes sont mûrs, ils se séparent, et le reste du cytophore disparaît. Notons encore que tous les noyaux de la cellule cytophorale sont employés à former des spermatozoïdes, et qu'il ne reste pas de noyau cytophoral propre, comme on en a décrit quelquefois chez d'autres animaux.

Parvenu à sa maturité, chaque spermatozoïde renferme les parties suivantes, que je vais énumérer d'avant en arrière (pl. 10 fig. 123, 124):

1^o la coiffe céphalique, formée par une gouttelette de caryoplasmă hyalin, et entourée de la mince membrane nucléaire. Nous avons vu qu'elle a pris naissance par retrait de la nucléine dans la partie médiane du noyau. Elle reste incolore sous l'action des réactifs, et il faut un grossissement assez fort pour la voir nettement. Cette première partie est suivie immédiatement par:

2^o la tête proprement dite du spermatozoïde. Celle-ci est la partie la plus importante, et renferme, comme nous l'avons vu, la portion chromatique, ou nucléine de la cellule séminale. Elle affecte la forme d'un bâtonnet cylindrique de 8—9 μ de long, sur 2 μ de large environ; elle est un peu plus large à la partie postérieure qu'à la partie antérieure. Elle est entourée, de même que la coiffe céphalique, par la membrane nucléaire, qui est très fine, et qu'on ne peut apercevoir qu'en soumettant les spermatozoïdes à l'action d'un dissolvant de la nucléine.

Il est à remarquer que la tête n'est pas uniquement formée de nucléine, mais qu'elle renferme aussi le reste du plasma nucléaire

qui n'a pas été employé à la formation de la coiffe céphalique ou du segment moyen. Ce plasma est intimement mélangé avec la nucléine en une seule masse homogène. Lorsqu'on dissout la nucléine dans un alcali, on voit alors clairement le caryoplasma de la tête, qui ne forme plus qu'un avec celui du segment procéphalique.

3^e le segment moyen, provenant du plasma nucléaire, et formé premièrement d'une portion transparente en contact immédiat avec la tête, et en second lieu du segment moyen proprement dit, formé de deux trabécules dont l'un s'est constitué en un petit piquant long de $5\ \mu$, ou queue rudimentaire, tandis que l'autre sert de trait d'union entre la tête et le filament caudal.

4^e la queue du spermatozoïde. Cette dernière est filiforme, très mince et d'une longueur de $100\ \mu$ environ. Elle est légèrement élargie à son point d'attache avec le segment moyen, et il est difficile de déterminer exactement le point où commence l'une et où finit l'autre. Elle provient entièrement du cytoplasme de la spermatide.

Lorsque les spermatozoïdes sont arrivés à ce degré de développement, la portion cytophorale qui les réunissait par petites masses se dissout. Les zoospermes, très mobiles, nagent alors librement, et sont bientôt expulsés par le canal déférent, et emmagasinés dans les spermatophores, par un procédé que je n'ai pas eu l'occasion d'étudier. Si l'on examine les spermatozoïdes contenus dans un spermatophage, on leur trouve la même constitution, et les quatre parties que je viens de décrire se voient toujours distinctement.

Il est à remarquer toutefois qu'on trouve beaucoup de têtes de spermatozoïdes isolées, sans queue ni segment moyen, et quelquefois même sans coiffe céphalique (pl. 10 fig. 125). Ce phénomène est évidemment accidentel, et tient sans doute à la fragilité du segment intermédiaire, qui n'est relié à la tête que par une gouttelette de protoplasme transparent.

Bibliographie.

La spermatogénèse des Céphalopodes a été étudiée par BROCK (8) chez *Sepiola*. D'après lui, les spermatozoïdes de ce genre ont une grande analogie avec ceux de *Sepia*, et leur développement est le même. Il commence par une série de divisions des noyaux des cellules mères, puis ces grosses cellules multinucléées émettent chacune un prolongement protoplasmique qui formera les queues des

spermatozoïdes, en se divisant subséquemment en autant de filaments qu'il y a de noyaux dans la cellule mère. Chaque filament entre alors en rapport avec un noyau, par une portion plus élargie, tandis que son extrémité postérieure est excessivement fine. Pour terminer l'évolution du spermatozoïde, le noyau s'allonge, et s'aplatit en arrière, puis chaque zoosperme ainsi formé se sépare de la cellule mère, qui subsiste sous la forme d'une goutte de protoplasme hyalin.

Comme on le voit, cette description est assez incomplète. Cependant, BROCK a fort bien observé que la tête du spermatozoïde est d'origine nucléaire, et la queue d'origine protoplasmique; mais je ne peux pas être de son avis, au sujet du mode de formation de la queue, car j'ai toujours vu, dans les cas où les spermatozoïdes se formaient dans des cellules multinucléées, chaque filament caudal naître isolément, tandis que BROCK décrit un gros prolongement commun, qui se scinde en fibrilles secondairement. En outre, il ne décrit le segment intermédiaire que comme une partie plus élargie de la queue, et il n'étudie pas son mode d'origine, pas plus que de la coiffe céphalique, dont l'existence lui a évidemment échappé.

SABATIER (74) a étudié la spermatogénèse chez l'*Eledone*. Il paraît y avoir chez ces Céphalopodes deux formes de spermatozoïdes, les uns spiriformes, les autres filiformes. Cet auteur remarque qu'il se forme une condensation de la substance chromatique, tantôt au centre de la cellule (spermatozoïdes spiriformes) tantôt à la périphérie (spermatozoïdes filiformes). La tête des spermatozoïdes serait formée par le cordon chromatique du noyau, tandis que le filament caudal paraît provenir du cytoplasme. Les zoospores d'*Eledone* différant, d'après sa description, notablement de ceux de *Sepia*, je ne m'y étendrai pas plus longtemps.

V. Spermatogénèse chez les Polychètes.

Méthode employée.

Ayant trouvé, dans des draguages pratiqués par M. le Professeur H. FOL dans les environs de Nice, une petite Annélide peu connue, l'*Eteone pterophora* Ehlers, j'eus l'occasion d'en observer la spermatogénèse, et comme elle me parut présenter des différences notables avec celle qu'on observe généralement chez les Annélides, je l'ai choisie comme objet d'étude, de préférence aux types connus, comme le Lombric, par exemple, qui a déjà donné matière à de nombreux travaux.

Malheureusement, je n'ai eu que peu d'exemplaires à ma disposition, ce qui en rendra la description moins complète que je l'ensse désiré, surtout pour ce qui a rapport aux premiers stades du développement.

Pour étudier la spermatogénèse chez cette espèce, il suffit de dilacérer une portion du corps de l'animal sur le porte-objet. Les produits génitaux qui sont répandus dans la cavité du corps s'en échappent, et l'on n'a plus qu'à y ajouter une goutte de la solution de Dahlia dans l'eau de mer ou dans le chlorure de manganèse, pour obtenir d'excellentes préparations. Pour l'étude du noyau, j'ai toujours employé le vert de méthyle acétique, selon la méthode ordinaire.

Spermatogénèse chez *Eteone pterophora* Ehlers.

Dans l'espèce qui nous occupe, les éléments séminaux sont formés dans de petites capsules renfermant chacune une grappe de spermatoctyes. Il ne m'a pas été possible d'étudier l'origine de ces capsules, vu l'état généralement avancé de maturation des spermatozoïdes. Mais j'ai pu me convaincre que cette formation est très différente de ce qui a été décrit soit par BLOOMFIELD chez le Lombric (7) soit par JENSEN chez *Clitellio* (31). Dans la grande majorité des Annélides, en effet, chaque spermatogonie donne naissance à une spermatogemme formée par un amas de spermatoctyes, ou cellules filles, issues par division de la spermatogonie, c'est-à-dire de la cellule mère. Ces spermatoctyes sont d'abord des cellules bien individualisées, ayant chacune sa membrane propre. Mais bientôt, les cellules qui se trouvent au centre de la spermatogemme se fusionnent pour former ainsi un cytophore (JENSEN) ou blastophore (BLOOMFIELD), à la périphérie duquel sont groupés les spermatoctyes qui sont destinés à former les spermatozoïdes.

Chez l'*Eteone*, au contraire, il en est tout autrement: en premier lieu, la spermatogemme se trouve ici renfermée, comme je l'ai dit, dans une enveloppe; nous nous trouvons donc, pour employer l'expression de LA VALETTE ST. GEORGE, en présence d'un spermatocyste. Celui-ci renferme un nombre variable de cellules filles ou spermatoctyes, que nous aurons à décrire plus loin. En second lieu, nous n'observons pas chez l'*Eteone* de formation cytophorale. A un certain moment, l'enveloppe du kyste se déchire, et

les spermatoctyes se séparent et continuent leur développement, soit isolément, soit par petits groupes de deux à quatre cellules.

Ces différences établies, suivons maintenant le développement des spermatozoïdes. Je prendrai pour point de départ le spermatoctye, qui est la forme la plus jeune que j'aie pu rencontrer. Ce sont de grosses cellules sphériques, d'un diamètre variant de $15\ \mu$ à $8\ \mu$, suivant le nombre de divisions qu'elles ont déjà subies (pl. 10 fig. 133). Leur protoplasme est finement granuleux, et renferme un gros noyau, d'un diamètre de 9 à $6\ \mu$. Ce noyau contient un réticulum de nucléine, et en outre, près du centre, un petit nucléole réfringent. Ce nucléole ne se colore pas par le vert de méthyle, il ne renferme donc pas de nucléine: c'est un nucléole plasmatique (CARNOY).

Ces spermatoctyes subissent, comme je l'ai dit, une série de divisions subséquentes. Ce fractionnement a lieu d'abord par earyocinèse, puis il paraît y avoir au moins une dernière génération formée par division directe (acinétique) qui donne alors naissance aux spermatides (pl. 10 fig. 134), c'est-à-dire aux cellules qui vont se transformer directement en spermatozoïdes.

Ces cellules sont d'une grande simplicité de structure. Leur protoplasme est très finement granuleux et paraît homogène à première vue. Il est limité par une membrane cellulaire très mince. Le noyau est sphérique, et homogène dans toute sa masse. Il renferme un earyoplasma hyalin, dans lequel la nucléine s'est uniformément répandue. Le diamètre de la spermatide est de $8\ \mu$: celui du noyan de $4\ \mu$. On observe en outre dans le cytoplasme un certain nombre de granulations réfringentes, ou eytomierosomes.

Passons maintenant au développement du spermatozoïde aux dépens de cette cellule, et occupons nous d'abord de la formation de la queue. Nous assistons ici à deux processus bien distincts, que nous allons étudier successivement.

Dans le premier cas, la queue se forme, comme chez la plupart des autres animaux, de la manière suivante. On voit sortir de la périphérie de la cellule un fin prolongement, qui s'accroît peu à peu aux dépens du protoplasme cellulaire. La membrane de la spermatide s'amincit et disparaît peu à peu; le protoplasme se met alors à couler en gouttelettes le long du filament caudal, qui s'allonge au fur et à mesure. Jusqu'à une époque avancée de développement, le noyau reste placé au centre de la cellule, et ce n'est que lorsque la queue a déjà atteint une certaine longueur, grâce à l'écoulement du proto-

plasme, qu'il reste isolé pour former la tête du spermatozoïde (pl. 10 fig. 144—146).

Mais ce mode de développement est le moins fréquent. Dans la grande majorité des cas, en effet, la queue se forme d'une façon très différente, et voici comment. La membrane cellulaire disparaît; la spermatide se compose alors seulement d'un noyau et d'un Nebenkern, dont nous aurons à reparler, tous deux placés au centre d'une gouttelette de protoplasme. Il arrive alors ceci, que le noyau et le Nebenkern émigrent du centre à la périphérie de cette gouttelette protoplasmique, puis ils en sortent entièrement. A ce moment, la spermatide présente la forme d'un noyau isolé de tous côtés, sauf à la partie postérieure où se trouve le protoplasme cellulaire, formant une goutte transparente (pl. 10 fig. 137 et 138). Si nous observons maintenant un stade plus avancé, nous voyons que le cytoplasme s'est séparé presque complètement du noyau. Il ne reste plus entre eux qu'un trait d'union, sous la forme d'un fin filament, qui est l'origine de la queue du spermatozoïde (pl. 10 fig. 139). Primitivement, ce filament est très court, et la goutte de protoplasme assez volumineuse. Mais bientôt il s'allonge, et la gouttelette diminue graduellement, pour disparaître complètement lorsque la queue aura atteint son entier développement (pl. 10 fig. 140 et 141). Quoi qu'il en soit, ces deux modes d'évolution concourent d'une manière différente au même but. Dans les deux cas, il est incontestable que c'est le protoplasme cellulaire qui donne naissance à la queue du spermatozoïde.

Ocupons nous maintenant de l'origine de la tête du zoosperme, et de son développement. Pour cela il nous faut remonter un peu en arrière, au moment où le filament caudal n'est pas encore différencié. J'ai dit que le cytoplasme de la jeune spermatide était finement granuleux, et paraissait presque homogène à première vue. Au centre de la cellule se trouve le noyau, nettement circonscrit par sa membrane, et autour de lui, épars dans le protoplasme, se voient quelques granules réfringents, ou *eytomicrosomes* (pl. 10 fig. 134).

Nous voyons maintenant ces granulations du cytoplasme devenir plus apparentes, puis se fusionner en une seule masse, pour former ainsi le noyau accessoire de la spermatide (pl. 10 fig. 135 et 136). Le Nebenkern prend donc ici naissance de la même manière que chez les animaux que nous avons étudiés jusqu'à présent. Il offre surtout une grande analogie avec celui qu'on observe chez les Oursins, comme nous allons le voir tout à l'heure. Ce Nebenkern a la forme

d'un corpuseule sphérique, ou légèrement ovalaire, de 3 μ environ : son contenu est homogène. Étudions maintenant son rôle dans la formation du spermatozoïde. Pour cela il nous faut suivre en même temps les modifications du noyau véritable de la cellule. Dans l'origine, c'est un globule sphérique, uniformément pourvu de nucléine, mais dès que la queue a commencé son développement, nous le voyons s'allonger, et prendre une forme ovoïde. Le noyau accessoire vient alors se placer entre l'extrémité du noyau et la naissance du filament caudal (pl. 10 fig. 137 et 138). Il est appliqué intimement contre le noyau, ce qui pourrait donner lieu à l'hypothèse qu'il est d'origine nucléaire, mais il est facile de se convaincre du contraire, en examinant un stade plus jeune, où l'on peut observer le noyau et le Nebenkern nettement séparés l'un de l'autre. En outre, ce dernier présentant un certain volume, s'il était d'origine nucléaire, les dimensions du noyau devraient être plus faibles après sa formation qu'avant, ce qui n'est pas le cas.

Il se passe maintenant dans le noyau ce phénomène particulier de retrait de la nucléine, dont j'ai déjà parlé à propos des Ptéropodes et des Céphalopodes. Nous voyons en effet la nucléine, qui était primitivement répandue uniformément dans le plasma nucléaire, se retirer peu à peu et se localiser dans la portion médiane et postérieure du noyau, de sorte que ces deux parties se colorent fortement, tandis que la partie antérieure reste transparente et incolore, et ne renferme plus qu'un caryoplasma hyalin, sans aucune trace de nucléine (pl. 10 fig. 136—138).

A ce moment, nous voyons donc la tête du spermatozoïde formée d'une portion presque cylindrique, réfringente, surmontée à sa partie antérieure d'un petit bourrelet transparent, qu'on peut assimiler à la coiffe céphalique décrise par plusieurs auteurs. A la partie postérieure du noyau, au contraire, nous voyons le Nebenkern, ayant aussi l'aspect d'une gouttelette claire, et qu'on peut regarder comme l'homologue d'un segment moyen (pl. 10 fig. 139—141). Mais, quoique à première vue sa constitution paraisse identique à celle du segment antérieur, il en diffère cependant totalement, étant lui-même d'origine cytoplasmique, tandis que le segment antérieur, ou procéphalique, provient directement du noyau de la spermatide.

En outre, un examen attentif nous permet de constater que la membrane nucléaire englobe en un seul tout la tête proprement dite et le segment procéphalique, tandis que le segment moyen se trouve en dehors de cette membrane, et constitue un corpuseule à part.

Il ne nous reste que peu de choses à ajouter pour décrire la fin de l'évolution du spermatozoïde. Pendant les différentes modifications dont nous venons de parler, la queue a atteint son complet développement. Quoique paraissant fixée sur le Nebenkern, elle est en réalité réunie directement au noyau, c'est-à-dire à la tête du spermatozoïde, comme on peut s'en convaincre en examinant la figure 142 (pl. 10). La raison de ce phénomène est dans le fait que le segment moyen n'a qu'une existence passagère. Lorsque le spermatozoïde atteint sa maturité, le noyau accessoire se décolle et tombe, pour disparaître ainsi complètement (pl. 10 fig. 142 et 143). Nous avons déjà vu exactement le même phénomène se produire chez les zoospores des Échinides.

Ce corpuscule n'est donc pas à proprement parler un véritable segment moyen, puis qu'il n'existe plus dans le spermatozoïde mûr, et son mode de formation et d'expulsion paraissent indiquer que son but est plutôt d'éliminer du cytoplasme de la spermatide, des matières qui sont inutiles à la formation du spermatozoïde. Le noyau accessoire est, ici comme ailleurs, un corpuscule de rebut.

Si nous examinons maintenant un zoosperme mûr, nous voyons qu'il est d'une grande simplicité de structure. On y distingue deux parties bien nettement délimitées (pl. 10 fig. 143) :

1^o la tête, formée d'un globule cylindro-conique, long de 4μ , sur 3μ de large. Elle est homogène, fortement réfringente, et provient du noyau de la spermatide. Elle renferme donc toute la nucléine de la cellule séminale, intimement mélangée avec le plasma nucléaire. Elle est surmontée à sa partie antérieure d'un petit capuchon transparent, la coiffe céphalique, provenant, comme nous l'avons vu, du retrait de la nucléine en cet endroit. La tête proprement dite et la coiffe céphalique sont entourées d'une fine membrane, qu'on peut mettre en évidence en soumettant les spermatozoïdes à l'action d'un dissolvant de la nucléine.

2^o la queue du zoosperme. Cette dernière est filiforme, d'une longueur de 60μ , et implantée au milieu de la base de la tête. Elle est animée de mouvements vibratoires rapides qui font progresser le spermatozoïde.

Comme on le voit d'après cette description, la spermatogénèse de cette Annélide ressemble beaucoup à celle des Échinides. Le noyau accessoire se forme, et surtout disparaît de la même manière. La seule différence que nous ayons ici est la forme un peu plus élargie de la tête, et le phénomène de retrait de la nucléine, que

l'on n'observe pas chez les Oursins. Il est intéressant de constater des processus de développement aussi analogues dans des classes d'animaux assez éloignées dans l'échelle zoologique.

Bibliographie.

La spermatogénèse des Annélides a été étudiée principalement par BLOOMFIELD (7) et par JENSEN (31). BLOOMFIELD décrit avec beaucoup de détails le développement des spermatozoïdes du Lombric. Chez cet animal, les cellules mères des zoospermes, ou spermatospores, engendrent par division nucléaire des spermatosphères, c'est-à-dire de gros amas cellulaires dont chaque partie est un spermatoblaste, autrement dit une cellule qui se transformera en spermatozoïde. Ces spermatoblastes se groupent à la périphérie de la sphère, entourant une portion centrale, le blastophore, qui reste passif dans le développement des spermatozoïdes, et joue seulement le rôle de cellule de soutien. Lorsque les noyaux des cellules filles sont groupés à la périphérie du blastophore, l'évolution des spermatozoïdes s'effectue, de telle façon que la queue du zoosperme provient du protoplasme, tandis que la tête est formée par le noyau du spermatoblaste. Lorsque les spermatozoïdes sont mûrs, ils se détachent, et le blastophore disparaît.

JENSEN (31) a étudié attentivement la spermatogénèse de *Clitellio arenarius*. Il décrit chez cette espèce la formation d'un cytophore (qui est l'homologue du blastophore de BLOOMFIELD), et il nomme spermatocytes les cellules qui se groupent à la périphérie de ce cytophore pour se transformer en spermatozoïdes. Voici, en deux mots comment il décrit cette évolution. Il se forme à la périphérie du spermatocyte un filament très fin, qui s'allonge peu à peu aux dépens du protoplasme de la cellule; une partie de ce protoplasme se condense en outre à la base du filament, et forme un petit bouton réfringent. La cellule et le noyau s'allongent en bâtonnet. La tête du jeune spermatozoïde est formée par le noyau, sauf à la partie antérieure où l'on voit une gouttelette protoplasmique incolore, et à la partie postérieure où se trouve le petit globule dont nous venons de parler.

Le noyau continue à s'allonger et s'effile en avant; en même temps on observe la disparition d'une portion de la substance nucléaire, dont il ne reste plus que la partie postérieure, qui forme

la véritable tête du spermatozoïde. JENSEN insiste sur ce fait qu'il y a disparition véritable de la nucléine et non condensation, car la portion qui subsiste n'augmente pas de réfringence. Cette opinion me paraît difficilement admissible, et il est probable qu'il n'y a là qu'un phénomène de retrait de la nucléine, comme nous l'avons observé chez l'*Eteone*.

Le spermatozoïde mûr est alors composé des parties suivantes : 1^o un filament antérieur pâle, provenant du protoplasme du spermatocyte ; 2^o la petite portion persistante du noyau, ou tête proprement dite ; 3^o un petit bouton très réfringent provenant aussi du cytoplasme ; 4^o la partie épaissie du long filament caudal, formée au début par le protoplasme du spermatocyte, et ensuite par celui du cytophore, et 5^o la partie mince de la queue, dérivant seulement du protoplasme du spermatocyte.

Dans sa grande monographie des Capitellides, EISIG (18) décrit rapidement l'origine des spermatozoïdes dans cette famille. Il paraîtrait que chez *Capitella*, la spermatogénèse se rapproche beaucoup de celle du Lombric.

Il se forme partout des spermatosphères, à la périphérie desquelles se groupent les spermatoblastes, aux dépens desquels se formeront les zoospores. Ces derniers ont en général un globule procéphalique, et souvent aussi deux petits globules entre la tête et le filament caudal. L'auteur ne s'occupe pas en détail de l'origine des différentes parties du spermatozoïde.

VI. Spermatogénèse chez les Tuniciers.

Méthode employée.

J'ai choisi comme représentants de l'Embranchement des Tuniciers les Salpes, dont la spermatogénèse n'a, à ma connaissance, encore jamais été étudiée, et parmi celles-ci je me suis occupé plus spécialement de la *Salpa virgula* Vogt. Cette espèce n'est pas très rare dans la baie de Villefranche pendant l'hiver.

Si l'on examine, pendant les mois de février ou de mars un testicule de cet animal, on le trouve généralement rempli de spermatides en voie d'évolution, et de spermatozoïdes mûrs, mais je n'y ai rencontré que rarement des stades d'évolution plus jeunes. Je m'occuperais donc seulement du développement des spermatozoïdes aux dépens des spermatides.

Pour l'étude de cette espèce, j'ai employé les mêmes méthodes

que pour les animaux déjà décrits. Cependant les meilleures préparations m'ont été fournies par l'emploi du chlorure de manganèse en solution aqueuse à 5 %. Ce réactif fixe admirablement les cellules, sans en altérer aucunement la forme, et en faisant apparaître distinctement le noyau. Il a, en outre, l'avantage de dissoudre le vert de méthyle et le Dahlia, ce qui permet de fixer et de colorer en même temps les éléments spermatiques, sans que le protoplasme soit altéré, comme cela arrive par l'emploi du vert de méthyle acétique. Il est toujours bon, cependant, d'employer ce dernier liquide comme moyen de contrôle dans l'étude de l'élément nucléinien.

La solution de potasse caustique m'a aussi été utile pour déterminer exactement la localisation de la nucléine dans le noyau, particulièrement pour l'étude du fil spiral qui entoure la tête du spermatozoïde.

Spermatogénèse.

Si l'on dilacère une portion d'un testicule de *Salpa virgula* dans une goutte d'eau de mer, on y trouve des spermatozoïdes à différents degrés de développement. A l'époque où j'ai étudié cette espèce, la spermatogénèse était déjà assez avancée: cependant j'ai pu encore observer quelques spermatocytes en train de se diviser par caryocinèse, et il m'a semblé aussi qu'avant la formation des cellules de la dernière génération, ou spermatides, il s'opérait une dernière division par simple étranglement du noyau (division acinétique).

Ces spermatides (pl. 10 fig. 147 et 149) sont des cellules sphériques, de 12 à 14 μ de diamètre: leur protoplasme est finement granuleux, et on y remarque en outre trois ou quatre globules réfringents, ou cytomierosomes. Le noyau est sphérique, d'un diamètre de 6 μ et pourvu d'une membrane mince et finement réticulée: l'intérieur est rempli par la nucléine d'aspect homogène, et répartie uniformément dans un plasma hyalin.

Étudions maintenant la formation du spermatozoïde aux dépens de cette cellule. En général, chaque spermatide se développe isolément; cependant il est des cas où le développement a lieu par groupes de trois à quatre (pl. 10 fig. 161 et 162), et quelquefois même, comme nous le verrons plus tard, on assiste à la formation d'un véritable cytophore composé de dix à douze spermatides.

Nous nous occuperons d'abord de l'évolution d'une spermatide isolée. Tandis que chez les animaux étudiés jusqu'à présent, c'est

généralement par l'ébauche du filament caudal que commence le développement du spermatozoïde, ici la queue apparaît ordinairement beaucoup plus tard, et c'est le noyau de la cellule qui se modifie en premier lieu. Ce noyau devient ovalaire, puis fusiforme, et prend enfin la forme d'un long bâtonnet. Il arrive ainsi à être en contact avec la membrane cellulaire par ses deux bouts (pl. 10 fig. 149 et 150). Ici au lieu que ce soit, comme c'est le cas le plus fréquent, la membrane cellulaire qui cède, et s'allonge en suivant la forme du noyau, c'est ce dernier au contraire, qui, moins résistant, se replie à l'intérieur de la cellule à mesure qu'il continue à s'allonger.

A ce moment, la spermatide se présente donc sous la forme d'une cellule ronde, renfermant un noyau replié en forme de C (pl. 10 fig. 155). L'aspect de ce stade isolé pourrait faire croire que c'est le boyau nucléinien de la cellule spermatique qui va à lui seul former la tête du spermatozoïde. Mais si l'on suit pas à pas le développement, on constate facilement que c'est le noyau tout entier qui a pris cette forme.

Le reste de la cellule est rempli par le cytoplasme qui, de granuleux qu'il était dans les spermatides, tend à devenir de plus en plus homogène, en se préparant ainsi à la formation de la queue.

Nous avons vu que la cellule renfermait un certain nombre de granulations. Ces cytomicrosomes ont un sort assez différent de celui que nous avons observé chez les animaux étudiés jusqu'à présent. En effet, ces globules se réunissent en général en une seule masse, qui constitue le noyau accessoire. Chez l'espèce qui nous occupe, cela n'est pas le cas. Ici les cytomicrosomes, qui sont très visibles dans la jeune spermatide (pl. 10 fig. 147 et 149) tendent à s'effacer lorsque le noyau commence son évolution; ils se dissolvent dans le protoplasme de la cellule, et disparaissent ainsi isolément, sans s'être réunis pour former un Nebenkern (pl. 10 fig. 155, 156, 153).

Nous n'avons donc pas ici de noyau accessoire proprement dit; il est incontestable cependant, que les microsomes de la spermatide ont la même valeur morphologique, et que nous pouvons les assimiler au noyau accessoire que nous avons observé chez les Ptéropodes et les Céphalopodes. Dans ces deux derniers cas, il disparaît aussi avant la maturation du spermatozoïde. Chez la *Salpa*, ce phénomène de dissolution dans le cytoplasme se présente à un stade un peu plus précoce, mais sa signification reste la même.

Pendant que la disparition des cytomicrosomes s'accomplice, nous

voyons le protoplasme cellulaire commencer à émettre un fin filament. En même temps, la membrane cellulaire se dissout peu à peu, ce qui permet à une partie du cytoplasme de couler le long de la jeune queue, pour aller former une gouttelette à son extrémité. C'est aux dépens de cette gouttelette que le filament caudal va s'allonger, comme nous l'avons déjà souvent observé (pl. 10 fig. 151—153). La formation de la queue a lieu près d'une des extrémités du noyau recourbé, qui continue à s'allonger en s'aminçissant. Puis, comme il n'est plus retenu par la membrane cellulaire qui s'est résorbée, il se redresse peu à peu, et forme un bâtonnet cylindrique.

En même temps, le reste du cytoplasme continue à couler en gouttelettes le long de la queue, pour aller contribuer à son allongement. Le noyau du spermatozoïde a maintenant la forme d'un bâtonnet de 20μ de long sur 1μ environ de diamètre, terminé en pointe à la partie antérieure et arrondi à la partie postérieure, à laquelle est fixée directement la queue sans aucune formation intermédiaire. Le filament caudal entièrement développé atteint alors une longueur de 50μ environ. Quant au noyau, qui forme la tête du spermatozoïde, il présente une structure particulière sur laquelle nous aurons à revenir, mais auparavant jetons un coup d'œil en arrière sur l'évolution des spermatides.

On observe, en effet, de grandes variations dans leur mode de développement, principalement dans ce qui touche l'ordre de formation des différentes parties du spermatozoïde. En général, le filament caudal ne commence à se former que lorsque le noyau s'est déjà considérablement allongé. Mais on observe aussi des cas où la queue se forme beaucoup plus tôt. On voit quelquefois des spermatides ayant encore leur noyau sphérique, et possédant déjà une queue d'une certaine longueur (pl. 10 fig. 151). Au contraire, on rencontre souvent le cas où la tête du spermatozoïde est complètement développée, et a déjà sa forme définitive, tandis que la queue est à peine ébauchée (pl. 10 fig. 156 et 157). Ces différences dans l'ordre de formation des deux parties du spermatozoïde se rencontrent constamment dans l'étude de la spermatogénèse, et nous en avons déjà constaté de nombreux cas. Elles n'ont, du reste, aucune importance au point de vue théorique.

Une seconde modification importante qui se produit dans le développement des spermatozoïdes est celle qui a trait à la réunion de plusieurs spermatides en une masse commune. Dans la règle, chaque spermatozoïde se développe isolément. Mais souvent, lors

de la division des spermatocytes en spermatides, il arrive que cette division ne s'effectue pas complètement. Le noyau du spermatocyte seul se partage en deux, tandis que le protoplasme reste commun aux deux noyaux fils. On voit ainsi souvent deux spermatozoïdes se développer conjointement: chacun des deux noyaux forme une tête, et le protoplasme de la cellule mère fournit les matériaux nécessaires à la formation des deux queues. Les deux zoospermes ne se séparent que lorsqu'ils sont complètement développés (pl. 10 fig. 148 et 154).

On voit souvent aussi des cellules à trois ou quatre noyaux former autant de spermatozoïdes (pl. 10 fig. 161 et 162); j'ai même eu l'occasion d'observer quelques cas où ce mode de développement était poussé beaucoup plus loin. Il arrive quelquefois que les différentes générations de spermatocytes, au lieu de se séparer en autant de cellules filles, restent toutes réunies en une seule masse unique, semblable en tous points aux spermatogones que LA VALETTE ST. GEORGE a décrites chez plusieurs animaux. On voit alors 12 ou 15 noyaux se grouper régulièrement à la périphérie d'une grosse cellule qui constitue un véritable cytophore, autour duquel les spermatozoïdes se développent. Il est à remarquer que ce cytophore ne possède pas de noyau central: ce n'est qu'une masse protoplasmique, et tous les noyaux qu'elle renferme forment chacun un zoosperme.

Ce mode de développement n'est, du reste, que l'exception: dans la règle, chaque spermatozoïde se développe isolément. Mais dans tous ces cas, je le répète, la valeur morphologique des différentes parties du spermatozoïde reste la même. La tête du zoosperme est toujours formée par un noyau unique et entier, et le filament caudal est toujours d'origine cytoplasmique.

Étudions maintenant plus en détail le spermatozoïde mûr. Il se compose de deux parties principales (pl. 10 fig. 158):

1^o La tête, qui a la forme d'un bâtonnet cylindrique, long de 20—22 μ et large de 1 μ . Elle est terminée en pointe à la partie antérieure et arrondie à l'extrémité postérieure. Si l'on examine ce segment céphalique sous un fort grossissement, il semble être strié transversalement. Un examen plus attentif montre que cette apparence de striation est produite par un filament enroulé en spirale. Ce filament est très fin, et entoure la tête d'une extrémité à l'autre, en faisant une vingtaine de tours de spire (pl. 10 fig. 159). Nous

nous trouvons ici en présence d'une formation semblable à celle qui a été décrite chez les spermatozoïdes de plusieurs animaux, en particulier chez le *Gammarus pulex* par LEYDIG (48) et qui a été plus récemment étudiée en détail par JENSEN (32) chez le Rat, avec cette différence que, chez ce dernier animal, le filament est entouré autour de la queue du spermatozoïde.

Chez la Salpe, ce fil spiral n'apparaît que très tard, lorsque le zoosperme est presque arrivé à maturité. Les colorants de la chromatine le laissent intact, il n'est donc pas formé par la nucléine du noyau, et paraît plutôt provenir d'une condensation du cytoplasma. Si l'on traite le spermatozoïde par un alcali, la potasse caustique par exemple, le bâtonnet de nucléine central se dissout, tandis que le filament spiral n'est pas attaqué, ce qui prouve encore en faveur de son origine plasmatische (pl. 10 fig. 160). Remarquons, en outre, qu'il ne peut provenir que du plasma nucléaire, et non du cytoplasme, puisque ce dernier se sépare du noyau pour former la queue longtemps avant l'apparition du fil spiral. Tout le segment céphalique provient donc, comme nous l'avons vu, du noyau de la spermatide.

2^e La queue du spermatozoïde est formée par un simple filament très fin, long de 80 μ . Elle est fixée directement à la tête sans aucun segment intermédiaire. Elle est formée par le cytoplasme de la spermatide.

Conclusions.

Il nous reste à réunir les faits observés jusqu'ici, et à tâcher d'en tirer quelques conclusions générales. Je n'ai pas la prétention, cela est évident, de vouloir généraliser sur tout le règne animal des phénomènes observés chez cinq ou six groupes d'Invertébrés pris un peu au hasard; mais comme, chez toutes les espèces que j'ai étudiées, on retrouve une certaine uniformité dans le processus de la spermatogénèse, je vais résumer en peu de mots mes observations.

La spermatogénèse proprement dite, c'est-à-dire l'évolution de la cellule sexuelle que nous avons nommée spermatide, en spermatozoïde, n'est que le changement de forme d'une cellule dans un but déterminé. Le principe héréditaire de l'organisme paternel se transmet, par un procédé que nous ignorons, dans les cellules séminales du testicule. Pour qu'un nouvel organisme

puisse prendre naissance, il faut que les deux cellules qui renferment ce principe héréditaire puissent arriver à se fusionner. La cellule sexuelle mâle, ou spermatide, doit féconder la cellule femelle, c'est-à-dire l'ovule, et le développement du spermatozoïde aux dépens de cette spermatide, n'est qu'un phénomène secondaire d'adaptation, servant à faciliter le rapprochement de ces deux cellules.

Le zoosperme n'est qu'une spermatide qui a changé de forme, c'est donc une véritable cellule, dans laquelle nous devons retrouver les deux parties constitutantes de toute cellule animale, le noyau et le protoplasme. Étudions séparément chacune de ces parties: après quoi nous dirons quelques mots d'un troisième élément que nous rencontrons dans les cellules sexuelles, le noyau accessoire.

1. Noyau.

On admet généralement, d'après les théories actuelles, que le noyau est la partie la plus importante de la cellule animale. C'est en lui que réside la fonction de reproduction, tandis que le cytoplasme préside surtout à la nutrition de la cellule. Il y a donc beaucoup de raisons pour regarder le noyau de la cellule sexuelle comme étant la partie destinée à transmettre le principe héréditaire de l'organisme paternel; l'étude de la spermatogénèse confirme pleinement cette manière de voir.

Il est, en effet, généralement admis par les auteurs qui ont étudié avec soin la spermatogénèse, que le noyau de la spermatide se retrouve dans le spermatozoïde, dont il forme la portion céphalique, la tête, ou corps du zoosperme. Comme nous venons de le voir, mes observations sont absolument d'accord avec cette théorie, et je suis intimement convaincu que l'on arrivera à retrouver dans tous les spermatozoïdes animaux un noyau plus ou moins normalement constitué.

Mais il est souvent difficile de constater sa présence; car autant il est facile, dans une cellule sphérique normale, comme la spermatide, de mettre le noyau en évidence, autant il est souvent malaisé, lorsque le spermatozoïde a pris sa forme définitive, de retrouver ce noyau. Deux méthodes nous permettent d'arriver à ce but: en premier lieu, l'observation attentive de tous les stades d'évolution depuis la spermatide typique jusqu'à l'achèvement du spermatozoïde.

et en second lieu, et simultanément, l'application méthodique des réactifs histologiques, et principalement des colorants de la nucléine. On arrive ainsi à pouvoir dire avec une certitude presque absolue ce que devient le noyau de la cellule sexuelle, et quel rôle il joue dans la constitution du spermatozoïde.

Mais le noyau n'est pas un tout homogène et formé d'une seule substance. On y distingue deux parties, de constitution chimique bien différente: la nucléine, ou chromatine, et le plasma nucléaire, ou caryoplasma. L'étude combinée de la spermatogénèse et de la fécondation doit pouvoir nous renseigner sur l'importance et le rôle de chacune de ces deux parties.

Les belles découvertes qui ont été faites pendant ces dernières années sur les phénomènes de la caryocinèse, ont jeté un grand jour sur cette question, et la plupart des auteurs admettent actuellement que la nucléine, c'est-à-dire l'élément figuré du noyau, est la partie principale, et pour ainsi dire vitale de la cellule, tandis que le plasma environnant n'est qu'un sujet d'une importance secondaire pour la vie et la reproduction des cellules. Je crois aussi que la nucléine est la portion principale du noyau, et il est fort probable que c'est par elle que se transmet l'hérédité des parents, mais je suis persuadé que le plasma nucléaire a aussi son importance dans la formation du spermatozoïde, et dans l'acte de la fécondation. Quelques auteurs, qui ont étudié la spermatogénèse, ont cru s'apercevoir que c'était la portion chromatique seule du noyau de la spermatide qui constituait tout le spermatozoïde. Si cette hypothèse était confirmée, on serait fondé à admettre que le caryoplasma ne joue aucun rôle dans la fécondation: mais toutes les recherches récentes tendent à prouver que cela n'est pas le cas, et que, comme nous l'avons vu aussi chez les animaux que nous venons d'étudier, la tête du spermatozoïde est constituée par un noyau entier, et formé donc de deux parties, la nucléine et le caryoplasma.

Si nous examinons les relations qu'ont entre elles ces deux parties, nous trouvons qu'elles sont très variables suivant le stade d'évolution des spermatozoïdes. Quelques mots d'explication à ce sujet: tant que les cellules séminales sont en voie de division cinétique, c'est-à-dire pendant la série des générations de spermatoocytes, la nucléine et le caryoplasma restent nettement différenciés. La nucléine affecte la forme d'un boyau plus ou moins enchevêtré, qui, au moment de la division cellulaire, se groupe en anses qui se

scindent en deux parties suivant un procédé que je n'ai pas à décrire ici. Nous observons pendant la caryocinèse des figures assez compliquées dont le but est évidemment de répartir d'une façon absolument précise entre les deux cellules filles l'élément nucléinien de la cellule mère.

La formation d'un boyau de nucléine dans les cellules animales n'existe donc que dans le but de la division. On pourrait donc admettre à priori que dès qu'une cellule animale est arrivée, pour une raison ou pour une autre, à un stade de son existence où elle ne doit plus se diviser, le boyau de nucléine, n'ayant plus sa raison d'être, doit disparaître.

Or c'est précisément ce cas que nous observons dans les spermatozoïdes. Comme nous l'avons vu, les spermatocytes, par une série de divisions successives, donnent naissance en dernier lieu aux spermatides, c'est-à-dire à une génération de cellules qui doivent se transformer directement en spermatozoïdes sans subir de division ultérieure.

L'observation confirme ici pleinement cette théorie, et j'ai toujours observé que, dans les spermatides, le noyau perd son aspect structuré. Le boyau disparaît, et la nucléine se dissout dans le caryoplasma pour former une seule masse homogène.

Nous remarquons tout de suite que ce mélange intime des deux parties constitutantes du noyau est d'une grande utilité pour le développement ultérieur du spermatozoïde. En effet, il est rare que le noyau des zoospores conserve sa forme sphérique. Dans la plupart des cas, il s'allonge, et prend la forme, soit d'un cône, soit d'un bâtonnet. Nous l'avons vu se tordre en hélice; chez quelques animaux, comme chez les Crustacés par exemple, il se présente sous les aspects les plus variés.

Nous concevons fort bien qu'un globule homogène puisse prendre ces différentes formes, tandis que si le noyau restait composé de deux parties distinctes et structurées, et renfermait soit un boyau, soit un réticulum plus ou moins compliqué, il nous serait difficile de comprendre comment il peut se plier à ces changements de forme si complexes.

Les auteurs qui ont étudié la spermatogénèse décrivent généralement le noyau des spermatozoïdes comme paraissant homogène, mais comme étant réellement structuré (granuleux, etc.), ce dont on peut se convaincre par l'emploi de certains réactifs. En effet, la plupart des réactifs fixateurs font apparaître une sorte de structure dans les

noyaux des zoospermes, mais il me semble que cette structure n'est qu'une modification artificielle de la substance nucléaire. Si, comme je l'admet, la nucléine des spermatozoïdes est à l'état de dissolution dans le caryoplasma, lorsqu'on ajoute un réactif acide, qui ne dis-
sout pas la nucléine, cette dernière doit évidemment se précipiter sous une forme plus ou moins granuleuse; c'est un phénomène chimique élémentaire; et puisque sur les éléments frais, l'état homogène est celui que l'on observe, il me semble plus naturel d'admettre que l'état granuleux n'est qu'une altération due à l'emploi des réactifs fixateurs.

NÄGELI a dit que la nucléine se trouvait dans un état organisé avant, pendant et après la fécondation. Je ne peux pas être de son avis, et je crois qu'il y a, au moment de la maturation du spermatozoïde, un stade où la nucléine est à l'état de dissolution dans le plasma nucléaire. Cet état dure jusqu'après la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf; alors le noyau reprend sa forme structurée pour se fusionner avec le noyau femelle.

Deux mots encore au sujet de la division acinétique des cellules séminales. Comme nous l'avons vu, les spermatocytes se multiplient dans la règle par caryocinèse; mais on observe quelquefois, à la fin de ce mode de division, une ou deux générations de cellules qui prennent naissance par simple étranglement du noyan (division directe, ou acinétique); voici comment je m'explique ce phénomène.

La division par caryocinèse est nécessaire pour diviser l'élément nucléinien des cellules sexuelles d'une façon rigoureusement exacte. Si l'on admet que la nucléine renferme le principe héréditaire de l'organisme paternel, il est important que ce principe soit divisé avec la plus grande régularité possible entre les différentes cellules filles, afin que toutes renferment les mêmes facultés héréditaires.

D'un autre côté, si, comme l'ont admis certains auteurs, il y aurait, dans le cours de la spermatogénèse une ou plusieurs divisions qui seraient homologues de l'élimination des globules polaires que l'on observe chez l'œuf, il est évident que cette expulsion des corpuscules polaires mâles doit se faire aussi par caryocinèse.

Je n'entrerai pas ici dans la discussion de la probabilité de ce phénomène, n'ayant pas pu faire d'observations concluantes à ce sujet, et je me borne à citer l'hypothèse de quelques auteurs. Je ne m'occupera pas non plus de la signification des globules polaires; c'est un sujet de controverse actuelle qui m'entraînerait trop loin; mon but est seulement d'arriver à cette conclusion, que la division

caryocinétique des spermatocytes est destinée à fournir à chaque cellule séminale une substance nucléaire ayant exactement la constitution organique et chimique nécessaire à la fécondation.

Or il peut arriver que lorsque les noyaux ont acquis ces propriétés, ils soient encore trop volumineux pour former des spermatozoïdes. Ils sont alors obligés de se fractionner encore une ou plusieurs fois, dans le seul but d'acquérir les dimensions nécessaires, et ce fractionnement se fait alors par voie acinétique. La division des spermatocytes par simple étranglement est donc uniquement destinée à donner à chaque spermatide la quantité de substance nucléaire nécessaire à la formation d'un spermatozoïde, cette substance ayant déjà acquis les qualités requises, grâce aux divisions antérieures par voie caryocinétique.

2. Cytoplasme.

Nous avons admis que le noyau était la partie principale de la cellule sexuelle; c'est en lui que siège la faculté de reproduction, tandis que le protoplasme cellulaire préside aux fonctions de la vie végétative, c'est en quelque sorte le magasin de nourriture de la cellule. Il n'est donc pas étonnant de voir que les cellules qui mènent une vie active et qui se multiplient rapidement, comme les spermatogonies et les spermatocytes, soient riches en protoplasme.

Au contraire, lorsque la dernière division cellulaire a eu lieu, et que les spermatozoïdes se forment, la cellule sexuelle est arrivée au terme de son existence individuelle: elle n'a plus besoin de se nourrir, puisqu'elle ne doit plus se fractionner; sa partie protoplasmique est donc devenue inutile, et ce n'est plus que le noyau qui est appelé à jouer un rôle dans l'acte de la fécondation.

Le spermatozoïde n'ayant plus besoin de protoplasme, il devient évident que ce dernier doit disparaître, à moins qu'il ne puisse se modifier dans un but utile à la fécondation. Or c'est précisément ce qui arrive.

Dans la plupart des cas, en effet, le noyau mâle doit parcourir un certain espace pour arriver en contact avec l'ovule. Le spermatozoïde a donc besoin d'un organe locomoteur, et c'est le cytoplasme de la cellule séminale qui se charge de ce rôle: de cette façon il n'y a aucune partie perdue dans la cellule.

La queue du spermatozoïde est donc formée par le cytoplasme de la spermatide. L'étude attentive de son développement me l'a toujours prouvé; mais nous avons, en outre, une raison théorique d'une certaine valeur à l'appui de cette manière de voir.

Nous considérons, en effet, la fécondation proprement dite comme la conjugaison plus ou moins intime, dans l'intérieur de l'œuf, de deux noyaux, le noyau mâle et le noyau femelle. Or nous observons toujours, au moment de la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf, que le filament caudal reste en partie à l'extérieur de l'ovule, et que même la portion qui a pénétré à l'intérieur avec le noyau, ne le suit pas jusqu'à sa rencontre avec le pronucléus femelle, mais reste en arrière, et se dissout finalement dans le vitellus. Si donc le filament caudal était d'origine nucléaire, toute la partie du noyau employée à le former serait perdue, ce qui est fort peu probable.

La queue du spermatozoïde n'est donc qu'un organe d'importance secondaire; c'est un organe locomoteur, servant uniquement à amener le spermatozoïde en contact avec l'œuf. Elle pourra donc se présenter sous des aspects assez variés, suivant le mode de fécondation propre à chaque animal. Cependant sa forme la plus fréquente est celle d'un filament long et mince, animé de mouvements ondulatoires plus ou moins rapides. Il nous faut remarquer que le volume de la queue est en général beaucoup plus faible que celui de la partie cytoplasmique de la cellule employée à la former. Il s'opère évidemment une condensation du protoplasme, dans le but de donner plus de rigidité au filament caudal, et lui permettre de résister aux mouvements souvent assez violents dont il est animé.

J'ajouterai encore quelques mots sur la membrane cellulaire. Cette dernière paraît jouer un très petit rôle dans la spermatogénèse. On l'observe en général assez distinctement chez les jeunes spermatides, sous la forme d'une très mince cuticule, mais dès que l'évolution du spermatozoïde commence, elle disparaît, et l'on n'en voit plus trace dans le cours du développement. Il est probable qu'elle se dissout dans le cytoplasme, et que sa substance concourt ainsi à la formation du filament caudal. Cependant, dans les spermatozoïdes de quelques animaux, par exemple chez les Siphonophores, elle semble persister jusqu'à l'achèvement complet du spermatozoïde, servant d'enveloppe commune au noyau et au Nebenkern. Il est probable qu'elle se dissout ultérieurement, au moment de la fécondation.

3. Noyau accessoire.

On a beaucoup écrit sur le noyau accessoire dans ces dernières années, et cependant on est encore loin d'être au clair sur l'origine et la signification de ce corpuscule, qui se rencontre d'une façon si générale dans les cellules séminales. Dans tous les animaux que j'ai observés, je me suis attaché à étudier aussi soigneusement que possible sa naissance, et le rôle qu'il remplit dans la formation du spermatozoïde, et voici les conclusions auxquelles je suis arrivé.

Le noyan accessoire, ou Nebenkern, est un corpuscule destiné à éliminer de la cellule séminale les substances devenues inutiles au spermatozoïde.

N'oublions pas en effet, que le spermatozoïde est une cellule véritable, mais qui a un rôle physiologique tout différent de celui des cellules dont il provient. J'appuierai surtout sur ce fait que le spermatozoïde est une cellule mûre, qui ne doit plus donner naissance à des cellules filles par division. Donc, tout ce qui, dans la cellule séminale, spermatocyte ou autre, est nécessaire uniquement pour l'acte de la division cellulaire, n'a plus sa raison d'être dans le spermatozoïde, et par conséquent doit être éliminé.

Après que la dernière division caryocinétique s'est effectuée, on voit dans le cytoplasme un certain nombre de corpuscules qui paraissent être les restes, soit du fuseau achromatique, soit du corpuscule polaire ou attractif, qui se forment pendant la division, et qui proviennent, comme cela a été prouvé, du plasma nucléaire de la cellule mère.

Ces granulations se retrouvent donc dans la spermatide, et forment ce que PRENANT a nommé les cytomicrosomes; ils sont devenus inutiles pour la vie future de la cellule, ils doivent donc être éliminés. Pour cela nous les voyons se fusionner en un seul globule plus ou moins considérable, qui constitue le noyau accessoire de la cellule. Le Nebenkern se forme donc dans le cytoplasme de la spermatide, mais il provient réellement d'une portion du caryoplasma de la cellule mère. Je tiens à bien appuyer sur le fait qu'il ne se forme pas au dépens du noyau de la spermatide, comme certains auteurs l'ont admis. Il entre quelquefois en rapport avec lui, il est vrai, mais ce n'est jamais que secondairement; en outre, le noyau véritable a toujours exactement les mêmes dimensions

avant et après la formation du Nebenkern, ce qui ne serait pas le cas si ce dernier se formait à ses dépens.

Voici pour l'origine du noyau accessoire; maintenant que devient-il pendant la maturation du spermatozoïde? Ici nous observons de grandes variations chez les différents animaux. Quelquefois, et c'est le cas le plus simple, il se détache simplement de la cellule et disparaît ainsi sans concourir en aucune façon à la constitution du spermatozoïde: c'est ce que nous avons observé chez l'*Eteone*, et accidentellement aussi chez les Échinides. D'autres fois, il persiste dans la tête du zoosperme à côté du noyau, comme chez les Siphonophores. Enfin, et c'est ce qui arrive le plus fréquemment, il peut se dissoudre simplement dans le cytoplasme, à un stade plus ou moins avancé de l'évolution du spermatozoïde, et sa substance est utilisée, en même temps que le reste du protoplasme, pour la formation du filament caudal.

Il se peut aussi que, chez d'autres animaux, le noyau accessoire forme le segment moyen du spermatozoïde; nous avons vu ce cas se présenter chez la plupart des Oursins; ainsi, comme on le voit, son rôle est éminemment variable, et lorsqu'il n'est pas simplement expulsé, il n'est utilisé que pour la formation d'une des parties secondaires du zoosperme. Dans tous les cas, le fait qu'il peut manquer totalement nous prouve avec évidence que ce corpuscule ne doit pas être regardé comme une des parties constitutantes du spermatozoïde normal. Son existence n'est généralement que passagère, et il ne sert qu'à éliminer du spermatozoïde des substances qui ne sont pas nécessaires pour l'acte de la fécondation. Le noyau accessoire des cellules séminales n'est donc qu'un corpuscule de rebut.

Explication des Planches 8 à 10.

Remarques.

Toutes les figures (sauf la fig. 159) ont été dessinées au grossissement de $\frac{1000}{1}$; chaque millimètre sur le papier correspond donc à 1μ . La plupart ont été faites avec l'objectif apochromatique 2,5 mm. de Zeiss (immersion à l'eau) sur des matériaux frais, et lorsque l'emploi de la chambre claire n'était pas possible, vu la mobilité des cellules, les dimensions exactes ont été prises au micromètre.

Planche 8.

- Fig. 1—23. Spermatogénèse chez *Strongylocentrotus lividus* Brdt.
- 1. Spermatocyte.
 - 2, 3. Spermatocytes en voie de division cinétique.
 - 4. Dernière division par simple étranglement.
 - 5. Spermatide.
 - 6—10. Développement du filament caudal.
 - 11, 12. Développement de spermatoïdes jumaux.
 - 13—18. Développement de la tête du spermatoïde.
 - 19, 20. Spermatoïdes normaux de *Strongylocentrotus*.
 - 21—23. Spermatoïdes ayant perdu leur segment moyen.
 - 24, 25. Spermatoïdes de *Sphaerechinus granularis*.
 - 26, 27. - d'*Echinus microtuberculatus*.
 - 28, 29. - d'*Arbacia pustulosa*.
 - 30—53. Spermatoïdes de *Strongylocentrotus* sous l'influence de divers réactifs:
 - 30. Chlorure de manganèse et Dahlia.
 - 31. Dahlia dans l'eau de mer légèrement acide.
 - 32. Chlorure de platine.
 - 33. Vert de méthyle dans l'acide acétique à 1 %.
 - 34. Bichlorure de mercure à 5 %.
 - 35. Acide chlorhydrique dilué.
 - 36. Acide nitrique à 3 %.
 - 37. Acide acétique à 2 %.
 - 38. Liquide de FLEMMING.
 - 39. Liquide de KLEINENBERG.
 - 40. Acide osmique à 1 %.
 - 41, 42. Acide osmique à 1 % et acide pyrogallique.
 - 43. Carmin acétique de SCHNEIDER.
 - 44. Alcool à 30 %.
 - 45. Alcool absolu.
 - 46, 47. Permanganate de potasse.
 - 48, 49. Jode dans l'iодure de potassium.
 - 50. Sulfate de cuivre à 10 %.
 - 51. Eau douce.
 - 52. Potasse caustique.
 - 53. Soude caustique.

Fig. 54—69. Spermatogénèse chez *Halistemma rubrum* Vogt.

- 54. Grosse spermatogonie.
- 55. Spermatocyte, immédiatement avant la division.
- 56. Spermatocyte en voie de division cinétique.
- 57. Jeune spermatide.
- 58. Spermatide normale. Le noyau est devenu homogène, et les cytomicrosomes se sont fusionnés en un Nebenkern.
- 59—66. Développement de la queue du spermatozoïde.
- 67—69. Spermatides à deux noyaux, donnant naissance à deux spermatozoïdes jumeaux.

Planche 9.

Fig. 70—72. Achèvement du développement des spermatozoïdes d'*Halistemma rubrum*.

- 73—76. Spermatozoïdes mûrs d'*Halistemma rubrum*.
- 77, 78. Deux phases du développement des spermatozoïdes de *Praya maxima*.
- 79. Spermatozoïde de *Gleba hippopus*.
- 80. Spermatozoïde de *Gleba hippopus* soumis à l'action du Dahlia acétique. Le noyau seul est coloré.
- 81—108. Spermatogénèse chez *Cymbulia Peronii* Cuv.
- 81. Spermatocyte.
- 82. Dernière division des spermatocytes, par simple étranglement du noyau.
- 83. Spermatide.
- 84. Origine de la queue du spermatozoïde.
- 85—88. La queue continue à s'allonger, et le noyau prend une forme ovaire, puis piriforme. Les cytomicrosomes se sont fusionnés pour former un petit Nebenkern.
- 89—92. Continuation de l'allongement du noyau. Le cytoplasme coule le long de la queue, et le Nebenkern a disparu.
- 93—97. Aplatissement du noyau en forme de feuille.
- 98, 99. La nucléine se condense à la périphérie, et la feuille se tord en tire-bouchon.
- 100, 101. La tête du spermatozoïde continue à se tordre en hélice.
- 102. Spermatozoïde mûr de *Cymbulia Peronii*.
- 103—108. Développement de spermatozoïdes jumeaux, dans des spermatides à deux noyaux.

Planche 10.

Fig. 109—132. Spermatogénèse chez *Sepia officinalis* L.

- 109, 110. Deux générations de spermatocytes.
- 111. Dernière division acinétique des spermatocytes.
- 112. Spermatide possédant un très petit Nebenkern.
- 113, 114. Développement du filament caudal.
- 115—122. Évolution de la tête du spermatozoïde. Le noyan s'allonge en bâtonnet, puis la nucléine se retire au centre, laissant en avant une gouttelette claire, la coiffe céphalique, et en arrière le segment

moyen, formé d'un espace clair et de deux petits trabécules, dont l'un forme un piquant, et l'autre sert de trait d'union entre la tête et la queue du spermatozoïde. Pendant cette évolution, le petit Nebenkern a disparu.

Fig. 123, 124. Spermatozoïdes mûrs de *Sepia officinalis*.

- 125. Tête d'un spermatozoïde, ayant perdu la coiffe céphalique, le segment moyen et la queue.
- 126. Spermatozoïde mûr, traité au vert de méthyle acétique.
- 127—131. Développement des spermatozoïdes dans des cellules multi-nucléées.
- 132. Gros cytophore, donnant naissance à un grappe de spermatozoïdes.
- 133—146. Spermatogénèse chez *Eteone pterophora* Ehlers.
- 133. Gros spermatocyte pourvu d'un nucléole.
- 134. Spermatide, avec 4 cytomicrosomes.
- 135, 136. Les cytomicrosomes se sont fusionnés en Nebenkern, et la nucléine se retire de la partie antérieure du noyau.
- 137—140. Formation de la queue du spermatozoïde par écoulement de la gouttelette de cytoplasme.
- 141. Jeune spermatozoïde; on y remarque la coiffe céphalique, la tête proprement dite, le segment moyen et la queue.
- 142. Séparation du segment moyen.
- 143. Spermatozoïde mûr d'*Eteone pterophora*. Le segment moyen a disparu.
- 144—146. Autre mode de développement de la queue du spermatozoïde.
- 147—160. Spermatogénèse chez *Salpa virgula* Vogt.
- 147. Spermatocyte.
- 148. Dernière division acinétique des spermatocytes.
- 149. Spermatide. Le noyau commence déjà à s'allonger.
- 150. Le noyau continue à s'allonger en bâtonnet.
- 151—153. Développement de la queue du spermatozoïde.
- 154. Deux jeunes spermatozoïdes jumeaux.
- 155. Le noyau continue à s'allonger et se replie dans l'intérieur de la spermatide.
- 156. La membrane cellulaire s'est dissoute et le noyau se redresse.
- 157. Jeune spermatozoïde. La tête est déjà entièrement formée, tandis que la queue n'est qu'ébanchée.
- 158. Spermatozoïde mûr de *Salpa virgula*.
- 159. Une portion de la tête d'un spermatozoïde mûr (grossissement $2000/1$) montrant le fil spiral.
- 160. Spermatozoïde mûr traité à la potasse caustique. La nucléine a disparu, et le fil spiral n'est pas attaqué.





