

De l'origine des sphères directrices dans les cellules du sac embryonnaire 1902-1905

Autor(en): **Perriraz, J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **41 (1905)**

Heft 154

PDF erstellt am: **30.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-267594>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

DE L'ORIGINE DES SPHÈRES DIRECTRICES

DANS

LES CELLULES DU SAC EMBRYONNAIRE

1902-1905

PAR

J. PERRIRAZ

INTRODUCTION

Le but que je me propose est d'essayer de déterminer la véritable origine de la sphère directrice dans les cellules du sac embryonnaire.

J'ai entrepris cette étude avec l'intention d'apporter quelques lumières sur ce point si controversé.

Les recherches ont été opérées sur les plantes suivantes :

Allium ursinum. L.

Iris germanica. L.

Narcissus radiiflorus Salisb.

Galanthus nivalis. L.

Leucojum vernalis. L.

Genre *Tulipa*.

Boveri (95) entend par centrosome, un centre dynamique qui se trouve dans la cellule et qui par bipartition concourt à la formation de deux cellules filles ; cet auteur ajoute que l'on doit renoncer à caractériser le centrosome, soit par sa constitution, soit par la manière dont il agit vis-à-vis des matières colorantes.

La notion d'astrosphère chez Heidenhain (94) n'a d'application que comme désignation topographique. L'astrosphère n'est pas un organe au même titre que le noyau et n'est une particularité constante, ni de la cellule, ni d'un système centré.

Le nom de « sphère directrice » donné par Guignard (91) est, je crois, le terme qui convient le mieux à cet organe. Evidemment, ce terme implique une idée mécanique, repoussée par certains auteurs.

La sphère directrice se compose :

1° Au centre, d'un corpuscule se laissant fortement colorer : le centrosome ;

2° D'une zone ou « auréole », plus ou moins hyaline ; les réactifs agissant différemment suivant les cas. C'est la sphère attractive, le kinoplasma de Strassburger.

3° De l'aster formé par des fibres rayonnant autour de la sphère attractive.

Le centrosome est la partie principale ; il ne fait jamais défaut.

La sphère attractive peut manquer ; d'après Strassburger, un certain nombre d'algues en seraient dépourvues ; les filaments de l'aster viendraient se greffer directement sur le centrosome.

L'aster n'est pas toujours visible ; malgré cela, c'est, à mon avis, la partie la plus caractéristique de tout le complexe.

Il est à remarquer que la plupart des auteurs allemands se servent du terme de centrosome, soit pour désigner la sphère directrice entière, soit pour indiquer spécialement le centrosome. Il en résulte une confusion regrettable.

C'est cette région qui empêche la confusion entre les sphères directrices et les chromosomes, nageant dans le cytoplasma et entre les portions d'anses chromatiques, excessivement petites, détachées pour une raison quelcon-

que ou, dans quelques cas, entre des nucléoles cytoplasmatiques.

Les filaments de l'aster, facilement décelables avec les réactifs colorants, ne sont pas visibles à l'état de repos de la cellule. L'aster, par ses irradiations, met les deux sphères en communication au travers du fuseau et formerait ainsi le fuseau central, à l'opposé duquel se trouvent les « cônes antipodes » de Delages.

Une chose étonne : c'est la divergence des opinions quant à l'existence de cet organite. Il est admis maintenant par les auteurs ci-après que la sphère directrice existe :

Fol. (79), van Beneden (74), O. Hertwig (92), Ostwald, Platner (88), Boveri (86), Flemming (82), Solger (89), Heidenhain, Hermann (91), Ischikawa (91), Bütschli (73), Brauer (92), Watasé (93), Guignard (91), Karsten (93), Julin (93), van der Stricht (94), Henneguy (91), Farner (95) ; Belajeff (94), Mottier (97), Shaw (98), Strassburger (94), Meeves (98), Nemeč (98), etc., etc.).

Que ce n'est pas une simple illusion d'optique : Eismond (90), Mitrophonoff (94) ou une résultante toute mécanique : Bürger (92).

Quant à la présence ou à l'absence de la sphère directrice dans les êtres organisés, on ne peut encore établir des règles.

Si nous examinons les plantes inférieures, les diatomées, par exemple, on n'arrive pas à mettre en évidence la sphère directrice ; il est même fort probable qu'elle ne s'y trouve pas.

Chez les algues supérieures elle a été étudiée par Strassburger (89) et ses élèves. D'après eux, elle existe, mais sous une forme peu caractérisée. L'on peut même mettre en évidence des chromosomes avec zone hyaline et confondre ainsi deux choses différentes. La position, par rapport au fuseau, n'éluciderait même pas la question.

Les ascomycètes possèdent une masse limitée de kinoplasma, sans centrosome différencié, à laquelle Strassburger a donné le nom de « centrosplate ». Le Basidiobolus (Fairschild), dont la division nucléaire se manifeste au stade du fuseau par des pôles plats, montre des corpuscules fortement colorés, mais sans rayonnement astériforme. Les « Peziza » ont une masse active colorable aux pôles du fuseau.

Les Hépatiques, comme les Equisétacées n'en auraient pas.

Les Gymnospermes possèdent, par contre, des corpuscules colorés, des « blepharoplastes » qui, pour Ikeno (98), Hirase (97), sont des centrosomes; tandis que Webber (00) affirme qu'il n'y a aucun rapport entre les deux choses.

Les Monocotylédones donnent un matériel de première valeur pour l'étude des sphères directrices; les noyaux des cellules sont gros et les éléments en sont très visibles.

Les dicotylédones, peu étudiées à ce point de vue, semblent ne pas en posséder. Strassburger (01) les nie dans *Cynanchicum Vincetoxicum*, tandis que Raciborski (02) fait remarquer la facilité de démonstration de leur existence, chez les mêmes plantes. Il doit donc y avoir des erreurs de technique ou une différence d'interprétation. Osterwalder en décrit chez *Aconitum Napellus*.

Les cellules reproductrices animales étant en général plus grosses, le matériel se laissant mieux traiter, la sphère directrice est par conséquent mieux connue. On l'a trouvée non seulement dans les cellules des organes reproducteurs, l'œuf ou le spermatozoïde, mais dans des unités telles que les leucocytes, les cellules pigmentaires, nerveuses, épithéliales, etc.

Il me semble très risqué d'établir un parallèle entre les animaux et les plantes quant au développement de la cellule et sa division ultérieure. On a voulu voir des ressemblances, des rapports, dans certains phénomènes qui pa-

raissent au premier abord identiques, mais qui, étudiés plus minutieusement sont complètement différents. Cela ne peut être fait dans le domaine qui nous occupe. Des méthodes de recherches absolument semblables donnent très souvent des résultats fort différents, suivant que l'on s'adresse aux plantes ou aux animaux.

Le zoologiste se servira de certains réactifs qui donneront des résultats excellents. Des recherches botaniques exécutées suivant des méthodes semblables et avec les mêmes agents fixateurs et colorants ne fournissent que des résultats inexacts ou entachés d'erreurs.

Strassburger (oo) et Körnicke emploient, disent-ils, les méthodes de Meeves et Flemming. Ces méthodes peuvent être excellentes pour des recherches zoologiques, sans que pour cela les résultats fussent analogues, lorsqu'elles seront appliquées à des pièces végétales.

Je crois que les recherches botaniques doivent être menées d'une manière toute spéciale en raison de la difficulté de fixation et de l'emploi des matières colorantes.

Pour le fixateur, on se heurte à une diffusion peu rapide, les parois de la cellule ne laissant agir les agents fixateurs qu'avec une extrême lenteur.

En conséquence, il faudra se servir de réactifs spécialement appropriés à la recherche que l'on veut exécuter. Il faut naturellement tenir bien compte de la nature chimique des corps qui seront en présence.

Dans les préparations zoologiques, les membranes plus perméables ne ralentissent pas d'une manière sensible la fixation, facteur très important pour une étude sérieuse. A plusieurs reprises, je me suis servi des méthodes employées en zoologie ; elles ne m'ont jamais donné des résultats aussi satisfaisants que les méthodes spéciales. En général, par les premières, on arrive à un durcissement de la membrane tel que le rasoir du microtome éraille sans couper les pièces à étudier.

Peu de méthodes sont d'une application générale ; la plupart ne doivent servir que dans certains cas particuliers et bien déterminés.

Les différences constatées dans les résultats donnés par l'étude d'un même objet, chez une même plante, étude faite par des auteurs différents, proviennent assez souvent des méthodes de fixation et de la technique employées.

Il serait donc d'un intérêt général d'indiquer minutieusement les méthodes suivies, ceci pour permettre un contrôle sérieux fait dans les mêmes conditions. Le même objet traité différemment, mais dans un même but d'étude ne peut donner que des comparaisons souvent très relatives.

On a voulu voir dans la sphère directrice un organisme devant se trouver sans exception chez tous les êtres organisés, aussi bien chez les plantes que chez les animaux. Cela doit être une erreur que l'expérience continuera peut-être à prouver.

Il me paraît donc beaucoup plus rationnel d'appliquer la grande loi d'évolution et il est tout indiqué qu'elle est applicable également à la sphère directrice.

Si nous prenons les plantes inférieures, le noyau n'y ayant pas encore été reconnu d'une façon certaine, la sphère directrice, si elle existe, sera forcément très simple, peut-être même qu'un simple chromosome peu ou pas différencié, la remplacera. Il serait apte à diriger les phénomènes de la mitose.

Chez les algues supérieures, la sphère directrice est formée, mais elle n'a pas encore atteint son complet développement ; la sphère attractive fait quelquefois défaut, tandis que d'autres fois nous n'avons à faire qu'à un véritable chromosome différencié pour les besoins du moment.

Les Gymnospermes accusent un degré de plus dans le développement de cet organite.

Viennent ensuite les Monocotylées. Chez les plantes de ce groupe, la sphère directrice est complètement individualisée : ses trois parties sont très bien accusées ; nous aurions ainsi le summum de son développement.

Chez les dicotylées, par contre, la régression aurait lieu, ceci d'après les faits exposés dans les derniers travaux de Strassburger.

Peut-être qu'une relation semblable pourrait s'appliquer chez les animaux ; la suite des recherches montrera quelle est la valeur de cette assertion.

Le cycle évolutif de la sphère directrice n'a pas encore été suivi d'une manière rigoureuse. On peut classer les auteurs qui se sont occupés de cette question en deux grands groupes :

1° Ceux qui nient son existence, tels que Bürger (92), Eismond (90), Mitrophanoff (94), Carnoy (97) Lebrun (97) et, d'une manière générale, l'école de Louvain, etc.

2° Ceux qui admettent son existence.

Ces derniers peuvent se répartir en trois groupes très distincts.

a) Les auteurs lui attribuant une origine nucléolaire Wasielewski (93), Karsten (93), O. Hertwig (92), Julin (93), etc.

b) une origine nucléaire : van Beneden (84), Fol. (79), Boveri (86), Bütschli (85), Brauer (93), etc.

c) Une origine microsomique : Watasé (93), van der Stricht (94), etc.

CHAPITRE I

Technique.

Pour fixer les pièces, je me suis servi des solutions suivantes :

- I. Solution de Behrens I ;
- II. Solution de Behrens II ;
- III. Solution de Flemming ;
- IV. Solution de Pacini I ;
- V. Solution de Pacini II ;
- VI. Solution d'acide osmique 1 % ;
- VII. Solution saturée d'acide picrique dans de l'eau tiède (200 volumes), puis addition de 2 à 3 volumes d'alcool absolu ;
- VIII. Solution d'acide acétique 0,10 % — 100 part. et sol. d'acide chromique 0,20 % 100 part. ;
- IX. Solution concentrée d'acide picrique dans de l'alcool à 50 % ;
- X. Solution de sublimé 1 %, 100 cm³ ;
Solution d'acide acétique 1 %, 100 cm³ ;
- XI. Solution de Ripart ;
- XII. Solution de Kleinenberg ;
- XIII. Solution de Rabl.

Ces différents réactifs ont été employés dans le but de comparer les méthodes et les résultats obtenus. Tous peuvent donner de bonnes préparations si l'on veut examiner soit le protoplasma, soit le noyau, le boyau nucléinien ou les nucléoles.

La solution de Flemming est à recommander ; mais il faut avoir soin d'opérer de nombreux lavages avant de conserver les pièces dans l'alcool.

Les solutions à base d'acide picrique sont d'un très bon emploi dans l'étude du noyau. En effet, par une gélifica-

tion plus ou moins intense de la membrane, elle pourra s'employer avec succès pour l'examen des parties internes, du noyau, par exemple. Il ne faut cependant pas que l'acide soit employé pur, son action serait trop intense; l'addition d'un peu d'alcool annihile un peu son effet, ce qui donne des résultats plus précis. Il ne faudrait pas employer ces solutions pour l'étude de la caryocinèse, les figures étant trop peu nettes.

Les solutions de Pacini remplissent le même but; les contours nucléaires, dans les jeunes noyaux sont peu distincts et les nucléoles quelquefois mis en liberté. Leur étude en est très facilitée. Il y a un inconvénient à s'en servir si les cellules sont en voie de division. Les figures mitosiques sont très peu précises; elles apparaissent comme des plaques photographiques dont l'image serait « floue ». Le dessin ne pourrait en être fait exactement.

D'une manière générale, il faut opérer des lavages à l'eau distillée pendant plusieurs heures et même plusieurs jours après la fixation; ils ne seront jamais trop bien faits.

Beaucoup d'auteurs préconisent l'emploi de l'alcool absolu comme fixateur. Je ne saurais approuver cette méthode, vu que la plupart des pièces traitées de cette manière-là m'ont donné les résultats les plus médiocres.

Comme les agents fixateurs ont une importance capitale pour la suite des opérations, j'en ai cherché de nouveaux. Je me suis spécialement servi des solutions de sels d'argent :

XIV. Solution de nitrate d'argent à 5 %;

XV. Solution de nitrate d'argent à 2 % 10 p.; alcool absolu 10 parties ;

XVI. Solution de nitrate d'argent 2 % 50 p.; solution d'acide osmique 1 % 50 p. ;

XVII. Solution d'acide osmique 1 %, 4 cm³,

Solution de nitrate d'argent 1 %, 35 cm³,

Solution saturée d'acide picrique dans H₂O, 25 cm³.

Alcool absolu, 25 cm³.

Ces différents réactifs m'ont donné de bons résultats et je ne suis pas d'accord avec Lee, lorsqu'il dit :

« Hölenstein *ist absolut unverlässlich in seinen Wirkungen*. Le nitrate d'argent employé à forte dose, soit 5 %, donne de bonnes préparations pour les noyaux au repos. Wasielewski s'en est servi à 1 % et le déclare utilisable dans le cas précité et pour l'examen des chromosomes.

La solution n° XVI peut être utilisée également pour toutes les parties de la cellule. La rétraction est insensible ; elle ne se traduit que par un léger décollement du protoplasme au contact de la membrane.

La solution n° XV est également bonne. Elle produit une rétraction très minime. Les membranes restent intactes, et on ne peut s'en servir qu'avec succès dans l'examen du cytoplasma.

La solution n° XVII est, sans contredit, celle qui donne les meilleurs résultats. Le protoplasma est dans sa position initiale et le noyau se présente sans rétrécissement appréciable.

De plus, les pièces traitées par ces différents réactifs possèdent le grand avantage de se colorer avec beaucoup de vigueur par l'hématoxyline et la safranine, par exemple. Cela permet l'emploi d'une solution très diluée du colorant, et par le fait l'obtention d'une plus grande netteté de coloration.

Ces solutions doivent être préparées au moment de leur usage. En général, je les composais le matin, entre 5 et 7 heures, et les pièces étaient fixées sitôt après. La préparation des solutions XIV, XV et XVI n'offre rien de particulier. La solution XVII était faite comme suit : Les différents liquides la composant étant prêts, je prenais le nitrate d'argent dissous dans l'eau, auquel j'ajoutais l'acide picrique à chaud ; ensuite venait l'acide osmique en solution dans les 25 cm³ d'alcool absolu ; puis le tout était

porté au bain-marie pendant quelques minutes ; la température ne devant pas s'élever au-dessus de 45° à 50°. Le liquide fixateur se refroidissait en chambre noire.

Il faut naturellement que la fixation s'opère à l'obscurité et il vaut mieux pratiquer entre 25° et 30°. L'effet est plus rapide, par conséquent, meilleur.

Les pièces passées aux différents alcools se conservent très longtemps dans un parfait état.

L'inclusion est une opération qui demande beaucoup de soins. Les meilleurs résultats furent obtenus par le passage des pièces dans les solutions suivantes :

On prépare à l'avance :

1^{re} série.

Alcool 75 %	xylol 25 %
» 50 %	» 50 %
» 25 %	» 75 %
	» 100 %

2^e série.

Xylol 85 %	paraffine 15 parties	35°
» 70 %	» 30 »	35°
» 50 %	» 50 »	38°
» 25 %	» 75 »	45°
» 5 %	» 95 »	45°
	100 »	50°

Les ovaires sont placés de 8 en 8 heures dans les liquides de la 1^{re} série, après quoi, opérant entre 40° et 45°, on se sert de la série II, pour terminer par la paraffine pure.

Il faut alors se servir de paraffine fondant à des températures de plus en plus élevées, pour terminer par celles dont le point de fusion est voisin de 58°.

Les pièces y sont alors maintenues pendant 30 à 36 heures. On doit travailler très soigneusement. Si l'on omet l'une ou l'autre des solutions précitées, on s'expose à une

inclusion incomplète. Il peut même se produire des altérations à l'intérieur des cellules, ce qui mène nécessairement à une équivoque ou à des résultats inexacts. Ces différentes solutions doivent imprégner très lentement les pièces, de manière que l'inclusion se fasse insensiblement.

Plus le traitement par la série II est long, meilleures sont les pièces.

Un examen comparatif pourra prouver la chose.

La coloration peut se faire de trois manières différentes :

I. La coloration in-toto par la paraffine.

Cette méthode peut avoir quelques avantages lorsque les pièces sont très petites ; de plus, les surcolorations ne sont pas à craindre.

Tout d'abord, la paraffine ne doit pas être trop dure ; les meilleures sont celles dont le point de fusion varie entre 35° et 40°. On pratique la coloration à l'avance ; quelques matières s'y dissolvent ou s'émulsionnent très bien. Telles sont : le vert de méthyle, le bleu de méthylène, l'orange G. D'autres, comme les hématoxylines, l'éosine, la safranine, le brun de Bismarck, n'agissent qu'à la longue et vers 60° ou 70°. Pour en faciliter l'action, il faut remuer de temps à autre et maintenir le tout dans l'étuve pendant 72 heures environ. Il vaut mieux ne pas se servir d'agents dissolvants pour faciliter la coloration de la paraffine. Cela peut occasionner des déboires dans la suite des opérations. Avant de pratiquer l'inclusion, il faut faire passer les pièces dans les séries I et II du paragraphe précédent.

II. Coloration in-toto directe.

Je me suis servi dans ce but de l'hématoxyline de Delafield, de l'H. de Heidenhain, de la safranine pure, de la safranine en solution dans l'eau d'aniline.

La méthode des doubles colorations est difficilement applicable. On ne sait, en effet, si les parties internes sont atteintes; l'on risque aussi, lorsque les lavages ne sont pas bien faits, d'obtenir des précipités. Les pièces colorées par l'hématoxyline de Delafield sont restées dans la solution diluée pendant 24 heures, après quoi elles passaient dans huit ou neuf eaux de lavage dans l'espace de 52 heures.

La déshydratation s'est faite par la série des alcools 1, 5, 20, 50, 75 % et alcool absolu.

La suite de ces liqueurs est nécessaire pour éviter la formation de précipités. Pour les traitements avec l'hématoxiline de Heidenhain, il faut être encore plus prudent et ne pas craindre de laver les pièces pendant 96 heures de suite dans des eaux légèrement alunées, auxquelles j'ajoutais quelques gouttes d'acide acétique.

Ces colorants sont excellents pour l'examen des noyaux en mitose. Le nucléole est examiné après coloration à la safranine en solution dans l'eau d'aniline.

Il faut opérer une surcoloration très intense, puis décolorer très lentement. La surcoloration n'est jamais poussée trop loin; le point délicat est la décoloration.

Cette méthode donne de bons résultats, lorsqu'elle est appliquée à de petites pièces.

III. Coloration des coupes.

Cette méthode, beaucoup plus longue que les deux précédentes est utilisable dans tous les cas. De plus, on peut observer directement l'effet du colorant. Je me suis servi des matières colorantes précédemment citées. Les colorations doubles et triples donnent des résultats excellents.

La méthode de Flemming, safranine, violet de gentiane, orange G., l'hématoxyline de Delafield et la safranine ont été employées. Ces deux derniers colorants ont le grand avantage de faire ressortir avec intensité tous les corps

nucléolaires en rouge, tandis que le reste du noyau devient violet.

Les coupes examinées étaient d'une épaisseur de 5 μ et au-dessous. Souvent elles ne dépassaient pas 3 μ . Ce n'est qu'après leur fixation sur porte-objet ou mieux encore sur couvre-objet qu'elles étaient traitées par les colorants. La paraffine a toujours été dissoute dans le xylol.

CHAPITRE II

Avant d'entreprendre un travail aussi délicat, une étude préliminaire est nécessaire ; j'ai repris un sujet déjà traité, afin d'essayer différentes méthodes pour en comparer les résultats. Je me suis servi, à cet effet, du *Lilium Martha-gon* ; les résultats obtenus sont semblables à ceux trouvés par Guignard (90), au moins dans leurs grandes lignes.

C'est cet auteur qui, le premier, mit en évidence les sphères directrices. Ces dernières se distinguaient des nucléoles par les caractères suivants.

Le nucléole est formé d'une substance homogène de grosseur variable, et presque toujours supérieure à celle du corpuscule central, soit du centrosome. De plus, dans les différents stades de la mitose, les nucléoles ne restent pas dans la masse nucléaire.

Les sphères directrices par contre, possèdent un corpuscule central, entouré d'une zone moins colorable ; leur diamètre est sensiblement constant. Dans ses « Nouvelles études sur la fécondation », Guignard (94) a donné quelques détails sur le fonctionnement des sphères directrices. Elles n'entreraient en activité qu'après la formation des segments chromatiques. Des stries protoplasmiques les entourent ; elles s'écartent pour se fixer, suivant l'axe longitudinal de la cellule. A ce moment, les stries sont plus nettes aux environs immédiats de la sphère, s'atténuant

dans le reste de la cellule. Les asters ne se complètent qu'après la résorption de la membrane nucléaire, phénomène commençant dans le voisinage du centrosome. On voit alors les filaments s'avancer dans le noyau et finir par relier les deux sphères.

J'ai examiné la germination des grains de pollen, la fécondation et les phénomènes de division qui en résultent, sans cependant m'attarder trop aux détails de la mitose. De plus, quelques essais-contrôles sur d'autres plantes, des *Lilium*, *Fritillaria* en particulier, m'ont donné des figures à peu près semblables à celles des auteurs précédemment cités.

Pour la recherche de l'origine des sphères directrices, il fallait tout d'abord étudier le noyau au repos.

Les pièces fixées au moyen des solutions III, VI, XIV, XV, XVI, XVII, donnent de très bonnes préparations ; le noyau ne subit que peu de contraction, ce qui facilite de beaucoup l'étude de cet organe ; sa grosseur varie entre 7 et 12 μ .

Quels que soient les matériaux employés, on le voit entouré de sa membrane. Sa matière nucléaire se trouve comme formée par une quantité de petits morceaux de nucléine, disposés sans ordre apparent. A l'intérieur un ou plusieurs nucléoles n'ayant pas de positions nettement déterminées, se colorent en rouge clair par la safranine. Je n'ai jamais constaté de sphères directrices dans le cytoplasma lorsque le noyau est au repos.

On voit bien de temps à autre des *microsomes* entourés par l'aurole caractéristique de la sphère attractive ; ils se *meuvent* continuellement sans occuper jamais de position parfaitement fixe ; l'observation doit se faire sur une cellule encore vivante dans de l'eau légèrement salée.

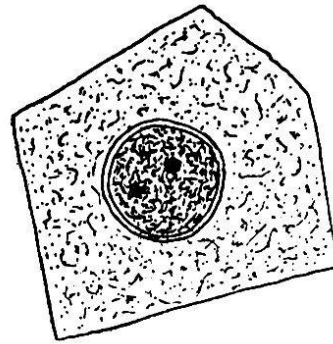


FIG. 1. — Noyau à l'état de repos ; grandeur 9,7 μ ; *Allium*.

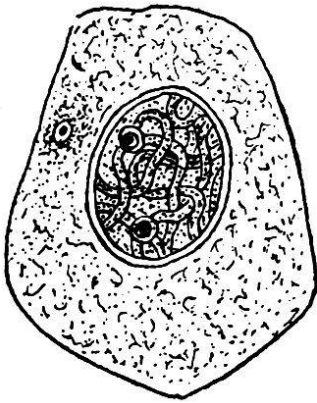


FIG. 2. — Cellule contenant dans son cytoplasma un nucléole extranucléaire ; grandeur du nucléole $1,3\mu$ Nareissus.

Ces microsomes n'ont aucun rapport avec la sphère directrice comme nous le verrons par la suite. Ce sont ces corpuscules que certains auteurs ont nommé centrosomes, bien à tort, car leur origine est indéterminée et leur fonctionnement est tout à fait différent.

D'autres fois aussi, de très petits *nucléoles* cytoplasmiques se trouvent à l'extérieur du noyau ; le cas est même assez fréquent. Il est facile

de les reconnaître au moyen des réactifs colorants.

Ces nucléoles extra-nucléaires ont été décrits par Demoor (95) pour les poils staminaux de *Tradescantia*. Cet auteur les avait obtenus par l'action du froid. Karsten (93) met en garde contre la dénomination de centrosomes qu'on a voulu leur donner ; d'autant plus que pendant la mitose, ils se placent quelquefois dans une position semblable, aux pôles du noyau. Debski (98) les a constatés chez *Chara* et pense qu'ils existent normalement dans le protoplasma.

Il faut bien spécifier ce qu'est le noyau à l'état de repos. A ce stade les échanges nutritifs atteignent leur maximum d'intensité ; il y a augmentation de volume. A ce moment le noyau renferme un ou plusieurs nucléoles ; ils ont l'aspect de petites sphères placées dans des positions quelconques les unes par rapport aux autres. Au moment de leur formation, on les voit comme de gros chromosomes, qui augmentent rapidement de volume. En même temps, il se forme assez souvent une « auréole » hyaline ; cette partie là est très probablement composée d'une nucléo-albumine, zone ne se laissant colorer que très faiblement. La membrane du noyau a partout la même épaisseur ; elle est très avide des colorants généralement employés ;

il faut donc opérer avec précaution pour que la tinction ne soit pas trop forte, surtout pour l'examen des parties internes du noyau.

A un moment donné, quand le nucléole est arrivé à son complet développement, on aperçoit souvent une ou plusieurs vacuoles plus ou moins grosses ; elles sont facilement décelables dans les gros noyaux des cellules du sac embryonnaire, et dans les stades primaires de son développement.

D'après les nombreuses observations, (80 000 coupes) que j'ai eu l'occasion de faire, il semble que ce phénomène est un signe de dégénérescence.

Dans les cellules qui subissent une division rapide, il ne m'est jamais arrivé de rencontrer de nucléoles vacuolaires. Je me suis demandé si ce n'était pas l'effet du réactif : je ne le crois pas. Il semble tout d'abord que les réactifs picriques donnent plus souvent ces figures que les autres ; mais par l'examen statistique des pièces traitées par les différents agents, on s'aperçoit que tous en donnent de semblables ; par conséquent le réactif ne peut avoir qu'une importance tout à fait secondaire, si ce n'est nulle.

Les nucléoles examinés à l'état frais et non fixés, laissent voir des vacuoles, peu visibles il est vrai, mais suffisamment décelables pour garantir leur existence. Leur gros-

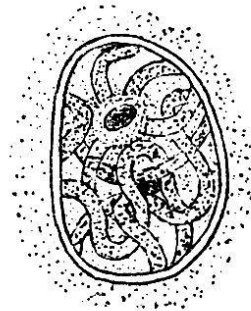


FIG. 3. — Noyau pourvu d'un nucléole avec vacuoles. Grandeur $\frac{10,8}{8,9} \mu$. Galanthus.

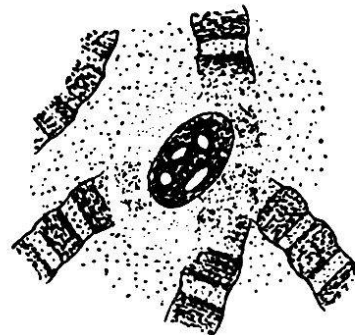


FIG. 4. — Nucléole de la figure précédente examiné à un grossissement plus fort. Grandeur $\frac{3,7}{2,4} \mu$.

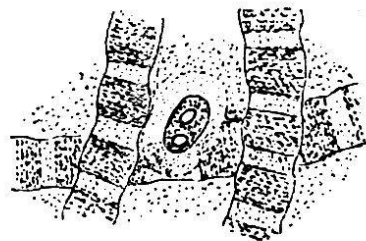


FIG. 5. — Autre nucléole vacuolaire. Grandeur $\frac{4,2}{2,6} \mu$. Narcissus.

seur peut varier dans d'énormes proportions. De plus elles doivent être remplies par un liquide visqueux.

Ces vacuoles doivent être un signe de dégénérescence.

En effet, par l'emploi de réactifs colorants énergiques, lorsque le nucléole est assez gros pour permettre d'en faire plusieurs coupes, on aperçoit une masse irrégulière, légèrement colorée. Pour cette observation, on est obligé de se servir des colorations de coupes. Il est même utile de faire agir un mordant avant l'emploi du colorant.

Assez fréquemment on constate la présence d'une *cavité*; ceci est dû simplement à un accident de technique; car, dans les nombreuses manipulations que subissent ces pièces, il est très difficile de ne pas érailler des parties aussi délicates.

En effet, si l'augmentation de volume dépasse une limite déterminée, il se produit des cavités, la matière nucléolaire existant en trop petite quantité. Ces cavités ne peuvent être remplies par un gaz.

Ce suc nucléolaire *semble* se coaguler par *certaines* réactifs. D'une manière générale les matières colorantes n'ont que fort peu d'effet sur lui; les solutions anilénées aqueuses et alcooliques; les mêmes à base d'éosine le colorent en rose très pâle; les pièces mordancées à l'alun puis traitées par les hématoxylines, spécialement celle de Heidenhain, donnent une coloration bleu-clair.

Dans les cellules parvenues à leur accroissement maximum, on voit dans certains nucléoles non pourvus de vacuoles, une ou deux granulations : des *centrioles*.

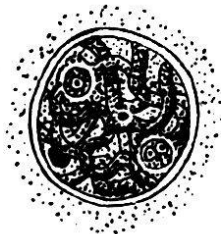


FIG. 6. — Noyau pourvu de 3 nucléoles, dont 2 contiennent des centrioles; le troisième est homogène. Grandeur 7,8 μ . Galanthus.

Je crois pouvoir affirmer que ce ne sont les résultats ni des réactifs, ni des colorants. Quelquefois dans les pièces fixées à l'aide de réactifs osmiques ou d'argent, il se forme des précipités dus à une réduction trop vive; mais cela

ne se produit que sur une faible épaisseur. Pour enlever cette chance d'erreur, je me suis servi de réactifs sans sels métalliques. On a beaucoup de peine à fixer convenablement des parties aussi délicates ; on peut toutefois, en opérant avec soin, constater dans certains nucléoles spéciaux l'existence de un ou deux centrioles ; ils apparaissent foncés sur la plage plus claire du nucléole.

Je me suis demandé, si peut-être ce n'était pas dû à quelque impureté.

Cette dernière objection n'a aucune valeur ; si ces corpuscules étaient des impuretés, on ne les retrouverait pas si souvent et surtout pas dans des pièces traitées si différemment.

Serait-ce peut-être une illusion d'optique ?

Je ne le pense pas non plus ; car l'on peut très bien se rendre compte des plans dans lesquels ces centrioles se trouvent.

Il me semble que ce sont donc bien des centrioles. Il est à remarquer que quand les vacuoles existent, on ne trouve jamais de granulations. La position de ces corpuscules dans le nucléole est généralement sur le plus grand diamètre, car il se produit un allongement qui donne au nucléole une forme ellipsoïdale.

On peut se demander si l'on n'a pas à faire à une vacuole « favorisée », vacuole qui se serait ainsi différenciée pour servir dans un but déterminé. La question est difficile à résoudre ; mais je ne crois pas la chose probable. En effet, si le centriole avait une telle origine, on devrait pouvoir assister à sa formation, en examinant une série de noyaux en voie de croissance. Je n'ai jamais pu constater le fait et ne suis, par conséquent, pas en état de me prononcer.

Tous les nucléoles n'en possèdent pas. Je n'en ai jamais trouvé plus de deux dans le même noyau. Lorsque plusieurs nucléoles se trouvent dans la même unité, deux en général contiennent de ces granulations ; les autres ne pos-



FIG. 7.— Noyau pourvu de 4 nucléoles, dont 2 homogènes et les 2 autres possédant des centrioles. Grandeur 9,8 μ . Galanthus.

sèdent que des vacuoles, mais le fait est relativement rare.

Ces dernières ont déjà été signalées par la plupart des auteurs, mais on ne connaît ni leur origine, ni leur cause formatrice.

Nous verrons, dans la suite de cette étude, que les nucléoles pourvus de vacuoles disparaissent petit à petit sans laisser de trace, tandis que ceux qui

sont pourvus de centrioles jouent un rôle prépondérant dans la mitose.

Ces granulations sont en outre entourées d'une « auréole » se décelant fort bien par la safranine en solution dans l'eau d'aniline; l'hématoxyline donne aussi de bonnes colorations.

D'une manière générale, pour examiner ces granulations, le fixateur doit contenir de l'acide picrique de manière à gélifier légèrement les membranes; cette modification ne doit pas être trop intense, car il est nécessaire de pouvoir observer très nettement les deux bords de la membrane. De plus, il faut opérer une surcoloration très accusée. Lorsque l'on emploie la safranine par exemple, les noyaux doivent former une tache rouge sombre dans laquelle il est impossible de déceler quoi que ce soit. On décolore ensuite très lentement. Quand cette dernière opération est poussée trop rapidement, on risque de désagréger la pièce et de n'obtenir aucun résultat,

Au début de la mitose, lorsque les éléments nucléiniens s'ordonnent pour l'élaboration du boyau, il se produit dans le noyau des mouvements assez importants. Les nucléoles à granulations qui, jusqu'à ce moment, occupent une position quelconque les uns par rapport aux autres, se dirigent alors vers les deux pôles de la cellule, en suivant le grand axe, lorsqu'il existe; mais ils ne subissent

aucune déformation appréciable. Les réactifs ne permettent pas de reconnaître de modifications dans la membrane nucléaire; l'épaisseur est restée la même sur tout son pourtour, et sa composition semble ne pas avoir changé.

Dès que les nucléoles sont arrivés à une faible distance des bords du noyau, la membrane subit un enfoncement très appréciable; le phénomène commence par un léger aplatissement qui s'accroît de plus en plus pour se terminer par la formation d'une petite cuvette.

Ce fait a déjà été signalé par plusieurs auteurs.

Brauer (93) a vu le centrosome contre la membrane nucléaire et dans une dé-

pression. Au moment de la mitose, la membrane est perforée. L'ouverture formée avait déjà été observée en 1871 par Auerbach qui, il est vrai, lui donnait une destination toute spéciale.

O. Hertwig (92) soutient qu'au commencement de la division indirecte, le carpuscule polaire apparaît contre la surface de la membrane nucléaire et que ce n'est que plus tard qu'il s'en éloignerait pour entrer dans le cytoplasma. Quand il apparaît, la membrane est souvent affaissée, comme si du suc nucléaire était sorti par un petit orifice.

Van der Stricht (94) admet que les sphères attractives



FIG. 8. — Noyau possédant une légère excavation du côté de la zone nucléolaire. Grandeur 10, 2 μ . Galanthus.

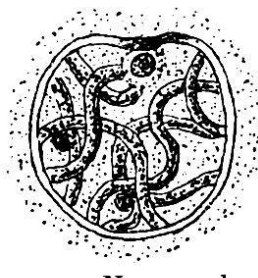


FIG. 9. — Noyau dont la membrane commence à disparaître; le nucléole entre en contact avec l'invagination. Grandeur 10,4 μ . Galanthus.

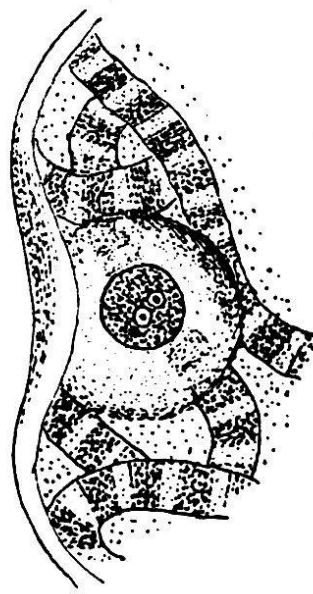


FIG. 10. — Légère invagination vers laquelle s'est dirigé le nucléole. Grandeur 4,3 μ . Galanthus.

et le centrosome apparaissent dans une excavation de la membrane, quelquefois aux deux pôles du noyau ; d'autres fois l'un près de l'autre.

Wasielewski (93) constate un affaissement de la membrane, comme si une certaine quantité de suc nucléaire qui la maintenait tendue avait diffusé et que le nucléole soit sorti ; cela se produisait quand les nucléoles disparaissaient dans le noyau.

Il me semble plus exact d'attribuer la formation de cette dépression à un mouvement attractif. Herwig (92) a voulu voir un affaissement produit par la sortie de liquide nucléaire, tandis que Wasielewski soutient que cela se produit « comme si du liquide était sorti. »

Je ne crois pas que cette hypothèse puisse être appliquée à ce cas particulier. Si une « petite quantité de liquide nucléaire » sortait à ce moment-là, on devrait le retrouver dans le cytoplasma, ce qui n'est pas le cas. On le reconnaîtrait facilement à l'aide de réactifs colorants et à l'absence très probable de microsomes dans la région avoisinante.

On pourra faire l'objection suivante : le liquide sorti ne subit pas l'influence des colorants. C'est pour cette raison que je me suis servi de colorants ayant des radicaux chimiques les plus divers et dissous dans des agents très variés ; mais je n'ai jamais pu recueillir de preuves certaines.

Plusieurs ouvrages constatent un ridement de la membrane dans cette cavité. Je n'ai observé la chose que d'une manière fort peu précise. Quelques réactifs tels que l'acide picrique concentré ou additionné d'une quantité d'alcool suffisante, produisent une gélification qui donne en effet l'impression d'une surface concave chagrinée. Mais l'aspect de cette partie change avec le réactif employé. Si on se sert comme agent fixateur d'alcool absolu, la membrane prend un aspect mamelonné ou verruqueux, irrégulier, où

l'on peut facilement distinguer les limites externe et interne. Les réactifs picriques donnent très souvent une masse indéterminée dans sa forme ; on ne peut définir la position exacte et les limites de cette partie du noyau.

En se servant par contre des réactifs XIV, XV, XVI, XVII, on observe une gélification partielle, les numéros III et VI donnent la même réaction, mais moins nettement.

Il me semble donc que c'est à l'effet du réactif qu'il faut attribuer les différents états sous lesquels la membrane se présente aux pôles du noyau.

J'ai essayé, en me servant de matériel frais, non fixé et non coloré, d'observer cette partie. En se servant de colorants même faibles, il se produit nécessairement un phénomène chimique plus ou moins intense. C'est pour empêcher cela que l'observation s'est faite dans l'eau, puis dans la glycérine. Il est très difficile de faire un examen minutieux du noyau et de sa membrane sans colorants. D'après quelques pièces particulièrement nettes, il m'a semblé que la membrane du noyau se gonflait simplement, comme par une forte imbibition d'eau. L'eau ajoutée au moment de l'observation peut avoir eu quelque influence, mais comme son action ne s'est pas prolongée au-delà de deux ou trois minutes, elle n'a pu être que très faible, si ce n'est nulle.

J'ai donc dit que je croyais à un phénomène purement attractif, plutôt qu'à une diffusion de liquide nucléaire :

La membrane, tout en n'ayant subi aucune modification chimique décelable, a cependant dû passer dans un état de stabilité beaucoup moins grande, puisque quelques heures plus tard elle disparaîtra. Si l'on admet cet état, sa résistance doit donc être beaucoup moins forte, tout phénomène d'attraction sera plus nettement visible dans son action. Le nucléole agissant par sa masse simultanément avec l'attraction moléculaire, l'existence de cette petite cuvette serait ainsi expliquée.

Nous avons constaté également la présence de l'ouverture déjà citée. Mais contrairement à l'opinion des auteurs déjà précités, nous prouverons plus tard qu'elle est destinée à livrer passage au nucléole. Il est à remarquer que cet orifice ne se produit que tardivement, alors que le filament chromatique va se scinder.

A ce moment commence la mitose proprement dite. Le boudin nucléinien se dépelotonne pour se diviser ensuite. Les nucléoles que nous avons laissés à une faible distance des pôles du noyau arrivent au contact de la membrane. Cette dernière subit une modification chimique lui donnant l'aspect d'une masse gélatineuse.

Ce changement ne se fait pas rapidement, elle s'épaissit petit à petit, puis ses bords internes et externes perdent de leur netteté.

Le cytoplasma n'est pas resté inactif, il a même été le siège d'un phénomène important. Osterhout (97) décrit des fibrilles protoplasmiques qui apparaissent au début de la prophase dans les cellules mères des spores chez *Equisetum*. Elles se disposent tout autour du noyau en un feuillage plus ou moins serré. Plus tard, tous ces éléments s'individualisent, puis prennent une position perpendiculaire à la surface du noyau. Ils se réunissent ensuite en deux faisceaux qui disparaissent avant la prophase, pour ne reparaitre que plus tard. Ils pénétreraient alors dans la masse nucléaire pour s'ordonner finalement suivant deux systèmes opposés en un fuseau bipolaire. Cet auteur conclut donc à la formation du fuseau aux dépens du cytoplasma.

Les fibrilles du fuseau se grefferaient ainsi sur la sphère attractive pour former une partie de l'aster.

Un grand nombre d'auteurs se rangent à cette manière de voir et soutiennent la même origine, tant au fuseau qu'à l'aster proprement dit. Farmer (96), Guignard (91), Dixon (95), trouvèrent des filaments autour des noyaux

des cellules reproductrices de *Fritillaria*, *Tulipa*, *Lilium*. Belajeff (92) constata des faits semblables chez *Larix europæa*.

Mottier (97) dans *Lilium Martagon*, *Lilium candidum*, *umbellatum*, *Helleborus foetidus*, *Podophyllum peltatum*.

M. et P. Bouin (01) entreprirent l'étude de filaments particuliers se trouvant chez les liliacées. Ils expliquent leur formation par un épaissement du réseau plasmatique, qui entoure immédiatement la périphérie du noyau. Dans une seconde phase, ces fibrilles s'isoleraient pour se répandre dans le cytoplasma ; à ce moment-là elles augmenteraient de diamètre.

Dans la troisième période, elles se disposent radialement au noyau, et par une transformation nouvelle, forment des bâtonnets. Ces derniers se dirigent ensuite vers les pôles du noyau ; puis, petit à petit, se résorbent en un certain nombre de corpuscules paranucléaires. Ces différents phénomènes se produisent avant la prophase. M. et P. Bouin n'identifient pas cette formation à celles précédemment citées.

Strassburger (00) décrit, lui aussi, l'apparition de fibrilles avant la prophase. Tout autour du noyau se trouve une mince couche de protoplasma hyalin ; au bout de peu de temps, il se strie très finement ; les filaments ainsi formés atteignent la membrane nucléaire qui disparaît ; tout ce complexe entre dans le noyau et va se fixer sur les chromosomes et aux pôles du noyau.

J'ai pu constater l'existence d'une formation semblable : soit l'apparition de fibrilles feutrant la périphérie du noyau.

Toutes les plantes que j'ai examinées les possédaient plus ou moins visibles. Au moyen d'une bonne technique, on arrive à les décélérer sûrement. Les cellules du sac embryonnaire en possèdent aussi. *Galanthus* et *Leucojum* donnent de bonnes préparations. Ces filaments sont excès-

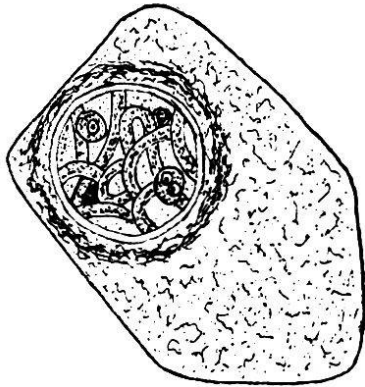


FIG. 11.— Noyau avec nucléoles ; le cytoplasma extra-nucléaire est envahi par des filaments. Grandeur 12,1 μ . Galanthus.

sivement ténus et il n'est pas toujours facile d'en obtenir des préparations nettes.

Ces striations naissent dans le cytoplasma sous la forme de fibrilles éparses dans toute la masse avoisinant le noyau ; ceci se passe pendant la période du repos complet, quand les nucléoles sont encore sphériques. Plus tard, elles se groupent en un feutrage lâche qui circonscrit autour

du noyau une zone plus claire que le reste du cytoplasma.

Quand la prophase commence, ces filaments se sont orientés en prenant deux centres d'attraction aux deux pôles du noyau ; ils deviennent de moins en moins visibles à mesure qu'ils se rapprochent de la membrane.

Comment expliquer ce fait ? Nous devons être en présence d'un phénomène chimique ; il doit y avoir des modifications dans les matières cellulaires, puisque les réactifs colorants ne donnent plus de réactions caractérisées. Ne se fixant pas sur ces striations, c'est que ces dernières ne sont plus les mêmes.

Est-ce à dire qu'elles n'existent plus ? Je ne le pense pas. Elles réapparaissent un peu plus tard, dans des positions différentes, et il n'y aurait aucune raison pour une disparition momentanée. Je croirais plutôt à un défaut d'observation inhérent à nos moyens actuels d'investigation. Les lumières monochromatiques et polarisées ne m'ont donné aucun résultat appréciable.

La division vraiment active va commencer ; la membrane se résorbe lentement, le boudin nucléinen se scinde en un certain nombre de parties qui formeront les anses chromatiques. Mais, auparavant, les nucléoles subissent des changements de forme et de position.

Karsten en 1893, publia le résultat de son étude sur le *Psilotum triquetrum* ; les faits suivants y sont relatés : lorsque la membrane d'enveloppe existe encore, les nucléoles situés à l'intérieur du noyau s'en rapprocheraient.

Quand l'enveloppe a disparu, pendant l'orientation des anses chromatiques, on voit les nucléoles pénétrer dans le cytoplasma ambiant. L'auteur fait remarquer que leur contour est très net ; ils se présentent sous un aspect homogène et très réfringant : leur coloration en rouge se fait très facilement par l'éosine hématoxylée.

J'ai remarqué que depuis le moment où les corps nucléaires se sont allongés en un ellipsoïde et transportés aux pôles du noyau, la membrane s'est gélifiée. On voit alors les deux nucléoles polaires, toujours entourés de leur zone claire, entrer en contact avec la membrane et précisément à l'endroit où la cuvette s'est formée. Au point de contact, l'enveloppe disparaît en se dissolvant dans le cytoplasma.

Il ne tarde pas à se faire une ouverture que plusieurs auteurs ont considérée comme pratiquée pour la sortie d'une certaine quantité de suc nucléaire.

On peut assister alors à un phénomène curieux. Le nucléole, pourvu d'un ou deux centrioles, s'engage lentement dans l'étroit chenal qui vient de se former. On

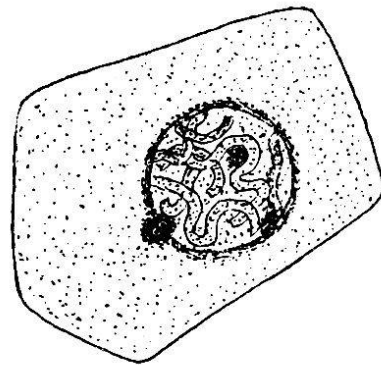


FIG. 12. — Nucléole sortant du noyau. Grandeur 9,9 μ . *Galanthus*.

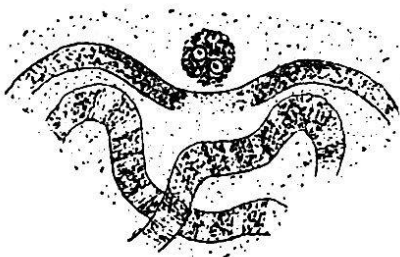


FIG. 13. — Nucléole sorti du noyau. Grandeur 4,7 μ . *Allium*.

le voit avancer petit à petit, jusqu'au moment où, arrivé dans le cytoplasma, il s'arrête dans une position bien déterminée à une faible distance de l'ouverture.

Le même fait se reproduit à l'autre pôle ; dans certaines préparations bien situées, on peut

voir dans l'épaisseur du noyau deux cavités, anciennes chambres où étaient contenus les nucléoles.

Dans un travail de Maréchal, paru dans le *Anat. Anz.*, N° 16, 1904, on voit dans plusieurs figures des formations tout à fait semblables à celles que j'ai observées chez *Galanthus*, alors que les coupes étaient très épaisses. Ce sont des sortes d'ouïes qui se prolongent vers la périphérie du noyau. Si Maréchal avait fait des coupes plus fines, de manière à partager ces protubérances, il aurait pu constater l'existence, à leur intérieur d'un nucléole : dans une des figures, il dessine deux de ces formations aux extrémités d'un diamètre.

Le boudin nucléinien se scinde pour former les anses chromatiques. Dans quelques pièces, on peut constater l'existence d'anses parfaitement libres.

Pour la préparation de ces derniers stades, il faut opérer avec une très grande minutie, afin de ne pas déplacer les éléments cellulaires. Une coloration qui donne de très bons résultats dans le cas qui nous occupe est la suivante : les pièces sont passées dans une solution concentrée de safranine aqueuse ou légèrement anilinée, puis lavages répétés et seconde coloration par l'hématoxyline de Delafield. Les lavages doivent être faits très minutieusement ; en dernier lieu, on peut se servir d'eaux contenant 1 : 100 ou 1 : 200 d'alun d'ammoniaque ou de potasse et y ajouter quelques gouttes d'acide acétique. Les coupes présentent un boudin nucléinien bleu violet, tandis que les nucléoles ou les corps nucléolaires sont d'un rouge légèrement carminé.

Les filaments que nous avons vus disparaître au moment de la gélification de la membrane du noyau, réapparaissent dans des positions légèrement modifiées. Ces striations prennent alors comme centres attractifs les points où se sont produites les ouvertures dans l'enveloppe nucléaire. Le fuseau se forme alors par un arrange-

ment de ces fibrilles qui, comme on le voit, n'ont rien de commun avec l'aster proprement dit.

Nous avons vu que le noyau à l'état de repos pouvait contenir plusieurs nucléoles, dont deux sont déjà sortis de la masse nucléaire. Les autres, que plusieurs auteurs ont vus pendant la mitose, se dissolvent dans la masse extranucléaire, phénomène qui se produit très lentement.

On les voit quelquefois sous la forme de granulations rouges, se mêler aux anses chromatiques, tandis que d'autres fois ils divaguent dans le cytoplasma sans but apparent.

Il est cependant à remarquer qu'on les rencontre de préférence près des anses chromatiques ou à leur contact. Ce qu'il y a de certain, c'est qu'au moment de la formation de la plaque équatoriale, il ne m'est

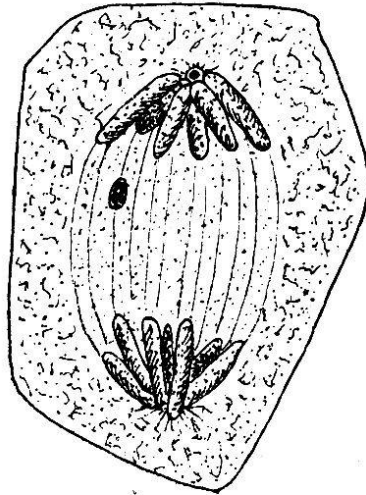


FIG. 14. — Nucléole non résorbé. Grandeur $\frac{13,5}{9} \mu$.
Galanthus.

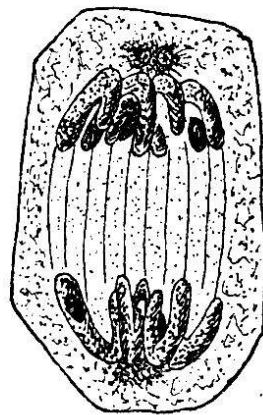


FIG. 15. — Fuseau pourvu de 2 nucléoles non encore résorbés et en contact avec les anses chromatiques. Grandeur $\frac{11,5}{8} \mu$,
Narcissus.

jamais arrivé d'en rencontrer dans la cellule, si ce n'est sous la forme indécise d'une masse rosée et sans contours délimités. Ces corpuscules semblent donc bien être là comme matières de réserve, formées pendant la période de croissance du noyau ; elles serviraient de nourriture pendant la mitose, au moment de la plus grande dépense d'énergie.

L'hypothèse soutenue par Julin (93), que les nucléoles sont des régulateurs de la vie cellulaire, semble donc en partie exacte.

Quant à prétendre que le nucléole est un petit noyau

dans un noyau plus grand, ceci est quelque peu risqué.

Tout d'abord au point de vue de leur composition chimique, les colorants démontrent suffisamment que ces deux organites sont différents. Les mêmes colorants ne donnant pas de réactions semblables, il y a nécessairement une différence dans leurs substances formatrices. De plus leurs modes fonctionnels et leurs buts respectifs sont complètement dissemblables.

Il n'y aurait donc de ressemblance qu'au point de vue morphologique et ceci n'est pas même certain.

Deux nucléoles que j'appellerai corps nucléolaires polaires, sortent du noyau et se tiennent à une faible distance de ce dernier ; les anses chromatiques ne sont pas définitivement orientées. Les corps nucléolaires polaires ont encore leurs contours très précis ; mais dès ce moment, leur netteté de lignes disparaît pour faire place à une zone vaguement teintée, sans limites précises. Les centrioles s'accusent de plus en plus, entourés de leur auréole hyaline.

En examinant une série de préparations, on n'arrive pas à établir le moment précis où les nucléoles deviennent indistincts. On observe une suite de changements imperceptibles, qui finissent par donner une figure ; au centre de cette dernière, on distingue une ou deux granulations nettement indiquées et entourées d'une auréole peu colorée.

Ces deux sphères sont entourées d'une masse qui semble limitée par une membrane ; l'ensemble se colore intensément par l'hématoxyline de Delafield et celle d'Heidenhain. Entre la zone hyaline et la masse colorée, la délimitation a lieu par une fausse membrane dont je n'ai pu déceler l'existence certaine ; à l'aide de forts grossissements, j'ai constaté d'une façon plus ou moins nette la constitution de cette pseudomembrane. Un nombre considérable de petites granulations se pressent les unes les autres, et donnent ainsi l'aspect d'une membrane par leur position

et leur grand nombre ; des granulations semblables, plus ténues il est vrai, existent dans la zone hyaline et entourent directement le centrosome ; leur nombre est restreint.

Suivant le mode de préparation, on passe insensiblement d'une zone à l'autre. Il m'a semblé que la délimitation entre ces deux régions est d'autant mieux marquée que la sphère directrice est plus près de fonctionner.

A ce moment-là, tout ce complexe subit un léger grossissement, qui se produit comme si un liquide imbibait la zone externe, Lorsqu'il atteint une grandeur maximale, il subit une condensation ; la masse se concentre autour des granulations, qui tendent à s'isoler.

J'ai constaté l'existence de deux grands groupes de nucléoles :

1° Les nucléoles homogènes ou vacuolaires, qui disparaissent pendant la division mitotique, en servant de matières de réserve.

2° Les nucléoles hétérogènes pourvus de granulations ou centrioles ; leur but est de donner naissance au centrosome et à la sphère attractive.

Dans les nucléoles pourvus d'une seule granulation, l'aster se forme immédiatement ; chez les autres, il se produit tout d'abord un étranglement ; la masse prend un aspect haltérimorphe, dont les extrémités sont occupées par les granulations. Les deux parties s'éloignent de plus en plus et la séparation s'opère.

A ce moment, les anses chromatiques sont orientées pour l'ascension polaire ; il est alors aisé d'examiner leur structure. Elles apparaissent comme une série de disques superposés fortement colorés ou d'amas enfermés dans un tuyau à peu près incolore. Il est impossible d'affirmer si ce sont des tores, des disques ou des corps ayant une forme quelconque. Dans tous les cas, on aperçoit aisément des masses colorées, séparées les unes des autres par des espaces très clairs.

Pour examiner la formation de l'aster, il faut procéder d'une façon toute spéciale.



FIG. 16. — Masse nucléolaire. Grandeur 3 μ . Galanthus.

Les coupes doivent être fortement fixées sur couvre ou porte-objet; après quoi on les laisse pendant 36 ou 48 heures dans une solution très étendue d'hématoxyline. La coloration se faisant avec une lenteur excessive, les moindres détails apparaissent avec une grande netteté. Les faibles grossissements laissent voir tout autour de l'ancienne masse nucléolaire une zone peu colorée, ayant un pourtour interne nettement défini; la limite cytoplasmatique, au contraire, est peu précise et ressemble à un brusque dégradé.

En examinant avec des objectifs puissants, on voit bientôt que toute cette zone n'est pas homogène; elle est formée par des filaments excessivement ténus, dont l'une des extrémités se trouve dans la masse même, tandis que l'autre semble se perdre dans la zone externe.

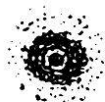


FIG. 18. — Formation plus avancée. Grandeur 3,2 μ . Galanthus.

A mesure que les contours nucléolaires disparaissent pour ne laisser en dernière analyse que deux centrioles: les sphères attractives avec leurs centrosomes, les filaments précipités se démêlent, s'individualisent, pour s'orienter ensuite. Ils n'existent pas en nombre considérable, il m'a été impossible de les compter exactement; leur nombre ne doit pas être supérieur à 25 ou 30.

Ces filaments deviennent alors perpendiculaires à la surface de la sphère et forment l'aster. On voit donc que le fuseau est complètement différent des rayons astériens quant à son origine.

Plusieurs auteurs ont constaté l'ab-



FIG. 17 — Eeutrage de filaments se dissolvant. Grandeur 2,6 μ . Galanthus.

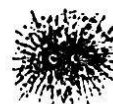


FIG. 19. — Sphères directrices complètement formées. Grandeur 6 μ . Galanthus.

sence de fibres du côté du noyau, dans les périodes qui succèdent à la scission et à l'orientation des anses chromatiques. Cette observation est exacte : la membrane, très souvent gonflée, masque entièrement les fibrilles de l'aster, du côté du noyau, à la fin de la première période.

Par contre, si dans des coupes épaisses, on réussit à voir l'aster dans une position oblique par rapport au noyau, on remarque que ces fibrilles ne sont pas discontinues, mais simplement masquées dans cette partie-là.

Pour toutes ces recherches, il faut se servir de coupes fraîchement préparées, car, dans l'examen de l'aster en formation, les préparations se détériorent très rapidement.

Au bout de quelques jours, grâce à l'action, soit des agents colorants, soit du Baume de Canada, on n'aperçoit plus qu'une masse floue, sans éléments individualisés. Les recherches ne doivent pas se faire à l'aide de réactifs picriques. Il faut empêcher toute gélification englobant les détails de structure. Les fixateurs XVI et XVII donnent de bons résultats.

Nous avons ainsi deux fuseaux complètement différents quant à leur origine ; mais il est impossible de les individualiser au moment de l'ascension.

La sphère directrice est complètement formée. Le nucléole a donné naissance au centrosome et à la sphère attractive d'une part, tandis que l'aster a une origine purement cytoplasmique, indépendante du fuseau proprement dit.

L'ascension polaire se produit alors. Les anses chromatiques se dirigent vers les deux pôles du noyau.

Bon nombre d'auteurs ont relaté un épaississement des fibres du fuseau, à mesure que le phénomène progresse.

L'observation est exacte ; elle ne me paraît pas coïncider avec l'emploi du réactif ; ceux qui contiennent de l'alcool déterminent des formations plus nettes.

Le nitrate d'argent, les chlorures d'or et de platine sont spécialement à recommander dans le cas particulier.

Quand l'ascension est terminée, on remarque près des sphères directrices des filaments, probablement ceux de l'aster, beaucoup plus épais à l'un des bouts qu'à l'autre. Il ne m'a pas été possible de déterminer exactement leur origine, vu la délicatesse de ces parties : le fonctionnement de la sphère directrice eût été plus facile à étudier. Si, comme je le crois, ce sont les filaments de l'aster qui grossissent, il semble tout indiqué que c'est grâce à eux que se fait l'ascension.

En effet, ils ont pris naissance dans le cytoplasma ; un allongement s'est produit, puis jonction très probable des deux sphères. Leur fixation s'est ensuite opérée sur les parties chromatiques. Leur course a commencé, prenant comme fils directeurs les filaments du fuseau proprement dit, les anses étant fixées sur les fibres de l'aster. Ces dernières se contractent et le processus de l'ascension polaire pourrait ainsi s'expliquer.

Les anses sont arrivées aux pôles du fuseau ; à ce moment, les filaments achromatiques perdent leur peu d'individualité, le tout devient de moins en moins distinct et finit par disparaître.

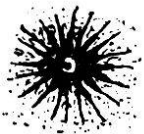


FIG. 20. — Sphère directrice dont les filaments de l'aster sont contractés. Grandeur 7 μ . *Gallanthus*.

A ce stade, la sphère directrice présente la figure si caractéristique que beaucoup d'auteurs ont signalée. Le centrosome et la sphère attractive n'ont pas changé ; l'aster possède des filaments très courts, épaissis dans la partie interne du complexe. Les nucléoles ne sont pas très caractérisés ; on aperçoit une masse légèrement colorée en rose par la safranine en solution dans l'eau d'aniline ; une coloration plus intense est donnée par l'éosine hématoxylée ou l'hématoxyline de Heidenhain.

Quand l'ascension polaire est terminée, les anses chro-

matiques sont aux pôles du fuseau. Elles reforment les noyaux des cellules-filles en s'agglomérant d'abord, pour se souder ensuite. La future membrane cellulaire se dessine vaguement. A ce moment, le nouveau nucléole se place au centre de l'amas chromatique ; sa constitution n'est pas très caractérisée ; son contour se précise par condensation ou disparition de l'aster. Les rayons semblent rentrer dans le cytoplasma, qui est du reste leur lieu d'origine. Je ne crois pas à une condensation, car si c'était le cas, on remarquerait un changement dans l'aspect et la direction des rayons astériens. L'amas de substance colorable empêche la plupart du temps un examen précis du fait.

La membrane nucléaire reformée, le nucléole est parfaitement délimité ; il occupe en général une position quelconque dans le nouveau noyau. Ces différents phénomènes s'observent semblables aux deux pôles du fuseau.

Les sphères directrices se sont donc transformées en deux nucléoles, qui se reconnaîtront facilement dans les deux nouvelles cellules.

Les deux cellules-filles ont ainsi acquis leur unité morphologique.

CHAPITRE IV

Dans le cours de ces recherches, j'ai constaté différents faits, qu'il est bon de signaler, d'autant plus qu'ils se reproduisent absolument semblables chez *Allium*, *Galanthus*, *Leucojum*, *Narcissus*.

Outre la série des figures caryocinétiques normales, on peut en observer d'autres plus ou moins régulières.

Le pelotonnement nucléinien est toujours à peu près le même. Il ne peut changer, dans des noyaux voisins au même stade de mitose, que dans la grandeur intersticielle

des boucles du filament. Ceci n'offre du reste qu'un intérêt d'ordre secondaire.

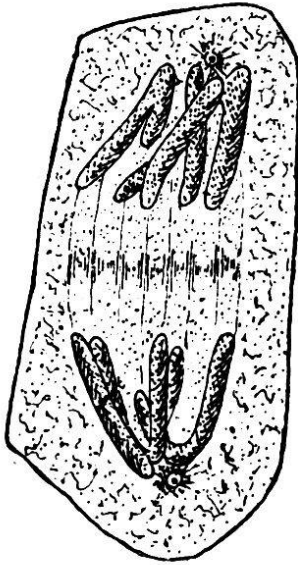


FIG. 21. — Fuseau irrégulier.
Grandeur $\frac{13,6}{4,3} \mu$ Narcissus.

Par contre, j'attache beaucoup plus d'importance à l'asymétrie du fuseau. On se rappelle que Guignard a démontré que les sphères directrices n'entraient en activité qu'après la formation des segments chromatiques et que les asters n'apparaissent qu'au moment de la résorption de la membrane : les sphères directrices sont alors mises en contact. Outre ces différents faits, on peut remarquer des divergences dans les directions que prennent les sphères directrices. Dans le cas normal, la ligne que j'appellerai « ligne des sphères directrices » est perpendiculaire au plan équatorial du fuseau, et plus tard à la plaque équatoriale.

Il arrive assez souvent que cette ligne décrive une courbe plus ou moins accentuée ; parfois même un arc de cercle qui se rapproche d'une demi-circonférence, occupant l'axe du fuseau achromatique bombé. Une question se pose : sont-ce les sphères directrices qui provoquent ce changement, ou cette nouvelle position est-elle due à la future position de la membrane cellulaire. Il est très probable que ce dernier facteur influe seul. Les sphères directrices se placent du côté de la plus grande courbure du fuseau, afin d'en conserver la symétrie même pour la partie dilatée.

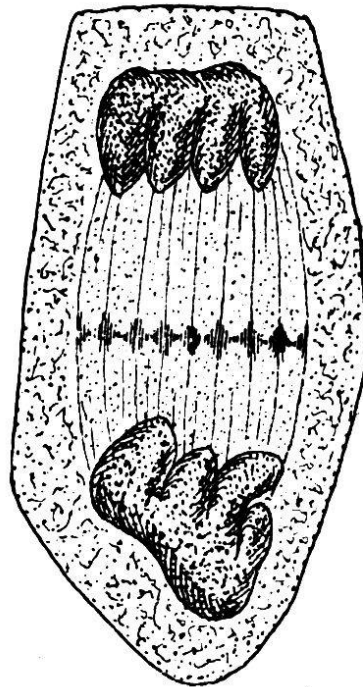


FIG. 22. — Concentration irrégulière des anses chromatiques. Grandeur $\frac{15,2}{8,1} \mu$ Narcissus.

Comme dans nombre de cas l'incurvation se produisait vers le centre de l'ovule, la pression doit jouer un certain

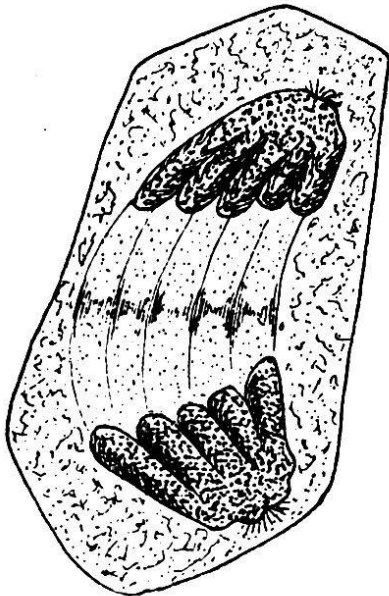


FIG. 23. — Fuseau anormal. Grandeur $\frac{16,4}{12} \mu$. Allium.

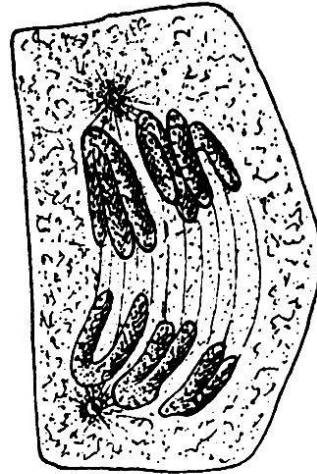


FIG. 24. — Fuseau anormal. Grandeur $\frac{17,8}{10,8} \mu$. Allium.

rôle. En effet, on peut voir dans les cellules centrales du sac embryonnaire des fuseaux d'orientation quelconque ; plus on s'éloigne, plus aussi se manifestent des déformations et des divergences de direction générale. Il semble que la ligne des sphères directrices tend à se rapprocher le plus possible d'une ligne perpendiculaire à la ligne de plus grande pression, dans les cellules d'un même cycle et lorsque la grandeur de la cellule le permet.

Nous sommes en présence d'une simple résultante des pressions en jeu dans la formation de la future membrane.

D'autres fois, la résorption des anses chromatiques, lorsqu'elles se groupent pour reformer leurs noyaux respectifs au moment de l'apparition de la future membrane, provoque des figures asymétriques, mais semblables. Si l'une des figures possède, par exemple, un renflement dans sa partie externe gauche, la figure opposée en aura un à son extrémité droite. Dans ce cas, les filaments achromatiques n'offrent aucune différence appréciable.

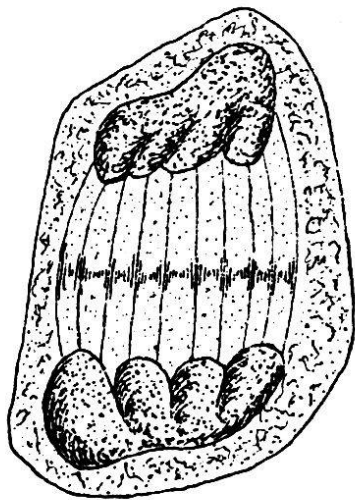


FIG. 25. — Fuseau irrégulier dû à la forme de la cellule. Grandeur $\frac{11,2}{7,6} \mu$ Narcissus.

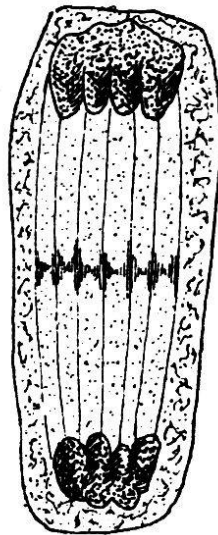


FIG. 26. — Concentration irrégulière des anses chromatiques. Grandeur $\frac{16,8}{8,9} \mu$. Allium.

Un autre cas de dissemblance se trouve dans la grandeur des fuseaux pour des noyaux d'une même assise cellulaire. Si l'on exprime par l la largeur du fuseau ou de la future plaque équatoriale, on constate quelquefois le rapport : 1 : 1.5, 1 : 1.9, 1 : 2.2 ; ou encore 1 : 0.9, 1 : 0.7.

Ceci ne peut être dû à la différence dans la quantité de matière achromatique et chromatique des noyaux, vu qu'avant la mitose ils ont tous le même aspect, la même grosseur.

Est-ce l'action du fixateur ? Cela me semble peu probable, car j'ai pu observer ces faits avec les solutions les plus diverses.

La technique colorative a-t-elle peut-être quelque influence ? Non : les mêmes figures se reproduisent dans des pièces dont les colorations sont différentes et dont l'enrobage s'est effectué dans des paraffines à points de fusion fort éloignés.

Chez *Lilium* et *Galanthus* on remarque quelquefois des

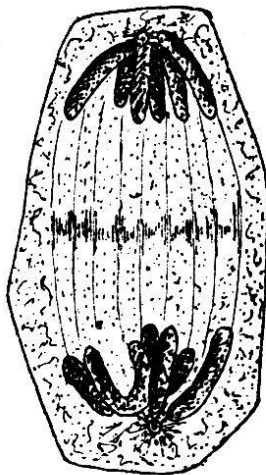


FIG. 27. — Fuseau très allongé. Grandeur $\frac{17,8}{8,9} \mu$. Allium.

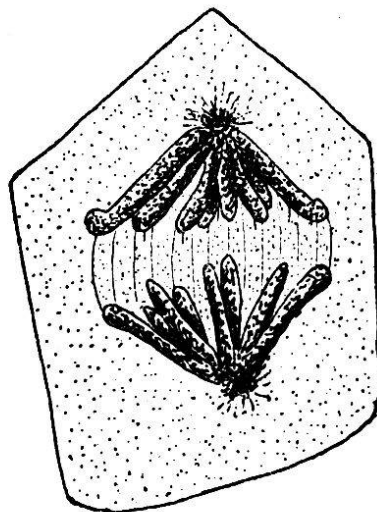


FIG. 28. — Fuseau très aplati. Grandeur $\frac{10,5}{13,6} \mu$. Allium.

fuseaux multipolaires. Farmer (96) et Belajeff (92) ont déjà signalé le fait chez *Lilium* et *Larix*; Mottier les retrouve dans *Lilium* et *Podophyllum*. Guignard les a vus chez *Limodorum*; cet auteur croit qu'ils précèdent la formation du fuseau bipolaire; il a pu les observer encore chez *Nymphaea*, *Nuphar*, *Magnolia*. Williams, Duggar, Lawson les ont également observés dans les cellules-mères du pollen et du sac embryonnaire de quelques végétaux. Schaffner dans *Silicaria* ne les voit apparaître que dans les cas pathologiques.

J'ai fait de nombreuses recherches pour trouver la cause de ces phénomènes anormaux.

Elle doit exister dans les phénomènes physiques et chimiques que la plante doit subir pendant son évolution.

L'influence de l'excitation lumineuse est un phénomène complexe; il semble que les différentes vibrations favorisent plus ou moins la production et l'abondance de matières chromatiques et modifient par là le phénomène de la mitose. Les lumières monochromatiques font aussi subir des actions plus ou moins appréciables.

D'autres facteurs peuvent encore influencer la caryocinèse; ainsi la position de la fleur sur la tige; l'exposition de la plante toute entière; la chaleur moyenne au moment de la mitose, la teneur du sol en sels inorganiques et matières organiques, etc.

Quelques recherches ont été faites par Sabline; son travail a paru dans la *Revue générale de botanique* du 15 décembre 1903. Cet auteur a fait subir une température de 40° à des racines de *Vicia Faba* et cela pendant deux heures. La division mitosique s'est arrêtée; chaque noyau renfermait deux nucléoles autour desquels se trouvait un champ lumineux; on constatait la présence de vâcuoles dans les nucléoles les plus gros.

L'action de l'oxygène sur les mêmes objets augmentait le nombre des mitoses. L'éther sulfurique, le sulfate de

quinine, chlorure de lithium avaient des influences variables.

J'ai pu observer que la grandeur de la cellule doit avoir une influence prépondérante dans les différences de dimension du fuseau; ce facteur n'est pas unique; car dans deux cellules voisines et de même rang les modifications sont souvent dissemblables.

Résumé.

1° Les différentes parties de la sphère directrice n'ont pas la même origine.

2° Le centrosome et la sphère attractive ont une origine nucléolaire.

3° Les rayons astériens naissent aux dépens du cytoplasma.

4° La sphère directrice ne se trouve jamais dans le cytoplasma, soit à l'extérieur du noyau, pendant la période de repos de ce dernier.

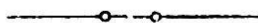
5° La sphère directrice n'entre en action qu'au moment de la mitose.

6° Quand la division est terminée et que les anses chromatiques sont groupées, les sphères directrices rentrent dans les cellules-filles sous la forme de nucléoles.

7° Les phénomènes physiques externes subis par la plante, au moment des phénomènes de la mitose, doivent influencer sur la formation des figures cariocinétiques.

Avant de terminer cette étude, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à MM. Dr Blanc et Dr Wilczek pour les nombreux renseignements et conseils qu'ils m'ont toujours si aimablement donnés. Ce travail a été fait en partie dans les laboratoires de l'Institut de Botanique de Lausanne.

En date du 2 mars 1904, la Société vaudoise des Sciences naturelles a pris connaissance de ces résultats.



INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1893. BALBIANI. — *Centrosome et Dotterkern*. Journal de l'Anat. et Phys. III, IV.
1897. — et HENNEGUY. — *Sur la signification physiologique de la division cellulaire*. Comptes-rendus de l'Ac. des Sc., p. 73.
1892. BELAYEFF. — *Ueber die Karyoc: in den Pollenmutterzellen von Larix und Fritillaria*. Rev. Bot. Jahr XX. 92.
1894. — *Zur Kenntnis der Karyokinese bei Pflanzen*. Flora. Ergänzungsband.
1897. — *Einige Streitfragen in den Untersuchungen über die Karyo*. B. d. d. B. G. Bd XV 6.
1897. — *Ueber die Aehnlichkeit einiger Erscheinungen in der Spermato: bei Thieren und Pflanzen*. B. d. d. B. G. XV. 342-45.
1898. — *Ueber die Reduktionstheilung des Pflanzenkernes*. B. d. d. B. G. d. 4. 2.
1899. — *Ueber die Cilienbilder in den Spermatogenen Zellen*. B. d. d. B. G. 97. 98. 77.
1883. BENEDEN V. — *Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire*. Archives de Biologie, vol. IV.
1900. BERNARD. — *Recherches sur les sph. attract. chez Lilium candidum, Helosis Guyan, etc.* Journal de Bot., t. 14.
1892. BÜRGER. — *Was sind die Attractionssphären und ihre Centraalkörper: ein Erklärungsversuch*. Anat. Anz. VII. 221-231.
1893. BRAUER. — *Zur Kenntnis der Spermato: von Asc. meg.* Arch. für mikr. Anal. XI. II.
1897. CARNOY. — *Recherches sur les vésicules germinatives des batraciens*. La Cellule.
1898. DEBSKI. — *Ueber Kerntheilungen*.
— — *Beob. bei Chara fragilis*.
— — *Weitere Beobachtungen bei Chara fragilis*. Jahr. f. wiss. Bot.
1895. DEMOOR. — *Contributions à l'étude de la phys. de la cellule*. Arch. de Biol., T. 13.
1891. DODEL. — *Beiträge zur Kenntnis der Befruchtungersch. bei Iris sibirica*. Zürich.
1894. EISMOND. — *Einige Beiträge zur Kenntnis der Attractionssphären und der Centrosomen*. Anat. Anz. X.

1902. ERNST. — *Chromosomenreduktion, Entwicklung der Embryos. und Befr. bei Paris quad. Prill.* München.
1895. FARMER. — *Ueber Kerntheilung in Lilium Antheren, besonders in Bezug auf die Centrosomen-Frage.* Flora 95, Cahier I.
1891. FLEMMING. — *Attractionssphären und Centralkörper in Gewebe und Wanderzellen.* Anat. Anz.
1891. FOL. — *Le quadrille des centres.* Ann. des sc. nat. Genève.
1898. GRÉGOIRE. — *Les cinèses polliniques chez les Liliacées.* La Cellule, p. XVI.
1882. GUIGNARD. — *Recherches sur le sac embryonnaire des Phanérogames angiospermes.* Ann. des sc. nat. Bot.
1889. — *Observations sur le pollen des Cycadées.* Journal de Bot.
1891. — *Sur l'existence des sphères attractives dans les cellules végétales.* C. R. A. d. S. 539, 42.
1898. — *Les centres cinétiques chez les végétaux.* Ann. des Sc. nat. Bot.
1899. — *Sur la formation du pollen et la réduction chromatique chez Naïas major.* C. R. A. d. S., p. 202-207.
- — *Nouvelles études sur la fécondation.* Ann. des sc. nat. Bot. VII, t. 14.
- — *L'origine des sphères directrices.* Journal de Bot. VIII^e année.
1891. — *Sur la constitution des noyaux sexuels chez les végétaux.* C. R. A. d. S., p. 1074-76.
1892. HAUSENMANN. — *Ueber Centrosomen und Attractionssphären in ruhenden Zellen.* Anat. Anz. VIII. 57-59.
1891. HENNEGUY. — *Nouvelles recherches sur la division cellulaire indirecte.* Journal de l'Anat. et Phys. XXVII., 57-59.
1893. — *Le corps vitellin de Balbiani dans l'œuf des vertébrés.* Journal de l'Anat. et Phys. XXVII.
1891. — *Sur le rôle des sphères attractives dans la division indirecte.* C. R. hebd. de la soc. de Biol.
1892. HERTWIG. — *Die Zelle und Gewebe.* Jena.
1897. HIRASE. — *Untersuch : über das Verhalten der Pollen von Ginkgo biloba.* Bot. Centralblatt XIX.
1897. ISCHIKAVA. — *Die Entwicklung der Pollenkörper von Allium fistulosum ; ein Beitrag zur Chromosomenreduction in Pflanzen.* Résumé : Bot. Centralblatt 211-212.

1898. IKENO. — *Zur Kenntnis der sog. Centrosome ähnlichen Körper in Pollenschlauch des Cycaden.* Flora Bd. VIII. I. p. 15.
1897. JUEL. — *Die Kerntheilung in den Pollenmutterzellen von Hemerocallis fulva und die bei demselben auftretenden Unregelmässigkeiten.* Jahrbuch f. Bot. XXX. 205-226.
1898. LEE. — *Les sphères attractives et le Nebenkern chez les pulmonés.* La Cellule.
1900. MAIRE. — *Sur la cytologie des hyménomycètes.* Comptes-rendus Ac. d. S. XXXII. p. 121.
- — *Sur la cytologie des gastromycètes.* Comptes-rendus d. A. C. d. S., 32, p. 861-863.
1894. MITROPHANOF. — *Contribution à la division cellulaire indirecte chez les sélaciens.* Journal de l'Anat. et Phys. XI.
1894. MOTTIER. — *Beiträge zur Kenntnis der Kerntheilung in den Pollenmutterzellen in dicot und monocot. : Jahrbuch f. wiss. Bot. p. 169-207.*
1897. — *Ueber die Chromosomenzahl bei Entw. der Pollenkp. von Allium.* Berichte d. deut. bot. G. Bd. : XVI. 474-75.
1900. NAWASCHIN — *Ueber Befruchtungsvorgänge bei einigen Dicot.* Ber. d. d. bot. Gesell. 224-230.
1898. NEMEC. — *Neue cytologische Untersuchungen.* Beit. wiss. bot. Bd. IV. p. 37.
- — Anat. Anz. Bd. XIV. p. 564.
1899. — Flora. Bd. XXXIII. p. 214.
- — Flora. Bd. XXXVIII. p. 319.
1897. OSTERHOUT. — *Ueber Entstehung der Karyoc-Spindel bei Equisetum.* Jahrbuch f. Wiss.
1891. OVERTON. — *Beit. zur Kennt. der Entwick. der Ges. produkte bei Lilium Martagon.* Zürich.
1893. — *Ueber die Reduk. der Chromos. in den Kernen der Pflanzen.* Viertelj. der. nat. G. Zürich.
1898. SCHAW. — *Ueber die Blepharoplasten bei Onoclea und Marsilia.* Ber. d. d. Bot. Gesell.
1884. STRASSBURGER. — *Die Controversen der ind. Kernth.* Archiv für mikr. anat. XXII.
- 1894 — *Ueber périod. : Reduk. der Chromos. und Entw. den Org ; Bot. Cent. XIV.*
- 1895 — *Karyokinetische Problem. — Jahr für Wiss : Bot. XXVIII.*

- 1867 STRASSBURGER. — *Ueber Befruchtung.*— Jahrb. für Wiss. Bot. XXX.
- 1900 — *Ueber Reduk Spindelbildung, Centros : und Cilienb. Pflanzen.* — Iena.
1901. — *Einige Bemerk. zu der Pollenbild. bei Asclépias.* B. d. d. Bot. G. Bd. XIX. p. 450-461.
1898. VEYDOWSKI et MRAZEK. — *Bemerk. zur Mitth. Anat. Anz.* VI.
1893. WASILIEWSKI. — *Die Keimzone in den Genitalschläuchen.* Arch. f. mikr. Anat. XI. p. 93.
1898. WENT. — *Die Vermehrung der normalen Vacuolen durch Theilung.* Jahrb. f. wiss. Bot. XIX.
1890. — *Die Entstehung der Vacuolen in den Fortpflanzungszellen der Algen.* Jahrb. für wiss. Bot. XXI.
1893. ZACHARIAS. — *Ueber die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern.* B. d. d. bot. Gesell. Bd. XI.
1896. ZIMMERMANN. — *Morph. und Physiol. des Pflanzenzellkernes.* Jena.

