

ÉTUDE DE LA KARYOKINÈSE

CHEZ L'AMŒBA HYALINA SP. NOV.

Par P.-A. DANGEARD

La plupart des auteurs qui se sont occupé de la division du noyau chez les amibes ont décrit une division directe ; cette division, loin de se faire suivant un mode uniforme, comme on aurait pu s'y attendre pour un groupe d'apparence aussi homogène, présente avec les diverses espèces étudiées des différences notables.

Personne n'a songé, il semble, à envisager l'importance de ce fait ; on a cherché plutôt à contester l'existence de ces différences en les attribuant à des erreurs d'observation ; c'est une opinion qui désormais ne pourra plus être soutenue, car nous allons retrouver dans la karyokinèse des différences analogues.

Jusqu'ici, un seul observateur a réussi à obtenir quelques stades intéressants de la karyokinèse dans l'*Amœba binucleata* Grub. (1) ; nos propres observations sur une autre espèce nous ont permis de mettre hors de doute l'existence d'une division indirecte du noyau chez les amibes, et comme notre description ne correspond que d'assez loin à celle de Schaudinn, il faut en conclure que

(1) Schaudinn : *Sprach über die Theilung von Amœba binucleata* Gr. (Sitz. d. Gesellsch. Naturf. Freunde, Berlin, 18 juin 1895, p. 130-144).

la karyokinèse, de même que la division directe, se produit chez ces êtres, suivant des modes différents.

La division directe a été étudiée la première ; c'est tout d'abord Greef qui la signale chez son *Amœba brevipes* : il décrit une division du corps accompagnée par une simple bipartition du noyau non modifié (1) ; cette observation

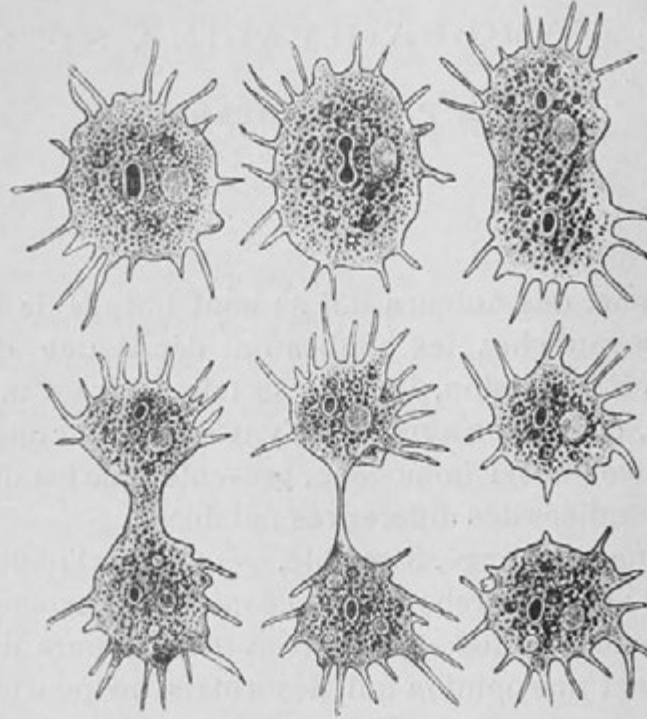


FIG. 1. — *Amœba polypodia*.

est généralement mise en doute (2) ; puis viennent les belles recherches de Schultze sur la division du noyau de l'*Amœba polypodia* (3) ; elles sont devenues classiques. Le nucléole sphérique est entouré d'une auréole claire ; il s'étire dès le début de la division, devient ovale puis prend la forme d'une haltère dont les deux extrémités

(1) Greef : *Ueber Erdamœben* (Archiv. mik. Anat. II, p. 321).

(2) Butschli : « *Protozoa* » in Bronn's *Classen u. Ordn.* 1880-82, p. 135.

(3) Schultze : *Rhizopodenstudien* (Arch. f. Mikr. Anat., II, 1875).

s'éloignent l'une de l'autre et se séparent ; les beaux dessins qui accompagnent le mémoire de Schultze se trouvent dans tous les traités généraux de zoologie et d'anatomie comparée : ce mode de division a été choisi comme le type de la division directe ou amitose (fig. 1 du texte).

Il ne faut pas oublier toutefois que ces recherches avaient été effectuées sur le vivant et qu'il aurait très bien pu se faire que l'emploi des colorants modifiât cette description ; la confirmation de ces résultats est venue de divers côtés (1) ; c'est surtout Schaudinn qui a le mérite d'avoir donné une démonstration complète : il s'est proposé, en effet, spécialement, de montrer, en employant toutes les ressources de la technique moderne, l'exactitude des observations de Schultze (2).

Les recherches de Schaudinn ont porté sur l'*Amœba cristalligera* Grub., espèce rencontrée en abondance dans l'aquarium d'eau de mer de la station zoologique de Rovigo. Le protoplasme de l'amibe ne se laisse point différencier en ectoplasme et endoplasme ; il paraît granuleux jusqu'au bord, mais ce n'est là en réalité qu'une apparence due à une fine vacuolisation au sens de Butschli ; à l'intérieur des vacuoles se trouvent des inclusions cristallines, d'où le nom de l'espèce déjà étudiée par Möbius (3).

La structure du noyau est caractéristique ; à son intérieur, se trouve un nucléole sphérique, très réfringent, mais peu sensible aux réactifs colorants ; il est entouré par une zone étroite autour de laquelle la substance nu-

(1) Frenzel : *Ueber Bedeutung d. amitotischen (directen) Kerntheilung* (Biol. Central. II, 1894, p. 564. — Bütschli : *Ueber den Bau der Bakterien und verw. Organismen*. Leipzig, 1890, p. 28.

(2) Schaudinn : *Ueber Kerntheilung mit nachfolgender Korpertheilung bei Amœba cristalligera* (Sitz. d. K. Preuss. Akad. der Wissenschaften zu Berlin, 2^e série, vol. II, 1894, p. 1029-36).

(3) Möbius : *Bruchst. einer Rhizopodenfauna der Kieler Bucht* (Abh. d. Königl. Akad. d. Wiss. zu Berlin, 1888, t. V, p. 26).

cléaire forme un anneau très colorable de chromatine; ces diverses parties du noyau sont alvéolaires, comme le cytoplasme; la chromatine se trouve dans les mailles de la substance nucléaire à l'état de granulations; aucune trace de membrane n'existe (fig. 2 du texte).

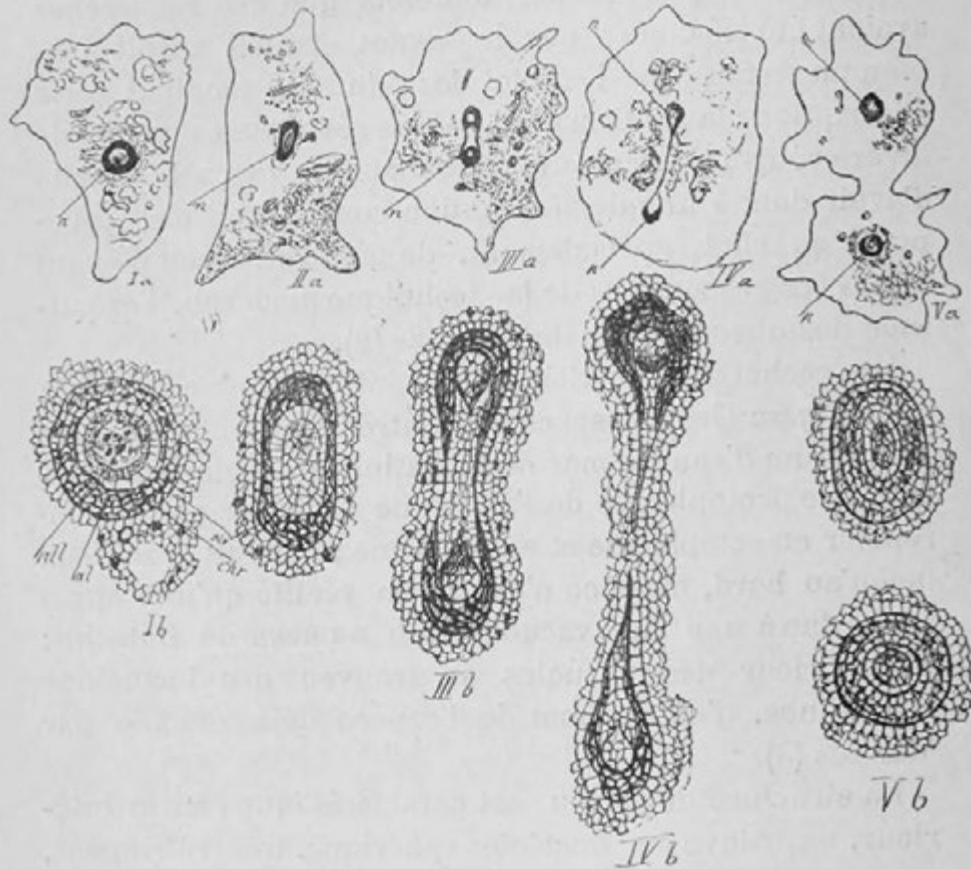


FIG. 2. — *Amoeba cristalligera*.

La division, observée sur le vivant, n'offre aucun intérêt, car le noyau se présente alors sous l'aspect d'une simple vésicule sans structure; il est intéressant toutefois de remarquer que le phénomène tout entier dure à peine une minute; la division du corps ne suit pas toujours immédiatement.

Nous avons reproduit, fig. 2, d'après Schaudinn, les

divers stades de la division du noyau ; on y voit clairement comment se comportent le nucléole et la substance nucléaire chargée de chromatine ; aucun doute n'est possible ; il s'agit bien là d'un cas d'amitose ou division directe (fig. 2, I-Vb).

Remarquons, car la chose a son importance, que dans les observations de Schultze, comme dans celles de Schaudinn, les diverses parties du noyau se comportent comme le cytoplasme lui-même, lors de la division du corps ; il y a *traction* en sens opposé des deux moitiés qui constitueront les noyaux-filles ; la substance nucléaire et le nucléole possèdent donc une activité propre : rien que cette constatation aurait dû mettre en garde contre le rôle attribué aux sphères attractives dans la karyokinèse.

A côté de ces cas d'*amitose par étirement* nous placerons d'autres cas d'*amitose par cloisonnement*.

C'est à Grüber qu'il faut attribuer le mérite des premières observations sur ce second mode d'amitose. Ce savant a vu chez l'*Amœba proteus* le nucléole du noyau se séparer en deux parties égales entre lesquelles une nouvelle membrane se forme ; c'est suivant cette membrane que se produit la séparation des noyaux-filles (1). Brandt exprime l'avis qu'il n'y a pas lieu de prendre en considération les résultats annoncés par Grüber : le véritable noyau est, d'après lui, une sphère réfringente homogène ; les formations étudiées par Grüber ne sauraient être qu'un noyau secondaire, un corpuscule végétatif ou un parasite (2),

Grüber lui-même, dans un nouveau travail, regarde la karyokinèse comme le mode normal de division du noyau

(1) Grüber : *Ueber Kerntheilungsvorgänge bei einigen Protozoen* (Zeitschr. f. wiss. Zool. 38, 1883, p. 372-394).

(2) Brandt : *Kerntheilungsvorgänge bei einigen Protozoen* (Biol. Centr., Bd. III, 1882, p. 389-395).

des Amibes, sans d'ailleurs apporter de preuves à l'appui de cette opinion (1).

Il faut arriver à nos recherches sur le genre nouveau *Sappinia* (2) pour constater d'une manière indiscutable l'existence d' amitose par cloisonnement.

Dans le *Sappinia pedata*, le noyau comprend une membrane nucléaire à double contour très nette et une masse chromatique arrondie séparée de la membrane par un petit espace incolore (fig. 3, A). Le plus souvent, le noyau est en division ; il a pris la forme ellipsoïdale ; la masse chromatique s'est simplement séparée en deux moitiés entre lesquelles une cloison mince se forme (fig. 3 du texte, B, C, F) ; cette cloison se dédouble lorsque les deux nouveaux noyaux s'éloignent l'un de l'autre (fig. 3, D, L) ; quelquefois, mais cela n'a rien de général, chaque masse chromatique présente au centre une petite vacuole.

Il est donc bien établi qu'à côté de la division *directe par étirement*, il en existe une autre *par cloisonnement* ; si nous proposons ces expressions pour caractériser les deux modes de division directe du noyau, c'est parce que nous y trouvons une très grande analogie avec ce qui se passe dans la cellule pour le cytoplasme. S'il s'agit d'une amibe, en effet, le cytoplasme, pour former deux nouveaux individus, effectue des tractions en sens opposé, et les deux moitiés se séparent par étirement ; s'il s'agit d'une cellule située au sein des tissus, on n'observe plus de tractions ni de mouvements semblables dans le cytoplasme, et la séparation des deux nouvelles cellules a lieu par formation d'une cloison.

La division directe du noyau par étirement, qui est très

(1) Grüber : *Amöbenstudien* (Berichte der Naturforsch. Gesellsch. in Freiburg, 1894, p. 25-34).

(2) P.-A. Dangeard : *Contribution à l'étude des Acrasiées* (Le Botanique, 5^e série, juillet 1896).

probablement le mode primitif, nous conduit presque insensiblement à la karyokinèse.

Avant d'exposer nos propres observations, nous devons citer celles de Schaudinn (1); elles ont porté sur une amibe possédant normalement deux noyaux et

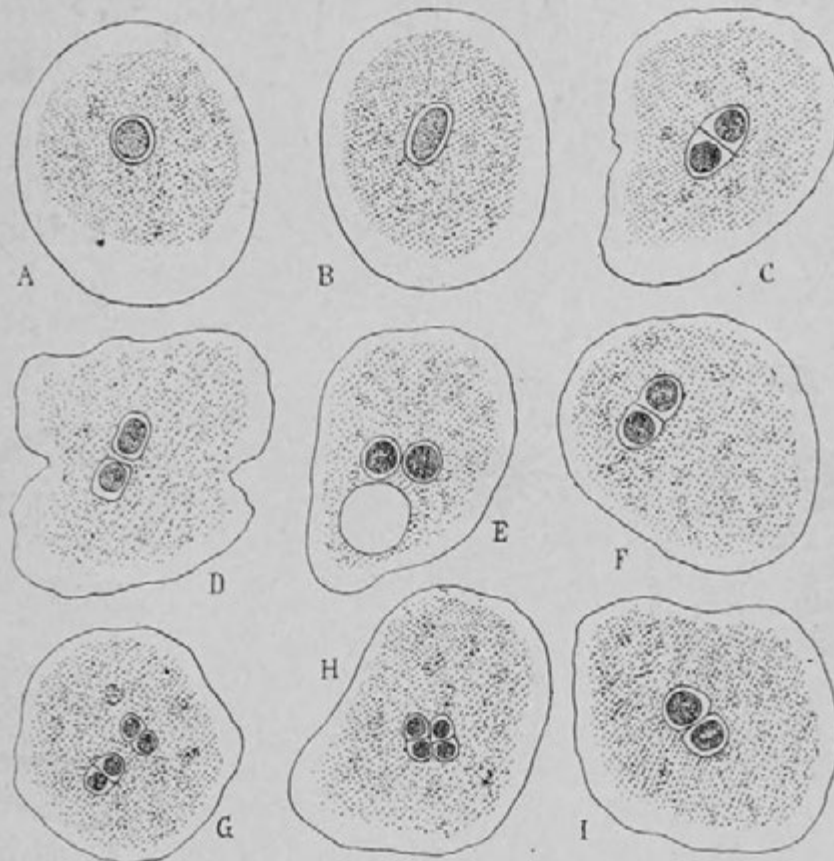


FIG. 3. — Structure et division du noyau du *Sappinia pedata*.

décrite par Grüber sous le nom d'*Amœba binucleata* (fig. 4 du texte).

Le cytoplasme renferme diverses inclusions, dont deux surtout sont intéressantes : il y a tout d'abord une algue

(1) Schaudinn : *Sprach über die Theilung von Amœba binucleata* Gr. (Sitz. d. Gesellsch. Naturf. Freunde, Berlin, 18 juin 1895, p. 130-141).

verte unicellulaire qui semble vivre là en symbiose : puis on y trouve également des filaments mycéliens cloisonnés de longueur variable, mais de diamètre égal partout ; ils

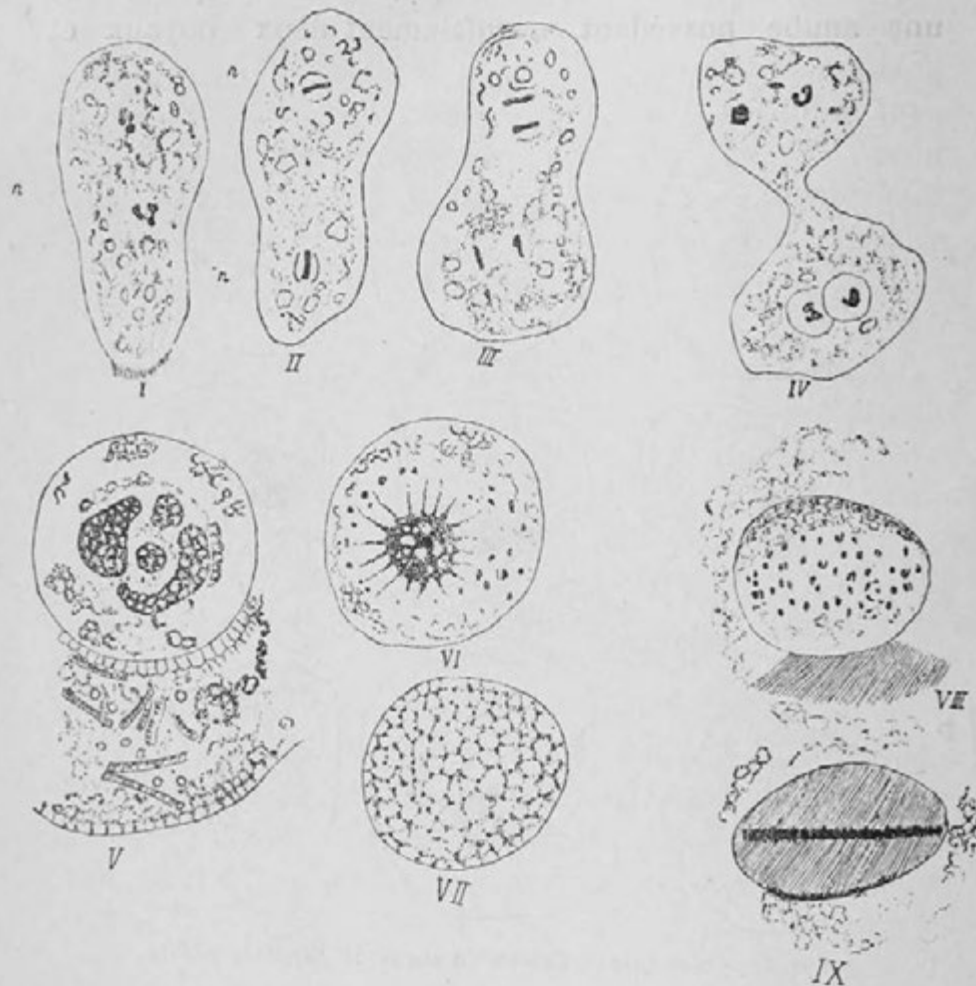


FIG. 4. — *Amœba binucleata*.

sont souvent abondants et enchevêtrés les uns dans les autres ; ce Champignon, d'après Grüber et Schaudinn, serait un commensal, au même titre que l'algue.

A la surface de l'amibe, on distingue une couche mince, hyaline, qu'on peut regarder comme l'ectoplasme ; elle

paraît homogène à un faible grossissement, mais sa structure est en réalité alvéolaire, comme celle de l'endoplasme.

Tous les individus de cette espèce possèdent deux noyaux dont le diamètre oscille entre 0,02 et 0,04 : leur position dans le cytoplasme n'a rien de fixe ; ces noyaux sont entourés d'une épaisse membrane ; la cavité du noyau, limitée par cette membrane, renferme un suc nucléaire clair, très réfringent, au centre duquel se trouvent plusieurs amas de chromatine ; la forme, la grosseur et le nombre de ces derniers sont des plus variables (fig. 4, v).

Le premier indice de la division consiste dans une fragmentation de la chromatine ; celle-ci se disperse dans tout l'intérieur de la cavité nucléaire (fig. 4, VI, VII) sous forme de plusieurs centaines de granulations qui sont sensiblement de grosseur égale. En même temps, le noyau, qui était sphérique, s'aplatit quelque peu ; aux deux pôles surbaissés, le cytoplasme s'amasse en forme de calotte sans structure, alors que la membrane nucléaire s'épaissit en deux sortes de plaques polaires : ces formations, qui ressemblent à celles que l'on a signalées chez l'*Actinosphaerium* (1), seraient destinées à remplacer les centrosomes et leurs radiations. Les grains de chromatine (fig. 4, VIII) se rassemblent et se disposent en plaque équatoriale, et le fuseau est constitué ; ces divers changements que l'on peut suivre sur le vivant exigent 25 minutes environ. Les deux moitiés de la plaque équatoriale se séparent lentement et s'éloignent l'une de l'autre.

Schaudinn a vu que, dans le noyau au repos, le suc nucléaire et les amas de chromatine possédaient la struc-

(1) B. Hertwig : *Die Kerntheilung von Actinosphaerium eichhorni*. Iéna, 1884, p. 16. — Brauer : *Ueber die Encystirung von Actinosphaerium eichhorni* (Zeit. f. wis. Zool., 1894, Bd. LVIII, p. 207-208).

ture alvéolaire, comme le cytoplasme ; mais il n'a pu malheureusement observer sur des exemplaires fixés que de très rares stades de la karyokinèse ; toutefois, il a reconnu que les chromosomes se divisaient un peu avant de se disposer en plaque équatoriale ; il a remarqué également une fine striation du fuseau s'étendant de la plaque équatoriale aux plaques polaires ; on ne distingue pas de véritables fils achromatiques.

La division marche de front dans les deux noyaux de cette amibe et les divers stades de la karyokinèse se correspondent exactement de l'un à l'autre (fig. 4 du texte).

Si l'on sectionne une amibe en deux moitiés renfermant chacune un noyau, ces parties continuent de vivre pendant deux jours, mais elles ne se divisent plus et n'absorbent aucun aliment ; si deux moitiés uninucléées se retrouvent au contact, elles ne se réunissent point en un seul individu.

Tels sont les résultats les plus importants contenus dans le mémoire de Schaudinn : nous exposerons maintenant nos propres observations.

Etude de l'Amœba hyalina Sp. nov.

L'amibe que nous étudions ici n'a pas été observée à l'état vivant ; elle s'est trouvée fixée en assez grande quantité avec des algues inférieures que nous avons gardées quelques jours en culture : le réactif fixateur était l'alcool absolu et le liquide de Flemming ; leur action, dans la circonstance, a donné les meilleurs résultats, car, d'une part, la forme générale du corps et celle des pseudopodes se trouvaient conservées, et d'autre part les colorations ordinaires réussissaient très bien.

Les amibes ont été examinées directement, sans inclusion préalable dans la parafine ; pour les colorations et le

montage des objets, nous avons procédé comme pour les Chlamydomonadinées; chaque préparation renfermait une vingtaine d'amibes; nous avons dessiné à la chambre claire les divers stades qui se succèdent depuis l'état de repos jusqu'à l'état de division; c'est ainsi que nous avons pu déterminer les caractères de la karyokinèse dans cette espèce; mais nous avons été fort embarrassé lorsqu'il s'est agi de lui donner un nom.

Rien n'est plus difficile, en effet, que de déterminer une amibe. Les travaux de Claparède et Lachmann, l'ouvrage de Dujardin, celui de Butschli ne peuvent être de quelque utilité que pour un nombre restreint d'espèces. Maggi a donné, il est vrai, un intéressant résumé s'appliquant aux espèces étudiées jusqu'en 1876 (1); le nombre de celles-ci, qui s'élevait approximativement à 44, est réduit à 28. Il faut arriver cependant aux recherches de Grüber pour constater un progrès sensible dans la classification des amibes (2). Ce savant a montré que dans la détermination des espèces, il fallait tenir compte de la *grosseur relative du corps*, de la *consistance du protoplasma*, de la *forme des pseudopodes*, des *inclusions diverses, granules, cristaux, vacuoles*, etc., et aussi du *nombre*, de la *grosseur* et de la *structure des noyaux*: Grüber a réussi de la sorte à mieux caractériser certaines espèces connues et il a pu en créer de nouvelles.

Notre espèce se rapproche un peu de l'*Amœba lucida*; dans celle-ci, le noyau présente un amas central formé de granulations chromatiques, ce qui rappelle la fragmentation du nucléole que nous allons décrire plus loin; mais cette structure du noyau qui est donnée par Grüber comme

(1) Maggi: *Studi anatomo-fisiologici intorno alle Amibe* (Atti della Soc. ital. di scienze naturali. Vol. XIX, 1876).

(2) Grüber: *Studien über Amöben* (Zeit. f. wiss. Zool., Bd. 41, 1885, p. 186).

normale, n'existe dans notre espèce qu'au moment de la prophase ; en dehors de cette période, le nucléole possède une structure homogène ; d'un autre côté, les dimensions du corps sont plus faibles, les pseudopodes moins nombreux et plus effilés, les vacuoles plus larges ; aussi croyons-nous être autorisé à désigner cette espèce sous le nom d'*Amœba hyalina* Sp. nov. : examinons maintenant les principaux caractères qu'elle présente.

1^o LE CYTOPLASME.

Le corps est une gouttelette de protoplasme qui s'aplatit, s'allonge et se déforme de façon variable pendant la locomotion ; les pseudopodes se sont montrés dans nos préparations comme des lobes courts et larges, peu nombreux, ou encore sous forme de prolongements digitiformes.

On distingue le plus souvent avec netteté l'ectoplasme et l'endoplasme comme dans beaucoup d'espèces d'amibes : l'ectoplasme est la couche superficielle qui se prolonge dans les pseudopodes : elle est formée d'une substance homogène et achromatique ; l'endoplasme est constitué par un cytoplasme chromatique qui est granuleux ou finement réticulé. Ajoutons qu'à ce cytoplasme chromatique se trouve mélangé en quantité variable un protoplasma incolore semblable à celui de l'ectoplasme (Pl. III).

Schaudinn attribue une structure vacuolaire à l'ectoplasme de l'*Amœba binucleata* ; l'endoplasme est également vacuolaire d'après lui et ne diffère de l'ectoplasme que par la présence de diverses sphérules et granulations dont quelques-unes tout au moins sont de nature oléagineuse.

Il ne faut pas accorder une trop grande importance à ces différences ; nous avons établi, en effet, dans un précé-

dent travail (1) les nombreuses modifications de structure du protoplasme, et il s'agit ici de faits du même ordre.

Nous pouvons considérer dans l'*Amœba hyalina* le protoplasme général comme étant composé de deux parties, l'une achromatique et homogène, plus spécialement chargée des mouvements, et l'autre, chromatique, chargée des phénomènes nutritifs ; celle-ci est naturellement beaucoup plus variable comme structure, puisque c'est à son intérieur que s'effectuent les phénomènes d'assimilation.

L'endoplasme renferme des vacuoles au nombre de trois, quatre ou davantage (fig. 1-2, Pl. III) : elles sont larges, quelquefois irrégulières : les unes renferment des particules nutritives représentées généralement par de petites algues unicellulaires comme les *Chlamydomonas* ; les autres ont un contenu incolore. Qu'il s'agisse des vacuoles digestives ou des vacuoles ordinaires, on observe deux états extrêmes reliés entre eux par de nombreux intermédiaires. Ainsi, tandis que les unes ont un contour net, les autres ont une limite mal définie : leur contenu ressemble au cytoplasme achromatique, et cependant ces dernières vacuoles peuvent renfermer comme les autres des particules nutritives.

2° LE NOYAU.

Le noyau est en général situé dans le cytoplasme chromatique : mais il y a des exceptions ; plusieurs fois, il se trouvait nettement dans le cytoplasme incolore ; dans ce cas, on pouvait quelquefois apercevoir de nombreuses stries rayonnantes, assez longues : elles sont achromatiques comme le cytoplasme qui les renferme ; elles ne s'en

(1) P.-A. Dangeard : *Mémoire sur les Chlamydomonadinées ou l'histoire d'une cellule* (Le Botaniste, 6^e série, février 1899, p. 165).

distinguent que par une plus grande réfringence (fig. 6, Pl. III).

La présence de ces stries autour du noyau n'est pas sans intérêt : ces stries ressemblent tout à fait à celles qui, dans la karyokinèse ordinaire, occupent les pôles du fuseau ; nous y reviendrons plus loin en examinant les principaux résultats de ce travail.

Le noyau lui-même comprend une grosse masse sphérique centrale que l'on peut considérer au moins provisoirement comme un nucléole (fig. 1-4, Pl. III). Tout autour, se trouve une zone de substance nucléaire de largeur variable ; le nucléole est homogène et très chromatique ; la zone nucléaire ne paraît pas limitée par une membrane : elle est souvent homogène et incolore ; cependant, tout à fait à la surface, on observe quelquefois une bande chromatique qui est d'épaisseur inégale (fig. 6, Pl. III).

Nous avons rencontré deux fois une amibe qui renfermait deux noyaux ordinaires (fig. 5, Pl. III) ; on sait que l'*Amœba binucleata* est précisément caractérisée par la présence constante de deux noyaux : dans notre espèce, cette particularité n'est qu'à l'état d'exception très rare, puisque tous les autres individus que nous avons examinés ne possédaient qu'un noyau.

La structure du noyau que nous venons de décrire dans l'*Amœba hyalina* est très simple ; elle correspond assez exactement à celle que l'on rencontre dans beaucoup d'organismes inférieurs (Rhizopodes, Flagellés, Champignons, Algues) ; mais il est bon de remarquer qu'il existe à cet égard dans le groupe même des amibes de nombreuses variations, comme si la nature s'était essayée avant d'adopter un type uniforme ; on s'en rendra compte facilement en consultant l'ouvrage de Grüber. Il serait à désirer que l'on connût mieux encore ces diverses sortes de noyaux ; le mode de division particulier à chacun d'eux serait fort intéressant à déterminer. Pour notre part, nous

allons essayer de décrire avec le plus d'exactitude possible les phénomènes de mitose offerts par le noyau de l'*Amœba hyalina*.

LA KARYOKINÈSE.

La prophase comprend, nous le savons : a) *Différenciation des chromosomes* ; b) *Formation du fuseau* ; c) *Groupement des chromosomes en plaque équatoriale* ; ces stades existent dans l'*Amœba hyalina*.

a) Le mode de différenciation des chromosomes offre ici un intérêt capital ; il soulève des questions de la plus haute importance en histologie : permanence et individualité des chromosomes, rôle de ces éléments dans le fonctionnement de la cellule et dans les phénomènes d'hérédité ; la science, sur ces différents points, n'est pas aussi avancée qu'on le croit généralement ; la plus petite observation faite sur un organisme inférieur peut, à un moment donné, renverser les théories les plus brillantes ; il faut donc beaucoup de prudence dans l'appréciation des faits.

Le noyau qui va entrer en division est en général plus gros que le noyau à l'état de repos ; dans ce dernier, la zone nucléaire qui entoure le nucléole est homogène et achromatique ; or, certains noyaux possèdent une bande chromatique irrégulière, de largeur variable, qui en occupe la surface ; lorsque sa présence est liée à des modifications qui se produisent dans le nucléole, on peut y voir le début de la prophase (fig. 10, Pl. III).

D'ordinaire, dans la karyokinèse, les chromosomes se différencient dans le nucléoplasme sous forme d'un cordon nucléaire qui se segmente ensuite ; chez l'amibe, on ne voit rien de pareil, la zone de nucléoplasme reste homogène ; sa sensibilité aux réactifs colorants seule se modifie ; elle devient plus grande, et ce changement

correspond à une diminution de la chromatine du nucléole.

Le nucléole subit une série de modifications difficiles à interpréter ; on le voit se creuser au centre d'une sorte de vacuole qui s'élargit, ne laissant qu'un anneau chromatique complet ou incomplet ; cet anneau lui-même se fragmente en grains chromatiques ; ceux-ci sont de grosseur variable ; d'abord orientés en cercle, ils se disposent ensuite irrégulièrement au milieu de la substance du noyau. Le nombre des granulations est loin d'être le même partout ; il varie de quatre à quinze environ ; on en voit plus souvent une dizaine (fig. 9, 20, Pl. III).

Il est bien établi que le nucléole se fragmente, au moment de la division, en granulations chromatiques plus ou moins nombreuses.

Nous n'hésitons pas à penser que ce sont ces grains nucléolaires qui donnent naissance aux chromosomes que nous trouvons au stade de la plaque équatoriale. Ce qui nous confirme dans cette opinion, c'est que Schaudinn a constaté que dans l'*Amœba binucleata*, les chromosomes prenaient naissance par fragmentation d'un ou plusieurs amas de chromatine occupant le centre du noyau ; or, il est évident que ces amas correspondent au nucléole de notre espèce.

Cette interprétation n'est pas sans soulever des difficultés dont nous sommes loin de méconnaître l'importance.

Tout d'abord, on peut objecter que le nombre des grains nucléolaires n'est pas constant et que leur grosseur est variable ; il est certain que si le nucléole donne, comme nous le pensons, naissance aux chromosomes, ce ne peut être que par une série d'approximations successives. Il est d'autre part indiscutable que toute la substance du nucléole n'est pas utilisée dans la formation des chromosomes ; la masse totale de chromatine renfermée

par ces derniers est bien inférieure, en effet, à celle du nucléole tout entier; une partie de la chromatine du nucléole est dissoute et se mélange au nucléoplasme.

Ainsi donc, dans l'amibe, la chromatine du nucléole semble jouer un double rôle.

1° Une partie de cette chromatine, en se mélangeant au nucléoplasme, lui communique une certaine chromatophilie et détermine la formation du fuseau nucléaire.

Ceci est en accord avec ce que nous avons dit, dans un mémoire précédent, du nucléole des Euglènes : « Le nucléole des Euglènes est un élément vivant qui, à un certain moment, provoque la division du noyau; on peut s'en rendre compte parce qu'il ne cesse pas d'être visible pendant la karyokinèse. Il est assez naturel de supposer, on en conviendra, que, dans les fuseaux achromatiques ordinaires, la substance du nucléole joue un rôle analogue, bien qu'elle se mélange intimement à du nucléoplasme ou à du cytoplasme (1) ».

2° D'autre part, nous avons vu, dans l'amibe, une fragmentation du nucléole qui, selon toute vraisemblance, donne naissance aux chromosomes.

On peut dire que les opinions les plus contradictoires ont été émises au sujet de l'origine du nucléole, de son rôle, de sa manière d'être, et nous n'avons point l'intention de les exposer ici; ceux que la chose intéresse, peuvent se reporter aux travaux de Went(2), Zimmermann(3), Kars-

(1) P.-A. Dangeard : *Mémoire sur les Chlamydomonadinées*, loc. cit., p. 244.

(2) Went : *Beobacht. über Kerne und Zellth.* (Berichte der deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. V, p. 247-251).

(3) Zimmerman : *Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes*, Iéna, 1896.

ten (1), Strasburger (2), O. Hertwig (3), Brauer (4), Balbiani (5), Carnoy et Lebrun (6), etc. ; par contre, il nous importe de rechercher si d'autres auteurs ont vu les chromosomes prendre naissance aux dépens du nucléole.

En première ligne, nous citerons les observations de Schaudinn sur l'*Amœba binucleata* (7) ; il est évident que les amas chromatiques dont il parle correspondent exactement au nucléole de notre espèce ; or, ce savant pense que les chromosomes sont des fragments de ces masses chromatiques.

En second lieu, nous avons les conclusions bien intéressantes et surtout très inattendues de Carnoy et Lebrun (8). Nous y voyons que les nucléoles de l'œuf des Urodèles donnent naissance à des filaments uniformes et réguliers ; ces derniers ne tardent pas à se désagréger et tombent en sphérules et granules minuscules, encore entremêlés le plus souvent de tronçons irréguliers de filaments. Pendant l'élaboration du fuseau et des asters, les produits nucléolaires : filaments, sphérules et granules, se concentrent et se fusionnent de manière à amener la formation des douze chromosomes définitifs. Ce phénomène présente deux modalités différentes : parfois,

(1) Karsten : *Die Beziehungen der Nucleolen zu den Centrosomen bei Psilotum triquetrum* (Ber. d. deutsch. bot. Gesel., Bd. XI, 1894).

(2) Strasburger : *Ueber Cytoplasm.* (Jahrb. f. w. Bot., Bd. XXX, p. 378).

(3) O. Hertwig : *La cellule*, édit. française.

(4) Brauer : *Zur Kenntnis der Spermatogenese von Ascaris megalocephala* (Archiv. f. Mikr. Anat., 1893, Bd. 42).

(5) Balbiani : *Sur la structure et la division du noyau chez le Spirochona gemmipara* (Ann. de microgr., 1895).

(6) Carnoy et Lebrun : *La fécondation chez l'Ascaris megalocephala* (La Cellule, t. XIII, 1897).

(7) Schaudinn : *Loc. cit.*

(8) Carnoy et Lebrun : *La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens* (La Cellule, t. XVI, 2^e fascicule, mars 1899).

les produits nucléolaires, en se fusionnant graduellement, forment directement les chromosomes ; parfois, il se fusionnent d'abord en une masse unique qui se scinde à diverses reprises pour amener la formation des douze blocs définitifs.

Ces auteurs en arrivent à dire que les chromosomes constituent des entités morphologiques nouvelles, élaborées de toutes pièces, au moment même de la cinèse, à l'aide des *produits nucléolaires* (1).

Nous ne voulons pas nous prononcer pour l'instant sur la question fort délicate de la permanence des chromosomes dans le noyau, à travers toutes les divisions ; nous constaterons simplement que le rôle attribué par nous au nucléole des amibes n'a rien dans ces conditions que de très vraisemblable.

La question est appelée d'ailleurs à prendre un grand développement, car le type de structure nucléaire rencontré dans l'*Amœba hyalina* se retrouve chez nombre d'organismes inférieurs, et en particulier chez les Champignons.

Il y a déjà une dizaine d'années que nous avons signalé cette structure du noyau dans beaucoup de Siphomycètes (2) ; mais un certain nombre d'auteurs se sont refusé à voir un nucléole dans le corpuscule central.

Ainsi, Humphrey admet que ce prétendu nucléole correspond aux corps chromatiques des noyaux plus élevés en organisation, et il le désigne en conséquence sous le nom de « chromatin-masses » (3).

Hartog émet une opinion analogue sur le noyau des *Saprolegniæ* ; ce noyau renferme, dit-il, une masse centrale de nucléine ou chromatine, qu'il s'abstient inten-

(1) Carnoy et Lebrun : *Loc. cit.*, p. 383.

(2) P.-A. Dangeard : *Recherches histologiques sur les Champignons* (Le Botaniste, 2^e série, p. 63-149).

(3) Humphrey : *The Saprolegniaceæ of the United States*, 1892, p. 68.

tionnellement d'appeler nucléole ; c'est cette masse qui, à la prophase, se sépare en quatre segments chromatiques ou chromosomes (1).

Trow adopte dans un premier travail l'opinion d'Humphrey et d'Hartog ; pour lui, l'élément que j'ai considéré comme un nucléole n'est autre chose qu'un chromosome ; sa substance est spongieuse ; lors de la division directe du noyau dans la germination des zoospores, le chromosome subirait un simple étranglement, à la suite duquel une nouvelle membrane, apparaissant à l'équateur du noyau, séparerait les deux noyaux-filles (2).

Dans un second mémoire, Trow modifie ses conclusions premières (3) ; ainsi le corpuscule central n'est plus pour lui un chromosome ; ce n'est pas davantage un nucléole ; il renferme à la fois de la chromatine et de la substance nucléolaire ; il ressemblerait au nucléole des *Spirogyra* étudié par Mitzkewitsch. Cette fois, Trow signale une division indirecte du noyau dans l'oogone et l'anthéridie, ainsi que dans l'oospore en germination ; dans les premiers organes, le nombre des chromosomes est de quatre ; il est de huit dans les noyaux de l'oogone ; aucune relation directe n'est signalée entre le corpuscule central et les chromosomes ; ceux-ci prendraient naissance, comme dans la karyokinèse ordinaire, aux dépens d'un filament nucléaire ; les figures de l'auteur, à ce sujet, sont peu démonstratives ; elles sembleraient plutôt indiquer la formation du nucléole aux dépens des chromosomes, lors de la séparation des noyaux-filles.

(1) M. Hartog : *On the cytology of the vegetative and reproductive organs of the Saprolegniæ* (Transactions of the royal Irish Academy, v. XXX, part. XVII, 1895, p. 664, 667).

(2) Trow : *The Kariology of Saprolegnia* (Annals of Botany, v. IX, décembre 1895, p. 622-624).

(3) Trow : *Observations on the Biology and Cytology of a new variety of Achlya americana* (Annals of Botany, vol. XIII, march 1899, p. 152, 155).

On ne saurait passer sous silence ici la façon dont se comporte le nucléole du noyau des Levures, d'après Wager, bien qu'à notre avis, les résultats avancés par ce savant aient besoin d'être vérifiés et contrôlés (1).

Lors du bourgeonnement, le nucléole se divise en deux parties égales, comme dans une division directe, ce qui, en somme, confirme nos propres observations (2) ; mais, lors de la formation des spores, la chromatine, disséminée dans le cytoplasme, est absorbée plus ou moins complètement par le nucléole ; celui-ci s'allonge en forme d'une haltère ; dans sa masse apparaissent des granulations très chromatiques (chromosomes ?) ; le tout est enveloppé d'une substance moins colorable qui réunit quelque temps encore les deux nucléoles-filles.

Il ressort de ces divers mémoires que chez un certain nombre de Champignons, le nucléole a des relations étroites avec les chromosomes ; on ne saurait encore affirmer, il est vrai, une parenté directe entre ces deux éléments, mais la chose est pourtant probable.

Nous arrivons à la même conclusion en ce qui concerne le noyau des *Spirogyra* (3). Certains auteurs, comme Meunier, n'ont pas hésité à faire provenir directement les chromosomes du nucléole filamenteux de ces algues ; malheureusement, les avis sont encore partagés, ainsi qu'on peut le constater en lisant les deux mémoires les plus récents publiés sur ce sujet, celui de Wisseling (4) et celui de Mitzkewitsch (5).

(1) Wager : *The nucleus of the Yeast-Plant* (Annals of Botany, vol. XII, décembre 1898).

(2) P.-A. Dangeard : *La structure des Levures et leur développement* (Le Botaniciste, 1894, p. 282).

(3) Consulter Zimmermann : *Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes*, Jena, 1896, p. 152.

(4) Wisseling : *Ueber den Nucleolus von Spirogyra* (Bot. Zeit. 1898, p. 195).

(5) Mitzkewitsch : *Ueber die Kerntheilung bei Spirogyra* (Flora, Bd. 85, Heft 2).

En résumé, nous dirons que, chez l'*Amœba hyalina*, le nucléole renferme la chromatine des chromosomes ; nous ajouterons que cette propriété semble s'être conservée chez un certain nombre de Champignons et d'Algues ; ces chromosomes sont mis en liberté ou s'organisent au moment de la karyokinèse.

b) La formation du fuseau est des plus simples : le clastileucite ne comprend, en effet, que du nucléoplasme ; ce dernier a augmenté de volume et il est devenu assez fortement chromatique ; cette propriété lui vient du nucléole dont une partie s'est dissoute et mélangée avec sa masse (fig. 12, 20, Pl. III).

Le nucléoplasme ainsi modifié prend un contour elliptique, et le fuseau se trouve ainsi constitué (fig. 21, 23, Pl. III) ; il n'y a pas, nous pensons, à tenir compte d'un aspect irrégulier qui s'est rencontré une fois et qui aurait pu être assimilé aux fuseaux multipolaires, s'il s'était rencontré plus fréquemment (fig. 18, Pl. III).

Le fuseau est, selon les individus, entouré directement au contact par le cytoplasme chromatique ou séparé de ce dernier par une zone incolore plus ou moins large ; dans ce dernier cas, nous avons vu une fois à l'un des pôles deux petits corpuscules que l'on aurait pu prendre pour des centrosomes ; mais d'ordinaire, il n'y a rien aux pôles qui puisse rappeler de près ou de loin les sphères attractives. De même, les filaments radiaires que nous avons signalés autour du noyau à l'état de repos, peuvent quelquefois se retrouver au début de la prophase (fig. 13, Pl. III) ; ils entourent le noyau tout entier, mais ils disparaissent avant le stade de la plaque équatoriale et on n'en retrouve aucune trace par la suite.

Le fuseau, chez cette amibe, est, sans conteste, d'origine exclusivement nucléaire : sa substance est d'apparence homogène et dense : on n'y voit point à ce moment de striation ; les pôles actifs sont, comme dans les cas de ka-

ryokinèse normale, à l'extrémité du grand diamètre ; nous avons vu qu'il en était autrement dans l'*Amœba binucleata* où la plaque équatoriale est dirigée suivant ce grand diamètre ; d'autres différences existent.

Dans l'*Amœba binucleata*, le cytoplasme s'amasse aux deux pôles et, en cet endroit, la membrane du noyau s'épaissit en deux plaques polaires ; il en est de même chez l'*Actinosphærium*, selon Hertwig et Brauer, mais avec des différences mises en évidence par Schaudinn. Ainsi, dans l'héliozaire, les sphères protoplasmiques sont bien délimitées, très réfringentes et finement granuleuses ; dans l'amibe, les calottes polaires se continuent insensiblement avec le protoplasma environnant ; elles sont très peu réfringentes et entièrement dépourvues de structure ; les plaques polaires, de leur côté, sont beaucoup plus minces que dans l'*Actinosphærium*.

Il n'existe rien de pareil dans notre espèce ; d'abord le fuseau nucléaire ne présente pas plus trace de membrane que le noyau au repos ; il ne peut donc y avoir de plaques polaires comme dans l'*Amœba binucleata* ; on ne voit point d'autre part d'amas de protoplasme aux pôles du fuseau : bien plus, nous savons que ce fuseau est situé tantôt dans le cytoplasme chromatique, tantôt dans le cytoplasme incolore.

c) *Groupement des chromosomes en plaque équatoriale.* Nous représentons (fig. 21, 22, Pl. III) deux fuseaux au stade de la plaque équatoriale ; on distingue aux plus forts grossissements une mince bande chromatique occupant l'axe du fuseau ; en l'examinant avec attention, on reconnaît qu'elle est formée de fines granulations représentant les chromosomes ; il est difficile d'évaluer le nombre de ces derniers ; dans certains gros fuseaux, le nombre des chromosomes semblait être de douze ou quatorze ; mais nous devons faire remarquer qu'au stade de la séparation des chromosomes, dans une excellente pré-

paration, on pouvait compter, dans chaque groupe, six chromosomes environ. On est ainsi conduit à penser qu'au stade de la plaque équatoriale la division des chromosomes est déjà effectuée : cela n'a rien qui puisse nous surprendre, puisque Schaudinn a déjà constaté que, dans l'*Amœba binucleata*, les chromosomes étaient doubles avant leur groupement en plaque équatoriale ; la même chose se produit, d'après Brauer, dans la division du noyau des *Actinosphærium* enkystés (1) ; dans les *Actinosphærium* non enkystés, les choses se passent différemment et la division des chromosomes n'a lieu, suivant Hertwig, qu'au stade de la plaque équatoriale (2).

Que le nombre normal des chromosomes soit de six ou de douze dans l'*Amœba hyalina*, la chose n'a qu'une médiocre importance ; mais il est remarquable de constater à quel point sont grandes les variations du nombre des chromosomes dans les espèces d'un même genre. Ainsi, bien que Schaudinn n'ait pas indiqué le nombre des chromosomes dans le noyau de l'*Amœba binucleata*, on peut, d'après les figures qu'il donne, voir que ce nombre est manifestement très élevé ; dans l'*Actinosphærium eichhorni*, il est de plusieurs centaines (Brauer).

Les chromosomes de l'*Amœba hyalina* sont d'une finesse excessive : jamais nous n'en avons rencontré d'aussi petits ; ils sont néanmoins très nets et très distincts dans la substance du fuseau ; nous avons trouvé un exemple dans lequel ils n'occupaient pas en entier l'équateur du fuseau ; la ligne chromatique qu'ils dessinent suivant le diamètre n'atteignait pas la surface (fig. 22, Pl. III).

Le fuseau, au stade de la plaque équatoriale, ne nous a présenté aucune trace de fils achromatiques ; le nucléoplasme qui le constitue, montre seulement des stries très

(1) Brauer : *Loc. cit.*

(2) Hertwig : *Loc. cit.*

déliées dirigées vers les deux pôles ; encore ces stries ne sont-elles pas toujours apparentes.

Le fuseau, chez l'*Amœba hyalina*, n'a pas, au stade de la plaque équatoriale, ses pôles amincis et effilés, alors que cette dernière disposition existe un peu partout dans les cellules animales et végétales ; cette différence n'a pas lieu de nous étonner ; elle est au contraire toute naturelle, si l'on considère que la karyokinèse dérive de la division directe dans laquelle le noyau s'allonge et prend un contour elliptique avant de se séparer en deux. Il est beaucoup plus difficile de comprendre pourquoi dans l'*Amœba binucleata* et dans l'*Actinosphærium Eichhorni* les chromosomes occupent le grand diamètre du fuseau ; nous devons renoncer pour le moment à avoir l'explication de cette anomalie.

L'anaphase comprend : a) *Séparation des chromosomes* ; b) *Disparition du fuseau* ; c) *Reconstitution des nouveaux noyaux*.

a) La séparation des chromosomes se fait normalement ; on voit la plaque équatoriale se séparer en deux nouvelles plaques qui s'éloignent l'une de l'autre en restant parallèles (fig. 23, Pl. III).

Dans la karyokinèse ordinaire, le fuseau nucléaire se modifie peu : il prend simplement la forme d'un tonnelet, sans que sa longueur augmente sensiblement ; il n'en est pas de même dans l'*Amœba hyalina*.

Lorsque les chromosomes ont atteint chaque extrémité du fuseau, ils continuent d'opérer leur traction en sens inverse, et le fuseau se prête à cet allongement. L'ensemble de la figure nucléaire conserve encore quelque temps un contour elliptique ; à ce moment, le fuseau est nettement fibrillaire ; son volume a beaucoup augmenté ; sa surface est encore délimitée du cytoplasme par une ligne continue ; mais le nucléoplasme ne forme plus une masse dense et homogène comme précédemment ; il s'est divisé en

fibrilles qui s'étendent d'une extrémité à l'autre du fuseau, reliant entre eux les chromosomes (fig. 24, Pl. III).

Un peu plus tard, les deux masses chromatiques formées par les chromosomes se sont encore éloignées davantage l'une de l'autre, et elles ne sont plus réunies que par un mince cordon de nucléoplasme qui se laisse parfois subdiviser en deux ou trois fibrilles (fig. 25, Pl. III).

Il est utile de remarquer que dans les premiers temps de l'allongement du fuseau, le corps de l'amibe conserve sa forme générale arrondie ; les deux groupes de chromosomes sont au contact même du cytoplasme ; on y compte six chromosomes environ qui ont gardé leur forme granuleuse et leur indépendance ; ces amas chromatiques, dans leur mouvement de traction en sens inverse, arrivent de bonne heure à une petite distance de la surface, tout près de l'ectoplasme ; ils conservent cette position jusqu'au moment où les deux nouveaux individus vont se séparer (fig. 26, Pl. III).

De tous ces faits, il est facile de conclure à l'activité propre des chromosomes ; la substance du fuseau participe à ce mouvement ; elle s'allonge et s'étire pendant quelque temps avant de se rompre.

Ces observations tendent à ébranler les théories classiques qui expliquent le déplacement des chromosomes, soit par des *filaments tracteurs*, soit par une *action chimiotactique* des sphères attractives ; ici, dans l'amibe, les sphères attractives *manquent*, et l'action de filaments tracteurs ne peut être invoquée, puisque les chromosomes continuent leur mouvement propre après leur *arrivée aux pôles du fuseau*.

Nous avons donc raison d'écrire récemment :

« Sans vouloir en aucune façon diminuer le mérite de ces théories, nous devons à la vérité de dire qu'elles nous paraissent actuellement aussi peu vraisemblables l'une que l'autre ; lorsqu'une Vampyrelle ou une amibe se divisent,

chaque moitié tire en sens inverse de l'autre jusqu'à complète séparation ; on n'a cependant pas à faire intervenir venant de *l'extérieur* une force chimiotactique ou des filaments tracteurs. Cette division résulte de l'activité propre des individus.

« Il nous semble qu'il en est de même des chromosomes ; voilà des éléments auxquels on attribue un rôle important dans la cellule ; on n'hésite pas à leur confier la transmission des propriétés héréditaires ; on les voit disparaître pour réapparaître ensuite ; ils s'allongent, se raccourcissent, se pelotonnent ou se déroulent, se dédoublent, se segmentent ; faut-il donc nécessairement faire intervenir des forces externes de nature mécanique ou chimique pour toutes ces modifications, et cela exclusivement ? A tout prendre, l'action chimique serait plus acceptable, parce que l'action mécanique suppose un moteur dont l'existence et le fonctionnement entraînent de nouvelles complications.

« Nous trouvons tout naturel, tant que la question ne sera pas plus avancée, d'admettre provisoirement que les chromosomes se séparent comme les deux moitiés d'une amibe, en vertu d'une activité qui leur est propre (1). »

Ces idées, au moment où elles se sont produites, ont pu étonner quelques-uns de nos lecteurs ; nous espérons que ces nouvelles observations sont de nature à justifier nos conclusions précédentes ; actuellement, nous sommes autorisé à dire que les *chromosomes peuvent, dans la karyokinèse, se déplacer vers les pôles du fuseau sans l'intermédiaire de filaments tracteurs ou de centrosomes.*

On a eu tort de considérer le plus souvent la karyokinèse comme un mode de division tout à fait spécial, indépendant de l'amitose ; ainsi vom Rath regarde l'amitose

(1) P.-A. Dangeard : *Mémoire sur les Chlamydomonadinées*, loc. cit., p. 233-234.

comme ayant, par rapport à la mitose, un caractère dégénératif bien marqué, non seulement chez les Métazoaires, mais aussi chez les Protozoaires; le second procédé ne dériverait certainement pas du premier; il y aurait là deux processus absolus distincts (1).

La première partie de cette proposition nous semble exacte en ce qui concerne les métazoaires et les plantes: elle ne l'est plus si l'on envisage les organismes primordiaux; c'est ainsi que nous avons vu certaines espèces d'amibes se développer normalement avec une division directe du noyau; celle-ci représente le procédé primitif qui est copié d'ailleurs sur le mode de division même du corps. L'évolution a réussi à transformer les organismes unicellulaires primitifs en une série de formes vivantes de plus en plus compliquées comme organisation et comme fonction; cette évolution s'est trouvée liée d'une part à l'autophagie sexuelle, mais aussi avec la karyokinèse, c'est-à-dire avec un perfectionnement de la division directe du noyau; celle-ci ne s'est plus montrée qu'assez rarement et dans des conditions qui ne permettent pas toujours de fixer son degré d'importance (2).

Il est incontestable que la karyokinèse chez l'amibe représente un de ces états intermédiaires entre la division directe et la division indirecte, qui ne peuvent laisser aucun doute sur l'origine de cette dernière.

Ceci admis, nous avons une explication naturelle du déplacement des chromosomes. En effet, si l'on considère un instant la division directe, nous constatons que le

(1) Von Rath : *Sur la structure histologique des cellules glandulaires de la tête d'Anilocra mediterranea et sur la mitose en général* (Zeit. wiss. zool., LX, p. 1-89).

(2) Preusse : *Sur la division amitotique dans les ovaires des Hémiptères* (Zeit. wiss. Zool., LIX, p. 305-349).

Paladino : *L' amitose chez les Vertébrés* (Anat. Anz., X, p. 490, 493).

Flemming : *Réponse à M. le professeur Paladino* (Anat. Anz., X, p. 491-492), etc.

nucléole, ainsi que le nucléoplasme, s'allongent suivant un même diamètre et prennent un contour elliptique pour arriver à se séparer ensuite par étirement; *nucléole et nucléoplasme jouissent donc d'un mouvement propre au même titre que le cytoplasme; ils se divisent et se déplacent sans l'intervention de filaments moteurs ou de centrosomes.*

Dans la karyokinèse chez l'amibe, les choses se passent exactement de la même façon; chaque groupe de chromosomes fonctionne comme les deux moitiés d'un nucléole, et la substance du fuseau représente le nucléoplasme d'un noyau ordinaire en division directe; on ne saurait donc, à notre avis, faire trop de réserves en ce qui concerne toutes les théories mécaniques qu'on a voulu établir pour expliquer les phénomènes karyokinétiques (1).

Pendant la prophase, rien n'indique dans le contour de l'amibe et dans sa structure interne une prochaine division du cytoplasme; c'est donc du noyau, il semble, que part dans ce cas l'impulsion qui conduit à la formation de deux individus. La première indication de deux polarités opposées dans le cytoplasme se voit à l'anaphase au moment où le fuseau s'allonge et s'étire (fig. 25, Pl. III); des pseudopodes se forment en sens opposé dans l'axe même de division du noyau; ils sont au nombre de trois à cinq.

Il est bien entendu que nous ignorons le *pourquoi* de ces deux tendances opposées, de même que nous ignorons la nature des relations qui rendent ici solidaires la division du noyau et celle du corps.

b) On peut dire que la *disparition du fuseau* commence au moment où la rupture se fait dans le cordon de nucléoplasme qui réunit les deux groupes de chromosomes;

(1) Drüner : *Zur Morphologie der Centralspindel* (Iéna. Zeitsch., XXVIII, N. F. XXI, 1894). — Heidenhain : *Cytomechanische Studien* (Arch. Entw. Mech. I, p. 473-577), etc.

ceux-ci, dans chaque groupe, sont maintenant confondus en une petite bande chromatique qui plus tard s'arrondit (fig. 26, 28, 29, Pl. III).

Dans la karyokinèse ordinaire, lorsqu'il y a formation d'une membrane, une partie des filaments connectifs du fuseau est utilisée pour donner la plaque cellulaire ; ici, on ne voit rien de semblable, puisqu'il y a rupture du fuseau ou plutôt du cordon chromatique qui le remplace à l'anaphase ; chaque moitié du cordon se raccourcit, et le nucléoplasme s'amasse de cette façon autour des chromosomes (fig. 26, Pl. III).

c) La reconstitution des nouveaux noyaux se fait d'une manière très simple ; les deux masses chromatiques formées par les chromosomes se sont arrondies et vont constituer le futur nucléole : autour, on distingue un peu de nucléoplasme provenant du fuseau ; il est encore assez irrégulièrement distribué, mais bientôt il forme un anneau régulier entourant le nucléole.

Les deux nouvelles amibes, à ce moment de la karyokinèse, sont sur le point de se séparer ; chacune d'elles est arrondie ; elles ont un ectoplasme mieux délimité que dans les individus ordinaires ; l'endoplasme est chromatique avec un mélange de cytoplasme incolore (fig. 26, Pl. III).

Dans la karyokinèse ordinaire, les chromosomes des noyaux-filles s'unissent en un filament nucléaire qui disparaît ensuite dans le nucléoplasme ; chez l'amibe, les chromosomes se réunissent en un amas chromatique central homogène ; dans les deux cas, l'individualité des chromosomes disparaît à nos yeux et la question de leur permanence est nécessairement d'ordre théorique.

Conséquences et résultats.

L'existence de la karyokinèse est établie d'une manière indiscutable chez les amibes ; son étude permet de se pro-

noncer définitivement sur un certain nombre de points controversés.

A) *Centrosomes et sphères attractives.* — Nous avons fait ailleurs l'historique de ces formations ; on a voulu leur accorder une importance qu'elles n'ont pas ; nous en avons donné, dans un essai sur la karyokinèse, une interprétation nouvelle à laquelle nous n'avons rien à changer.

Rappelons quelques-unes de nos conclusions :

« Dans la karyokinèse, il se produit une différenciation du protoplasme à laquelle on peut donner le nom de *leucite de division* ou *clasileucite*.

« Il n'y a pas lieu de s'obstiner à vouloir attribuer au clasileucite une structure identique dans tous les cas ; la seule partie indispensable est le fuseau nucléaire ; il est vrai qu'il faut enlever du même coup aux centrosomes, centrosphères et radiations tout rôle prépondérant dans la karyokinèse : le seul fait que leur absence n'empêche nullement les phénomènes de la karyokinèse de se produire normalement est de nature à justifier cette opinion.

« Le fuseau est la seule partie essentielle du clasileucite ; les centrosomes et les centrosphères sont sans doute, au même titre que les pyrénoides des chloroleucites, des réserves ou des dépôts de protoplasma vivant qui peuvent être utilisés par le leucite de division ; les radiations qui en partent ne sont point caractéristiques du clasileucite.

Dans l'amibe, le clasileucite est réduit au fuseau nucléaire ; il n'existe ni centrosomes ni radiations aux pôles du fuseau : les granules qu'on y rencontre parfois, mais rarement, ne peuvent avoir que la signification de simples dépôts de protoplasma.

On ne saurait formuler que des hypothèses en ce qui concerne les radiations que nous avons observées autour du noyau, soit à l'état de repos, soit dans les premiers stades de la prophase.

Si leur présence était constante, on serait amené naturellement à les comparer aux fibrilles qui rayonnent autour de beaucoup de noyaux dans la karyokinèse normale et prennent part à la constitution du clasileucite ; mais on ne voit ces radiations que très rarement et jamais autour du fuseau constitué.

B) *Nature du fuseau.* — On a beaucoup discuté sur l'origine cytoplasmique ou nucléaire du fuseau : *dans l'amibe, le fuseau est exclusivement d'origine nucléaire ; il est aussi peu différencié que possible.*

Le nucléoplasme augmente simplement de volume, et d'incolore qu'il était, devient légèrement chromatique. L'augmentation de volume se produit sans que la limite très tranchée du noyau éprouve aucun changement ; il n'y a donc pas incorporation directe de cytoplasme ; la chromatocité, d'autre part, est due, sans aucun doute, à la dissolution partielle du nucléole, qui se creuse d'abord d'une vacuole, avant de se fragmenter.

Le nucléoplasme, ainsi modifié, prend simplement la forme elliptique, comme s'il s'agissait d'une division directe ; le fuseau est alors constitué.

Nous connaissons les modifications que le fuseau subit après l'arrivée aux pôles des chromosomes ; *il s'allonge tout en restant d'abord renflé en son milieu : à ce moment, on voit nettement des fils achromatiques ; puis, l'allongement continuant, le fuseau ne se montre plus que comme un cordon mince qui finit par se rompre en son milieu ; ces changements rappellent ceux qui accompagnent la séparation des nouveaux noyaux dans la division directe.*

C) *Les chromosomes.* — La question des chromosomes est la plus délicate. Sont-ce des éléments permanents du noyau, ou bien faut-il y voir des formations nouvelles pour chaque mitose ?

Ordinairement, les chromosomes apparaissent à la prophase sous forme d'un cordon nucléaire qui se segmente

ensuite. Dans l'amibe, nous n'avons rien vu qui puisse rappeler le boyau nucléinien : nous avons décrit par contre une *fragmentation du nucléole qui donne naissance à des granulations chromatiques d'aspect semblable à celui des chromosomes* ; c'est aux dépens de ces granulations que se forment les chromosomes ; l'observation directe ne permet pas de se prononcer sur la question de l'*individualité de ces éléments et de leur permanence d'une mitose à l'autre*.

Les théories classiques qui cherchent à expliquer le déplacement des chromosomes et leur mouvement en sens inverse jusqu'aux pôles du fuseau, soit par l'action de *filaments tracteurs*, soit par l'existence d'une *attraction chimiotactique des centrosomes*, ne reposent jusqu'ici sur aucun fondement sérieux.

Pour comprendre ce mouvement dans sa nature et dans ses origines, il faut se reporter à la division directe. La chromatine du noyau chez les organismes inférieurs, localisée dans le nucléole, s'est d'abord séparée approximativement en deux moitiés dans la division directe ; la séparation de ces deux moitiés par étirement exige un mouvement propre analogue à celui qui détermine la séparation de deux nouveaux individus lors de la division du corps. Le nucléole étant venu à se fragmenter en chromosomes, chaque fragment s'est comporté comme le nucléole tout entier : il s'est divisé en deux parties qui se sont éloignées ensuite en sens contraire ; dans les deux cas, qu'il s'agisse de mitose ou d'amitose, la cause du déplacement est la même ; si de nouveaux facteurs sont entrés en jeu dans l'évolution de la karyokinèse, nous ne les connaissons pas encore assez pour comprendre leur rôle ; c'est en remontant aux origines, comme nous venons de le faire, qu'on a chance d'élucider les problèmes controversés de cytologie.

Nous trouvons chez les Amibes des différences nombreuses dans la structure du noyau ; chacune d'elles corres-

pond à un mode particulier de division ; ainsi, nous connaissons à l'heure actuelle la division directe par étirement et la division directe par cloisonnement ; nous savons également que la karyokinèse peut se faire suivant deux modes sensiblement différents. Ces essais, ces tâtonnements que nous ne trouvons nulle part ailleurs, nous indiquent que l'évolution s'est exercée ici de façon toute spéciale et que le groupe des Amibes est la souche d'où partent de nombreux rameaux. Il devient évident que le noyau a subi de bonne heure dans son mode de division une série de modifications et de perfectionnements étroitement liés aux progrès d'ordre morphologique et physiologique ; il sera intéressant de montrer que cette évolution correspond dans ses grandes lignes aux principaux groupes primaires animaux et végétaux ; c'est ce que nous nous proposons de faire lorsque nos matériaux seront plus nombreux et plus complets ; *en démontrant que la karyokinèse n'est qu'une modification évolutive de l'amitose*, nous avons préparé le terrain à une étude de l'élément nucléaire envisagé dans son histoire et dans ses propriétés.

PLANCHE III

La karyokinèse chez l'*Amœba hyalina* sp. nov. (Gross. 800-900.)

- FIG. 1-4. — Individus ordinaires.
FIG. 5. — Amibe possédant deux noyaux.
FIG. 6. — Noyau entouré de radiations incolores.
FIG. 7. — Amibe avec longs pseudopodes.
FIG. 8. — Amibe à l'état de repos avec sa membrane.
FIG. 9-11. — Noyau dont le nucléole se prépare à la fragmentation.
FIG. 12-20. — Divers aspects du noyau avec son nucléole fragmenté.
FIG. 21-22. — Fuseau au stade de la plaque équatoriale.
FIG. 23. — Les deux groupes de chromosomes se séparent.
FIG. 24. — Etirement du fuseau nucléaire.
FIG. 25, 27, 29. — Etats plus avancés.
FIG. 26. — Division du corps de l'amibe après rupture du fuseau.
FIG. 28. — Selon toute apparence, il s'agit d'un individu semblable à celui de la fig. 8 qui se divise avant de reprendre son état d'activité.
FIG. 30-31. — Le *Rhizoblenchus amœbæ* sp. nov.

