

*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

## **Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endospores.**

Par  
**Dr. A. Guilliermond,**

(Avec planches II—IV et 5 figures dans le texte.)

### **I. Introduction.**

La plupart des auteurs qui ont abordé la question de la structure des Bactéries sont arrivés à des conclusions opposées, de telle sorte qu'en dépit du nombre considérable de recherches accumulées depuis plus de vingt ans, la structure des Bactéries reste un des problèmes les plus controversés de la cytologie. Cela s'explique d'ailleurs par l'extrême difficulté du sujet. Il y aurait pourtant un grand intérêt à résoudre cette question, non seulement au point de vue de la Biologie générale, mais aussi au point de vue de la philogénèse et de la systématique de ces organismes, questions encore fort obscures. C'est pour ces raisons que nous nous sommes attachés à étudier la cytologie du groupe des Bactéries endogènes à laquelle SCHAUDINN a déjà apporté une très importante contribution.

### **A. Historique.**

A l'heure actuelle, trois opinions divisent les auteurs: quelques uns nient l'existence chez les Bactéries du noyau ou de son équivalent; beaucoup admettent la présence d'un noyau plus ou moins mélangé de cytoplasme; certains enfin prétendent avoir mis en évidence un noyau typique.

La revue générale (1), que nous avons consacrée tout dernièrement à l'état actuel de cette question, nous dispensera d'insister ici sur son historique; nous renverrons le lecteur à cette revue et nous nous bornerons à résumer le plus rapidement possible les principales opinions.

FISCHER (2), MIGULA (3) et MASSART (4) nient l'existence du noyau chez les Bactéries. Pour eux la cellule des Bactéries est constituée seulement d'un cytoplasme renfermant des vacoles et des granulations colorables: ces dernières ne représentent pas de la chromatine, mais probablement des produits de nutrition.

BÜTSCHLI (5) a observé chez les Bactéries un corps central analogue à celui qu'il a différencié sur les Cyanophycées. Dans les Bactéries de grandes dimensions, telles que les Sulfobactéries (*Beggiatoa*, *Chromatium* et *Ophidomonas*), il observe une structure analogue à celle des Cyanophycées avec une zone corticale alvéolaire peu colorable et un corps central également alvéolaire, mais plus chromophile que le reste du protoplasme, et renfermant dans les nœuds de sa trame des „grains rouges“ (corpuscules métachromatiques, colorables en rouge par certains colorants bleus, qu'il considère comme des grains de chromatine); le corps central occupe à lui seul la presque totalité de la cellule alors que le cytoplasme se réduit à une zone corticale extrêmement mince. Dans les espèces de plus petites dimensions le cytoplasme paraît même disparaître complètement et la cellule se trouve constituée uniquement d'un noyau.

La même opinion est formulée par un certain nombre d'auteurs: ZETTNOW (6), WARLICH (7), FRENZEL (8), SCHEWIAKOFF (9), GOTSCHLICH (10), MITTROPHANOW (11), KLEBS (12), HUEPPE (13), WEIGERT (14), TRAMBUSTI et GALEOTTI (15), FEINBERG (16). Ce dernier décrit un corps central sous forme d'un filament axial qui se rapproche du système chromidial décrit récemment par SWELLENGREBEL.

MARX et WOITHE (17) considèrent la cellule des Bactéries comme dépourvue de noyau, mais constituée d'un mélange de cytoplasme et de nucléine; celle-ci se différencierait parfois en granules chromatiques (grains rouges de BÜTSCHLI).

C'est SCHAUDINN (18) qui a formulé avec le plus de précision la théorie du noyau diffus. Ses études ont porté sur *Bacillus Büttschlii* et le *B. sporonema*. Le premier découvert dans l'intestin de Blatte (*Periplaneta orientalis*) est le plus gros Bacille actuellement connu (4  $\mu$  de largeur); il se prête donc tout à fait aux recherches cytologiques.

SCHAUDINN constate, dans les deux espèces, un cytoplasme alvéolaire dont la trame renferme dans ses nœuds de nombreuses gran-

lations colorables qu'il regarde comme des grains de chromatine représentant un système chromidial.

La sporulation de ces deux Bacilles présente, d'après SCHAUDINN, des rudiments de sexualité. Dans le *B. Bütschlii*, la cellule destinée à sporuler subit une division transversale: les deux cellules qui en dérivent restent accolées et ne tardent pas à se confondre de nouveau en une seule cellule qui produira deux spores, l'une à chaque pôle; dans le *B. sporonema*, on ne constate qu'un commencement de division de la cellule mère de la spore, accusée par une constriction médiane, mais le phénomène s'arrête là et n'aboutit pas à la formation des deux cellules. SCHAUDINN considère la fusion des deux cellules sœurs qui s'effectue dans le *B. Bütschlii* comme un acte sexuel rudimentaire, comparable aux phénomènes d'autogamie signalés dans divers organismes (Rhizopodes, Sporozoaires, Levures), et le début de division qu'on observe dans la cellule mère de la spore du *B. sporonema* comme un vestige de cette conjugaison dégénérative, disparue dans cette espèce.

Lors de la sporulation, après fusion des deux cellules, on constate, dans le *B. Bütschlii*, une augmentation de volume des granules chromatiques du cytoplasme, qui se répartissent au milieu de la cellule et semblent circuler suivant l'axe de cette dernière comme s'il se produisait un échange entre les granules des deux cellules primitives. A un stade ultérieur, les granules se condensent aux pôles de la cellule et y constituent deux corps sphériques qui présentent tous les caractères de noyaux et que SCHAUDINN considère comme tel. Un certain nombre des granules ne sont pas utilisés à la formation de ces noyaux et subsistent au milieu de la cellule, formant une sorte de chapelet, plus ou moins enroulé en spirale. Les deux corps nucléaires s'entourent ensuite d'une mince zone de cytoplasme qui deviendra le cytoplasme de la spore, lequel se délimite bientôt par une membrane. A partir de ce moment, la spore cesse de se colorer par les moyens ordinaires, la membrane faisant obstacle à la pénétration des colorants. Les granules, qui subsistent au centre de la cellule, disparaissent peu à peu, puis le sporange se désagrège, sa paroi éclate et les spores sont mises en liberté. Au moment de la germination des spores, le noyau a disparu et se trouve remplacé par des granules chromatiques disséminés dans le cytoplasme.

Dans le *B. sporonema*, on constate seulement la formation d'une petite vacuole sporifère, très colorable qui grossit, s'entoure d'une membrane faisant obstacle aux colorants et se transforme en spore. A aucun moment, il n'y a donc de différenciation nucléaire dans cette espèce.

Le fait que, au moment de la sporulation, on assiste dans le *B. Bütschlii* à la formation, aux dépens d'une partie des granules chromatiques du cytoplasme, de deux noyaux destinés aux spores, autorise SCHAUDINN à penser que au moins un certain nombre de ces granules sont formés de chromatine et représente un noyan diffus ou, suivant l'expression de R. HERTWIG, un système chromidial. Il rapproche d'ailleurs cette structure de celles qui ont été récemment observées chez divers Protozoaires. Pour le *B. sporonema* où l'on ne constate pas de formations nucléaires, on peut faire la même hypothèse, mais avec beaucoup plus de réserve, car il est possible que les granules colorables représentent des grains de sécrétion de nature variée (corpuscules métachromatiques, graisses etc.) et que la nucléine se trouve dissoute dans le cytoplasme.

Dans des recherches plus récentes, SWELLENGREBEL (19) décrit, dans le *B. maximus buccalis*, le *Sp. volutans* et quelques Spirochètes, un système chromidial sous forme d'un filament spiralé au milieu de chaque cellule: celui ci est formé d'une substance achromatique et de grains de chromatine. Cette structure est analogue à celle décrite par Perrin dans le *Trypanosoma Balbianii*. Tout dernièrement l'existence de ce filament spiralé a été mise en doute par HÖLLING (20) et ZETTNOW (21).

BABES (22) a été nn des premier à observer des corpuscules métachromatiques dans les Bactéries et les a considéré comme des noyaux rudimentaires. ERNST (23) a émis la même opinion, mais en admettant également que ces noyaux représentent le produit initial de la spore. Plus récemment (24), cet auteur a été amené à abandonner cette hypothèse et il considère désormais ces corps comme des grains de sécrétion.

SCHOTTELIUS (25), WAGER (26), SJÖBRING (27), WAGNER (28), ILKEWICZ (29), ZIEMAN (30), NAKANISHI (31), PROTOPOPOF (32), ROWLAND (33) admettent l'existence d'un noyau typique chez les Bactéries.

Plus récemment, ARTHUR MEYER (34) s'est rangé parmi les partisans les plus convaincus de l'existence du noyau. A l'aide de fixations au formol et de colorations à la fuchsine, il observe dans un grand nombre de Bacilles, principalement dans le *B. asterosporus*, des granules colorables, au nombre de un à six dans chaque cellule, qu'il admet être des noyaux. Il retrouve un noyau dans la spore au moment de sa formation. La spore apparaît, suivant cet auteur, sous forme d'une vacuole dans laquelle se condense nn cytoplasme très colorable et où pénètre un noyau.

Les travaux de VEJDOVSKY et de son élève MENCL ont apporté

de nouvelles preuves sérieuses en faveur de l'existence d'un véritable noyau.

Le premier (35) observe dans le *Bacterium gammari*, trouvé dans des coupes d'un petit crustacé (*Gammarus zschokkei*), un noyau typique constitué d'un nucléoplasme incolore entouré d'une membrane, dans lequel on distingue un ou plusieurs granules chromatiques. Ce noyau est placé au centre de chaque cellule; les deux pôles sont occupés par des vacuoles renfermant quelques corpuscules métachromatiques. L'auteur a pu constater la division du noyau par une mitose bien caractérisée.

VEJDOVSKY (36) obtient des résultats analogues dans une Bactérie filamenteuse du tube digestif d'une annélide (*Bryodrilus Ehlersi*).

MENCL (37) observe, dans le *B. megatherium* et diverses Bactéries de l'intestin de *Periplaneta orientalis*, un noyau analogue à celui décrit VEJDOVSKY, mais moins net et ne se différenciant que dans des conditions très spéciales. Souvent les cellules ne présentent pas de noyau, mais laissent apercevoir à la place de ce dernier une série de bandes chromatiques transversales que l'auteur interprète comme des stades de reconstitution nucléaire (anaphase).

Dans un second mémoire, MENCL (38) décrit un noyau dans diverses espèces trouvées dans les eaux de la Moldau et se rapportant pour la plupart au genre *Cladothrix*. Ce noyau présente une forme et une structure très variables. Il se divise par amitose ou plus souvent par une mitose très primitive.

Plus récemment cet auteur (39) a repris les observations de VEJDOVSKY sur le *Bact. gammari* et a montré la grande analogie qui existe entre la structure de cette Bactérie et celle des *Cladothrix* précédemment étudiés par lui.

KAREL KRUIS et BOHUSLAV RAYMAN (40) ont obtenu également avec un procédé spécial de fixation (séchage des frottis à l'exsiccateur) des résultats favorables à l'existence du noyau dans plusieurs espèces de Bacilles endospores: *B. mycoïdes*, *B. radicosus*, *B. oxalaticus*, *B. tumescens*. Ces auteurs parviennent à observer au centre de chaque cellule un corps sphérique, très colorable, qu'ils interprètent comme un noyau. Mais ce noyau ne se montre qu'au début du développement; dans les cellules âgées, on observe seulement un cytoplasme granuleux sans différenciation nucléaire.

KUNSTLER (41), après avoir nié l'existence d'un corps central dans les Bactéries, a attiré (42) l'attention sur les caractères nucléaires des spores en voie de formation. Dernièrement, KUNSTLER et

GINESTE (43), ont signalé, dans le *Spirillum periplaneticum*, l'existence d'un véritable noyau au milieu de chaque cellule.

Dans un mémoire tout récent, SWELLENGREBEL (44) a observé la présence de noyaux dans une Bactérie décrite par MILLER et à laquelle il a donné le nom de *Bacillus binucleatum*. Cette espèce renferme dans chaque cellule deux masses chromatiques homogènes, présentant les caractères microchimiques essentiels de la chromatine et qu'il considère comme des noyaux. Lors du partage cellulaire, chacun des noyaux forme une sorte de bande transversale qui se différencie sur une moitié latérale en une masse chromatique et sur l'autre en une masse achromatique. La masse chromatique se divise en deux petites granules, tandis que la partie achromatique se partage en deux bandes qui en se séparant, restent réunies par l'une de leurs extrémités, formant ainsi une sorte de V au milieu de la cellule et ressemblant au noyau spiralé du *B. maximus buccalis*. Les deux branches de ce V renferment chacune un granule chromatique. Bientôt les deux branches se séparent complètement et s'orientent parallèlement l'une à l'autre pour constituer deux noyaux dans chaque cellule fille. La membrane transversale qui sépare les deux cellules filles est colorable par l'hématoxyline ferrique. Les granules décrits ne peuvent donc pas être attribués à la formation de la membrane et paraissent bien être de véritables noyaux.

L'auteur insiste sur la ressemblance de ces noyaux lors de leur partage avec les spirales chromidiales du *B. buccalis* et de quelques Spirilles. Il pense qu'il faut voir là un vestige d'une ancienne organisation plus primitive où le noyau serait à l'état de spirale chromatique. Les Bactéries les plus différenciées, telles que le *B. binucleatum*, posséderaient donc de véritables noyaux, présentant lors de leur division un retour à la forme chromidiale de leurs ancêtres. Les autres moins évoluées n'auraient qu'un système chromidial sous forme de spirale. Dans les autres enfin, les plus primitives, le noyau serait diffus et représenté par des granules chromatiques disséminés dans le cytoplasme, comme dans les espèces étudiées par SCHAUDINN.

## B. Technique.

Nos observations ont été faites pour la plupart sur des Bactéries cultivées sur peptone gélosée (peptone 2%), milieu où elles se développent facilement et qui nous a paru particulièrement favorable aux espèces étudiées. Toutefois, nous avons également observé des espèces cultivées sur des milieux variés: bouillon de peptone liquide,

tranches pomme de terre et de carotte, etc., pour nous rendre compte des modifications que le milieu pourrait déterminer sur leur structure.

Les fixations et les colorations ont été faites sur des frottis: ce procédé qui donne de mauvais résultats pour les Levures convient tout à fait à l'étude des Bactéries.

#### a) Fixations.

Afin d'éviter les chances d'erreurs, nous avons essayé le plus grand nombre de fixations et de colorations possible. Notre technique est la même que celle que nous avons employé dans nos recherches sur les Cyanophycées (45), nous y insisterons donc peu.

La plupart des fixations nous ont donné de bons résultats, notamment le liquide de Mann, le liquide Lavdovsky, de Picroformol, le formol à 40 %, le Lenhossék, le Telleyesniczky, le Zenker, le Perenyi, le Flemming. Néanmoins les procédés de choix pour la différenciation des granules chromatiques sont le Pérenyi, le Lenhossék, et le Zenker. L'alcool, et même la fixation à la flamme sont suffisantes pour la différenciation des corpuscules métachromatiques. Pour obtenir des belles différenciations de ces corps, nous recommandons le formol, le Lavdovsky et le Lenhossék.

#### b) Colorations.

Le bleu de méthylène, le bleu de toluidine, le bleu de crésyl BB, la thionine l'hémalum et le bleu Unna donnent parfois des résultats, mais en général ces colorants ne permettent pas une différenciation suffisante des granules chromatiques: ils peuvent être employés pour la coloration des corpuscules métachromatiques, surtout le bleu de crésyl BB. Les meilleurs colorants sont l'hématoxyline ferrique, l'hématoxyline cuprique, la safranine, le bleu Borrel et Giemsa. Ces divers colorants peuvent servir après la plupart des fixations.

L'hématoxyline ferrique est le procédé de choix: les granules chromatiques se colorent en noir foncé, tandis que le cytoplasme prend une teinte grise: on peut le colorer ensuite par l'érythrosine, l'éosine ou le vert lumière. L'hématoxyline cuprique aussi produit de bonnes différenciations, mais un peu inférieures toutefois aux précédentes. Les granules chromatiques se colorent d'une manière moins distincte, mais en revanche on obtient par ce procédé de belles colorations des corpuscules métachromatiques.

La safranine colore très bien les granulations chromatiques et

les granules représentant les ébauches des spores. Avec la safranine et le lichtgrün, on peut même obtenir dans quelques cas une différenciation des granules chromatiques en rouge et du reste de la cellule en vert, mais les régressions sont tellement délicates qu'on ne peut pas recommander ce procédé.

Le bleu Borrel et le Giemsa donnent des résultats presque aussi bons que l'hématoxyline ferrique. Le cytoplasme se colore en bleu et les granules chromatiques en violet foncé.

Les colorants employés par A. MEYER ne nous ont jamais bien réussi.

Les préparations se conservent facilement dans le baume de Canada. Il est préférable de traiter la préparation par l'alcool absolu et le xylol que la conserver directement dans le baume après simple dessiccation ce qui provoque toujours une certaine contraction des cellules.

Les colorations vitales au rouge neutre réussissent peu: généralement les cellules se colorent immédiatement et sans différenciation: il est possible d'obtenir de meilleurs résultats avec une solution très diluée de bleu de méthylène.

---

## II. Etude de quelques espèces.

### A. *Bacillus radicosus* et *Bacillus mycoides*.

Prenons pour résumer nos observations le *B. radicosus*<sup>1)</sup> (ZIMMERMANN) et le *B. mycoides* (FLÜGGE). Ces deux espèces sont très voisines et se rencontrent dans l'eau ou sur la terre de champs ou de jardin. L'une et l'autre rappellent le Bacille du charbon par l'aspect des bâtonnets et leurs dimensions. Les cellules mesurent environ 2  $\mu$  de long sur 1  $\mu$  de large. Par leur grande taille, ces deux Bacilles présentent une grande facilité d'étude.

Sur peptone gélosée, l'un et l'autre se développent abondamment: pendant les vingt quatre premières heures, les cellules se multiplient activement; à partir de ce moment, la division se ralentit et la sporulation commence. Au bout de quarante huit heures, presque toutes les cellules ont sporulées. Ces deux espèces présentent les mêmes caractères cytologiques; nous les étudierons donc ensemble.

---

<sup>1)</sup> Toutes les espèces que nous avons observées proviennent du laboratoire du Dr. Kral à Prague.

### a) Début du développement.

Pendant les six à huit premières heures du développement, les cellules offrent sur le vivant, un aspect homogène avec parfois une petite vacuole centrale et souvent une sorte de capsule très dense et brillante à l'un des pôles ou aux deux pôles, qui paraît représenter un épaississement de la membrane.

Après fixation, le cytoplasme se colore à peu près uniformément et d'une manière très vive. Cela semble s'expliquer soit par la densité du cytoplasme, soit par un état particulier de la membrane, soit enfin par un mélange intime du cytoplasme et de la chromatine. C'est à peine si l'on distingue, à l'aide de certaines fixations spéciales telles que le Perenyi, une apparence plus ou moins granuleuse du cytoplasme. Souvent, on observe au centre de la cellule une petite vacuole. Les cellules sont en voie de division très active et montrent, avec certaines fixations et certains colorants, notamment les fixations au Zenker et les colorations à l'hématoxyline ferrique, des particularités que nous attribuons à la formation de leur cloisons transversales. En effet, avec cette méthode, les cellules apparaissent uniformément colorées en noir foncé (Pl. II fig. 18), mais si l'on prolonge la décoloration, le cytoplasme devient bientôt d'un gris uniforme et l'on observe, au milieu d'un grand nombre de cellules, un granule fortement coloré qui ressemble à s'y méprendre à un noyau et que nous avons d'abord considéré comme tel. Une observation plus attentive montre que ce granule n'est pas un noyau et paraît représenter le début de la cloison transversale destinée à diviser les cellules.

Voici en effet, la série des stades que l'on observe:

1° Cellules très courtes sans différenciation ou avec, à l'un des pôles ou aux deux, une capsule colorée en noir intense (Pl. II fig. 13 et 17); 2° Cellules moins courtes avec, au milieu et contre les membranes latérales, deux petits granules très colorés qui semblent naître aux dépens d'une condensation du cytoplasme lequel présente souvent, autour de ces granules, un aspect plus ou moins hyalin (Pl. II fig. 1, 3, 9 et 14). Parfois, on n'observe qu'un seul granule, sur le bord de la membrane ou au centre de la cellule, mais il est probable, dans ce cas, que le second granule n'est pas encore développé ou qu'il se trouve dans une position où il n'est pas possible de le distinguer (Pl. II fig. 8, 11, 15 et 16). Les deux petits granules latéraux ne sont pas toujours situés suivant une ligne perpendiculaire à l'axe longitudinal de la cellule; souvent ils sont situés suivant une ligne oblique et alors ils donnent l'illusion de deux noyaux venant de se diviser ou d'un

stade anaphase de mitose. 3° Cellules un peu plus longues dans lesquelles les deux granules latéraux se soudent l'un à l'autre, au milieu de la cellule, et présentent un peu l'aspect d'un disque biconcave (Pl. II fig. 1, 2, 4, 7 et 14). 4° Cellules longues avec au milieu une membrane transversale fortement colorée, offrant lorsqu'elle se trouve suivant une position un peu oblique par rapport à l'œil, l'aspect d'un gros granule ou d'un disque biconvexe et ressemblant tout à fait à un noyau (Pl. II fig. 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12). 5° Cellules où la cloison colorée forme à son milieu une zone hyaline qui la divise en deux cloisons parallèles (Pl. II fig. 3 et 7). Parfois les figures de ce stade rappellent un peu les stades anaphase d'une mitose. 7° Stades où les deux cellules ainsi formées se séparent l'une de l'autre suivant la partie hyaline par où s'est dédoublé la cloison colorée (Pl. II fig. 2, 3 et 17). Les deux cloisons transversales qui se sont détachées restent colorables pendant quelque temps et présentent la forme d'une capsule à l'un des pôles de chacune des deux cellules.

Cette série de stades, comme on vient de le voir, semble se rattacher à la formation de la membrane transversale qui à son début présente une vive affinité pour les colorants et qui s'effectue donc de la manière suivante: Il se forme d'abord deux petits granules colorables, l'un de chaque côté de la membrane; ceux-ci émettent chacun vers le centre un prolongement effilé par lequel ils se soudent l'un à l'autre, formant un disque biconcave qui sépare la cellule en deux cellules filles. Un épaissement de la partie médiane de la cloison nouvellement formée se produit ensuite; celle-ci prend l'aspect d'un disque biconvexe lorsqu'elle se trouve dans une situation légèrement oblique par rapport à l'œil. Bientôt cette cloison se clive en deux bandes par la formation à son milieu d'une zone hyaline suivant laquelle se fait la séparation des cellules. Les cloisons nouvellement formées restent quelque temps colorées. Souvent le partage s'effectue suivant un plan oblique ce qui explique que les deux granules, destinés à se souder pour former la cloison, ne se trouvent pas toujours situés au même niveau. Parfois la formation de la cloison médiane n'est pas encore achevée que les deux ébauches des cellules filles commencent déjà à produire sur leurs deux côtés latéraux de petits granules destinés à leur division, de telle sorte que souvent les cellules apparaissent constituées d'une série de bandes transversales très colorables que MENDEL (37) considère comme des plaques polaires d'anaphase ainsi que nous le verrons plus loin

(Pl. II fig. 3 et 14). Nous avons signalé (45), dans les Cyanophycées, un mode assez analogue de cloisonnement.

Ces granules en rapport avec la formation des cloisons ressemblent tellement à des éléments nucléaires que nous nous sommes demandé si vraiment ils ne correspondraient pas à des noyaux. On pourrait penser que chaque cellule renferme un noyau appliqué à la membrane transversale, se confondant plus ou moins avec elle et donnant l'illusion que celle-ci est colorée. En ce cas, au moment du partage cellulaire, le noyau se diviserait suivant un plan oblique et la cloison transversale apparaîtrait sous forme de zone hyaline entre les deux noyaux fils qui resteraient appliqués contre elle. Beaucoup de ces figures d'ailleurs ne sont pas sans rappeler le noyau récemment décrits par SWELLENGREBEL dans le *Bact. binu-cleatum*. Mais l'hypothèse nucléaire ne peut plus se soutenir lorsqu'on observe la suite du développement. En effet, au moment de la sporulation, lorsque les spores sont formées dans une chaîne de cellules qui ne doivent plus par conséquent renfermer de noyau, on retrouve souvent, aux pôles de ces cellules, des capsules fortement colorées et donnant l'illusion de noyaux. Il semble donc que ce soit bien la cloison transversale qui fixe les colorants. D'ailleurs, les granules producteurs de la membrane fixent le bleu de méthylène à l'état vivant, alors que tout le contenu de la cellule reste incolore, ce qui ne permet guère de voir en eux des formations nucléaires. Les cloisons transversales en voie de formation apparaissent colorées et laissent voir exactement les mêmes stades que nous venons de décrire: apparition de deux petits granules latéraux et soudure de ces granules aboutissant à la formation de la cloison transversale (Fig. III).

Ces figures de formations de cloisons transversales expliquent beaucoup de fausses interprétations qui ont été commises sur la soi-disant existence d'un noyau typique. C'est ainsi que les noyaux récemment décrits par BOHUSLAV RAYMAN et KAREL KRUIS (40) représentent certainement l'ébauche des cloisons transversales. Ces auteurs décrivent, en effet, des cellules courtes avec un ou plus souvent deux petits granules latéraux qu'ils considèrent comme des noyaux, et des cellules longues avec un gros granule colorable, situé au milieu et dans un rétrécissement de la cellule. Souvent enfin, ils observent dans les cellules longues, au niveau d'un rétrécissement médian, deux granules très rapprochés qui ressemblent à deux plaques polaires d'une anaphase, mais qu'ils interprètent comme des stades de conjugaison. D'après ces auteurs, les cellules courtes à deux noyaux représenteraient des cellules en voie de partage,

tandis que les cellules longues correspondraient à des stades de fusion de deux cellules courtes: le noyau placé dans le rétrécissement médian, par où s'est effectuée la soudure, résulterait par conséquent d'une fusion nucléaire entre les deux cellules qui se sont unies (Fig. I). Ce serait là une conjugaison analogue à celle décrite par SCHAUDINN dans le *B. Bütschlii*; mais, au lieu de s'effectuer au moment de la sporulation, elle s'accomplirait dès le début du développement. En examinant attentivement et à la loupe les microphotographies publiées par KRUIS et RAYMAN, on peut se rendre compte de leur erreur et voir que ce qu'ils décrivent comme des noyaux ne sont autre chose que des cloisons transversales en voie de formation.



Fig. I. Schéma.

A. Divers stades représentant l'évolution des granules colorables, d'après l'interprétation de KRUIS et RAYMAN. (Les granules représentent pour ces auteurs des noyaux.) B. Id. d'après notre interprétation. (Nous considérons les granules colorables comme les ébauches des cloisons transversales.)

MENCL (37) pourrait bien avoir commis la même erreur dans ses premières recherches, ainsi qu'il nous a paru, d'après l'examen des préparations que cet auteur a bien voulu nous envoyer. Nous y avons vu des parties fortement colorées, donnant parfois un peu l'impression de noyaux, mais paraissant se rapporter à des cloisons transversales: jamais nous n'avons pu constater la présence de véritables noyaux. MENCL semble donc confondre l'ébauche de la cloison transversale avec un noyau, et il considère, en tous cas, les cellules en voie d'actives divisions, traversées par une série de bandes colorées assez rapprochées les unes des autres, comme des stades d'anaphase d'une ou de plusieurs mitoses s'accomplissant simultanément dans la même cellule (Fig. II).

La coloration des membranes transversales ne s'observe guère

que dans des conditions très spéciales, telles par exemple que les fixations sur Zeuker et les colorations à l'hématoxyline ferrique. Avec d'autres colorants, elle est moins apparente, ce qui explique qu'elle n'ait guère été remarquée par les nombreux auteurs qui ont observé la structure des Bactéries. Cependant, ce mode de formation des cloisons correspond à celui qu'ont décrit BÜTSCHLI (5), MİGULA (3) et SCHAUDINN.



Fig. II. Schéma.

Formation des cloisons transversales attribuée par MENCL à des stades de reconstitution nucléaire.

SCHAUDINN (18) notamment observe, dans le *Bacillus sporonema*, la formation d'un léger étranglement médian de la cellule, puis l'apparition au niveau de l'étranglement de deux petits granules pariétaux colorables qui finissent par se souder au milieu pour former la cloison transversale.

Dans le *B. Büttschlii*, au contraire, la cloison transversale se forme aux dépens d'un seul petit granule colorable qui apparaît au centre de la cellule et se soude ensuite aux deux membranes latérales.

Dans ces deux cas, l'ébauche de la cloison apparaît sous forme de petits granules colorables, mais, d'après les figures de SCHAUDINN, ces corps sont si petits par rapport à la cellule qu'il n'est pas permis de les confondre avec des formations nucléaires.

Tout récemment, SWELLENGREBEL (29 et 44) a décrit et figuré, dans le *B. maximus buccalis* et dans le *Bact. binucleatum*, des cloisons transversales très colorables qui ressemblent beaucoup à des noyaux.

#### b) Cellules après huit heures de développement.

Au bout de huit ou dix heures de culture, les cellules changent d'aspect et deviennent beaucoup plus faciles à étudier. A l'état vivant, elles apparaissent avec une structure vacuolaire et un cytoplasme rempli de granules réfringents (Fig. III). On observe d'ordinaire au centre de chaque cellule plusieurs grosses vacuoles, tandis que le reste est occupé par un cytoplasme homogène ou finement alvéolaire (Pl. II fig. 19 à 28 et 69 à 71, 80 à 83, 78, 79 et 95).

Placées dans une goutte d'une solution très diluée de bleu de méthylène, les cellules offrent un contenu incolore. Les membranes transversales seules fixent le colorant. Au bout d'un certain temps, par suite probablement de la mort occasionnée par le bleu de méthylène, le cytoplasme prend le colorant, et montre une grande quantité de granulations plus colorables.

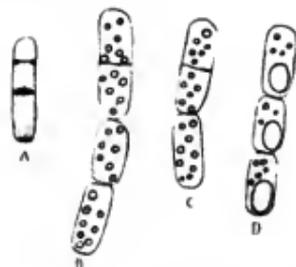


Figure III. *Bacillus mycoides*.

Aspect des cellules sur le frais. A = Cellule, au bout de 8 heures de développement, colorée par une solution très diluée de bleu de méthylène; les cloisons transversales ont seules fixées le colorant. B, C et D = Cellules non colorées, au bout de 24 heures, montrant des granules réfringents. Dans les cellules D, on aperçoit des spores en formation sous forme d'un gros granule dans chaque cellule.

Après fixation, les granules se colorent fortement; ils présentent dimensions variables et des formes irrégulières, parfois anguleuses. Ces granules, qui n'offrent pas les propriétés de la volutine et que nous désignerons sous le nom de granules chromatiques, bien qu'il ne soit pas prouvé qu'elles soient constituées de chromatine, s'accumulent surtout vers les deux pôles de la cellule (Pl. II fig. 26, 28 et 95) ou vers le milieu (Pl. II fig. 23 et 84) lorsqu'elles sont en voie de cloisonnement. Souvent elles se confondent plus ou moins avec les membranes transversales colorées et leur donent un aspect irrégulier. Parfois aussi elles sont placées sur le bord des grosses vacuoles du centre de la cellule (Pl. II fig. 19 à 23).

Après colorations à l'hématoxyline ferrugine, les granules se teignent en noir intense, tandis que le cytoplasme devient gris foncé. Si l'on colore ensuite par l'érythrosine ou le lichtgrün, le cytoplasme fixe difficilement ces teintures et prend une teinte rose ou vert sale. Avec la safranine et le lichtgrün, les granules chromatiques apparaissent en rouge sombre et le cytoplasme se teint en rouge clair on parfois fixe légèrement le lichtgrün (Pl. IV fig. 45 à 46). Après coloration au bleu Borrel ou au Giemsa, les granules se

colorent en bleu foncé violacé et le cytoplasme en bleu pâle (Pl. IV fig. 38 à 40). Les granules chromatiques fixent la plupart des colorants basiques et présentent à cet égard les caractères de la chromatine.

### c) Sporulation.

Après vingt-quatre heures, toutes les cellules offrent une superbe structure alvéolaire, analogue à celle qu'ont décrites BÜTSCHLI et SCHAUDINN. Les cloisons transversales sont toujours colorables et leur contour se confond souvent avec les granules du cytoplasme plus ou moins appliqués contre elles. Le cytoplasme renferme un très grand nombre de petits granules situés dans les nœuds de la trame, plus accentués qu'auparavant et qui, à ce moment pourraient être plus facilement encore considérés comme des granulations chromatiques ou chromidies (Pl. II fig. 37 à 44, 72 à 77, 84 à 100 et Pl. III fig. 4 à 16). Parfois, ces granulations sont surtout abondantes dans la région axiale de la cellule et présentent dans leur ensemble l'aspect d'un chapelet plus ou moins spiralé transversant la cellule dans sa longueur; on pourrait donc au premier abord les considérer comme réunies en un système chromidial continu analogue du noyau spiralé de SWELLENGREBEL (19) et au filament central de FEINBERG (16), mais un examen attentif montre que les granules sont en réalité dispersés dans le cytoplasme, très rapprochés les uns des autres, mais jamais contigus. Il n'y a donc là qu'une apparence (Pl. II fig. 86, 89 et 97, Pl. III fig. 1 et 2, Pl. IV fig. 39 et 45).

La sporulation ne semble pas être précédée de phénomènes d'autogamie analogues à ceux qui ont été décrits par SCHAUDINN (18) dans le *B. Bütschlii* et le *B. sporonema*. Il est donc probable que les phénomènes d'autogamie sont loin d'être la règle générale chez les Bactéries et qu'ils ne se rencontrent que dans quelques espèces très archaïques.

Lors de la sporulation, on voit se former à l'un des pôles de la cellule, tout près de la cloison transversale, un petit granule, visible sur le vivant sous forme d'une vacuole (Figure III), qui d'abord offre un contour un peu irrégulier, puis devient sphérique et qui présente tous les caractères d'un noyau comme l'avait déjà remarqué KUNSTLER (41) (Pl. II fig. 29, 35, 41, 42, 44 à 49, 53; Pl. II fig. 24 à 29, 32 à 59; Pl. IV fig. 41 à 43 et 47; 24, 25, 26, 27, 36 à 30, 40 à 44). Ce granule se colore en rouge foncé par la safranine et en noir intense par l'hématoxyline ferrique, tandis que le cytoplasme devient de plus en plus acidophile et fixe plus facilement

qu'au début l'éosine et le lichtgrün. Ce granule grossit, prend une forme ovale, puis s'entoure d'une membrane qui en s'épaississant finit par s'opposer alors à la pénétration des colorants. A ce moment la spore ne peut plus se colorer par les moyens ordinaires, sa membrane seule fixe légèrement les colorants. En même temps, la spore s'entourne d'une masse amorphe très colorable qui paraît provenir d'un épaississement autour de la spore du cytoplasme non utilisé à la formation de cette dernière (Pl. II fig. 51 à 58, Pl. III fig. 71 à 73). SCHAUDINN (18) a décrit la même particularité dans le *B. Bütschlii*.

Pendant le développement de la spore, le cytoplasme reste granuleux, les spores ne paraissent donc pas dériver de la condensation des granules du cytoplasme ou au moins ne dérivent que d'une partie d'entre eux. Une grande partie de ceux-ci, en effet, persiste pendant la formation de la spore: souvent même, ils se disposent en trainées longitudinales qui offrent quelques rapports avec les granules de reliquat du *B. Bütschlii*, qui restent à l'état de chapelet spiralé entre les deux spores.

Une fois formée, la spore grossit peu à peu aux dépens du cytoplasme qui n'a pas été utilisé à sa formation et qu'elle absorbe en grande partie. Dès l'apparition de l'ébauche de la spore, le cytoplasme perd peu à peu ses granules chromatiques.

En somme, les spores naissent suivant un procédé très analogue à celui qu'ont décrit SCHAUDINN (18) dans le *B. sporonema*, et plusieurs autres auteurs dans différents Bacilles, notamment KUNSTLER (41) et ARTHUR MEYER (34). SCHAUDINN observe dans le *B. sporonema*, les processus suivants: formation d'une petite vacuole sporogène, fixant fortement les colorants, puis transformation de la vacuole sporogène en spore dont la membrane s'oppose à la pénétration des colorants. A. MEYER également admet que la spore naît aux dépens d'une vacuole dans laquelle se précipite un cytoplasme très dense. KUNSTLER enfin décrit la spore comme un granule colorable, ressemblant à un noyau et naissant au voisinage de la membrane comme si elle procédait d'un bourgeonnement de cette dernière. La ressemblance que la spore offre à ce moment avec un noyau l'amène à émettre l'opinion que le noyau des organismes supérieurs ne serait peut être que le vestige de la spore des Protophytes.

Dans le *B. Bütschlii* (18) la spore naît d'une manière qui est en apparence assez différente: elle se présente d'abord sous forme d'une masse colorable produite par la réunion d'une partie des granules chromatiques disséminées dans la cellule, et que SCHAUDINN considère comme un véritable noyau. Ce noyau s'entoure bientôt d'une mince

zone cytoplasmique laquelle s'enveloppe à son tour d'une membrane qui délimite la spore et empêche désormais la pénétration des colorants. SCHAUDINN admet donc, au moment de la sporulation, la formation dans la cellule, d'un véritable noyau, dérivant de la condensation d'une partie des granules chromatiques du cytoplasme, ce qui lui permet de considérer ces derniers comme des chromidies.

On pourrait se demander si la formation des spores dans les Bacilles endospores ne s'effectuerait pas toujours comme dans le *B. Bütschlii* et si le granule colorable (ébauche de la spore), décrit par SCHAUDINN dans le *B. sporonema*, par KUNSTLER et MEYER dans d'autres Bacilles, et par nous dans le *B. radicosus* et le *B. mycoïdes*, ne représenterait pas également un noyau. Il serait possible en effet que la mince zone cytoplasmique, qui se forme autour de ce granule dans le *B. Bütschlii*, existe aussi dans les autres espèces, mais ne soit pas visible par suite de la petite dimension de ces dernières.

Dans le *B. radicosus* et le *B. mycoïdes*, comme dans les autres espèces que nous avons examinés, il est impossible de savoir si la masse colorable qui constitue l'ébauche de la spore représente un noyau ou si elle correspond au contraire à la spore elle-même. Nous avons remarqué cependant, dans quelques cas, que lorsque la spore a atteint une certaine dimension, elle s'entoure d'une zone hyaline, très difficile à déceler, qui ressemble à la zone cytoplasmique décrite par SCHAUDINN, dans le *B. Bütschlii* (Pl. IV fig. 44 et fig. 48 à 52). Cette zone hyaline représenterait-elle la formation d'une couche cytoplasmique autour de la masse chromatique ou correspond-elle à l'origine de la membrane?

#### d) Germination des spores.

La germination ne présente pas de particularités très intéressantes. La spore pen à peu grossit d'environ la moitié de son volume primitif,

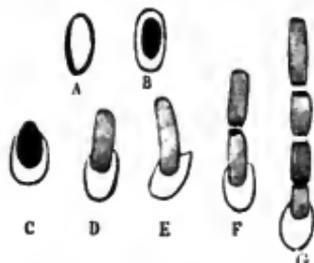


Figure IV. *Bacillus mycoïdes*.  
Germination des spores (ZENKER, hématoxyline ferrique).

sa membrane subit alors des modifications et laisse pénétrer les colorants (Fig. IV A et B). Bientôt la cloison externe éclate sur un pôle et laisse sortir un bâtonnet qui s'allonge, se cloisonne et forme bientôt une chaîne de Bacilles (Fig. IV C, D, E, F, G). Au moment de sa sortie de la spore, le bâtonnet présente l'organisation que nous avons décrite au début du développement, c'est à dire, cytoplasme homogène, très colorable, sans différenciations visibles en granules chromatiques.

#### e) Cultures dans différents milieux.

Le *B. radicosus* et le *B. mycoïdes* ne renferment qu'exceptionnellement des corpuscules métachromatiques: on en observe quelquefois, au cours du développement surtout pendant la sporulation et dans certains milieux tels que la carotte ou la pomme de terre, mais ils sont toujours très petits et peu nombreux. Cependant dans les cultures sur peptone liquide, où le *B. radicosus* vit difficilement, on assiste à la production dans cette espèce, aux deux pôles et souvent au centre de la cellule, d'énormes corpuscules métachromatiques dont le diamètre dépasse souvent celui de la cellule, ce qui donne à cette dernière un aspect moniliforme (Pl. IV fig. 53 à 56, 66 et 68).

A aucun moment du développement, nous n'avons constaté la présence de globules de graisse après fixations au Flemming. Par contre, on rencontre du glycogène sous forme de petits grains dans le cytoplasme. Le glycogène s'observe surtout pendant la sporulation, mais n'existe toujours qu'en très petite quantité dans les cultures sur peptone gélosée. Au contraire, il est très abondant dans les cultures sur carotte ou pomme de terre.

La structure des cellules, ne varie généralement pas sensiblement dans les différents milieux de culture. On constate cependant dans le *B. radicosus* une grande modification de structure, lorsqu'on le cultive sur carotte ou pomme de terre. Dans ces deux milieux de culture, ce Bacille prend une structure des plus intéressantes.

Tout d'abord, les cellules subissent des transformations morphologiques: au début, elles conservent leur forme de bâtonnet, mais au bout d'une douzaine d'heures, leur volume s'accroît, leur partie médiane se renfle, tandis que les deux pôles s'effilent. Les cellules offrent alors l'aspect de barques.

A l'état vivant, les cellules présentent au début du développement une structure homogène, parfois légèrement granuleuse ou avec une ou deux petites vacuoles au centre. Au bout de huit ou dix heures, elles offrent deux pôles renfermant une matière homogène et opaque

et une partie centrale remplie de granules réfringents. Colorées par l'iodo-iodure de potassium, les cellules montrent alors dans les deux pôles une abondante production de glycogène; tout le centre est occupé par des granules colorés en jaune.

Après fixation et coloration, on observe dans les premières heures, une structure analogue à celle que nous avons décrite sur peptone gélosée (Pl. IV fig. 30 et 31), mais vers la huit ou dixième heure, les granules chromatiques se localisent au centre de la cellule, tandis que celle-ci prend une très belle structure alvéolaire. Aux deux pôles, la trame cytoplasmique est peu colorable et se distingue difficilement; elle n'offre pas de granulations chromatiques, mais quelques corpuscules métachromatiques. Dans toute la partie médiane, au contraire, la trame est très apparente et renferme dans ses nœuds de nombreuses et grosses granulations chromatiques. Il semble donc se produire ici une localisation de chromatine au centre de la cellule, localisation qui paraît tenir à la présence du glycogène lequel dans les autres cultures est toujours très rare et qui ici est élaboré en grande abondance aux deux pôles.

Cette agglomération de granules chromatiques au centre de la cellule présente un peu l'aspect d'un noyau et pourrait être facilement considéré comme tel aux yeux d'un observateur non prévenu (Pl. II fig. 62 à 65, 66 à 68 et Pl. IV fig. 1 à 36). Il semble que l'on puisse la considérer comme un équivalent du noyau. Cette structure est un des arguments les plus sérieux en faveur de la signification nucléaire des granules chromatiques disséminés dans le cytoplasme des Bactéries. En effet, la masse formée par l'agglomération des granules chromatiques semble participer à la division cellulaire: lors du partage de la cellule, elle s'allonge, puis s'étrangle à son milieu et se sépare en deux portions qui s'écartent l'une de l'autre; bientôt une cloison transversale apparaît au milieu de la cellule et sépare deux cellules filles pourvues chacune d'une masse chromatique.

La sporulation s'effectue difficilement sur carotte ou pomme de terre et ce n'est guère qu'au bout de huit ou dix jours, qu'on voit apparaître quelques spores. Les cellules qui donnent naissance aux spores prennent la structure décrite dans les cultures sur gélose peptonisée; la localisation de granules chromatiques disparaît et ces dernières se répartissent dans tout le cytoplasme.

### B. Etude de quelques autres Bacilles endospores.

Les autres Bacilles que nous avons observés montrent à peu près la même structure que le *B. radicosus* et le *B. mycoides*. Dès les

premières heures du développement, les cellules offrent un aspect presque homogène sans granulations bien appareutées: leur cloisonnement s'effectue de même que dans les deux espèces précédemment étudiées: les cloisons apparaissent sous forme de deux granules latéraux très colorables qui se soudent l'un à l'autre pour constituer un gros granule central ressemblant à un noyau et qui est l'origine de la cloison transversale. Ce processus est nettement visible dans tous les Bacilles que nous avons examinés: *B. megatherium* (DE BARY), *B. subtilis* (EHRENBERG), *B. alvei* (WATSON-CHEYNE et CHESHIRE) (Pl. II fig. 109), *B. asterosporus* (A. MEYER) (Pl. II fig. 110 et 111), *Tyrophilus scaber* (DUCLAUX), *B. tumescens* (ZOFF).

Dans les *B. megatherium* (Pl. III fig. 60 à 66) et *subtilis*, la structure alvéolaire apparaît vers la huitième heure (en culture sur peptone gélosée) et la formation des spores commence au bout de douze heures. La sporulation présente des caractères identiques à ceux que nous avons décrits pour le *B. radicosus* et le *B. mycoïdes*. On ne trouve généralement de corpuscules métachromatiques qu'exceptionnellement et dans des conditions très spéciales. Jamais on n'observe de structure analogue à celle qu'offre le *B. radicosus* dans les cultures sur pomme de terre ou carotte. Nous n'avons constaté pour toutes ces espèces (après fixations au Flemming) aucune production de graisses, contrairement à l'opinion de A. MEYER, qui considère ces formations comme très fréquentes dans les Bactéries. Le glycogène est également peu abondant.

Dans le *B. limosus* (RISSSEL), le développement végétatif et la sporulation procèdent aussi à peu près de la même façon. Ce Bacille est intéressant parce qu'il a été considéré par certains auteurs, notamment par DANGEARD, comme assez différent des autres Bacilles endospores. Cet auteur a observé, en effet, dans le *B. limosus*, une coloration légèrement verte du protoplasme et un mode de formation de spores très particulier. D'après DANGEARD, la spore naît par l'enkystement de tout le protoplasme de cellule et non comme dans les autres Bacilles d'une petite partie de ce protoplasme. Nos observations ne sont pas conformes à celles de DANGEARD (46). Jamais nous n'avons observé une coloration verte des cellules, si légère soit elle. De plus dans notre espèce, la formation des spores s'effectue comme dans les autres Bacilles aux dépens d'une petite portion du cytoplasme. On peut donc se demander si l'espèce décrite par DANGEARD correspond bien à l'espèce étudiée par nous, laquelle provient comme toutes les autres d'ailleurs du laboratoire de KRAL.

Au début du développement, les cellules ont un aspect homogène

avec quelquefois une ou deux petites vacuoles centrales. Leur cytoplasme est très chromophile sans granulations bien apparentes. La formation des cloisons transversales s'effectue comme dans le *B. radi-cosus* (Pl. II fig. 77 à 85).

Vers la huitième ou dixième heure, le cytoplasme prend la structure alvéolaire (Pl. II fig. 87 à 98). On observe très souvent une orientation des granules au centre de la cellule, formant une sorte de chapelet axial, surtout dans les grosses cellules. Mais ce ne semble être qu'une apparence, car jamais les granules n'apparaissent contiguës et il ne paraît donc pas exister de chromidium sous forme de filament axial comme dans le *B. maximus buccalis* (Pl. II fig. 95 et 98).

La spore naît parfois à l'un des pôles de la cellule, mais le plus souvent au centre; elle présente (Pl. III fig. 99, 100 à 104) d'abord l'aspect d'un petit granule très colorable, qui bientôt grossit aux dépens du cytoplasme resté inutilisé à sa formation, puis se transforme en spore définitive qui ne se colore plus par les moyens ordinaires. La spore prend un volume assez considérable; son diamètre devient un peu supérieur à celui de la cellule qui la renferme, ce qui détermine dans cette dernière un léger renflement médian (Pl. III fig. 102 à 107).

Les autres espèces, tels que *B. alvei* et *B. asterosporus* (Pl. III fig. 108 à 111) semblent présenter des caractères analogues, bien que leur faible dimension rendent difficile les études cytologiques. Une différence cependant est la présence en très grande quantité de corpuscules métachromatiques.

Dans le *B. asterosporus*, dès le début du développement, on observe généralement, au centre de chaque cellule, un unique corpuscule métachromatique, ressemblant d'une manière frappante à un noyau (Pl. III fig. 74). Il paraît certain que c'est ce granule qui a été décrit par A. MEYER (34) comme un noyau. Il faut remarquer, qu'au début de ses recherches sur les Bactéries, cet auteur ne connaissait pas encore l'existence des corpuscules métachromatiques et on s'explique facilement son erreur. D'ailleurs son élève GRIMME (47) dans ses recherches sur la volutine, admet qu'un grand nombre des corps décrits par MEYER comme des noyaux se rapportent à de la volutine. Cet auteur continue cependant à croire à l'existence du noyau, bien qu'il n'ait pu le différencier que très rarement (encore les figures où il le représente sont-elles fort peu concluantes). Dans les cultures un peu plus âgées, on observe souvent un plus grand nombre de corpuscules métachromatiques, mais jamais plus de deux ou trois: ils sont ordinairement localisés au centre et aux pôles des cellules (Pl. IV fig. 69).

La sporulation s'effectue difficilement sur peptone gélosée et n'apparaît qu'au bout d'une huitaine de jours. Elle ne diffère pas de celle des autres espèces et débute par la formation, à l'un des pôles de la cellule ou plus souvent au milieu, d'un gros granule colorable: celui-ci grossit, s'entoure d'une membrane et se transforme en une spore définitive (Pl. IV fig. 75).

Les cellules destinées à sporuler renferment d'ordinaire un ou parfois deux ou trois corpuscules métachromatiques: ceux-ci persistent dans le cytoplasme non utilisé à la formation de la spore, pendant toute la durée de la sporulation. Ils disparaissent plus tard comme l'a montré GRIMME, sans doute absorbés par la spore. La spore adulte est très grosse et détermine le renflement médian de la cellule qui la renferme; elle ne se colore plus par les moyens ordinaires, mais sa membrane fixe légèrement les colorants et prend une teinte métachromatique rougeâtre avec le bleu Unna.

Le *B. alvei* renferme une grande quantité de corpuscules métachromatiques: Au début du développement, ceux-ci sont localisés aux deux pôles de la cellule, sous forme de deux très petits granules, l'un à chaque pôle (Pl. IV fig. 59 à 36). Un peu plus tard, ils grossissent beaucoup; en même temps on en voit apparaître de nouveau au centre de chaque cellule. Vers le troisième ou quatrième jour de culture, les cellules se remplissent d'énormes corpuscules métachromatiques dont le diamètre dépasse de beaucoup le calibre du Bacille ce qui donne à ce dernier un aspect nettement moniliforme (Pl. III fig. 70). On comprend aisément en voyant ces formes que les anciens observateurs aient pu confondre les corpuscules métachromatiques avec des spores. A la fin du développement les corpuscules métachromatiques disparaissent entièrement.

La sporulation s'effectue très difficilement sur peptone gélosée: au contraire, elle apparaît au bout de vingt quatre heures sur carotte. Elle s'accomplit comme dans le *B. asterosporous*: la spore naît pôle sous forme d'un petit granule colorable, qui grossit et s'entoure d'une membrane faisant obstacle à la pénétration des colorants (Pl. IV fig. 70 à 72). Une fois adulte, la spore est très grosse et détermine, par sa dimension supérieure à celle du sporange, le renflement polaire de ce dernier qui prend l'aspect d'un tétard ou d'une massue.

Lors de la sporulation, les corpuscules métachromatiques disparaissent généralement en grande partie, il n'en subsiste souvent qu'un seul, qu'on retrouve dans le cytoplasme non utilisé, lorsque la spore est formée et qui finit par disparaître lui-même.

Bien que notre étude porte exclusivement sur les Bacilles endo-

spores, nous avons eu l'occasion d'examiner le *Spirillum volutans* (*Sp. giganteum*), et nous pensons qu'il y a lieu néanmoins de le décrire ici.

Le *Sp. volutans* présente au début de son développement une structure vacolaire, formée de quelques grosses vacuoles centrales sur les bords desquels on aperçoit un certain nombre de corpuscules métachromatiques. Au bout d'environ deux ou trois jours, les cellules grossissent beaucoup et s'allongent; elles montrent alors une structure nettement alvéolaire avec de nombreux corpuscules métachromatiques (Pl. IV fig. 76) sur le bord des vacuoles dans les nœuds de la trame. Ceux-ci ont des formes et des dimensions très irrégulières, quelques uns sont très gros. On comprend que certains observateurs aient pu prendre pour des granulations chromatiques ces corps régulièrement disposés sur les nœuds de la trame cytoplasmique. Plus tard, vers la fin du développement, la structure alvéolaire persiste, mais les corpuscules métachromatiques montrent une tendance à disparaître. On obtient facilement de très belles colorations vitales des corpuscules métachromatiques par le rouge neutre.

La division des cellules se produit par un étranglement médian, mais nous n'avons pas suivi les détails de ce processus.

La structure que nous venons de décrire correspond à la structure observée par tous les auteurs qui nous ont précédé dans l'étude du *Sp. volutans*: [BÜTSCHLI (5), GRIMME (47), SWELLENGREBEL (42), KUNSTLER et BUSQUET (43)]. Jamais nous n'avons observé de noyau typique comme KUNSTLER et BUSQUET (41) dans le *Sp. periplaticum*. Le noyau ici encore comme dans les Bacilles endospores paraît être remplacé par des granules chromatiques disséminés dans les nœuds de la trame cytoplasmique, ou par des parties plus colorées de la trame (fig. 3), mais jamais nous n'avons pu constater un chromidium sous forme de spirale chromatique comme l'a récemment décrit SWELLENGREBEL (42). Mais nous n'avons pas poussé assez loin cette étude pour pouvoir nous prononcer définitivement sur cette question étudiée avec beaucoup de soin par SWELLENGREBEL (42). Rappelons cependant que l'existence de la spirale chromatique a été mise en doute par HÖLLING et ZETTNOW.



Figure V. *Spirillum volutans*.  
(Picroformol, hématoxyline  
ferrique.) Cellules provenant  
d'une culture de 24 heures.

### III. Considerations générales et conclusions.

Que doit-on conclure de ces observations? Tout d'abord à aucun moment du développement, nous n'avons pu observer la moindre trace d'un noyau. Il ne paraît donc pas exister chez les Bactéries de véritable noyau.

Existerait-il un noyau que la technique actuelle ne permettrait pas de différencier? Cela paraît peu probable, car ce noyau, s'il existait, serait certainement visible dans une espèce aussi grosse que le *B. Bütschlii* et n'aurait pas passé inaperçu aux yeux d'un observateur aussi expérimenté que SCHAUDINN (18). D'ailleurs, nous nous sommes attachés dans nos observations à employer un très grand nombre de méthodes de fixations et de colorations qui toutes nous ont donné des résultats concordants et nous ont montré l'absence de noyau.

D'autre part, les espèces que nous avons étudiées ne renferment pas le corps central décrit par BÜTSCHLI (5). On ne retrouve absolument rien qui rappelle le corps central signalé par cet auteur et revu ensuite par nous dans les Cyanophycées (45). Il n'existe pas non plus de spirale chromatique analogue à celle qui a été décrite récemment par SWELLENGREBEL (19) dans un certain nombre de Bactéries.

D'un autre côté, il est difficile d'admettre, avec FISCHER (2), MASSART (4) et MIGULA (3), que les Bactéries constituent des organismes dépourvus de noyau ou de tout équivalent nucléaire et font ainsi exception à la règle partout ailleurs constatée chez les Protistes.

Faut-il voir l'équivalent d'un noyau dans les granulations cytoplasmiques, absentes ou peu distinctes dans le début du développement, plus grosses et mieux déterminées au moment de la sporulation, que l'on rencontre presque toujours dans la cellule des Bactéries?

L'hypothèse la plus vraisemblable serait, peut être de considérer, avec SCHAUDINN, les Bactéries comme renfermant une chromatine plus ou moins mélangée au cytoplasme, différenciée parfois à l'état de chromidies et se précipitant lors de la sporulation pour former la spore qui serait constituée en majeure partie de chromatine. La structure décrite par SCHAUDINN dans le *B. Bütschlii*, d'ailleurs plus évolué, serait un état différencié de cette structure très simple, primitive ou dégénérative, car elle offre, au moment de la sporulation, un véritable noyau formé aux dépens des granules chromatiques du

cytoplasme. Il en serait de même de la structure récemment observée par SWELLENGREBEL (19) dans le *B. maximus buccalis* et quelques Spirilles où il paraît exister un système chromidial sous forme d'un filament spiralé.<sup>1)</sup>

Au début du développement, il y aurait donc un mélange intime du cytoplasme et de la chromatine qui donnerait aux cellules leur aspect homogène et leur forte affinité pour les colorants, à moins que ces caractères ne tiennent à des états particuliers du cytoplasme ou de la membrane, entravant la différenciation des granules chromatiques. Lors de la sporulation, la chromatine se différencierait en véritables chromidies dans les nœuds de la trame d'un cytoplasme alvéolaire. La spore naîtrait sans doute de la condensation d'une partie de cette chromatine et serait donc constituée en majeure partie par de la chromatine. Peut-être même, le granule colorable dont dérive la spore, représenterait-il comme dans le *B. Bütschlii* un véritable noyau entouré d'une mince zone cytoplasmique que la petite taille des cellules empêcherait de distinguer? Certaines apparences pourraient le faire croire.

Remarquons que cette structure est essentiellement voisine de celles décrites par SCHAUDINN (18) et SWELLENGREBEL (19), comme nous avons pu nous en convaincre par l'examen des préparations que ces auteurs ont eu l'amabilité de nous communiquer. Dans le *B. Bütschlii*, la structure est même à peu près identique: même structure alvéolaire avec granules chromatiques de formes variables, situés dans les nœuds du cytoplasme alvéolaire. Les processus de formation des spores ressemblent beaucoup à certains de nos figures (Pl. IV fig. 44 et 48 à 50) et le noyau de la spore présente des analogies certaines avec le granule colorable qui représente l'ébauche de la spore dans les espèces étudiées par nous.

Plusieurs arguments plaident en faveur de l'hypothèse d'un système chromidial plus ou moins diffus dans les Bactéries. Tout d'abord les granulations du cytoplasme présentent des caractères voisins de la chromatine vis à vis des colorants. Avec les colorations à la safranine et au lichtgrün, ils fixent la safranine, tandis que le reste du

<sup>1)</sup> Il est possible toutefois que SWELLENGREBEL ait confondu la trame de la structure alvéolaire avec un filament spiralé et que la structure qu'il décrit corresponde à celle que SCHAUDINN et nous avons observée. C'est ce qui semblerait résulter des recherches de HÖLLING (20) et de ZETZNOW (21). Nous ajouterons en faveur de cette opinion qu'en examinant les préparations que M. SWELLENGREBEL a eu l'obligeance de nous envoyer, nous n'avons pas pu nous convaincre de l'existence de la spirale chromatique.

cytoplasme se colore plutôt par le lichtgrün. Cela est surtout visible dans le cas où des granules sont accumulés au centre de la cellule (cultures sur carotte) et au moment de la sporulation où l'ébauche de la spore fixe électivement la safranine. Il est vrai qu'avec les procédés des colorations fondés sur la méthode de Romanovsky (blen Borrel et Giemsa) les granules chromatiques ne se teignent pas en rouge comme cela se voit chez les Protozoaires, mais en bleu foncé, avec toutefois une nuance virant légèrement sur le rouge. Mais cela ne paraît pas avoir une grande importance.

Enfin un des arguments les plus importants en faveur de cette théorie est la localisation si curieuse des granules chromatiques au centre de la cellule, que nous avons observé dans les cultures sur carotte et sur pomme de terre, et le partage de la masse formée par l'agglomération de ces granules, qui accompagne toujours la division cellulaire.

Remarquons, en outre, que, comme l'a très bien fait ressortir SCHAUDINN (18), les récentes découvertes sur la cytologie des Protozoaires nous ont montré que le noyau de ces organismes était loin de présenter des caractères morphologiques aussi fixes et de revêtir des formes aussi caractérisées que les noyaux des organismes supérieurs. On s'est, en effet, exagéré l'importance de certains de ces caractères, par l'étude exclusive des organismes supérieurs où le noyau se présente d'une manière constante dans la cellule avec les caractères généraux qu'on lui connaît. Les travaux de R. HERTWIG<sup>1)</sup> de SCHAUDINN et de quelques autres auteurs ont établi que, dans plusieurs espèces de Protozoaires, le noyau entre en contact intime avec le cytoplasme et peut se mélanger plus ou moins avec ce dernier. Dans quelques espèces, on peut observer au début du développement un noyau typique, qui lors de la formation des spores internes se dissocie en granules (système chromidial) qui se disséminent dans le cytoplasme et aux dépens desquels se reconstitueront les noyaux des spores. Inversement, d'autres espèces offrent à l'état végétatif un noyau diffus ou système chromidial qui se constitue seulement au moment de la reproduction en noyau typique. Nous avons enfin insisté tout dernièrement sur l'existence dans les Cyanophycées d'un noyau, à l'état de simple réseau chromatique, sans membrane, ni nucléole, qui se divise lors du partage cellulaire par un processus qui pourrait se rattacher à l'amitose, mais qui néanmoins offre quelque analogie avec la mitose.

<sup>1)</sup> Voir F. MESSIL, Chromidies et questions connexes. Bull. de l'Institut PASTEUR et GUILLIERMOND (44).

Toutefois il semble que l'on ait exagéré dans ces derniers temps la fréquence des noyaux à l'état de système chromidial: la question du système<sup>1)</sup> chromidial est encore confuse et prête à de fausses interprétations. En somme, comme l'a formulé SCHAUDINN et comme c'est également notre avis, le noyau ne peut se définir actuellement que par ses caractères morphologiques. On ne peut attribuer qu'une importance très relative aux caractères de coloration de la chromatine qui sont peu distincts de ceux des grains de sécrétion de nature variée et qui d'ailleurs peuvent subir de grandes modifications au cours de l'évolution cellulaire. Comme on ne connaît pas de réaction spécifique du noyau, il faut de s'en tenir aux caractères morphologiques. Aussi, doit on se borner à considérer la théorie chromidiale des Bactéries comme une simple hypothèse; il n'est pas permis pour le moment de se prononcer définitivement.

Mais comment expliquer maintenant les résultats si contradictoires obtenus par différents auteurs et notamment par les cytologistes les plus autorisés tels que BÜTSCHLI (5), SCHAUDINN (18), VEJDOVSKY (35), A. MEYER (34), A. FISCHER (2) qui s'appuient cependant sur des recherches exécutées avec toutes les ressources de la technique moderne?

Tout d'abord, une cause d'erreur a été la présence fréquente dans les Bactéries des corpuscules métachromatiques interprétés par beaucoup d'auteurs comme des noyaux ou des granules chromatiques. BABES (20), ERNST (21) et un grand nombre d'observateurs en ont fait des noyaux rudimentaires. BÜTSCHLI (5) les a regardé comme grains de chromatine. Enfin nous avons montré, plus haut, que A. MEYER lui-même avait pris pour un noyau le corpuscule métachromatique souvent unique que l'on trouve au centre de la cellule du *B. asterosporus*. Nous avons trop insisté sur les caractères distinctifs qui existent entre les corpuscules métachromatiques et la chromatine pour qu'il soit nécessaire d'y revenir ici.

Les noyaux décrits par BUSHLOW RAYMAN et KAREL KRUIS (40) et par MENCL, dans son premier mémoire (35), semblent de même résulter de fausses interprétations: ces auteurs ont confondu les

<sup>1)</sup> LÉGER et DUBOSCQ ont montré récemment, dans l'évolution nucléaire des Schizontes de l'*Aggregata eberthi*, que certains stades de l'évolution nucléaire pouvaient être pris à tort pour un système chromidial. (LÉGER: C. R. de l'Ac. des Sciences 1907.) Il semble d'autre part résulter des récentes recherches de SWELLENOREBEL que beaucoup de grains de sécrétions, notamment les corpuscules métachromatiques ont pu être confondus avec des chromidies (SWELLENOREBEL: C. R. de la Société de Biologie de Paris 1908).

granules colorables qui sont l'origine des cloisons transversales avec des noyaux.

De toutes les observations favorables à l'existence d'un noyan ou d'un corps central, il ne reste guère que celles de VEJDOVSKY (35 et 36) de MENCL dans son second mémoire (38), de KUNSTLER et GINESTE (46), de SWELLENGREBEL (44) et enfin les observations de BÜTSCHLI (5). Comment expliquer les résultats de ces auteurs?

Une des principales raisons qui peuvent servir à expliquer ces divergences d'opinion est le fait que l'on a réuni sous le nom de Bactéries des genres peut être différents dont les uns semblent appartenir aux Cyanophycées et dont les autres pourraient se rapprocher des Champignons et des Protozoaires. Il est très possible, en effet, que les Bactériacées constituent un groupe très hétérogène. C'est ainsi que les Sulfobactéries et entre autres les *Beggiatoa*, dans lesquelles BÜTSCHLI (5) et quelques autres auteurs décrivent un corps central appartiennent vraisemblablement aux Cyanophycées avec lesquelles elles offrent de grandes ressemblances morphologiques. Dès lors rien d'étonnant à ce qu'on y trouve un corps central.

On ne peut rien dire pour le moment des observations de KUNSTLER et GINESTE (46) sur le *Sp. periplaneticum*, ces auteurs n'ayant pas encore publié leur mémoire définitif et leurs figures. Quant à MENCL (38), les espèces où il a observé un noyau se rapportent toutes au genre *Cladothrix* qui diffère assez notablement des Bacilles endospores et peut par conséquent présenter une structure toute différente.

Restent donc les observations de VEJDOVSKY (35) et de SWELLENGREBEL (44). Le premier décrit un noyau dans le *Bacterium gammari* observé dans la cavité générale du *Gammarus zschokkei* et dans une Bactérie filamenteuse du tube digestif du *Bryodrilus Ehlersi*. Ces deux espèces ont des caractères confus et ne présentent pas de spores. On ne peut mettre en doute les observations de VEJDOVSKY (35 et 36), qui a observé un noyau typique, se divisant par mitose bien caractérisée. Nous avons examiné quelques unes des préparations que cet auteur a bien voulu nous envoyer: elles montraient un beau noyau, dont la présence est indiscutable. Mais les espèces étudiées par VEJDOVSKY (33) sont elles bien des Bactéries? Il est permis d'en douter. Le *Bact. gammari* offre de grandes similitudes cytologiques avec les Levures. Ne représente-t-il pas plutôt un Champignon voisin des Levures et se multipliant par scissiparité comme les Schizosaccharomyces? C'est d'ailleurs l'objection qui a été faite à VEJDOVSKY par SCHAUDINN, au Congrès de Zoologie de Berne, après

examen de ses préparations. On a rencontré, en effet, des Levures dans le corps d'un grand nombre d'animaux.<sup>1)</sup> METCHNIKOFF a décrit notamment, dans les Daphnies, la *Monospora cuspidata*. LINDNER et plus récemment CONTE et FAUCHERON ont observé des Levures dans le corps adipeux de divers Coccides. HARTIG eu signale dans les COCHENILLES et SCHAUDINN dans l'estomac du Culex. Quant à l'espèce filamenteuse observée par VEJDOVKY dans le *Bryodrilus*, nous sommes à peu près certains, après l'examen attentif de ses préparations, qu'elle correspond à une moisissure. Nous n'avons trouvé en tous cas, dans cette espèce aucun des caractères des Bactéries.

Pour ce qui concerne le *Bacterium binucleatum* où SWELLEN-GREBEL (44) décrit deux noyaux dans chaque cellule, on pourrait peut être aussi faire les mêmes réserves. Il s'agit encore là d'une espèce mal déterminée, dans laquelle on ne connaît pas de sporulation. Peut être néanmoins serait ce une Bactérie beaucoup plus évoluée où le noyan serait différencié.

Au point de vue de la systématique et de la phylogénèse des Bactéries, nos observations n'apportent aucun éclaircissement. La place des Bactéries dans la classification reste très incertaine. La majorité des Botanistes classent ces organismes parmi les Cyanophycées. Mais il faut convenir que, si les Sulfo-bactéries présentent des analogies incontestables avec les Cyanophycées, il n'en est pas de même des Bacilles endospores qui s'en écartent notablement par la présence des spores endogènes et l'existence de la conjugaison décrite par SCHAUDINN (18) ainsi que par l'absence de corps central.

A la suite de ses recherches sur la sporulation, A. MEYER (34) a été conduit à considérer les Bacilles endospores comme des Ascomycètes. SCHAUDINN (18) admet qu'ils représentent un groupe très dégénéré par suite de l'adaptation de la vie parasitaire, mais il hésite à les faire dériver des Flagellés ou à le rapprocher des Schizosaccharomycètes. Toutefois, on doit reconnaître que l'absence d'un noyan et surtout la présence des cils dans les bacilles est une objection très sérieuse contre cette dernière opinion qui cependant trouve un argument important dans la découverte de la conjugaison du *B. Bütschlii*. En somme, nous pensons qu'il y a lieu pour le moment de considérer les Bactéries comme formant un groupe provisoirement à part et probablement très hétérogène. La question de la systématique des Bactéries ne pourra s'éclaircir que par l'étude cytologique d'un grand nombre d'espèces différentes.]

<sup>1)</sup> Voir à ce sujet les récents mémoires de LINDNER: Wochenschr. f. Branerei Nr. 3 1907 et Berichten d. deutsch. Botan. Ges. T. XXV. 1907.

### Conclusions.

En résumé, il ne paraît pas exister de véritable noyau dans les Bactéries endosporées que nous avons observées, ni le corps central ou réseau chromidial des Cyanophycées, ni même de filament spiralé décrit par SWELLENGREBEL dans certaines espèces.

Toutefois, on constate la présence dans la cytoplasme et d'une manière presque constante de nombreuses granulations distinctes des corpuscules métachromatiques et qui présentent vis à vis des colorants des propriétés assez analogues à celles de la chromatine. Lors de la sporulation enfin, l'ébanche de la spore se présente sous forme d'un gros granule, résultant vraisemblablement de la condensation d'une partie des granulations chromatiques du cytoplasme, et qui offre, en tous cas, l'aspect d'un noyau. Etant donné, d'une part, que l'existence d'un noyau a été constaté dans la plupart des organismes inférieurs et paraît nécessaire à la vie cellulaire, et d'autre part, que l'on a constaté dans divers Protozoaires des noyaux à organisation très inférieure et plus ou moins mélangé avec cytoplasme, il y a lieu de se demander si les granules chromatiques disséminés dans le cytoplasme des Bactéries ne représenteraient pas un noyau diffus ou système chromidial. La spore pourrait être considérée comme formée en majeure partie par de la chromatine, laquelle se condenserait dans le granule qui représente son ébanche. Toutefois comme le noyau ne peut être défini que morphologiquement et que l'on ne connaît aucun colorant spécifique de la chromatine, on ne saurait être trop prudent dans cette assimilation des granules des Bactéries à des grains de chromatine. Il n'est pas possible à l'heure actuelle de se prononcer définitivement et l'on ne peut considérer cette opinion que comme une simple hypothèse.

### Appendice.

Pendant l'impression de cet article, deux nouveaux mémoires ont paru sur la question du noyau des Bactéries, l'un de A. MEYER, l'autre de DOBELL. A. MEYER continue à affirmer l'existence d'un véritable noyau; DOBELL, au contraire, arrive aux mêmes résultats que nous, dans un Bacille de grande dimension rappelant le *B. Bütschlii*; dans d'autres espèces cependant, il observe un filament spiralé analogue à celui qu'a décrit SWELLENGREBEL. (A. MEYER, Flora, 1908. DOBELL, Quart. Journ. of micr., 1908.)

## Index bibliographique.

- 1) GUILLIERMOND: La cytologie des Bactéries. Bulletin de l'Institut Pasteur T. IV No. 7 et 8, 1907.
- 2) FISCHER, A.: Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897. — Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903.
- 3) MIGULA: Arb. a. d. Bakt. Inst. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe 1894 T. I. — Flora 1898 T. LXXX. — System der Bakterien. Jena (Fischer) 1897. — Schizomyces (dans ENGLER-PRANTL: Natürliche Pflanzenf. I. Teil I. Abt.). Handbuch der technischen Mykologie. LAPAR. Jena (Fischer) 1904 p. 57 à 71.
- 4) MASSART: Recueil de l'Institut Botanique. Bruxelles 1902.
- 5) BÜTSCHLI: Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig 1890. — Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig 1895. — Verhandl. d. naturw. med. Vereins zu Heidelberg. N. F. T. VI 1898. Arch. f. Protistenk. 1902 T. I.
- 6) ZETZLOW: Centralbl. f. Bakt. 1891, T. X, p. 689.
- 7) WARLICH: Bakteriologische Studien (Scripta Botanica). St. Pétersburg 1891 T. III. — Referat in Bot. Centralbl. 1892 T. XIV p. 122.
- 8) FRENZEL: Biol. Centralbl. 1891. — Zeitschr. f. Hygiene 1892 T. XI.
- 9) GOTSCHLICH: KOLLE und WASSERMANN's Handbuch der pathogenen Mikroorganismen 1902.
- 10) SCHWIAKOFF: Verhandl. d. naturhist. med. Vereins zu Heidelberg, 1893, T. V.
- 11) MITROPHANOW: Journ. intern. d'anatomie, 1893, T. X.
- 12) KLEBS: Allgemeine Pathologie, p. 469.
- 13) HUEPPE: Die Formen der Bakterien. 1886.
- 14) WEIGERT: SCHMIDT's Jahrbücher, 1887.
- 15) TRAMBUSTI et GALEOTTI: Centralbl. f. Bakteriologie. 1893, T. XI p. 717.
- 16) FEINBERG: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. 1900, T. XXVII.
- 17) MARX et WOITHE: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I, 1900, T. XXVIII.
- 18) SCHAUDINN: Arch. f. Protistenk. 1903, T. I. — Ibid. 1903, T. II, p. 421—444.
- 19) SWELLENGREBEL: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II, 1906, T. XVI. — C. R. de la Soc. de Biol. 1907, T. LXII. — Ann. de l'Inst. Pasteur. Juin—Juillet, 1907.
- 20) HÖLLING: Centr. f. bak. Abt. I, Bd. XLIV, p. 665.
- 21) ZETZLOW: Centralbl. f. Bakt. Abt. I originale, Bd. XLIV, Heft 3.
- 22) BABES: Zeitschr. f. Hygiene, 1889, p. 428.
- 23) ERNST: Zeitschr. f. Hygiene, 1889, p. 428.
- 24) ERNST: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II 1902, T. VIII, No. 1.
- 25) SCHOTTELIUS: Centralbl. f. Bakteriologie. 1888, T. IV, p. 705.
- 26) WAGE: Annals of Botany. 1891, T. V, p. 513.
- 27) SÖÖBRING: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I, T. XXIII.
- 28) WAGNER: Centralbl. f. Bakteriologie. 1892, T. XI, p. 65.
- 29) ILKIEWICZ: Centralbl. f. Bakteriologie. 1894, p. 261.
- 30) ZIEMAN: Centralbl. f. Bakteriologie. 1898, T. XXIV.
- 31) NAKANISHI: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I, 1901, T. XXX.
- 32) PROTOPOFF: Ann. de l'Inst. Pasteur, 1891, T. V, p. 332.
- 33) ROWLAND: Observation upon the structure of Bacteria.

- 34) MEYER, A.: Sitz.-Ber. der Ges. der gesamten Naturwissenschaften zu Marburg 1887. — Flora 1897 T. LXXXIV. — Erstes mikroskopisches Praktikum. Jena 1898. — Flora 1899 T. LXXXVI.
- 35) VEJDOVSKY: Centralbl. f. Bacteriol. Abt. II, 1900, T. VI.
- 36) VEJDOVSKY: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II, 1904, T. XXI.
- 37) MENCL: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II, 1904, T. XII, p. 559—574.
- 38) MENCL: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II, 1905, T. XV.
- 39) MENCL: Arch. f. Protistenk. 1907, T. VIII.
- 40) BOHUSLAW RAYMAN et KARL KRUIS: Bulletin international de l'Acad. des Sciences de Bohême, 1904.
- 41) KUNSTLER et BUSQUET: C. R. de l'Acad. des Sciences, 1897, T. CXXV.
- 42) KUNSTLER: C. R. de l'Acad. des Sciences, 1900, T. CXXX, p. 1416.
- 43) KUNSTLER et GINESTE: C. R. de l'Association des Anatomistes. VI<sup>e</sup> session. Toulouse 1904. — C. R. de la Soc. de Biol. 1906, T. LXI. — C. R. de l'Acad. des Sciences 1906, T. CXLIII.
- 44) SWELLENGREBEL: Centralbl. f. Bakteriologie. Août 1907.
- 45) GUILLERMOND: Revue générale de Botanique, 1906.
- 46) DANRHARD: Contribution à l'étude des Bactéries vertes. Le Botaniste 2<sup>e</sup> Serie, 1890.
- 47) GRIMME: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I, 1903, T. XXVII.
- 48) Voir F. MENCL: Chromidiées et questions connexes. Bull. de l'Inst. Pasteur, 1905. et GUILLERMOND: Rev. de Botanique, 1907.

### Explications des planches.

Toutes les figures ont été dessinées à l'aide chambre claire de Zeiss avec l'objectif apochromatique de Zeiss et l'oculaire compensateur 18.

Toutes les cellules représentées proviennent de cultures sur peptone gélosée, sauf celles qui portent une indication spéciale.

#### Planche II.

##### *Bacillus radicosus* (de 1 à 68).

Figures 1 à 18. Zenker, hématoxyline ferrique. Cellules pendant les 8 premières heures du développement. Formation des cloisons transversales au moyen de la soudure de deux granules latéraux très colorables et ressemblant un peu à des noyaux. La figure 18 représente une cellule n'ayant pas été suffisamment décolorée.

Figures 19 à 28. Perenyi, hématoxyline ferrique. Cellules après 12 heures de développement. Cytoplasme vacuolaire avec granules colorables.

Figures 29 à 32. Perenyi, hématoxyline ferrique. (Après 24 heures). Cytoplasme alvéolaire avec granules colorables.

Figures 33 à 52. Lenhossék, hématoxyline ferrique (24 heures). 35, 41, 42, 44 à 49, formation de la spore sous forme d'un granule colorable à l'un des pôles de la cellule. 50 à 52 représentent des spores à la fin de leur développement; la spore est déjà enveloppée de sa membrane qui commence s'opposer à la coloration; elle est entourée en outre d'une matière protoplasmique très colorée.

Figures 53 et 54. Zenker, hématoxyline ferrique (24 heures). Formation de la spore. Dans la figure 54, l'ébauche de la spore est entourée d'une zone hyaline.

Figures 55 à 58. Lenhossék, hématoxyline ferrique (24 heures). Spores adultes entourées d'une matière protoplasmique très colorée.

Figures 59 à 61. Zenker, hématoxyline ferrique. Cellules cultivées dans de un liquide peptonisé (8 jours).

Figures 62 à 68. Lenhossék, hématoxyline ferrique. Cellules cultivées sur Carotte. (12 heures.) Les membranes transversales sont très colorées. Au centre de chaque cellule, on remarque une agglomération des granules colorables dans les meuds d'un cytoplasme alvéolaire. Pendant le partage cellulaire, les granules se répartissent au centre des deux cellules filles.

*Bacillus mycoides* (de 69 à 100).

Figures 69 à 71. Lenhossék, hématoxyline ferrique. (8 heures.) Cellules sur-colorées.

Figures 72 à 77. Lenhossék, hématoxyline ferrique. 12 heures.

Figures 78 à 80. Perenyi, hématoxyline ferrique. érythrosine. 12 heures.

Figures 81 à 83 et 95. Perenyi, hématoxyline ferrique. 24 heures.

Figures 72 à 87. Perenyi, hématoxyline ferrique. 12 heures.

Figures 88 à 100. Telleyesniczky, hématoxyline cuprique. 24 heures.

Planche III.

*Bacillus mycoides* (fig. de 1 à 60).

Figures 1 à 9, 30, 52 à 55 et 59. Perenyi, hématoxyline ferrique. Culture de 24 heures. Cellules à structure alvéolaire dans lesquelles apparaît l'ébauche de la spore.

Figures 10 à 25, 35, 40 à 44 et 48. Lenhossék, hématoxyline ferrique. 24 heures. Le cytoplasme est alvéolaire; l'ébauche de la spore apparaît sous forme d'un granule colorable, d'abord de forme irrégulière, puis devenant sphérique ou ovale.

Figures 26 à 29, 32, 33, 36, 37, 38 à 51. Telleyesniczky, hématoxyline cuprique. 24 heures. Formation de la spore.

Figure 34. Zenker, hématoxyline ferrique. 24 heures.

*Bacillus megatherium* (fig. de 60 à 92).

Figures 60 à 64. Picroformol, hématoxyline ferrique. 24 heures. Cellules se préparant à sporuler et divers stades de la sporulation.

Figures 65 à 73. Fin de la sporulation.

*Bacillus limosus* (fig. 77 à 107).

Figures 77 à 85. Zenker, hématoxyline ferrique. 8 heures. Formation des cloisons transversales.

Figure 88. Lenhossék, hématoxyline ferrique. Culture sur carotte datant de 12 heures.

Figures 86, 87, 89 et 92. Lenhossék, hématoxyline ferrique. 12 heures.

Figures 95 à 107. Zenker, hématoxyline ferrique. 24 heures. Divers stades de la sporulation.

*Bacillus alvei* (fig. 109).

Figures 109. Zenker, hématoxyline ferrique. 8 heures. Cloisons transversales colorées dans des cellules venant de se partager.

*Bacillus asterosporus* (Fig. 108 à 110).

Figure 108 et 109. Zenker, hématoxyline ferrique. 8 heures. Deux cellules venant de se déviser, montrant leurs cloisons transversales nouvellement formées, fortement colorées.

Figure 110. Zenker, hématoxyline ferrique. 8 heures. Formation d'une cloison transversale au milieu de la cellule.

## Planche IV.

*Bacillus radicosus* (fig. 1 à 44, de 53 à 56 et 66).

Figures 1 à 20. Perenyi, hématoxyline ferrique, érythrosine; cultures sur carotte. 12 heures. Granules chromatiques réunies au centre de chaque cellule. Dans les figures 4, 5, 10, 11, 12 à 14, 17, 21, 22, 23, 24 à 26, on voit le partage de la masse chromatique accompagnant la division cellulaire.

Figures 21 à 29. Zenker, hématoxyline ferrique, érythrosine, id.

Figures 30 et 31. Perenyi, hématoxyline ferrique, érythrosine; culture sur pomme de terre, datant de 8 heures. Les granules chromatiques ne sont pas encore rassemblés au centre des cellules.

Figures 32 à 34. Perenyi, hématoxyline ferrique, érythrosine; culture sur pomme de terre, datant de 12 heures.

Figure 35. Lenhossék, hémalum; culture sur carotte, 12 heures. Au centre, les granules chromatiques, aux pôles quelques corpuscules métachromatiques.

Figure 36. Telleysniczky, Giemsa. Carotte. 12 heures.

Figures 37 à 43. Perenyi, Giemsa. 24 heures. Dans la figure 38, les granules chromatiques forment au milieu de la cellule une sorte de filament axial. Les fig. 41 à 43, montrent la formation des spores.

Figure 44. Picroformol hémalum. 12 heures. Formation des spores. L'échance de la spore est entouré d'une zone hyaline.

Figures 53 à 56, 66 et 68. Alcool, bleu de méthylène, culture sur bouillon de peptone liquide âgée de 8 jours.

*Bacillus mycoides* (fig. de 45 à 52).

Figures 45 à 47. Lenhossék, safranine. 24 heures. La figure 47 montre la formation des spores.

Figures 48 à 51. Lenhossék, bleu de méthylène. 24 heures. Formation des spores; quelques unes des échances des spores sont entourées d'une zone hyaline.

*Bacillus alvei* (fig. de 58 à 66 et 69 à 72).

Figures 58 à 65. Lenhossék, bleu de méthylène; cultures de 2 jours. Les cellules montrent des corpuscules métachromatiques, aux pôles et au centre.

Figures 67 et 69. Lenhossék, bleu de méthylène; cultures de 3 jours.

Figure 70. Lenhossék, bleu de méthylène; cultures de 5 jours. Les corpuscules métachromatiques sont très nombreux et leur dimension dépasse souvent le calibre du bacille ce qui donne à ce dernier un aspect moniliforme.

Figures 71 à 72. Perenyi, bleu de méthylène; cultures sur carotte, 3 jours. Divers stades de la formation des spores. Les corpuscules métachromatiques ne se différencient pas après les fixations au Perenyi.

Figure 75. Lenhossék, bleu de méthylène; cultures de 3 jours. Les spores sont formées et les cellules renferment en dehors des spores quelques corpuscules métachromatiques qui finissent par disparaître, sans doute absorbés par les spores.

*Bacillus asterosporus* (fig. 69, 74 et 75).

Figure 74. Lenhossék, bleu de méthylène; culture de 12 jours. Chaque cellule renferme au centre un seul corpuscule métachromatique donnant l'impression d'un noyau.

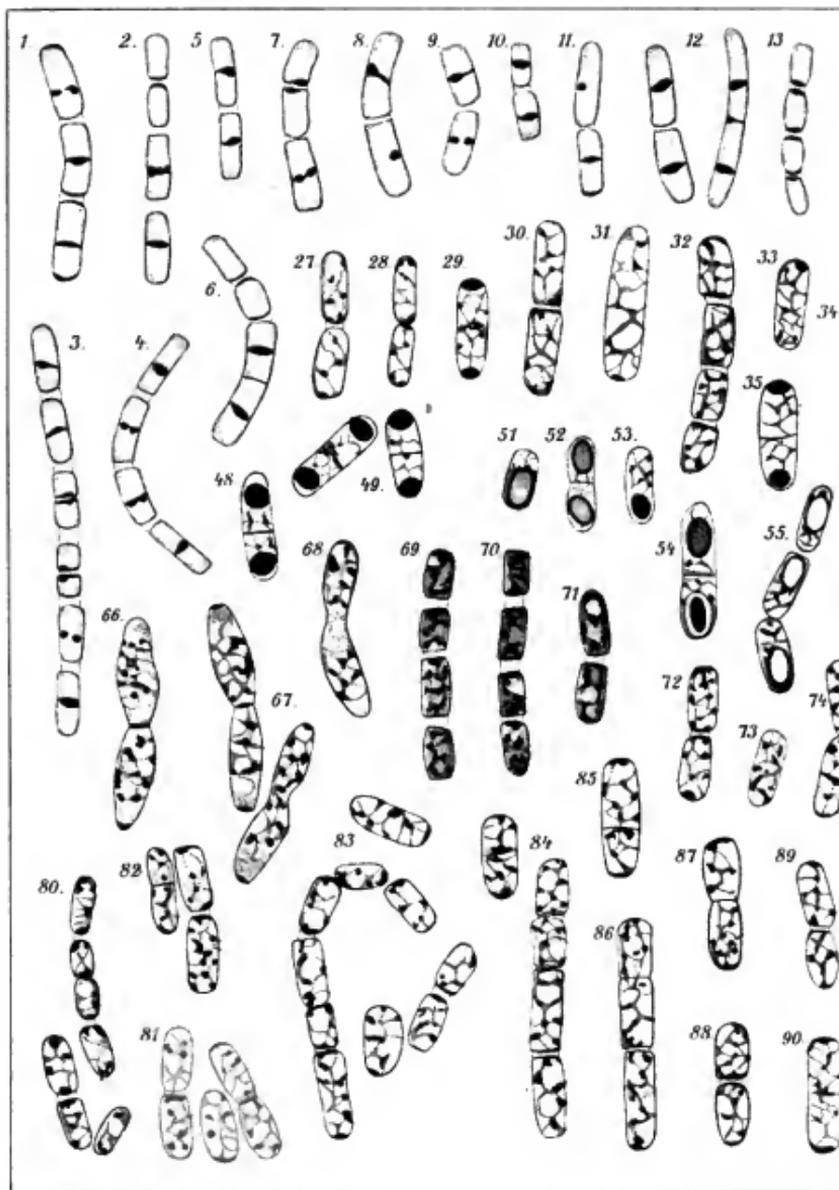
Figure 69. Lenhossék, bleu de méthylène; cultures de 3 jours. Les corpuscules métachromatiques sont plus gros et plus nombreux. L'une des cellules renferme une spore.

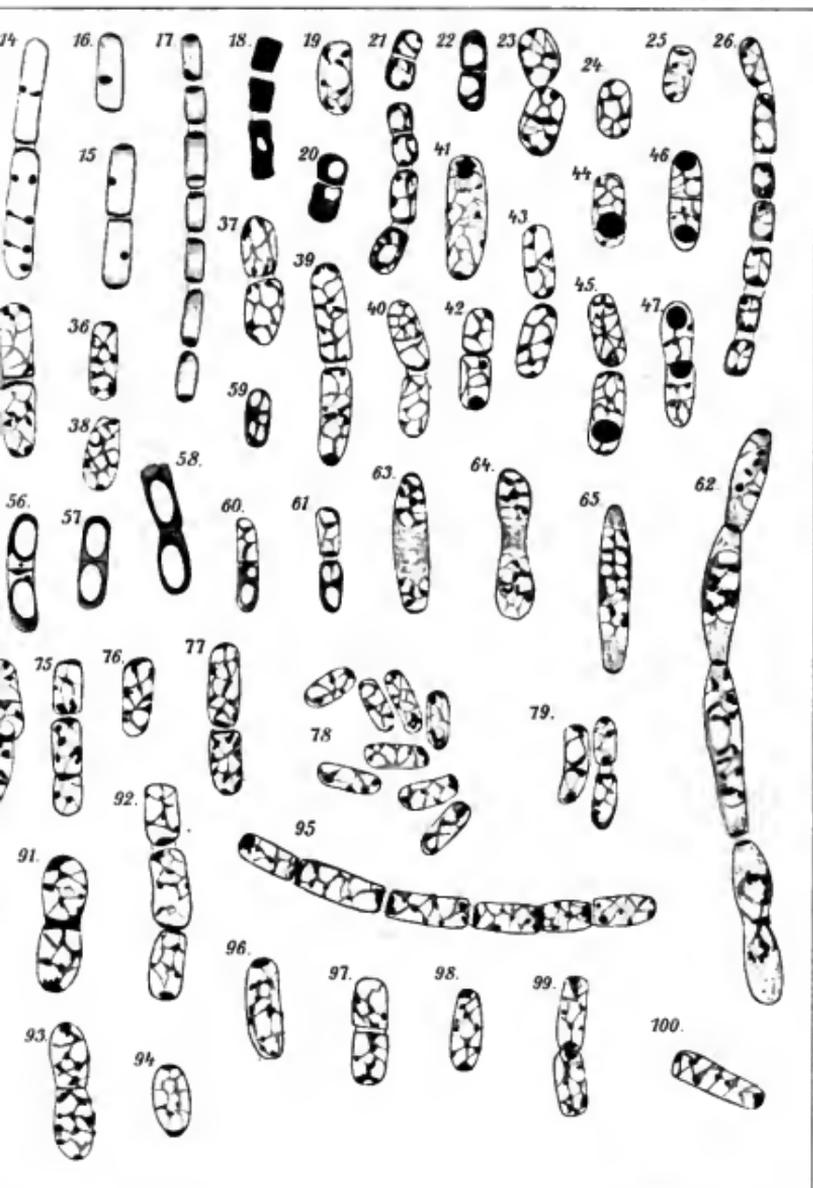
Figure 75. Lenhossék, bleu de méthylène; 8 jours. Les bâtonnets ont formé leur spore; ils renferment chacun un corpuscule métachromatique en dehors de la spore.

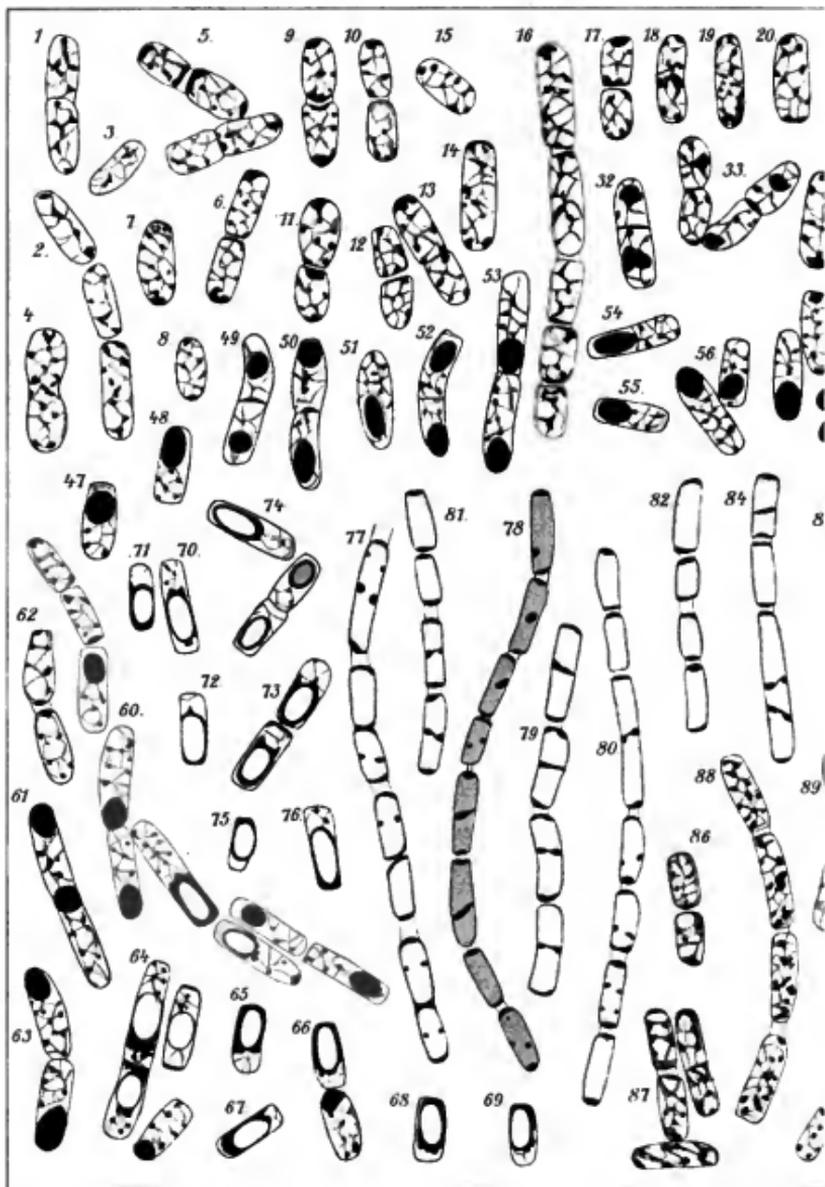
*Spirillum volutans*.

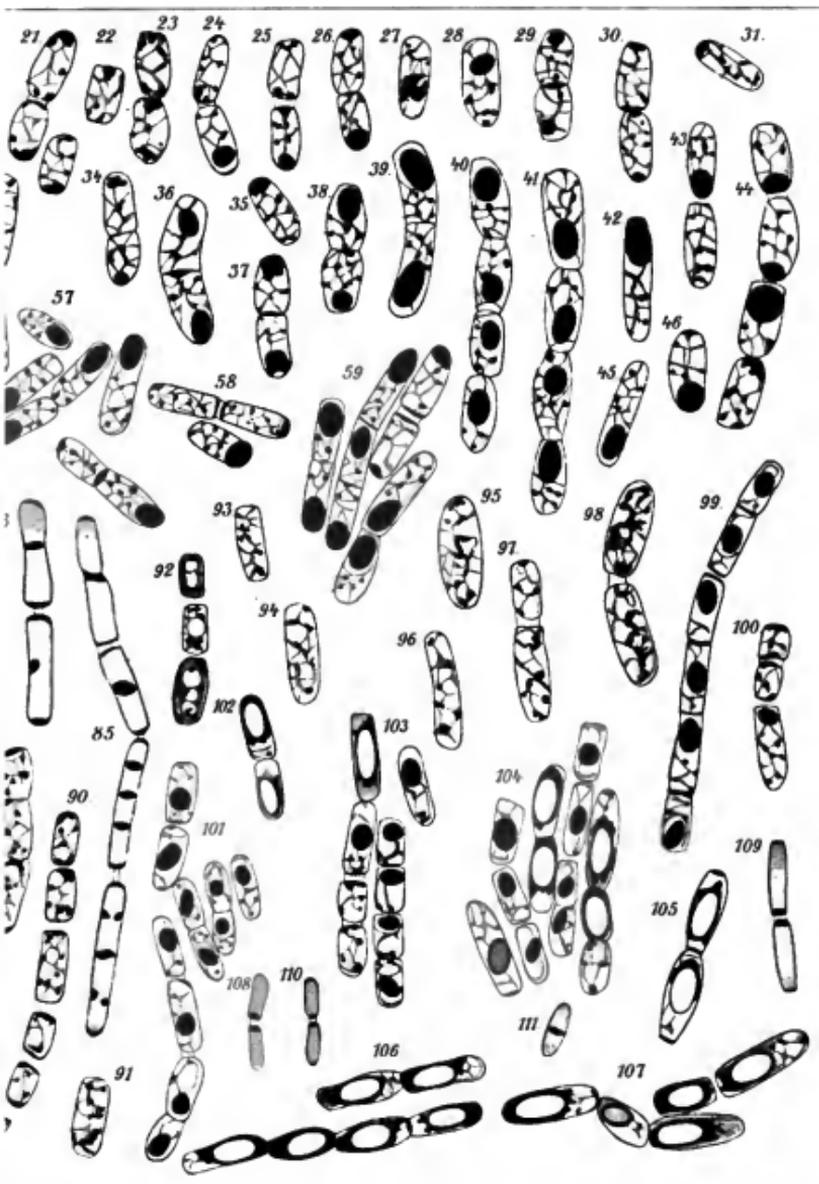
Figure 76. Lenhossék, bleu de méthylène; cellules de 24 heures.

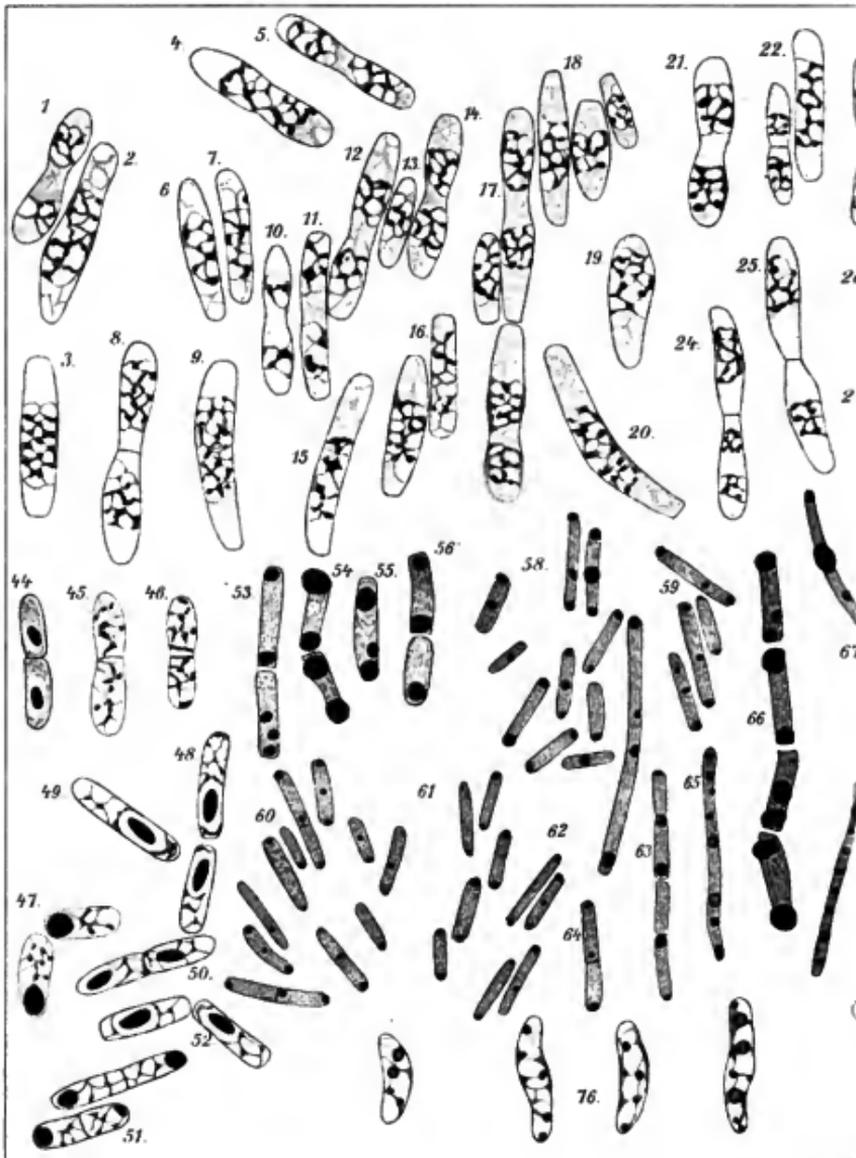
---













Ischer in. lens.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1908

Band/Volume: [12 1908](#)

Autor(en)/Author(s): Guilliermond Marie Antoine Alexandre

Artikel/Article: [Contribution à l'étude cytologique des Bacilles](#)

[endosporés. 9-43](#)