

*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

## La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus.

Par

**Louis Léger,**

Professeur de Zoologie à l'Université de Grenoble.

(Avec Pl. XIII et XIV et 8 figures en texte.)

### Table des matières.

Avant-propos . . . . .	304
Historique de la question . . . . .	305
Partie spéciale . . . . .	307
Matériel et méthodes de recherches . . . . .	307
Les Grégariines au moment de l'accouplement . . . . .	312
Le processus sexué étudié sur le vivant . . . . .	316
Multiplication des noyaux et stade de perlage . . . . .	316
Phase de différenciation sexuelle . . . . .	318
Ovogénèse . . . . .	318
Spermatogénèse . . . . .	318
Les deux sortes de spermatozoïdes . . . . .	319
Mouvements des spermatozoïdes . . . . .	320
Mêlée sexuelle . . . . .	321
Les copulations . . . . .	322
L'enchaînement des copulas . . . . .	323
Dégénérescence des gamètes stériles . . . . .	324
Modifications pathologiques du processus . . . . .	327
Développement des sporocystes . . . . .	327
Etude cytologique du processus sexué . . . . .	328
Multiplication des noyaux . . . . .	328
Ovogénèse . . . . .	332
Spermatogénèse. — Développement des spermatozoïdes piriformes ou fertiles . . . . .	333
Etude cytologique du spermatozoïde piriforme . . . . .	335

Développement des spermatozoïdes fusiformes ou stériles . . . . .	337
Etude cytologique du spermatozoïde fusiforme . . . . .	338
Dégénérescence des spermatozoïdes fusiformes . . . . .	339
Etude cytologique de la copula . . . . .	340
Dégénérescence des éléments fertiles qui n'ont pas copulé . . . . .	342
Polygamie . . . . .	342
Evolution de la copula . . . . .	344
Partie générale . . . . .	346
Index bibliographique . . . . .	354
Explication des planches . . . . .	355

### Avant-propos.

Dans une courte note à l'Académie des Sciences (1901), j'ai signalé les principales particularités du processus sexué chez le *Stylorhynchus oblongatus* HAMM., en insistant spécialement sur le fait que la conjugaison est anisogame chez ces animaux, contrairement à ce qui a été décrit chez d'autres Grégarines (*Monocystis ascidia*, d'après SIEDLECKI [1899], *Ophryocystis*, d'après moi [1900], *Monocystis* du *Lombric* et *Diplocystis major*, d'après CUVENOR [1901]); en même temps, j'ai donné succinctement les caractères morphologiques des éléments sexuels.

Depuis, j'ai poursuivi mes recherches sur le même sujet en les étendant à une autre espèce de *Stylorhynchus* (*Stylorhynchus longicollis* F. St. du Blaps), qui, en se prêtant plus facilement à l'étude en raison de la taille de ses éléments sexuels, m'a permis d'observer avec plus de précision leur structure et leur développement ainsi que l'ensemble du processus sexué.

Mes recherches ont porté sur plusieurs centaines de kystes de *Stylorhynchides* dont j'ai suivi le développement; tantôt sur le vivant, tantôt après fixation et coloration aux divers instants de leur évolution, depuis le début de l'enkystement jusqu'à la formation des sporocystes.

Bien que mes observations présentent encore certaines lacunes, notamment la question de l'origine du premier fuseau dans chaque Grégarine enkystée<sup>1)</sup>, je crois utile de les publier dès maintenant car elles permettent, avec ce que nous savons déjà, de donner une

<sup>1)</sup> Cette question très importante demande, en raison des divergences d'opinion des auteurs qui s'en sont occupés, à être étudiée comparativement dans différentes espèces de Grégarines. Nous nous en occuperons spécialement dans un prochain travail en collaboration avec O. DUBOSQ.

vue assez détaillée de l'histoire du curieux et multiple processus sexué qui se déroule à l'intérieur du kyste grégarinien, et je pense qu'elles pourront être ultérieurement complétées par l'étude d'espèces plus favorables à l'observation des stades de début.

Après une révision générale de l'histoire de la question, j'étudierai, dans une partie spéciale, le processus sexué, d'abord sur le vivant, puis au point de vue cytologique, et, dans une courte partie générale, j'exposerai l'ensemble des résultats obtenus et les conclusions qu'il y a lieu d'en tirer.

### Historique de la question.

Restée longtemps incomprise, la conjugaison des Grégarines a été interprétée d'une façon décisive par SIEDLECKI (Déc. 1899) dans sa remarquable étude sur la reproduction sexuée du *Monocystis ascidia*. En effet, tandis que les auteurs antérieurs voulaient voir dans l'enkystement soit un échange nucléaire entre les deux Grégarines conjuguées comme ROBOZ (1886) et WOLTERS (1891), soit un simple accollement suivi, dans chaque individu, de multiplication des noyaux dont chacun devient finalement le noyau d'un sporoblaste définitif et exprimant une première étape sur le chemin de la fécondation (CUÉNOT 1899), ou bien le souvenir ancestral d'une véritable conjugaison (MESNIL 1899), SIEDLECKI a montré, en étudiant la sporulation du *Monocystis ascidia*, que la conjugaison qui s'effectue à l'intérieur du kyste est, en réalité, multiple et consiste en ce que les nombreux sporoblastes qui se forment aux dépens des deux Grégarines enkystées se fusionnent deux à deux pour constituer les sporocystes définitifs. Il en résulte que, à la maturité, le kyste renferme un nombre de sporocystes moitié moindre que le nombre total des sporoblastes qui s'y sont formés au début. Cette manière de voir est absolument exacte. L'étude que j'ai faite de la conjugaison chez les *Ophryocystis* (10 nov. 1900) a montré également l'existence d'une copulation entre deux sporoblastes formés respectivement dans chaque individu du couple et j'ai aussi retrouvé le même processus chez une schizogrégarine: *Schizocystis gregarinoïdes* LÉGER (29 octobre 1900). De même CUÉNOT (1901) l'a confirmée par ses observations sur le *Monocystis* du Lombric et sur le *Diplocystis* du Grillon domestique.

PROWAZEK (1902) et CECCONI (1902) ont confirmé les observations

de CRÉNOT sur le *Monocystis* du LOMBRIC et BERNDT (1902) a constaté également la copulation des sporoblastes chez les Grégarinides.

D'après SIEDLECKI, les sporoblastes qui copulent deux à deux à l'intérieur du kyste de *Monocystis* ascidiaie sont semblables. Animés d'un mouvement pendulaire (sans que l'auteur ait réussi à voir d'organe locomoteur), ils se rapprochent deux à deux et se fusionnent. Ainsi se forme un sporocyste par addition de deux plasmas sporoblastiques et fusion de leurs noyaux.

SIEDLECKI donne les meilleures raisons pour croire que les sporoblastes qui copulent appartiennent à deux Grégarines différentes, mais il ne le prouve pas. D'autre part, il n'a pas réussi à voir quelle était l'origine du mouvement qui fait se rencontrer les sporoblastes. Les autres auteurs: CRÉNOT, PROWAZEK, CECCONI et BERNDT admettent aussi l'isogamie chez les espèces qu'ils ont étudiées et n'ont pas davantage résolu la question de l'origine des gamètes qui copulent non plus que celle de leurs mouvements. Enfin, les phénomènes intimes de la copulation nucléaire n'ont jusqu'ici jamais été suivis en détail. Il restait donc plusieurs points des plus importants à éclaircir dans cette question de la fécondation, et j'ai pensé qu'en m'adressant pour cela à des espèces de Grégarines chez lesquelles le mouvement a été constaté d'une façon intense il serait possible de les élucider.

Je me suis adressé pour cela aux *Stylorhynchus* chez lesquels A. SCHNEIDER (1875) a fait connaître depuis longtemps le curieux phénomène de la danse des sporoblastes, c'est-à-dire la vive agitation des éléments sexuels dans le kyste au cours de la sporulation. En suivant l'étude de cette Grégarine, j'ai pu répondre aux deux questions précédemment posées et, en outre, j'ai découvert que la copulation chez les Grégarines *Stylorhynchides* n'est pas isogame, mais, au contraire, nettement anisogame, s'effectuant au moyen d'éléments sexuels suffisamment différenciés pour qu'ils méritent respectivement le nom de spermatozoïde et d'œuf.<sup>1)</sup>

Dans la suite, j'ai étudié, en collaboration avec O. DUBOSQ (20. mai 1902), la reproduction sexuée chez les *Dactylophorides* (*Pterocephalus nobilis* de la Scolopendre) et là aussi nous

<sup>1)</sup> On voit par cet aperçu historique que, jusqu'à maintenant, je suis le seul auteur qui ait observé l'anisogamie chez les Grégarines. Aussi s'explique-t-on difficilement pourquoi A. LABBE écrit dans la revue générale sur la fécondation parue dans l'Année biologique 1901, p. XLV, que „l'hétérogamie des Grégarines, découverte par SIEDLECKI, revue par CRÉNOT et LÉGER est intéressante dans le genre *Stylorhynchus*. . . .”

avons montré que chez ces Grégarines, qui, au point de vue morphologique, s'éloignent considérablement de toutes les autres Polycystidées, il y a anisogamie très accentuée, les microgamètes étant virguliformes, avec un long cil caudal et les macrogamètes, beaucoup plus gros, immobiles et de forme ovoïde allongée.

En résumé, la copulation est considérée comme isogame chez le *Monocystis ascidia* par SIEDLECKI, chez *Monocystis* du Lombric par CUÉNOT, PROWAZEK et CECCONI, chez *Ophryocystis* par LÉGER et chez *Gregarina* par BERNDT, tandis qu'elle est anisogame chez les *Stylorhynchides* (LÉGER) et chez les *Dactylophorides* (LÉGER et DUBOSCQ).

## Partie spéciale.

### Le processus sexué chez les *Stylorhynchus*.

#### I.

#### Matériel et méthodes de recherches.

Le genre *Stylorhynchus* est considéré à juste titre comme le type des Grégarines de la famille des *Stylorhynchides*, *Polycystidées* spéciales aux Coléoptères Ténébrionides et caractérisées par des sporocystes trigones comprimés (spores en porte-monnaie) à tégument coloré, et réunis en longues chaînes à la maturité.

La grande homogénéité de cette famille et les quelques observations éparses que j'ai recueillies sur la sporulation des *Cystocephalus* des Pimélies et des *Oocephalus* des Akis, me portent à croire que les phénomènes sexuels s'accomplissent, à peu de choses près, de la même façon dans tout ce groupe.

Les deux espèces que j'ai étudiées plus spécialement sont: 1° le *Stylorhynchus longicollis* F. St. qui vit dans les différentes espèces de Blaps de France,<sup>1)</sup> et que j'ai retrouvé aussi dans des *Scaurus tristis* qui m'avaient été obligeamment envoyés de Banyuls par M. PRUVOT, directeur du Laboratoire Arago. 2° le *Stylorhynchus oblongatus* HAMM. signalé d'abord par SCHNEIDER dans *Asida grisea* F. et *Opatrum sabulosum* L. et que j'ai retrouvé, dans *Olocrates gibbus* FAR. J'ai étudié le phénomène de la conjugaison chez des *Stylorhynchus* provenant de ces trois

<sup>1)</sup> Je dois la plupart de ces insectes à l'extrême obligeance de M<sup>me</sup> CAUVIN, de St TROPEZ qui a bien voulu m'en recueillir et m'en envoyer une grande quantité. Je suis heureux de lui adresser ici tous mes remerciements.

différents hôtes et j'ai trouvé que les éléments sexuels ne diffèrent pas sensiblement dans les trois cas de sorte qu'ils peuvent être considérés comme appartenant à une seule et même espèce: *Stylorhynchus oblongatus* HAMM., d'autant mieux que leurs sporocystes présentent aussi les mêmes caractères. Je crois néanmoins devoir faire remarquer que chez l'*Asida Dejeani* SOL., la forme des sporadins est beaucoup plus effilée que chez l'*Olocrate* et l'*Opatrum*.

Avec les *Stylorhynchus* des Blaps, ce sont particulièrement les *Stylorhynchus* des *Olocrates* qui m'ont fourni le plus de matériaux, en raison de la facilité avec laquelle on trouve ces derniers animaux, en grand nombre et presque tous infestés, sur les dunes du littoral de la Manche. Ils sont surtout communs dans les dunes qui s'élèvent de Cabourg à Luc-sur-mer, et, à Ambleteuse, aux environs du Laboratoire du Professeur GIARD lequel a bien voulu m'indiquer cette dernière station. C'est pendant mon séjour au Laboratoire de Luc-sur-mer que j'ai effectué la partie principale de mes recherches et je tiens à exprimer tous mes remerciements à M. le Professeur JOYEUX-LAFFUIE, directeur, ainsi qu'à mon collègue DUBOSCQ pour l'inépuisable complaisance avec laquelle ils ont bien voulu mettre à ma disposition les ressources de leur Institut.

Que l'on ait affaire aux Blaps ou aux *Olocrates* infestés, il est toujours très facile d'obtenir les kystes grégariniens pour l'étude, en gardant ces animaux quelques jours en captivité et en les nourrissant de feuilles de laitue qui provoquent des selles nombreuses entraînant les kystes au dehors.

Le simple examen des kystes, à un faible grossissement, permet de distinguer l'espèce de *Stylorhynchus* à laquelle ils appartiennent. Les kystes de *Stylorhynchus longicollis* F. St. de  $590\ \mu$  de diamètre en moyenne sont plus gros que ceux de *Stylorhynchus oblongatus* HAMM. Leur paroi est hérissée de petites protubérances chitineuses qui s'élargissent en une étoile irrégulière, comme des têtes de clous se colorant fortement par la safranine et signalées déjà par SCHNEIDER. Ceux du *Stylorhynchus oblongatus* HAMM. n'ont que  $480\ \mu$  en moyenne et leur paroi est seulement relevée de gros mamelons contigus de très faible courbure (fig. 1 et 2) qui, vus de face, donnent l'aspect d'alvéoles ainsi que SCHNEIDER l'avait interprété pour le *Stylorhynchus* de l'*Asida*. Ce dernier mode d'ornementation des kystes de *Stylorhynchus oblongatus* leur donne, pour l'étude sur le vivant, un précieux

avantage sur ceux pourtant plus gros de *Stylorhynchus longicollis*.

Chez ces derniers, en effet, la paroi hérissée d'aspérités est par cela même beaucoup moins transparente et ne permet que très difficilement l'observation des phénomènes qui se déroulent à l'intérieur du kyste pendant son évolution; en outre, toutes ces aspérités dont le rôle est sans doute de faciliter l'adhérence des kystes aux substances que mangent les Blaps, retiennent entre elles du mucus intestinal coloré et de minuscules débris dont il est difficile et souvent impossible de les débarrasser, ce qui rend leur enveloppe tout à fait opaque. Pour ces raisons, les kystes de *Stylorhynchus oblongatus* de l'Olocrate constituent, pour suivre les phénomènes in vivo, le matériel de choix et c'est grâce à eux que j'ai pu suivre la chronologie des faits ainsi que je l'exposerai bientôt.

Les kystes de *Stylorhynchus* ne sont pas sphériques comme ceux de la plupart des Grégarines; en réalité, ils représentent une sphère légèrement comprimée, ou mieux, en termes mathématiques, un ellipsoïde aplati. On peut supposer ce solide divisée en deux chambres égales et symétriques par un plan perpendiculaire au grand axe de l'ellipse et en son milieu, chacune des chambres étant occupée, au début de l'enkystement, par une Grégarine.

Comme, des deux Grégarines enkystées, l'une produit les éléments mâles et l'autre les éléments femelles, on peut concevoir le kyste comme comportant une chambre mâle et une chambre femelle; mais ces chambres sont

plutôt virtuelles, car dès que les téguments des Grégarines sont liquéfiés, il n'y a plus de cloison de séparation. En raison de la forme globuleuse de chacune des Grégarines ainsi réunies et appliquées, l'une contre l'autre dans le kyste, il existe, au niveau de leur plan d'accolement, c'est-à-dire au plan équatorial, un couloir circulaire mitoyen entre les deux Grégarines. La section de ce couloir est un triangle curviligne dont l'un des côtés est représenté par la paroi kystique et les deux autres par le bord respectif de chaque Grégarine. Ce couloir mitoyen (*cm* fig. 1 texte) est très important à considérer dans l'étude in vivo des phénomènes sexuels à l'intérieur du



Fig. 1.

Figure schématique d'un kyste de *Stylorhynchus*, vu de face. ♂ chambre mâle; ♀ chambre femelle. —  $\alpha\alpha'$ ,  $\beta\beta'$ , zones les plus favorables à l'observation; *cm* couloir mitoyen.

kyste; c'est, en effet, à son niveau que se trouve la zone la plus large où il soit possible d'observer par transparence les éléments sexuels et c'est là, par conséquent, que doivent surtout porter les observations. Aussi j'aurai fréquemment à parler, dans la suite, de ce couloir mitoyen.

La méthode de recherches sur le vivant consiste à suivre pas à pas et par transparence la succession des phénomènes à l'intérieur du kyste. Pour cela, ce dernier doit être placé en goutte suspendue dans une chambre humide formée d'une lame porte-objet excavée et recouverte d'un couvre-objet bordé à la vaseline.

En même temps, les observations sont contrôlées, aux divers stades, en faisant éclater le kyste, dans une goutte de liquide physiologique légèrement albuminé ce qui permet d'observer encore quelque temps et de plus près les éléments sexuels; mais il faut savoir que ceux-ci s'altèrent très rapidement en dehors du kyste, tant que le stade de copula n'est pas atteint.

Pour ces observations sur le kyste vivant, il est un point d'une grande importance qu'il ne faut jamais perdre de vue et faute duquel toute interprétation devient impossible. C'est l'orientation définie et constante du kyste sur la lamelle qui ferme la chambre humide. Les kystes étant tout d'abord déposés sur une de leurs faces aplaties, ce qui pour l'examen leur donne une épaisseur minima et par conséquent le maximum de transparence, sont ensuite orientés

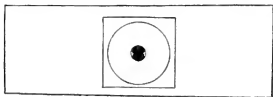


Fig. 2.

Disposition et orientation du kyste pour l'étude in vivo. (Le kyste a été, à dessin, fortement grossi.)

de façon que le plan de séparation des chambres soit dans une direction constante et facile à retenir; par exemple, parallèle au grand côté de la lame porte-objet (fig. 2 texte). De cette façon, les deux chambres se trouvent toujours situées, l'une antérieurement et l'autre postérieurement, et il devient très facile de suivre les événements qui s'y passent respectivement, à partir du moment où les éléments qu'elles renferment sont différenciés et où, par conséquent, elles doivent être distinguées sexuellement. Si l'orientation



du kyste était oblique et surtout si celui-ci reposait sur la lame parallèlement au plan d'accolement des Grégarines, toute observation serait impossible car on ne verrait alors qu'un seul hémisphère et on ne pourrait se rendre compte ni des différences sexuelles, ni de la façon dont se comportent les éléments reproducteurs.

Pour l'étude cytologique, je fais éclater les kystes sur une lame porte-objet et je fixe leur contenu à tous les stades du processus. Après bien des tâtonnements, j'ai remarqué que le meilleur fixateur était le sublimé acétique suivi de l'alcool absolu, 30 secondes environ pour chacun de ces réactifs pour les stades précopulatoires et une ou deux minutes, à partir du stade de copula où les éléments sont déjà limités par une paroi. Il faut opérer avec une extrême rapidité afin que le contenu du kyste soit fixé immédiatement après sa sortie de l'enveloppe kystique et surtout avant qu'il ait pu subir la moindre dessiccation à la surface de la lame ce qui altère inévitablement les éléments.

La préparation est ensuite colorée comme un frottis. Les colorations les plus délicates notamment pour l'étude des racines des fouets des spermatozoïdes et la structure du noyau sont obtenues par l'Hématoxyline de HEIDENHAIN.

L'Hémalum donne aussi de bons résultats pour l'étude du cytoplasme. J'ai également utilisé les colorations à base de safranine après fixation au FLEMMING mais, en général, les résultats sont moins bons qu'avec la méthode précédente.

Enfin, dans certains cas, j'ai utilisé la méthode de coloration de LAVERAN qui donne de si bons résultats pour l'étude des Hémogrégarines. Cette méthode met nettement en évidence la différence de nature des grains de réserve dans les gamètes, mais ne peut être utilisée avec fruit pour étudier les relations du filament axile qui se colore trop faiblement.

Après une courte étude morphologique et cytologique des deux Grégarines qui s'accouplent et se renferment dans un kyste commun, je diviserai mon étude du processus sexué en deux parties. Dans la première, j'exposerai la suite des phénomènes qu'on observe sur le vivant depuis l'enkystement jusqu'à la formation des sporocystes; dans la seconde, je reprendrai en détail l'étude cytologique de chacune des phases de ce processus sexué, au moyen de préparations fixées et colorées.

Je distinguerai ainsi dans l'ensemble du processus sexué un certain nombre de phases successives destinées bien plus à faciliter

la description du sujet qu'à exprimer la suite naturelle des faits qui se déroulent en réalité sans repos.

Cette méthode me paraît préférable ici à celle qui consisterait à étudier successivement chaque phase, d'abord sur le vivant, et ensuite au point de vue cytologique car certaines phases comme la spermatogénèse et la copulation nucléaire par exemple, nécessitent une étude cytologique longue et détaillée qui risquerait à chaque fois de faire perdre au lecteur le fil des événements ou bien me forcerait à d'inutiles répétitions.

## II.

### Les Grégarines au moment de l'accouplement.<sup>1)</sup>

Bien que mes recherches aient démontré que les deux Grégarines qui s'accouplent pour se réunir dans un même kyste vont donner,

<sup>1)</sup> Je crois préférable d'employer le terme: accouplement pour désigner la réunion par couple des deux Grégarines qui se préparent à l'enkystement au lieu du terme conjugaison qui prête à l'équivoque car il est souvent employé pour exprimer l'union sexuelle des gamètes. Ainsi, tandis que SIEDLECKI emploie le terme: conjugaison pour désigner l'accouplement des deux Grégarines, СЪЕДОТ emploie, avec plus de raison d'ailleurs, ce même terme pour désigner la fusion des gamètes et appelle association l'accouplement grégarinien. Je crois préférable de réserver le mot association pour désigner la réunion en série linéaire de nombreuses Grégarines, disposition qui, je crois, est sans relation immédiate avec le processus sexué et qu'on observe chez quelques rares espèces comme les *Hirmocystis* et certaines *Aggregata*.

Afin d'éviter toute confusion dans la description du processus sexué, j'ai désigné avec SIEDLECKI et les auteurs allemands l'union sexuelle des gamètes sous le nom de copulation. Je ne crois pas, en outre, que le terme „sporoblaste" encore employé par les auteurs récents pour désigner les gamètes des deux Grégarines soit bien approprié puisque avant la découverte de la conjugaison, il exprimait l'élément qui devait, croyait-on, se transformer directement en sporocyste. On confondait alors sous ce même nom gamètes et copulas au début; il en résulte qu'aujourd'hui l'expression copulation des sporoblastes n'est pas suffisamment précise pour être employée dans une description du processus sexué d'autant plus qu'elle ne permet pas, à priori, une homologation avec les éléments qui jouent le même rôle chez les autres Protozoaires. C'est pourquoi j'appellerai gamètes, selon la terminologie générale, les éléments sexuels qui se conjungent deux à deux dans le kyste grégarinien. Lorsque ces gamètes sont différenciés sexuellement, on pourrait les distinguer sous les noms de micro- et de macrogamètes comme chez les Coccidies par exemple, mais cette terminologie très expressive ne s'accordant pas avec les cas où comme chez *Stylorhynchus*, l'élément mâle est plus gros que l'élément femelle, j'ai préféré employer les termes de spermatozoïde et d'œuf qui n'impliquent pas littéralement une idée de grosseur respective.

l'une, des éléments mâles, l'autre des éléments femelles, je n'ai pas réussi à distinguer entre elles de différence sexuelle secondaire.

Les deux Grégarines qui vont s'accoupler en vue de la reproduction sont à peu près de taille égale (fig. 3 texte). Chez *Stylorhynchus oblongatus*, par exemple, elles ont environ chacune  $600\ \mu$  de long. Elles sont replètes, fortement bondées de grains de réserve et en conséquence de forme un peu plus massive, moins effilées que la plupart des sporadins solitaires. Par transparence, on peut voir dans chacune d'elles, un gros noyau sitné ordinairement dans la partie la plus renflée du deutomérite et apparaissant comme une tache plus claire avec deux ou plusieurs corps plus réfringents à l'intérieur, les nucléoles.

L'accolement se fait par l'extrémité antérieure des protomérites qui viennent en regard et s'appuient fortement l'un contre l'autre en se déprimant mutuellement.

On ne voit pas dans cet accouplement de titillateur entrer en jeu, comme SIEDLECKI l'a vu chez *M. A. scidia*e. Il semble néanmoins que l'extrémité antérieure du protomérite de l'une des Grégarines s'enfonce légèrement dans une dépression correspondante de la conjointe, mais ce phénomène est si peu accentué qu'il ne me paraît pas devoir être interprété comme une véritable pénétration d'une extrémité dans l'autre. Le tassement des deux protomérites amène souvent la naissance d'un ou deux bourrelets circulaires superficiels.

Les deutomérites sont tout d'abord étendus, allongés, comme chez les sporadins solitaires. Parfois l'un est un peu plus massif que l'autre, mais ceci n'a rien de général.



Fig. 3.  
Deux *Stylorhynchus*  
accomplés  $\times 100$ .

Nous dirons donc, par exemple, que la reproduction sexuée chez *Stylorhynchus* comprend: 1° l'accouplement des deux Grégarines; 2° leur réunion dans un même kyste ou copularium; 3° la production des gamètes par chacune des Grégarines enkystées, la Grégarine mâle donnant les spermatozoïdes, la Grégarine femelle donnant les œufs; 4° la copulation de ces deux sortes de gamètes, d'où formation de copulas donnant directement les sporocystes par formation d'une paroi et division de leur contenu en 8 sporozoïtes.

En outre, il n'y a pas non plus entre les deux conjoints de différence sexuelle dans l'affinité pour certains colorants. Sur des préparations fixées et colorées au moment de l'accolement, les noyaux respectifs des deux Grégarines diffèrent peu de ceux des gros sporadins libres. Ils sont ovoïdes, leur paroi est devenue très mince et ils renferment ordinairement deux ou trois gros nucléoles très pâles mais un peu plus colorés à leur surface. A côté d'eux, on en voit plusieurs autres sous forme de grains beaucoup plus petits, de taille variée, qui proviennent des premiers par une sorte de bourgeonnement car on en voit souvent qui sont encore étroitement liés à ceux-ci. A l'intérieur d'un des gros nucléoles on libère dans le suc nucléaire, se distingue en outre un petit grain sphérique retenant toujours plus fortement la couleur et que je désignerai sous le nom de karyosome en l'identifiant avec le petit grain tout à fait semblable que l'on voit dans le noyau des sporozoïtes ainsi que dans celui des gamètes. Le suc nucléaire,

assez fortement coloré, sans doute par de la chromatine dissoute provenant des nucléoles maintenant décolorés, se montre finement granuleux après fixation au sublimé. En outre des nucléoles et du karyosome, j'ai vu, parfois, dans le noyau de Grégarines sur le point de s'enkyster, un ou deux courts bâtonnets chromatiques, mais, je ne puis me prononcer sur leur signification n'ayant pas suivi la première mitose. Si on compare de noyau à celui des sporadins solitaires, on remarque seulement que chez ces derniers (fig. 4 texte) il n'y a, outre le karyosome qu'un ou deux nucléoles massifs ou en boudin lesquels se fragmentent dans la suite pour donner les nucléoles des sporadins conjugués.

Fig. 4.

Jeune sporadin solitaire de *Stylorhynchus*.  $\times 100$ .

Outre le noyau, le cytoplasme des Grégarines adultes, libres, et surtout celui des Grégarines conjuguées, montre un certain nombre de corps chromatoïdes tout à fait particuliers. Ce sont des éléments de forme assez variable, tantôt presque sphériques, tantôt plus ou moins aplatis en forme de disque à contour circulaire ou irrégulier, tantôt en forme de court boudin tortueux. Quelques-uns de ces corps atteignent les dimensions des nucléoles, mais la plupart sont beaucoup plus petits. On les trouve dans les deux segments de la Grégarine; il y en a presque toujours au moins un, parfois deux dans le protomère (fig. 3 et 4 texte) où il simule un second noyau à de faibles grossissements. Dans le deutomère, ils

sont parfois très nombreux; en général, il y en a quatre ou cinq de tailles diverses, mais parfois aussi seulement un ou deux.

Ces corps chromatôides sont constitués d'une substance réfringente sur le vivant, se colorant fortement par les réactifs de la chromatine, et renfermant souvent de nombreuses vacuoles de taille variable ce qui leur donne un aspect spumeux. Parfois, les vacuoles ne sont localisées qu'en une région de la masse, le reste étant homogène; enfin certaines de ces masses montrent dans leur sein un ou plusieurs petits grains plus colorés autour desquels se trouve une zone plus claire. Ces masses n'ont pas de paroi propre, mais elles sont cependant nettement séparées du cytoplasme granuleux ambiant par une zone claire comme une auréole due sans doute à la réaction de leur substance sur le cytoplasme environnant.

En examinant beaucoup d'individus, j'ai pu voir que les corps chromatôides commencent à apparaître très tôt, augmentent à mesure que la Grégarine grossit, en même temps que quelques-uns semblent se dissoudre dans le cytoplasma. De bonne heure, il en apparaît un dans le protomérite et un puis plusieurs autres dans le deutomérite. Dans ce segment, ils se trouvent souvent au voisinage du noyau, de sorte que l'on est porté à admettre qu'ils proviennent de nucléoles secondaires qui, au bout d'un certain temps, seraient expulsés dans le cytoplasme, soit en entier, soit par parties.

Ces corps chromatôides sont assez fréquents chez les Grégarines, SCHNEIDER en a signalé sous le nom d'inclusions chez *Stenophora* et chez d'autres Polycystidées. J'en ai vu chez beaucoup d'espèces, notamment chez *Didymophyes gigantea* F. St. des larves d'*Oryctes* où elles atteignent une grande taille et sont localisées dans le protomérite. Je signalerai aussi ici une Clepsidrine encore non décrite que j'appellerai *Gregarina maculata* qui vit dans les larves de l'*Olocrates gibbus*. Cette Grégarine montre constamment une grosse tache chromatôide en arrière du noyau, à l'extrémité du corps, ce qui lui donne l'apparence d'une Grégarine à deux noyaux (fig. 5 texte).

Sur la signification de ces corps chromatôides, je ne puis encore rien dire de certain si ce n'est qu'ils ne paraissent aucunement intervenir dans la constitution des noyaux sexuels. Ils représentent plutôt des déchets du noyau que des éléments actifs et,



Fig. 5. Un couple de *Grégarina maculata* LÉON.  
× 125.

de ce fait, ne doivent pas, je crois, être assimilés aux corps chromatiques intracytoplasmiques que R. HERTWIG (1902) désigne sous le nom de chromidies, et qui jouent un si grand rôle dans la reproduction sexuée des Rhizopodes, comme SCHAUDINN (1903) l'a montré récemment. Il est toutefois intéressant de remarquer que, comme les chromidies de l'*Actinospherium*, elles semblent naître aux dépens de la chromatine du noyau et augmenter en nombre sous l'influence de modifications de la nutrition.

Dans l'intestin d'un Olocrate qui avait été privé de nourriture pendant plus de deux mois, toutes les Grégarines qui se trouvaient ainsi manifestement en état de dénutrition et d'ailleurs très pauvres en grains de réserve montraient dans leur cytoplasma un nombre extrêmement grand de corps chromatoïdes dont quelques uns, énormes, pouvaient rivaliser de taille avec les gros nucléoles.

### III.

#### Le processus sexué étudié sur le vivant.

Je n'insisterai pas sur le phénomène bien connu et déjà décrit de l'enkystement qui, d'ailleurs ne présente ici rien de particulier, et j'étudierai, d'abord sur le vivant, la série des phases qui constituent par leur ensemble le processus sexué à l'intérieur du kyste, à savoir: 1° la phase de multiplication des noyaux et la lobulation du soma grégarinien aboutissant au stade de perlage, 2° la différenciation et la mise en liberté des gamètes, 3° la copulation, 4° l'évolution de la copula.

#### Multiplication des noyaux et stade de perlage.

Dès que le kyste expulsé avec les excréments a gagné l'extérieur, commence la multiplication des noyaux sexuels qui aboutit à la formation des gamètes. Je ne parlerai pas ici de la multiplication des noyaux qui sera traitée dans le paragraphe suivant (étude cytologique du processus sexué) et je ne décrirai que les phénomènes qui s'observent in vivo dans le kyste en voie d'évolution, et placé en chambre humide après orientation convenable ainsi que je l'ai indiqué plus haut. L'orientation que j'ai adoptée pour mes figures et par conséquent pour ma description est celle représentée dans ma planche fig. 1 et 2 et dans la fig. 2 du texte. c'est-à-dire que la Grégarine mâle est en haut et la Grégarine femelle en bas. La

coupe transversale du couloir mitoyen se voit par conséquent à gauche et à droite du plan équatorial.

A mesure que les noyaux sexuels se multiplient dans chaque Grégarine, ils se portent à la surface du corps grégarinien où ils font saillie en soulevant autour d'eux une petite éminence conique constituée par du protoplasma clair.

Le nombre des éminences augmente de plus en plus avec la multiplication concomitante des noyaux, en même temps que leur grosseur diminue. Pendant ce temps, chaque Grégarine se découpe en un corps serpentiforme ce qui augmente considérablement la surface bourgeonnante et favorise le triage des substances plastiques. Le terme de cet accroissement en surface est atteint lorsque, vers la fin de cette phase, le corps serpentiforme lui-même se découpe à son tour en lobes sphériques ou ovoïdes plus ou moins allongés, à la surface desquels se montrent les bourgeons nucléés.

Finalement, le corps de chaque Grégarine, que l'on peut considérer comme un soma portant les cellules sexuelles, est ainsi découpé en un certain nombre de grosses masses sphériques ou allongées à contenu fortement granuleux, couvertes de petits mamelons de protoplasma clair renfermant chacun un noyau. Ces mamelons, primitivement coniques et montrant même parfois un prolongement protoplasmique assez long à leur sommet, deviennent rapidement sphériques et chacun d'eux est rattaché au corps générateur par une large base d'insertion. Leur contenu hyalin, avec à peine quelques fines granulations vers la base d'insertion, les fait comparer à des perles recouvrant ainsi la surface des lobes générateurs granuleux, et on peut donner à cette phase le nom de stade de perlage. Chaque perle représente un gamète encore indifférencié. A ce stade, en effet, il est presque impossible de distinguer la Grégarine mâle de la femelle car, dans l'une comme dans l'autre, les mamelons ou perles protoplasmiques hyalines sont absolument de même forme et de même structure (fig. 3 pl. 13). Seul, un œil exercé pourrait toutefois remarquer, notamment chez *Stylorhynchus longicollis*, une légère différence de taille et de réfringence dans les mamelons des deux Grégarines, ceux de la Grégarine mâle (*m* fig. 3) étant un peu plus gros et plus réfringents que ceux de la femelle (*f* fig. 3) et, en outre, légèrement acuminés au pôle distal. Ce stade de perlage est atteint au bout de vingt-cinq à trente heures après l'expulsion des kystes, par une température de 24°; mais j'insiste sur ce fait qu'il est considérablement retardé à des températures plus basses.

### Phase de différenciation sexuelle.

C'est à partir de ce moment que les différences sexuelles deviennent manifestes. Le processus est facile à observer chez *Stylorhynchus oblongatus* à cause de la transparence de la paroi kystique, mais il faut bien avoir eu soin de placer et d'orienter le kyste dans la chambre humide ainsi que je l'ai indiqué plus haut. On a alors deux zones particulièrement favorables pour l'observation des éléments: ce sont (fig. 1 texte), les zones qui limitent en dedans le couloir mitoyen et comprises entre les deux côtés des angles  $\alpha$  et  $\alpha'$  pour la Grégarine de la chambre inférieure ou femelle et  $\beta$  et  $\beta'$  pour celle de la chambre supérieure ou mâle.

### Ovogénèse.

Considérons d'abord ce qui va se passer dans la chambre inférieure, c'est-à-dire à la surface de la Grégarine femelle. Les modifications qui vont se produire dans les perles ou gamètes encore indifférenciés pour les transformer définitivement en œufs mûrs, c'est-à-dire prêts à la fécondation sont insignifiantes.

Chacune des petites perles hyalines grossit encore quelque peu jusqu'à atteindre un diamètre de 5 à 8  $\mu$  selon les kystes, chez *St. longicollis* (elles sont ordinairement un peu plus petites chez *St. oblongatus*), puis s'individualise progressivement et devient tout à fait sphérique en rétrécissant peu à peu sa large base d'attache jusqu'à la réduire à un mince pédicelle (fig. 3 et 4f). A leur intérieur, le cytoplasme reste clair et homogène avec seulement deux ou trois granulations réfringentes situées du côté du point d'attache et de rares petits grains irréguliers situés dans la même zone. Il n'y a pas de paroi visible (fig. 5f).

A ce stade de maturité, les œufs, extrêmement nombreux car ils sont contigus, sont encore tous attachés par leur mince pédicelle, à la surface des lobes du soma générateur provenant de la dissociation du corps serpentiforme de la Grégarine femelle. Et, immobiles, ils ne se détacheront du corps maternel que lorsque les éléments mâles viendront dans leur voisinage (fig. 1).

### Spermatogénèse.

Bien plus importantes sont les modifications qui se produisent concurremment dans la chambre occupée par la Grégarine mâle et que nous avons désignée comme chambre mâle. Là, chaque gamète



d'abord indifférencié, commence à s'allonger en s'étirant dans une direction radiale par rapport au kyste, en même temps qu'au pôle distal apparaît déjà un petit rostre très réfringent. Au-dessous de ce rostre, le cytoplasma est clair, hyalin: c'est la région qui correspond au noyau tandis que vers la base d'attache avec le soma le gamète est au contraire granuleux.

L'allongement continue encore et, bientôt, les boules hyalines primitives sont transformées en corps fusiformes, à moitié proximale granuleuse et à partie supérieure libre claire et se terminant par un bec (fig. 4 m). Quelques heures après les débuts de la différenciation, les corps cylindriques ou gamètes mâles que nous appellerons désormais des spermatozoïdes commencent à manifester leur motilité. La portion claire distale se balance lentement à droite et à gauche, se contourne sur elle-même et se recourbe en arc pour se redresser ensuite plus brusquement: il se produit ainsi des sortes de mouvements d'étirement très caractéristiques qui n'avaient pas échappé à SCHNEIDER, et au moyen desquels les gamètes s'allongent encore davantage et finissent par se détacher du corps générateur par effilement progressif de leur pédicelle (fig. 43). Celui-ci leur constitue ainsi une longue queue extrêmement mobile car elle est occupée par un filament axile comme nous le verrons plus loin à l'étude cytologique. Tous les stades de cette différenciation peuvent s'observer aisément au niveau du couloir mitoyen.

### Les deux sortes de spermatozoïdes.

Lorsque les spermatozoïdes ont quitté le soma, on peut remarquer qu'ils ne sont pas tous de même forme. Il y en a de deux sortes: Les uns (fig. 12 à 15) et (fig. 33 à 37) de beaucoup les moins nombreux, très grands, sont cylindriques ou mieux fusiformes allongés avec un long flagellum à leur partie postérieure. Leur partie antérieure, qu'on peut appeler la tête, car elle renferme le noyau dont la chromatine est condensée comme nous le verrons plus loin, est claire, réfringente et surmontée d'un rostre le plus souvent bifide. En arrière de la tête, le corps montre de grosses granulations brillantes disposées sur une ou deux rangées longitudinales entre lesquelles se trouvent des grains beaucoup plus fins (fig. 12). Sans rien préjuger ici de leurs fonctions, je les appellerai spermatozoïdes fusiformes. Les autres, qui constituent l'immense majorité des éléments mâles, sont piriformes (fig. 5 m) beaucoup plus courts et plus clairs que les premiers car leur cytoplasme ne montre que peu

de granulations et leur noyau est normal. Celui-ci se voit, même sur le vivant, comme une tache claire avec le karyosome comme un grain brillant à son intérieur. Le noyau est situé à la partie antérieure qui est surmontée d'un rostre mobile, unique (fig. 5, fig. 6 et fig. 48 à 51). Je les appellerai spermatozoïdes piriformes ou fertiles, car ils sont, selon toute apparence, les seuls qui soient destinés à la copulation. Dans plus de cent kystes fixés au moment voulu je n'ai pas réussi en effet à voir nettement les spermatozoïdes fusiformes en copulation et lorsque toutes les copulas sont constituées, on les retrouve encore solitaires.

Dans une première note sur ce sujet<sup>1)</sup>, j'avais cru pouvoir considérer les spermatozoïdes fusiformes comme représentant le terme d'évolution ultime des spermatozoïdes piriformes, c'est-à-dire la phase spermatozoïdienne à noyau compact, dont les éléments piriformes représentaient les spermatides, en raison d'une analogie avec ce qui se passe dans la spermatogenèse de la plupart des Métazoaires. Mais l'étude de leur développement que j'ai entreprise depuis ne me permet plus d'adopter cette manière de voir car j'ai observé nettement que les spermatozoïdes fusiformes naissent et se détachent du soma en même temps que les autres, parfois même avant, et ont déjà acquis tous leurs caractères spéciaux (rostre bifide, condensation du noyau, etc.) au moment où ils quittent le corps générateur.

Tous les spermatozoïdes ainsi formés ne se détachent pas en même temps. En effet, tandis que déjà un certain nombre sont libérés et se meuvent activement dans la chambre des mâles, d'autres sont encore fixés et agitent seulement leur rostre, d'autres sont encore au stade de perlage et on trouve même des mitoses à la surface du soma grégarinien.

### Mouvements des spermatozoïdes.

Les mouvements des deux sortes de spermatozoïdes (fusiformes et piriformes) méritent de nous arrêter ici un instant. On peut les étudier sur des gamètes mis en liberté après l'éclatement du kyste, dans une goutte de liquide physiologique légèrement albuminé où ils vivent encore quelques instants sans se déformer.

Les gros spermatozoïdes fusiformes sont de beaucoup les plus agiles. Dans l'ensemble de leurs mouvements, on peut distinguer

<sup>1)</sup> Note sur le développement des éléments sexuels et la fécondation chez le *Stylorhynchus longicollis* P. St. Archives de Zoologie expérimentale et générale Notes et Revue. Nos 4 et 5 1902.

les ondulations du flagellum ayant pour résultat le déplacement total de l'élément et les mouvements propres du corps. Ces derniers sont surtout très actifs dans la partie claire antérieure ou tête renfermant le noyan. Cette portion est très mobile, elle se recourbe ou s'incline à droite et à gauche en même temps que les pointes du rostre s'allongent ou se rétractent, se rapprochent ou s'écartent. Tout le reste du corps est aussi animé de mouvements ondulatoires très vifs qui aident puissamment à la locomotion et au moyen desquels le spermatozoïde se courbe en arc ou en S, se tord en hélice, puis se détend ou bien nage comme une petite anguille (fig. 13, 14 et 15).

Lorsque ces spermatozoïdes fusiformes sont examinés vivants dans le liquide physiologique, on voit le flagellum cesser rapidement ses mouvements et devenir un appendice presque rigide, agité passivement par les ondulations du corps qui persistent au contraire pendant longtemps.

Les mouvements des spermatozoïdes piriformes ou fertiles sont comparables à ceux des précédents, mais moins vifs en raison de la forme plus ramassée du corps. Le rostre, également mobile, semble plutôt un organe tactile qu'un véritable appareil perforant. Le corps est également animé de mouvements ondulatoires à courte amplitude qui brassent les granulations internes. Enfin le flagellum, bien que proportionnellement moins long que dans les spermatozoïdes fusiformes, paraît jouer un rôle plus actif pour la locomotion que chez ces derniers.

Par les mouvements complexes, que je viens de décrire, les spermatozoïdes fusiformes et piriformes mis en liberté dans la chambre mâle gagnent d'abord le couloir mitoyen puis se dirigent bientôt avec une merveilleuse précision vers la chambre femelle, sans doute sous l'action d'une substance attractive secrétée par les œufs au moment de leur maturité.

La différenciation complète des éléments mâles, depuis le moment où elle commence à être manifestement appréciable jusqu'à celui où les premiers spermatozoïdes pénètrent dans la chambre femelle, demande environ 4 à 5 heures à la température moyenne de 24°.

### Mêlée sexuelle.

Les premiers éléments mâles qui arrivent dans la chambre femelle sont ordinairement les grands spermatozoïdes fusiformes; ils sont rapidement suivis par les spermatozoïdes piriformes. Au début de la migration, on les voit facilement à travers la paroi du kyste,

nager avec agilité dans l'espace compris entre la paroi kystique et le soma femelle et frôler de leur rostre les œufs encore fixés au corps maternel (fig. 1). Bientôt ils arrivent de plus en plus nombreux et, au bout d'un quart d'heure, la chambre femelle est le siège d'un grouillement intense.

C'est alors que les œufs sont mis en liberté. Le mince pédicelle qui les reliait au corps maternel se rompt et, libres, ils montrent encore quelques instants une petite trace du prolongement pédicellaire qui ne tarde pas à disparaître (fig. 30). L'œuf est alors une boule à peu près sphérique de 5 à 8  $\mu$  de diamètre (la taille varie selon les kystes), sans paroi, avec un cytoplasme hyalin renfermant seulement deux ou trois gros grains réfringents avec quelques granulations beaucoup plus petites, et un noyau sphérique visible sur le vivant comme une tache plus claire légèrement excentrique avec un petit karyosome (fig. 5 f et fig. 6).

A mesure que les œufs se détachent, on voit les reliquats somatiques des deux Grégarines abandonner leur disposition lobulée ou serpentiforme et perdre leur individualité pour venir constituer, au milieu du kyste, une masse sphérique finement granuleuse, opaque, d'un blanc crayeux qui sera le pseudokyste résiduel.

Par suite de ce tassement et de la fusion des reliquats somatiques des deux Grégarines, la cavité libre du kyste où évoluent les éléments sexuels se trouve notablement agrandie. C'est un large espace annulaire en projection horizontale (fig. 2), en réalité plutôt en forme de calotte en projection verticale, car en raison de son propre poids, le pseudokyste va bientôt venir reposer sur la paroi du kyste du côté où celui-ci s'appuie sur le substratum.

C'est dans ce large espace, rempli d'un liquide clair permettant facilement l'observation, que se trouvent maintenant mêlés les éléments sexuels mâles et femelles. J'appellerai cette partie du kyste le copularium car c'est là que vont maintenant s'effectuer les copulations.

### Les copulations.

Dans le copularium, l'agitation est extrême; la „danse des sporoblastes“ bat son plein; la mêlée sexuelle est complète. Les œufs sont ballotés en tous sens par les éléments mâles qui nagent avec vivacité et notamment par les longs spermatozoïdes fusiformes dont les mouvements ont une grande intensité. Mais les éléments femelles ne semblent pas exercer une vive attraction sur ces derniers, tandis qu'au contraire les spermatozoïdes piriformes se montrent

beaucoup plus sensibles. On les voit en effet parcourir les groupes d'œufs les tâtant de leur rostre mobile comme pour faire leur choix. Souvent un œuf est fixé au bout du rostre (fig. 6), entraîné quelque temps, puis abandonné pour être remplacé par un autre. Parfois deux spermatozoïdes se disputent le même œuf sur lequel ils ont l'un et l'autre fixé leur rostre. D'autres fois un spermatozoïde vient ravir à un autre l'œuf que celui-ci avait déjà choisi. C'est pendant près d'une heure une effervescence indescriptible à la fin de laquelle chaque spermatozoïde piriforme, en possession définitive d'un œuf, va se fusionner avec celui-ci pour constituer une copula.

La fusion des deux gamètes s'effectue de manière quelque peu variable. Le plus souvent, l'œuf comme s'il glissait le long du rostre, vient s'accoler latéralement à la partie antérieure du corps du spermatozoïde où on le voit encore quelque temps sous forme d'une saillie arrondie (fig. 7). D'autres fois, le spermatozoïde enfonce peu à peu son rostre dans l'œuf par des mouvements saccadés de son corps, tandis que le flagellum cesse peu à peu ses ondulations. La copula prend l'aspect d'un bilboquet puis devient piriforme par fusion de l'œuf avec la partie antérieure du spermatozoïde (fig. 8).

De toute façon, la copula récente, piriforme, dans laquelle on distingue pendant quelque temps les deux éléments constitutifs, montre encore quelques mouvements ondulatoires brassant les grains de réserve, et dus aux derniers soubresauts du gamète mâle; puis le fœtus s'atrophie peu à peu, en même temps que la saillie rostrale s'affaisse. La fusion des deux éléments devenant de plus en plus complète, la copula devient massive, d'abord ovoïde puis à peu près sphérique mais légèrement comprimée. Pendant que s'effectuent ces modifications dans la forme générale de la copula, les noyaux des deux gamètes se sont peu à peu rapprochés l'un de l'autre jusqu'à venir en contact et, finalement, au stade de copula massive sphérique, ils se fusionnent à leur tour en un gros noyau de conjugaison qu'on distingue facilement sur le vivant (fig. 9 et 10).

### L'enchaînement des copulas.

C'est pendant ce stade que les copulas qui sont violemment heurtées par les spermatozoïdes stériles fusiformes commencent à présenter le phénomène de l'accolement. A cet effet, il apparaît, en deux points opposés de leur surface, une petite papille gluante au moyen de laquelle elles se réunissent en chaînes dont le nombre des éléments augmente progressivement. En raison de la forme

ovoïde de ceux-ci, la chaîne s'incurve et forme une hélice ou parfois même un anneau. Lorsque, dans la chaîne, une copula présente son pôle pointu en sens inverse de celui des précédentes (par suite d'une rotation de  $180^\circ$  sur elle-même autour d'un axe passant par les deux papilles), la courbure de la chaîne change de direction et prend la forme d'un S (fig. 6 texte et fig. 2 pl. I). Ainsi se constituent les longs chapelets ou les anneaux de sporocystes que le kyste met en liberté à sa maturité.



Fig. 6.

Portion d'une chaîne de copulas au début de l'accouplement.

Les copulations s'effectuent assez rapidement. Environ une heure et demie après le commencement de la danse, la plupart des copulas sont déjà constituées, ce qui montre que, dans cet acte multiple, il y a un certain synchronisme qui me paraît du surtout à ce que les œufs ne quittent le soma que lorsque les spermatozoïdes sont déjà réunis en nombre suffisant dans la chambre femelle pour que toutes les copulations aient lieu.

Toutefois ce synchronisme n'est pas parfait, comme je l'ai fait remarquer dans ma première communication, car si, on examine le contenu du kyste au moment où la plupart des copulations étant effectuées les copulas déjà massives commencent à s'enchaîner, on trouve encore, outre les spermatozoïdes fusiformes, stériles, des éléments sexuels fertiles mâles et femelles, qui n'ont pas encore copulé.

C'est le stade représenté dans la figure 2 où tous les éléments précités se voient par transparence dans le copularium autour du pseudokyste déjà individualisé.

Cette tendance vers un synchronisme dans les différents stades du processus, synchronisme qui d'après mes observations, se réalise d'une façon presque parfaite chez les Clepsidrinés, va en s'accroissant dans l'évolution ultérieure de la copula. Ainsi dans un même kyste, toutes les copulas sont ou piriformes ou sphériques, toutes au stades à deux noyaux ou toutes à un seul noyau, etc.; de sorte qu'il faut étudier un nombre très considérable de kystes pour suivre tous les détails du processus.

### Dégénérescence des gamètes stériles.

Pendant que se déroulent les différentes phases de ce multiple processus sexué et même longtemps après que toutes les copulations sont effectuées et les copulas enchaînées, on constate qu'il y a encore des spermatozoïdes fusiformes en activité dans le copularium; mais

ce ne sont pas toujours les mêmes. Les premiers appareils dégénèrent après une certaine phase d'activité, et sont remplacés par d'autres qui se développent plus tard et dégénèrent comme les premiers. Il en résulte que, pendant toute la durée du processus, on trouve des spermatozoïdes fusiformes actifs et d'autres, en voie de dégénérescence ou complètement dégénérés.

Le dégénérescence de ces éléments stériles se fait d'une façon très curieuse. Vers la fin de leur phase active, les mouvements propres du flagellum se ralentissent et cessent soudain en même temps que celui-ci devient rigide et que le corps s'incurve (fig. 16); l'incurvation s'accroissant, le corps est bientôt complètement plié en deux, la partie caudale rabattue sur la partie antérieure de sorte que la queue se trouve dans le prolongement de la tête et du rostre (fig. 17); puis la queue s'atrophie rapidement (fig. 18). A ce moment, le corps présente encore des mouvements ondulatoires péristaltiques des plus bizarres, brassant les grosses granulations à son intérieur. Enfin ces mouvements propres du corps cessent après quelques soubresauts de plus en plus rares et l'élément prend une forme ovoïde qui rappelle une copula au début (fig. 19). Toutefois ces pseudocopulas se distinguent des copulas vraies par leur aspect plus clair, leurs granulations moins nombreuses et, surtout, leurs caractères nucléaires sur lesquels je reviendrai dans la partie cytologique.

J'ai parfois observé, dans certaines de ces pseudocopulas, des formations cristallines se présentant le plus souvent comme des aiguilles prismatiques diversement associées formant tantôt un V très ouvert et occupant toute la largeur de l'élément, tantôt des figures en Y. Je ne puis rien dire de précis sur la nature de ces formations ne les ayant observées que rarement et n'ayant pas fait de recherches spéciales dans le but d'étudier leur constitution chimique. Les pseudocopulas ne participent jamais à l'association caténaire des copulas vraies. Elles disparaissent rapidement par diffusion.

A mesure que s'avance l'évolution des copulas, les spermatozoïdes stériles deviennent de plus en plus rares dans le copularium, mais il est très remarquable de constater qu'on en trouve encore en mouvement plus de 12 heures après la fusion des gamètes. Finalement, ces retardataires ralentissent peu à peu leurs mouvements et dégénèrent comme leurs aînés; puis, tout rentre en repos à l'intérieur du kyste. Un calme sommeil pendant lequel les copulas vont évoluer en sporocystes mûrs succède à la folle agitation sexuelle de tout à l'heure.

En somme, on voit que, pendant l'ensemble du processus sexué, le copularium a montré des éléments actifs, mobiles depuis le début

du passage des mâles jusqu'à la disparition des derniers spermatozoïdes stériles, soit au total 18 heures de vie active. C'est bien la durée de la danse d'après les observations de SCHNEIDER. Mais il importe de faire remarquer que, pendant ce laps de temps, l'agitation intrakystique n'est ni d'égale intensité ni de même origine. Au début, elle est due aux deux sortes de spermatozoïdes émigrant dans la chambre femelle; elle atteint son maximum d'intensité au stade précopulatoire lorsque les œufs sont libérés, et, tout le reste du temps, elle n'est produite que par les spermatozoïdes stériles seuls et devenant de plus en plus rares. Au cours du processus sexué, il m'a toujours paru que la plupart des éléments sexuels fertiles étaient employés, c'est-à-dire qu'il ne reste que de rares œufs ou spermatozoïdes piriformes inutilisés sans doute à cause de leur développement tardif. Ce fait semble prouver que le nombre des spermatozoïdes fertiles doit être à peu près égal à celui des œufs. A la fin du processus, les rares éléments fertiles qui n'ont pu copuler dégénèrent par diffuence comme les éléments stériles.

### Variation de forme des copulas.

Dans certains kystes ayant toute l'apparence de kystes normaux, et sous l'influence de conditions que je n'ai pu encore déterminer avec certitude, les copulas, au lieu de devenir ovoïdes ou sphériques avant leur enchaînement, gardent une forme piriforme très prononcée avec une queue relativement large et plus grosse que celle des copulas ordinaires au début (fig. 59). Ces copulas en poire s'enchaînent très vite et, en raison de leur forme acuminée, elles ne constituent pas, en s'accolant, des chaînes à large courbure comme les copulas normales, mais des hélices à tours serrés et même souvent de petits anneaux fermés donnant l'aspect d'élégantes rosaces.

Dans ma première note, je considérais ces copulas en poire comme résultant de copulations effectuées par des spermatozoïdes fusiformes qui se seraient seuls développés dans la Grégarine mâle, mais les observations que j'ai faites depuis ne me paraissent pas suffisamment démonstratives pour venir appuyer cette hypothèse. Aujourd'hui j'inclinerai plus volontiers à les considérer comme résultant de la copulation de spermatozoïdes fertiles mais déjà vieux, et par conséquent susceptibles de conserver plus longtemps leur forme après leur union avec l'œuf. Ainsi s'expliquerait la longue durée du stade en poire de la copula, dont la cause première serait un retard apporté par la Grégarine femelle dans la maturation de



ses éléments. Quoi qu'il en soit, ces copulas piriformes prennent néanmoins peu à peu, au cours de leur évolution ultérieure, la forme définitive trigone aplatie des sporocystes normaux.

### Modifications pathologiques du processus.

Je viens d'exposer la suite des événements telle qu'on l'observe dans la grande majorité des kystes à une température de 24° en moyenne. Mais il importe de faire remarquer qu'à des températures plus basses les différentes phases du processus sont retardées dans une très large mesure. Ainsi par des températures de 12 à 15° il faut plusieurs jours avant que le kyste soit au stade de perlage et la différenciation sexuelle demande près de 24 heures. Lorsque la température est encore plus basse, on observe des copulations tout à fait anormales dans lesquelles non plus deux, mais trois ou quatre gamètes et même davantage s'unissent pour donner une copula géante. Je reviendrai d'ailleurs sur ces cas intéressants de polygamie dans mon étude cytologique.

De même, sous l'action de certaines substances dites antiseptiques, comme le thymol par exemple, on bien dans le cas d'invasion du kyste par des protophytes, il se produit une évolution sexuelle pathologique conduisant à des formes d'invololution des gamètes entraînant la stérilité.

Il arrive aussi quelquefois, comme SIEDLECKI l'a vu aussi chez *Monocystis ascidia* que, dans un kyste de *Stylorhynchus*, l'une des deux Grégarines meurt. Dans ce cas, l'autre Grégarine continue néanmoins son évolution et le kyste ne renferme que des éléments d'un seul sexe. J'ai observé le fait dans un kyste où la Grégarine mâle était morte. Les œufs se formèrent et arrivèrent à maturité dans la chambre femelle; mais, fait remarquable, ils ne se détachèrent pas du soma maternel et au bout de plusieurs jours ils commencèrent à s'altérer sur place. Cette observation montre que, chez le *Stylorhynchus*, la parthénogénèse des gamètes, au moins celle des gamètes femelles n'existe pas, et que la mise en liberté des œufs ne s'effectue que sous l'action d'une substance ou d'une excitation produite par les éléments mâles lorsque ceux-ci se trouvent en leur présence.

### Développement des sporocystes.

Après la dégénérescence des derniers spermatozoïdes, alors que tout mouvement a cessé dans le kyste, les copulas sont déjà enchaînées et ont pris la forme trigone aplatie caractéristique du

sporocyste (fig. 9 et 10). Les chaînes se disposent alors diversement, soit en hélices, soit en anneaux autour du pseudokyste d'un blanc mat reposant sur la paroi de la cavité kystique.

Chaque sporocyste montre alors une paroi très nette, d'abord transparente, tandis que les papilles d'union apparaissent bientôt colorées en brun. Toutes ces papilles placées à des distances rigoureusement égales et disposées selon l'arrangement des chaînes de sporocystes, donnent au kyste un aspect très caractéristique car elles sont alors seules visibles par transparence, les sporocystes étant encore incolores. Mais bientôt la paroi de ces derniers s'épaissit et prend une teinte brune de plus en plus sombre. Pendant ce temps, les sporozoïtes se forment, comme on le sait, au nombre de 8 dans chaque sporocyste et, lorsque cette évolution est terminée, le kyste montre sur toute sa surface une coloration noire due à la couleur des sporocystes. Toutefois, la zone où le pseudokyste s'appuie contre la paroi conserve une coloration blanchâtre due au pseudokyste visible par transparence.

Au bout de quelques jours, le kyste mûr ne possède plus qu'une enveloppe extrêmement fragile, prête à se rompre au moindre contact ou à la moindre variation hygrométrique, pour mettre les sporocystes en liberté.

#### IV.

#### Etude cytologique du processus sexué.

##### Multiplication des noyaux.

Au début de l'enkystement et lorsque le kyste est encore dans l'intestin du Blaps, le noyau de chacune des Grégarines conjuguées est constitué ainsi que nous l'avons vu, comme celui des sporadins au début de l'accouplement, c'est-à-dire qu'il possède une paroi mince achromatique et renferme un suc nucléaire finement granuleux dans lequel baignent le karyosome et des nucléoles de tailles variées. En examinant attentivement ce noyau, on peut voir, en outre, un fin cordon de chromatine d'égale épaisseur qui semble continu et décrire des anses à son intérieur. Je pense qu'il s'agit là du début de la première mitose, mais malheureusement à partir de ce moment la paroi kystique devient à peu près impénétrable aux agents fixateurs et, d'autre part, la fixation après éclatement à ce stade, donne des préparations d'une interprétation très difficile à cause de la taille des deux noyaux et du peu de chances que l'on a de les conserver intégralement dans le frottis. A mon grand regret, je ne

puis donc apporter sur ce point important de l'origine du premier fuseau, de documents précis; tout ce que je puis dire c'est que les quelques observations qu'il m'a été possible de faire m'ont paru confirmer les observations de CUÉNOT (1899) et de SIEDLECKI (1899), à savoir, que la chromatine du premier noyau de segmentation se forme dans le suc nucléaire du noyau primitif et est ensuite répartie par mitose entre les deux noyaux-filles. Je reviendrai d'ailleurs sur cette question dans une prochaine étude sur les Schizogregarines.

Par contre, j'ai pu suivre la division des premiers noyaux issus du noyau primitif de chacune des Grégarines. C'est au moment où le kyste vient d'être expulsé de l'hôte qu'il faut l'examiner pour trouver ces premières mitoses car elles s'effectuent très tôt. A ce moment, chaque Grégarine ne montre encore qu'un petit nombre de noyaux les uns au repos, les autres à tous les stades de la division.

Ces noyaux primaires à paroi mince, achromatique, sont pourvus au repos d'un ou plusieurs nucléoles et montrent, en outre, de la chromatine en fins grains ou bâtonnets répartis dans le suc nucléaire. A mesure qu'ils se multiplient, il se manifeste des différences dans la manière d'être des noyaux auxquels ils donnent naissance.

Les uns, se divisant lentement par des mitoses spéciales, conservent une grande taille et montrent toujours, au repos, au moins un très gros nucléole sphérique souvent accompagné de plus petits (fig. 22, 28, 29, 30 *N* et fig. 7 texte). Comme ils restent dans la profondeur du cytoplasme, et que, finalement, on en trouve de semblables au milieu des lobes somatiques portant les éléments sexuels, je les considère comme des noyaux somatiques (*N*, fig. 29).

Les autres, de beaucoup les plus nombreux et de plus petite taille, se multiplient rapidement, en gagnant la surface du corps grégarinien. Ce sont des noyaux typiques qui donneront finalement, après de nombreuses mitoses normales, les noyaux sexuels définitifs. Au repos, ils sont sphériques avec un petit karyosome unique et constant, et de la chromatine en bâtonnets appuyés contre la membrane. Je les appellerai noyaux germinatifs (*n* fig. 28).



Fig. 7.

Mitose atypique des gros noyaux somatiques du début. Pour montrer la taille géante de ces noyaux, on a représenté celui-ci au même grossissement que celui des fig. 20 à 26 de la planche XIV, soit 1100.

Les premières mitoses des gros noyaux s'effectuent, comme je viens de le dire, suivant un mode assez spécial. Au début de la division, on voit la sphère attractive entourée d'irradiations et le centrosome comme un petit grain très net à une faible distance du noyau. Le centrosome se met en relation avec celui-ci par un cône d'attraction très surbaissé.

Dans la zone où ce cône d'attraction vient en contact avec le noyau, une certaine quantité de chromatine se condense sous forme de petits grains constituant ainsi une plaque primitive (fig. 20). Puis le centrosome se dédouble et les deux centrosomes-fils s'écartent de plus en plus l'un de l'autre entraînant chacun leur irradiation et leur cône attractif (fig. 21) ce qui produit le dédoublement de la plaque chromatique primitive (fig. 22); les deux plaques chromatiques conduites ainsi par les centrosomes cheminent à la surface du noyau (fig. 7 texte) et finalement viennent se placer chacune à un pôle (fig. 23). Le noyau a pris alors une forme allongée (fig. 24), sa membrane devenue très mince semble disparaître peu à peu à mesure qu'il s'étire en s'étranglant vers le milieu (fig. 25). Les deux noyaux-fils sont maintenant séparés; ils se reconstituent en prenant la forme sphérique et montrent bientôt une nouvelle membrane.

Le sort des nucléoles, au cours de ces mitoses, est variable. Dans certaines divisions du début, on voit le nucléole, lorsqu'il est unique, se diviser en deux et chaque nucléole-fils se porter à un des pôles du fuseau (fig. 24 et 25), de sorte que chaque nouveau noyau conserve un nucléole issu du premier. S'il y a deux ou plusieurs nucléoles, ceux-ci se divisent en deux groupes qui se comportent de la même façon; mais, ordinairement, les gros nucléoles ne sont pas transmis aux noyaux-fils et tombent dans le cytoplasma au moment de l'écartement des deux plaques chromatiques et de la disparition de la membrane nucléaire, comme d'ailleurs cela a été observé par CUÉNOT, MRÁZEK et SIEDLECKI. De toute façon, il est à remarquer que la substance qui constitue ces éléments se régénère rapidement car les noyaux somatiques possèdent toujours des nucléoles relativement énormes jusqu'à un stade très avancé de l'évolution sexuelle.

Il est possible que cette modalité particulière de la division soit due à la taille des noyaux et surtout à l'énorme quantité de substance nucléolaire qu'ils renferment, car dans les noyaux germinatifs plus petits où il n'y a, outre la chromatine, qu'un petit karyosome sphérique, les mitoses s'effectuent suivant le mode classique (fig. 27 et 28). C'est ainsi que les mitoses qui conduisent aux noyaux sexuels du stade de perlage sont des plus typiques; il suffit pour s'en con-

vaincre de jeter un coup d'œil sur la figure 28 qui représente un lambeau de la surface d'une Grégarine enkystée au moment de la multiplication active des noyaux sexuels. On voit ceux-ci, les uns au repos, les autres à tous les stades de la mitose avec centrosomes très nets, asters, filaments achromatiques admirablement individualisés, figures qui rappellent tout à fait celles données par MŁŁZEK pour le *Monocystis* du *Ryuchelmis*. Les chromosomes sont très nets, on voit très bien leur dédoublement longitudinal, et il est facile d'en compter 4 à chaque plaque-fille. Sur la même figure, on voit par transparence un noyau somatique N au stade de repos. Sa taille et surtout son gros nucléole le distinguent nettement des noyaux sexuels. Il se peut que la situation profonde de ces noyaux somatiques influe aussi sur leur mode de division et sur l'activité de leur multiplication qui va en se ralentissant rapidement en même temps que, vers la fin du processus sexué, leurs mitoses s'effectuent suivant des modes de plus en plus atypiques aboutissant finalement à des divisions directes.

Les noyaux somatiques dégénèrent à mesure que s'avance la formation des éléments sexuels, mais on en trouve encore jusque dans le pseudokyste. On les voit de plus en plus chargés de chromatine parfois en spirème à cordons très épais. Vers la fin de l'évolution, certains d'entre eux montrent leur nucléole divisé en plusieurs nucléoles secondaires autour desquels des chromosomes se disposent en amas stellaires (fig. 30 N). C'est là un stade qui peut être considéré comme le début d'une mitose atypique où les nucléoles jouent le rôle de centres d'attraction pour les chromosomes. Plus tard encore on observe des noyaux somatiques se divisant par simple étranglement. Finalement ces noyaux dégénèrent par diffuence: la membrane disparaît, la chromatine s'éparpille dans le cytoplasme et le nucléole dont le centre apparaît plus pâle que la périphérie, se dissout peu à peu (N fig. 31).<sup>1)</sup>

A mesure que se multiplient les noyaux sexuels par des mitoses des plus typiques, comme je l'ai fait observer, le soma grégarinien se découpe en un corps serpentiforme, ce qui concorde avec les observations de SIEDLECKI sur *M. ascidia*, et les noyaux sexuels se portent à la surface tandis que les noyaux somatiques restent dans la profondeur; puis le corps serpentiforme se découpe à son

<sup>1)</sup> CÉNÉOT (1901)<sup>2)</sup> a également observé dans les kystes de *Monocystis*, des noyaux qui, dit-il, n'ont pas évolué en temps utile et se retrouvent accolés les uns aux autres dans le reliquat kystal où ils dégénèrent. Je pense que ces éléments sont tout à fait comparables aux noyaux somatiques des *Stylobranchus*.

tour en lobes comportant à leur intérieur un ou plusieurs noyaux somatiques (*N* fig. 29). Ces lobes sont comparables à des blastophores car ils portent à leur surface les cellules sexuelles (fig. 29).

En se portant à la surface des lobes somatiques, chaque noyau germinatif devient légèrement saillant et autour de lui se condense une petite zone de protoplasma pnr fortement colorable et non alvéolaire (fig. 28 *d*) formant une éminence conique parfois assez élevée (fig. 28 *c*). Lorsque ces éminences nucléées se divisent de nouveau, le fuseau se place tangentielllement à la surface du soma (fig. 28 *b*), puis les deux groupes de chromosomes se relèvent peu à peu à mesure que les centrosomes s'écartent de la surface du blastophore (fig. 28 *a*), après quoi le noyau se reconstitue (fig. 28 *d, e*).

Entre chaque mitose, les noyaux reviennent au stade de repos caractérisé par un petit karyosome unique et de la chromatine en bâtonnets tassés contre la membrane (fig. 28).

Au terme de leur multiplication, les noyaux sexuels qui ont diminué de taille au cours de ce rapide processus, grossissent quelque peu en même temps qu'ils deviennent de plus en plus saillants à la surface du blastophore. Environnés chacun d'une zone de cytoplasma pur, ils constituent d'abord de petites éminences en cône surbaissé à sommet occupé par le centrosome (fig. 31 *a*), puis des boules à peine acuminées au pôle distal (fig. 31 *b*). C'est le stade de perlage où les éléments sexuels sont encore, de part et d'autre, indifférenciés (fig. 3 et fig. 29). Les cellules sexuelles ainsi constituées vont donner naissance aux gamètes fertiles: œufs et spermatozoïdes piriformes. Mais à côté de ces noyaux sexuels évoluant normalement, il en est quelques-uns qui ne paraissent pas avoir subi la dernière division et se montrent, au terme de leur évolution, chargés de grosses masses chromatiques (fig. 30 *n* et 31 *c*). Ces noyaux sont destinés à donner des éléments stériles, spermatozoïdes fnsiformes et œufs avortés, ces derniers bien plus rares que les premiers.

### Ovogénèse.

A la surface des lobes somatiques de la Grégarine femelle, les cellules sexuelles indifférenciées n'ont, pour ainsi dire, aucune modification notable à subir pour devenir des œufs. Elles grossissent seulement quelque peu de façon à atteindre un diamètre de 5 à 8  $\mu$  selon les individus et, pendant cette courte période de croissance, leur noyau est le siège d'un phénomène qu'on peut regarder comme une épuration nucléaire. Le karyosome qui a grossi se porte contre

la paroi nucléaire; là, il se divise par étranglement et expulse une partie de sa substance dans le cytoplasma où elle se résout en petites granulations sombres (*f*, *f'* fig. 30). Puis le karyosome ainsi réduit reprend sa position légèrement excentrique au sein du noyau. Il est à remarquer que, au cours de la maturation de l'œuf, on n'observe pas d'autre phénomène susceptible d'être interprété comme une réduction chromatique, tandis que celle-ci m'a paru au contraire très nette dans les gamètes des *Clepsidrinés*.

Pendant ce temps, la base d'attache qui relie l'élément sexuel au blastopore s'est peu à peu retrécie en un pédicelle prêt à se rompre par effilement, lorsque les éléments mâles apparaîtront dans le voisinage (fig. 30).

Une fois en liberté et, par conséquent, prêt à la copulation, l'œuf est devenu une boule à peu près sphérique, le pédicelle disparaissant peu à peu (*f'* fig. 30). Après fixation et coloration à l'hématoxyline ferrique, il apparaît comme une cellule sans paroi, à cytoplasma pur se colorant un peu plus fortement que celui des spermatozoïdes, et montrant quelques grandes vacuoles un peu plus claires avec de petits grains sombres résultant sans doute de l'émission de la partie du karyosome expulsée. Le noyau est sphérique, de 2  $\mu$ , 8 à 3  $\mu$  de diamètre pour un œuf de 6  $\mu$  en moyenne. Sa position est légèrement excentrique. Il montre, dans un suc nucléaire fortement coloré, le karyosome entouré d'une zone claire et la chromatine en courts bâtonnets et fins grains la plupart appliqués contre la membrane. En dehors et contre sa paroi, se voit le centrosome comme un petit grain légèrement étiré, entouré d'une aréole claire (*f''* fig. 30).

### Spermatogénèse.

Les transformations des cellules sexuelles mâles indifférenciées en spermatozoïdes sont des plus intéressantes car on y retrouve des phases qui rappellent tout à fait celles de la spermatogénèse des animaux supérieurs.

Développement des spermatozoïdes piriformes ou fertiles. — La cellule sexuelle indifférenciée portée par les lobes somatiques de la Grégarine mâle commence à s'allonger et, dans cet allongement, le noyau occupe toujours l'extrémité distale qui se termine en un petit cône protoplasmique d'abord très surbaissé. Entre le noyau et la pointe, se voit le centrosome avec la sphère, celle-ci légèrement enfoncée dans une encoche du noyau (*b* fig. 31).

A mesure que le spermatozoïde prend peu à peu, par étirement

sa forme piriforme, la sphère se transforme en une tigelle hyaline dont la base dilatée en ampoule reste encastrée dans le noyau, et dont l'extrémité libre soulève le cône protoplasmique qui termine l'élément au pôle distal (*s* fig. 43 *a* et *b*); la tigelle, tout à fait comparable à l'acrosome des spermatozoïdes des métazoaires, s'allonge encore quelque peu en se coiffant du cône protoplasmique terminal et ainsi se forme le rostre du spermatozoïde (*s* fig. 49, 50 et 51) qui commence à s'agiter bien avant le façonnement complet et la mise en liberté de l'élément. En même temps, la couche cytoplasmique superficielle du rostre est devenue plus dense et constitue comme un ectoplasme protecteur non différencié en une membrane.

Il arrive parfois que, au cours de l'évolution de la cellule sexuelle mâle, le noyau ne se porte pas de suite au pôle distal et par conséquent que la sphère se trouve à une distance notable de la surface. Dans ce cas, la tigelle s'allonge démesurément au sein du cytoplasme jusqu'à venir au contact de la surface (*s* fig. 44 et 45). D'autres fois, la tigelle, au lieu de refouler simplement la couche ectoplasmique en s'en coiffant, la traverse, et son développement n'étant plus modéré par la résistance de cette dernière, elle s'allonge considérablement au dehors, se montrant comme une tige rectiligne, rigide, terminée par une petite dilatation aplatie (fig. 46 et 47).

Pendant que la sphère subit ces transformations, le centrosome a quitté celle-ci et il est émané de lui un filament qui s'allonge peu à peu, contourne le noyau, chemine dans le cytoplasma, soit directement, soit en décrivant des anses variées. Finalement, ce filament, qui n'est autre que la racine du fouet, vient constituer l'axe de la queue protoplasmique du spermatozoïde à mesure que celle-ci se forme par étirement de la portion proximale de l'élément (fig. 43 à 49). En examinant attentivement le trajet du filament dans la région antérieure du spermatozoïde, on peut voir qu'il se continue, au delà du centrosome, jusqu'à l'extrémité du rostre en longeant la tigelle, de sorte que l'on doit admettre que le centrosome est, en réalité, le point d'origine de deux filaments; l'un antérieur, très court, se portant dans le rostre, l'autre postérieur, constituant le filament axile proprement dit ou racine du fouet.

A mesure que le spermatozoïde s'étire et que sa queue s'allonge, le centrosome abandonne sa position primitive, c'est-à-dire sa relation avec la sphère, et chemine à la surface du noyau pour venir se placer vers son pôle inférieur (celui qui se trouve du côté de la queue). Ce déplacement du centrosome entraîne en même temps l'allongement du filament qui se rend au rostre. Lorsque le centrosome



a atteint le pôle inférieur du noyau, il devient plus apparent sous la forme d'une petite baguette rigide, colorable (peut-être homologable au *Mittelstück*) montrant 2 ou 3 renflements et continuée directement par la racine du fouet (fig. 46 à 52).

La plupart des spermatozoïdes étant vus de face sur les frottis, on pourrait croire que le filament et le bâtonnet centrosomien traversent le noyau (fig. 46, 49, 50). Il n'en est rien. Le filament et le bâtonnet le contournent toujours comme on le voit sur les spermatozoïdes de profil (fig. 47 et 48), et le premier aspect est dû à ce qu'ils se projettent sur le noyau lorsque l'élément est vu de face.

Il résulte de cette disposition que le spermatozoïde de *Stylorhynchus* n'est pas symétrique par rapport à un axe, mais seulement par rapport à un plan, et qu'on peut lui distinguer une face dorsale, par exemple celle qui correspond à la portion cotoyée par le filament axile et qui possède en réalité une courbure plus prononcée que la face opposée ou ventrale (fig. 48).

On observe aussi quelques variations dans le mode d'apparition du filament, dues probablement, comme celles que nous avons signalées dans l'évolution de la tigelle, à la position trop centrale du noyau. Ainsi, dans la figure 44, le centrosome a quitté la sphère de bonne heure, avant la formation du filament axile, et la portion distale de celui-ci s'est seule développée montrant très nettement ses rapports avec le centrosome. Dans la figure 45, le filament axile décrit une circonférence presque complète dans le cytoplasme avant de s'engager dans la queue cytoplasmique. Dans la figure 46, on le voit revenir vers le noyau au lieu de continuer son trajet vers le pôle proximal ce qui donne à la queue une direction récurrente.

Les seules modifications qu'a subies le noyau au cours de cette évolution, consistent en ce que, comme chez les œufs, le karyosome s'est porté de bonne heure à la périphérie, puis divisé en deux pour éliminer dans le cytoplasma une portion de sa substance laquelle se résout en petits grains foncés (fig. 43 *a*, *b* et 47). Ainsi que dans les œufs, j'interprète ce phénomène comme une épuraison nucléaire.

### Etude cytologique du spermatozoïde piriforme.

Une fois détaché du blastophore et prêt à la copulation, le spermatozoïde fertile se présente donc comme un élément piriforme de  $17\ \mu$  de long en moyenne depuis le rostre jusqu'à la naissance de la queue qui est environ 1 fois  $\frac{1}{2}$  plus longue que le corps. Il est un peu comprimé latéralement et montre une face dorsale un

pen plus arquée que la face ventrale. A l'extrémité qui se porte en avant dans le mouvement de déplacement, se voit le rostre auquel fait suite le corps piriforme montrant le noyau en avant, puis la queue qui va en s'effilant jusqu'à son extrémité.

Le rostre de  $1\ \mu\ 5$  à  $2\ \mu$  de long est, comme on l'a vu, comparable à la pique, acrosome ou spitzenstück des spermatozoïdes des métazoaires. Sa constitution est complexe: on a vu qu'il renferme un axe élastique formé par la tigelle en relation avec le noyau et dérivant de la sphère. Cet axe est longé par la portion distale du filament axile à laquelle il doit sans doute sa mobilité spéciale. Enfin, le tout est enveloppé par le cône cytoplasmique rostral dont la surface acquiert une résistance plus considérable que sur le reste du corps. Il est facile de s'assurer de ce fait en laissant macérer quelques heures des spermatozoïdes dans l'eau: tandis que tout le reste du corps diffuse, le rostre résiste et conserve très longtemps sa forme.

Le corps, dépourvu de paroi protectrice différenciée, montre, en avant, le noyau qui se présente avec les mêmes caractères que celui de l'œuf: karyosome unique et chromatine en grains ou bâtonnets tassés contre la membrane, mais avec une taille ( $4\ \mu$  de diamètre) un peu plus grande et un suc nucléaire un peu plus clair que chez ce dernier. Le cytoplasme du corps qui se prolonge en s'effilant dans la queue, est un peu moins fortement colorable que celui de l'œuf, et montre de grandes vacuoles claires correspondant aux gros grains réfringents vus sur le vivant, et de petits grains sombres provenant sans doute de l'émiettement de la partie du karyosome expulsée. Les deux sortes de grains qu'on y distingue sur le vivant, gros grains réfringents et petits grains jaunâtres, ne sont certainement pas de même nature, car, sous l'action de l'iode, les gros grains prennent fortement la teinte acajou comme les grains de paramylon des Grégarines: ce sont donc des grains de réserve pris au blastopore, tandis que les petits grains se colorent simplement en jaune clair.

Enfin la queue n'est que le prolongement effilé du corps dont l'axe est occupé par le filament axile qu'il est facile de suivre dans son trajet intracytoplasmique jusqu'au centrosome, sur les préparations colorées à l'hématoxyline ferrique et fortement mordancées.

Ainsi constitué le spermatozoïde piriforme est prêt à entrer en copulation avec l'œuf. Mais avant d'étudier la copulation il me faut dire quelques mots du développement des grands spermatozoïdes fusiformes stériles.

### Développement des spermatozoïdes fusiformes

Les premiers spermatozoïdes fusiformes apparaissent souvent avant les spermatozoïdes fertiles. Les noyaux qui les produisent sont des noyaux sexuels qui, comme nous l'avons vu, ne paraissent pas subir la dernière mitose et se montrent chargés de grosses masses chromatiques (*c* Fig. 31). Un certain nombre de ces noyaux dégénèrent; mais d'autres, malgré cet encombrement de substance chromatique, évoluent vers le type spermatozoïde et on les trouve à la surface du blastophore et du pseudokyste à divers degrés de développement. Chez les uns, on voit le centrosome s'écarter de la sphère et donner naissance au filament axile dont on peut suivre le trajet dans le cytoplasma superficiel du blastophore et dont les relations avec le centrosome sont excessivement nettes (*n* fig. 32). En même temps, la sphère donne naissance à une longue tigelle *t*. D'autres de ces noyaux poussent plus loin leur évolution; bien que leur chromatine ne se divise pas, la sphère se dédouble et les deux sphères filles s'écartent légèrement l'une de l'autre. c'est-à-dire que seuls les préludes de la mitose s'accomplissent. Cette division de la sphère et du centrosome entraîne alors la formation de deux tigelles et de deux systèmes de filaments axiles de sorte que le noyau est déjà surmonté d'un rostre à deux pointes plus ou moins distinctes suivant l'écartement des deux tigelles, lorsqu'il se soulève à la surface du blastophore entraînant avec lui la masse de cytoplasme qui formera le corps du spermatozoïde. Il est intéressant de remarquer que, autour de ces noyaux stériles fortement chromatiques, ne se condense pas de protoplasme pur et colorable, comme cela a lieu autour des noyaux des spermatozoïdes fertiles (*a* fig. 31). Il en résulte que dans la suite de leur évolution ces noyaux n'entraînent avec eux, pour former le corps du spermatozoïde, que du protoplasma alvéolaire peu ou point colorable, avec de gros grains de réserve et semblable à celui qui forme la partie inutilisée du blastophore (*g* fig. 32). L'évolution de ces spermatozoïdes ne s'effectue pas moins de la même façon que celle des spermatozoïdes fertiles. Le noyau, avec sa sphère simple ou dédoublée, c'est-à-dire avec une tigelle simple ou double, se sépare du blastophore, entraînant avec lui une quantité de protoplasme alvéolaire notablement plus grande que chez le spermatozoïde fertile (*g* fig. 32) ce qui donne à l'élément une taille plus considérable. En même temps, les centrosomes donnent naissance à deux filaments axiles qui cheminent parallèlement dans le cytoplasme et se rejoignent dans la queue, ordinairement très longue et plus grosse que dans les spermatozoïdes piriformes.

### Etude cytologique du spermatozoïde fusiforme ou stérile.

Libres, les spermatozoïdes fusiformes dont l'aspect général a été décrit au chapitre précédent, présentent à considérer un rostre simple ou double, une tête renfermant le noyau, un corps cylindrique allongé s'éfilant assez brusquement en une longue queue.

Le rostre simple (fig. 36) ou double (fig. 33 et 34) a la même constitution et les mêmes caractères que dans les spermatozoïdes piriformes. Comme chez ces derniers, certains spermatozoïdes fusiformes montrent un rostre unique très long par suite du développement excessif de la tigelle (fig. 38 et 39).

La tête n'est que la partie antérieure du corps occupée tout entière par le noyau sur une longueur de  $3\ \mu$  5 à  $4\ \mu$ . Elle est souvent un peu moins large que le reste du corps dont elle est parfois séparée par une très légère constriction. La structure du noyau est absolument caractéristique et diffère complètement de celle du noyau des spermatozoïdes fertiles. La membrane est la plupart du temps invisible et la chromatine est répartie en grosses masses parfois irrégulièrement tassées (fig. 34) parfois disposées avec une certaine symétrie deux en haut, deux en bas et une ou deux plus petites intermédiaires (fig. 33, 35, 36, 37). Au centre, on peut voir encore un karyosome (fig. 35). De chaque côté du noyau, certaines colorations heureuses montrent très nettement un centrosome géminé auquel aboutit un filament axile qui se continue dans le rostre (fig. 33 et 34). Il y a donc deux filaments axiles qui se rendent dans la queue. C'est surtout lorsque le noyau commence à dégénérer que la relation entre centrosome et filament devient évidente (fig. 38 et 39). Le corps du spermatozoïde, de 27 à 28  $\mu$  de long, est constitué par un cytoplasma alvéolaire extrêmement peu colorable. Il montre de grandes vacuoles claires et de petits grains colorés correspondant respectivement aux gros grains brillants et aux petits grains réfringents signalés sur le vivant. Comme dans les spermatozoïdes piriformes, ces deux sortes de grains sont de nature différente. L'iode colore les gros grains en brun acajou et les petits en jaune pâle. Par la méthode de LAVERAN, les gros grains restent absolument clairs comme des vacuoles, tandis que les petits se colorent en violet foncé; mais le fouet et sa racine ne sont que peu ou point colorés.

Au contraire, par l'hématoxyline ferrique, le fouet et les deux racines intracytoplasmiques se colorent bien plus fortement que dans les spermatozoïdes piriformes. Les filaments sont beaucoup plus faciles à suivre dans le cytoplasme clair du corps. Le plus souvent

ils cheminent parallèlement; très rarement ils sont croisés et ils se réunissent dans la queue, portion terminale effilée du corps (fig. 33 et 36).

### Dégénérescence des spermatozoïdes fusiformes.

Ainsi que je l'ai dit dans mon étude *in vivo*, les spermatozoïdes fusiformes ne paraissent pas prendre part à la copulation et dégèrent peu à peu au cours du processus sexué. Cette dégénérescence se fait d'une façon très curieuse qui mérite de nous arrêter un instant. Après une période de mouvements extrêmement actifs, les ondulations du flagellum se ralentissent, le corps se renfle en même temps qu'il est le siège de contractions péristaltiques dues en grande partie aux racines du fouet. Des éléments fixés à ce moment, montrent que ces racines sont diversement contournées suivant les contractions du corps mais conservent leur parallélisme relatif (fig. 37 et 39). Peu à peu le flagellum devient rigide et épais jusque dans sa partie terminale et le corps se plie en deux de façon à ramener la queue du côté du rostre (fig. 34). Puis la partie réfléchie du corps s'applique encore plus étroitement sur la partie antérieure et la queue se confond avec le rostre (fig. 40). Les mouvements péristaltiques du corps se ralentissent de plus en plus et cessent lorsque l'élément a pris la forme globuleuse de pseudocopula (fig. 41). Dans cette pseudocopula, on distingue encore quelque temps la substance nucléaire et les filaments axiles, mais bientôt la chromatine se dissout dans le cytoplasme et l'élément disparaît à son tour par diffuence.

Les caractères histologiques de ces pseudocopulas ne permettent donc pas de les confondre, à aucun moment, avec les copulas vraies. Dans ces dernières, le noyau est gros et normal et le cytoplasme très coloré. Ici, le noyau est un amas irrégulier de masses chromatiques sans membrane visible, et le cytoplasme est excessivement clair.

Dans certains cas, la dissolution de la chromatine nucléaire, expression de la dégénérescence du noyau, commence avant que l'élément ait pris la forme globuleuse. Ceci s'observe surtout chez les spermatozoïdes fusiformes à tigelle longue et unique (fig. 38 et 39). On peut alors noter les deux faits importants suivants: 1° le karyosome persiste encore longtemps après que les amas chromatiques sont déjà dissous ce qui montre qu'il est de nature différente (fig. 38 et 39), 2° les centrosomes ainsi que les racines ciliaires qui en émanent persistent encore quelque temps après la dissolution de la chromatine. Or, comme à ce moment les filaments axiles sont encore le siège de mouvements actifs, cette observation vient à l'appui de l'hypothèse

qui considère les centrosomes comme centres moteurs des cils. En effet, lorsque, dans la suite du processus de dégénérescence, le centrosome est finalement détruit tout mouvement des filaments axiles cesse.

### Etude cytologique de la copula.

J'ai décrit dans le chapitre précédent les modalités et les différentes phases de la copulation des deux gamètes sur le vivant; j'étudierai ici plus spécialement le phénomène au point de vue cytologique.

Quelques minutes après la jonction des deux gamètes (fig. 52), la copula est piriforme et montre une saillie latérale constituée par l'œuf encore incomplètement fusionné avec le spermatozoïde (fig. 53). A ce stade ainsi qu'au stade qui lui succède immédiatement et dans lequel la copula est déjà devenue plus massive, les deux noyaux sont encore séparés, chaque gamète montrant même encore ses éléments constitutifs. Ainsi on reconnaît très bien le noyau mâle avec sa tigelle, son filament axile et son centrosome et le noyau femelle, plus petit, avec son suc nucléaire plus riche en chromatine et son centrosome (fig. 53 et 54).

Dans le stade suivant, les deux plasmas sexuels sont plus intimement mélangés et le plasma de la copula est devenu plus colorable que celui des deux gamètes avant la conjugaison. La copula est devenue ovoïde et le rostre mâle n'est plus visible. Les deux noyaux se rapprochent alors l'un de l'autre jusqu'à venir en contact (fig. 55 et 56) et dès ce moment on remarque souvent que les karyosomes viennent en regard l'un de l'autre comme s'ils subissaient déjà une sorte d'attraction (fig. 55).

Lorsque les deux noyaux sont au contact, il n'est plus guère facile de distinguer le mâle de la femelle car le filament axile du premier s'est évanoui et son centrosome a repris le caractère primitif de grain géminé, semblable à celui du noyau femelle. D'autre part, le noyau femelle ne se distingue plus du mâle par un excès de chromatine; il a dû en abandonner au cytoplasma de la copula ce qui est sans doute la cause de la plus grande colorabilité de ce dernier.

Par un contact de plus en plus étroit les noyaux se dépriment mutuellement (fig. 56) et bientôt les parties de membrane nucléaire en contact disparaissent de sorte que les deux noyaux n'en forment plus qu'un seul de volume double. Pendant tout ce processus, les deux noyaux sexuels ne sont nullement modifiés; ils ont conservé

les caractères du noyau des gamètes, caractères que nous retrouvons encore dans le noyau de la copula.

Après la fusion des deux noyaux, on voit les deux karyosomes marcher l'un vers l'autre et se fusionner en un seul karyosome, de taille double de la leur (fig. 58).

La fusion des karyosomes s'effectue plus ou moins rapidement suivant leur position relative au moment où les noyaux viennent en contact. Si, à ce moment, les deux karyosomes sont en regard, ce qui est un cas très fréquent, leur fusion s'effectue presque en même temps que celle des noyaux car ils sont très voisins l'un de l'autre. Si, au contraire, ils sont relativement éloignés à ce stade, ils peuvent rester encore quelque temps séparés dans le noyau avant de se fusionner.

Dans tous les cas, ce phénomène s'effectue, dans toutes les copulas d'un même kyste, avec un synchronisme remarquable. Ainsi, dans un kyste, la plupart des copulas sont au même instant, soit au stade à deux noyaux (fig. 55) soit au stade à un noyau unique avec deux karyosomes distincts (fig. 57) soit avec un noyau à karyosome unique (fig. 58).

Il était très intéressant d'essayer de suivre le sort des centrosomes pendant que s'effectue la fusion des noyaux. Au stade de copula à deux noyaux, on voit les deux centrosomes, chacun en rapport avec son noyau (fig. 56); puis, lorsque les deux noyaux se fusionnent, on les retrouve encore à la surface du noyau de copulation et manifestement plus rapprochés (fig. 57). Enfin, lorsque les deux karyosomes sont fusionnés et que le noyau de la copula est définitivement constitué et prêt à entrer en mitose, on ne voit plus qu'un seul gros centrosome géminé en un point de sa surface (fig. 58, 59, 60 et 61).

Ceci me porte à penser que les deux centrosomes se sont également fusionnés pour former le centrosome unique de l'œuf fécondé; mais, l'observation d'un tel phénomène est rendue si difficile à cause de la grande quantité de chromatine qui s'accumule contre la membrane sous forme de grains et de bâtonnets après la fusion des noyaux, que je ne puis donner cette manière de voir qu'à titre d'hypothèse.

Une autre hypothèse sur l'origine du centrosome de la première division de l'œuf fécondé pourrait d'ailleurs être émise, comme je le faisais dans ma première note, à savoir qu'il tirerait son origine du karyosome de copulation que l'on voit parfois peu de temps après la fusion nucléaire, se porter à la périphérie du noyau pour expulser

dans le cytoplasme un grain chromatique. Je me rattache toutefois plus volontiers à la première hypothèse car le phénomène dont l'observation m'a suscité la seconde ne me paraît pas se produire d'une façon constante et, en outre, nous avons vu qu'il se produit également une expulsion de substance karyosomique au moment de la maturation des gamètes, phénomène qui, là, est sans aucune relation avec le centrosome.

### Dégénérescence des éléments fertiles qui n'ont pas copulé.

Lorsque les copulations sont effectuées, on observe parfois quelques gamètes mâles ou femelles du type fertile qui n'ont pas copulé, peut-être en raison de leur formation tardive ou parce qu'ils n'ont pas rencontré de partenaire de leur choix. Ces éléments dégénèrent lentement à la façon des spermatozoïdes fusiformes. La dégénérescence des œufs vierges est très simple. Ces éléments, rares d'ailleurs, montrent un cytoplasma de plus en plus vacuolaire; leur chromatine se dissout dans le suc nucléaire, leur noyau diffuse ensuite dans le cytoplasma; le corps se boursoufle et l'élément disparaît par diffusion. Certains de ces œufs, très chargés de chromatine, dégénèrent alors qu'ils sont encore fixés au soma femelle (fig. 30 f'). Ce sont, sans doute, des éléments normalement stériles, homologues des spermatozoïdes fusiformes.

La dégénérescence des rares spermatozoïdes piriformes qui n'ont pas copulé commence par la dissolution de la chromatine dans le suc nucléaire, la disparition de la membrane du noyau lequel conserve encore quelque temps son karyosome, puis se termine par la diffusion du suc nucléaire dans le cytoplasma pendant que l'élément prend peu à peu la forme massive pour disparaître plus tard par diffusion. On observe quelque fois des spermatozoïdes piriformes qui montrent, comme les spermatozoïdes fusiformes, un dédoublement du rostre et du filament axile ce qui indique, je crois, un commencement de division de l'élément. Ils ne peuvent toutefois être confondus avec ces derniers car leur noyau reste normal (fig. 42).

### Polygamie.

Lorsque des kystes évoluent à des températures basses, la formation des gamètes est, comme je l'ai déjà fait remarquer, considérablement ralentie, souvent même elle est arrêtée par l'envahissement de saprophytes et le kyste est détruit; mais lorsque la gamétogenèse a suivi néanmoins une évolution normale quoique ralentie,



on observe des copulas géantes résultant, non plus seulement de l'union de deux gamètes, mais de 3, 4 ou 5 et même davantage. Le volume de ces copulas est naturellement proportionnel au nombre des gamètes qui se sont fusionnés.

Ces faits sont sans doute à rapprocher de la polyspermie qu'on observe dans les œufs des métazoaires sous l'action du froid ou des anesthésiques (O. HERTWIG). On a émis l'hypothèse que, dans ce cas, il se produit un ralentissement dans l'activité de l'œuf ce qui ne lui permet plus de former sa paroi à temps pour empêcher la pénétration de nouveaux éléments mâles. Dans le cas du Stylorhynchus une telle explication mécanique n'est pas admissible car, normalement, la membrane de l'œuf ou paroi de la copula ne se forme pas immédiatement après la fusion des deux gamètes. En conséquence, on ne peut davantage faire intervenir ici le rôle de la membrane vitelline pour expliquer la monospermie normale et l'on est plutôt conduit à admettre avec WILSON que „l'œuf possède un pouvoir physiologique d'exclusion qui lui est apporté par le premier spermatozoïde“. Saturé en quelque sorte par un premier spermatozoïde, l'œuf n'exercerait plus aucune action attractive sur les autres.

Je n'ai pas suivi assez loin l'évolution de ces copulas géantes pour savoir quel en est le résultat final et si elles produisent des sporocystes monstrueux ou bien si elles meurent au cours de leur évolution.

Mais les stades de début que j'ai observés montrent que cette évolution peut au moins aller jusqu'à la fusion des noyaux et même jusqu'à celle des karyosomes. On trouve, en effet (fig. 8 texte), des copulas géantes montrant au début trois ou quatre noyaux séparés avec chacun un karyosome; puis, des copulas avec un gros noyau résultant déjà de la fusion de deux ou plusieurs noyaux et un ou deux autres noyaux plus petits non encore fusionnés; puis d'autres copulas avec un énorme noyau unique renfermant trois ou quatre karyosomes suivant qu'il résulte de la fusion de trois ou quatre noyaux sexuels; d'autres enfin avec un énorme noyau et un karyosome unique.

Il n'y a pas de raison d'ailleurs, pour que de telles copulas ne poursuivent leur évolution et n'atteignent le stade de sporocyste et c'est peut-être ainsi qu'il faut expliquer les différences de taille.

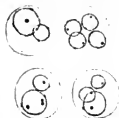


Fig. 8. Polygamie chez Stylorhynchus.

parfois très grandes, que l'on observe dans les sporocystes de certains kystes de Grégarines.

### Evolution de la copula.

Lorsque la copulation est complètement terminée, la copula ne montre plus qu'un noyau unique avec un seul karyosome et un centrosome unique. Son cytoplasme, assez fortement colorable, montre des vacuoles claires comme celui des gamètes, et le noyau qui possède un suc nucléaire riche en chromatine dissoute renferme les éléments chromatiques des noyaux fusionnés de chaque gamète sous forme de courts bâtonnets la plupart appliqués contre la membrane (fig. 58 et 59).

La forme de la copula est, suivant les kystes, subsphérique, ovoïde ou piriforme. Le cas le plus fréquent est celui des copulas ovoïdes. D'ailleurs, quelle que soit la forme primitive de la copula, sa forme se modifie au cours de l'évolution ultérieure pour aboutir à la forme trigone aplatie du sporocyste définitif. La forme aplatie du sporocyste est mise en évidence lorsqu'on examine celui-ci par son bord supérieur (fig. 64 b).

Nous avons vu que l'enchaînement des copulas par le moyen de papilles latérales s'effectue rapidement après la copulation. C'est donc à ce moment, et lorsque les deux karyosomes sont fusionnés, qu'apparaissent les papilles d'union. Au point où celles-ci vont apparaître, on voit tout d'abord se manifester une petite tache se colorant comme la substance chromatique mais plus faiblement (*p* fig. 58). Peu de temps après, s'élève une petite saillie conique au-dessus de chaque tache colorée. Les sporocystes qui viennent alors en contact, restent reliés l'un à l'autre au niveau de ces petites éminences (*p* fig. 60). Bientôt, par un contact plus intime, celles-ci se dépriment mutuellement en formant chacune une papille aplatie (*p* fig. 61). A ce moment, les taches chromatiques deviennent indistinctes et il est possible que, par leur réaction sur le cytoplasme des papilles, elles donnent naissance à la substance d'union ou ciment qui relie ces dernières et, par conséquent, les sporocystes entre eux.

Pendant que se passent ces phénomènes d'accolement, une paroi d'abord mince et transparente s'est formée à la surface de la copula qui prend peu à peu sa forme définitive. Puis les papilles d'union deviennent chitineuses et colorées en brun; finalement la paroi, de plus en plus épaisse, se colore également en brun foncé; mais cette coloration de la paroi qui rend de plus en plus difficile l'étude du contenu du sporocyste ne se produit que progressivement, de sorte

que l'on peut encore suivre facilement par transparence l'évolution de l'œuf jusqu'au stade de quatre noyaux au repos (fig. 64).

Les divisions successives du noyau de la copula qui conduisent à la formation des sporozoïtes, commencent après une courte phase de repos du noyau pendant laquelle les copulas s'enchaînent tandis que la paroi du sporocyste se constitue peu à peu comme nous venons de le voir. Les deux premières divisions qui se succèdent très rapidement se font par mitose normale et, vraisemblablement, il en est de même de la troisième; mais, je n'ai pu suivre nettement cette dernière à cause de l'opacité trop grande de la paroi à ce moment.

Dans la première mitose effectuée 25 à 30 heures après la fin de la danse, on voit le centrosome se dédoubler en même temps que la chromatine s'ordonne en spirème puis en peloton segmenté (fig. 60 et 61). Puis le phénomène se poursuit normalement autant qu'on peut le voir par transparence à travers la paroi déjà assombrie (fig. 62 et 63). Au stade de 4 noyaux au repos, ceux-ci sont sphériques, pourvus de leur karyosome et montrent la chromatine tassée contre la paroi avec un épaississement en calotte (fig. 64). Après la troisième et dernière mitose, l'œuf renferme huit noyaux constitués comme ceux du stade 4 mais un peu plus petits. Ce sont les noyaux des huit sporozoïtes dont le corps est formé, comme on le sait, par le cytoplasme de la copula qui se découpe en huit corpuscules allongés munis d'un rostre en avant, et montrant le noyau vers le milieu de leur longueur.<sup>1)</sup>

On sait que, pendant l'évolution des sporocystes, les reliquats somatiques des deux Grégariines se sont fusionnés en un amas sphérique central, le pseudokyste. Au point de vue cytologique, le pseudokyste qui est un corps de rebut est constitué par un cytoplasme alvéolaire limité par une couche ectoplasmique mince, mais cependant assez résistante pour empêcher la diffluence de la masse, même assez longtemps après la formation des sporocystes lorsque, sans doute, toute vie a disparu en lui. A la surface de cette masse granuleuse se voient encore de nombreux noyaux sexuels dégénérés avant d'avoir évolué en gamètes et, dans l'intérieur, des masses chromatiques de taille variée ainsi que des noyaux somatiques en voie de dégénérescence.

---

<sup>1)</sup> Pour la description de ces sporozoïtes, V. LÉGER et DUBOSQ. Les Grégariines et l'épithélium intestinal, p. 403. Archives de Parasitologie. Paris 1902.

### Partie générale.

Comme conclusion de ce travail, je résumerai rapidement les principaux résultats de mes observations en montrant quelques-unes des déductions qu'on peut en tirer.

Une étude comparative du processus sexué chez les Grégarines et les autres Protozoaires serait sans doute d'un plus haut intérêt, mais elle serait prématurée car il n'est pas douteux que des observations ultérieures apporteront de nouveaux faits, comme je puis m'en convaincre par les recherches que je poursuis actuellement sur ce sujet, et il reste encore trop à faire pour qu'il soit dès maintenant permis de généraliser ou de comparer avec fruit.

Le fait général acquis aujourd'hui qui caractérise le processus sexué chez les Grégarines, et qui a été le point de départ de mon travail, est la copulation deux à deux, à l'intérieur d'un kyste, des gamètes formés par chacune des deux Grégarines enkystées: ce fait mis en lumière pour la première fois par SIEBLECKI a été vérifié déjà sur nombre d'espèces.

J'ai reconnu depuis, que, au moins chez deux familles de Grégarines: les *Stylorhynchides* et les *Grégarinides*, les gamètes qui copulent deux à deux ne sont pas semblables et proviennent respectivement de chacune des deux Grégarines enkystées. En outre, chez les *Dactylophorides* (*Pterocephalus*) cette anisogamie est poussée au plus haut degré ainsi que l'ont montré les recherches récentes de LÉGER et DUBOSCQ (1902 et 1903).

Ces découvertes soulèvent donc un problème nouveau: celui de la sexualité des Grégarines. Existe-t-il chez les Grégarines adultes, au moment de l'accomplissement, des caractères sexuels secondaires appréciables à nos moyens d'investigation?

Malgré le peu d'observations que nous possédons actuellement sur ce sujet, on peut répondre que, dans certains cas, une telle différence sexuelle existe mais peu prononcée, tandis que dans d'autres elle n'a pas été observée. Pour les premiers cas, je citerai le *Pterocephalus* où LÉGER et DUBOSCQ (1903) ont montré que la Grégarine mâle se distingue, dès le début de l'enkystement, par des caractères cytologiques spéciaux, notamment la présence de cordons musculaires du côté du plan d'accolement.

Dans la cavité générale de l'*Embia Solieri* RAMBUR, j'ai récemment fait connaître (1903) une Grégarine, le *Diplocystis Clerci* LÉGER, dont les couples comprennent un individu déprimé

en forme de calotte et débordant largement l'autre qui le pénètre assez profondément. Or, chez *Pterocephalus*, un tel refoulement de l'une des Grégarines par l'autre est très manifeste vers la fin du processus sexué. On remarque que c'est l'individu femelle qui déprime ainsi le mâle; il est donc rationnel de penser que chez ce *Diplocystis* il s'agit aussi là d'une différence sexuelle.

J'ai observé également une différence du même ordre entre les deux Grégarines du même kyste, chez une Actinocéphalide encore non décrite des larves de Calosome et SIEDLECKI (1899) a montré que chez *Monocystis ascidia*, à un certain moment du processus sexué, l'une des Grégarines s'enfonce assez profondément dans l'autre par son extrémité antérieure (fig. 9, 10, 12 et 13 de sa planche I). Il est vrai que cet auteur n'a pas signalé de différence dans les gamètes qui copulent, mais il est permis de se demander s'il n'en existerait pas une, très subtile comme celle qui existe chez les Clepsidrine et cela d'autant plus que l'auteur remarque que les deux Grégarines qui s'accouplent montrent une légère différence dans leur coloration. J'ai aussi observé une certaine différence de coloration dans les couples de certaines *Aggregata*. DUBOSCQ et moi (1903) avons montré que chez *Stenophora varians* LÉGER et DUBOSCQ il y a une forme globuleuse et une forme allongée et que chez *Aggregata vagans* LÉGER et DUBOSCQ (1903), les deux individus du couple sont différents. Le primate est toujours plus gros et à protomérite plus massif que le satellite.

Par contre, chez le *Stylorhynchus* où j'ai montré qu'il y a une anisogamie très nette, je n'ai pas réussi à reconnaître de différence sexuelle entre les deux individus du couple. Si une telle différence sexuelle existe elle doit être très subtile car l'accouplement des deux individus s'effectue, comme on l'a vu, entre les extrémités de même nom (les deux protomérites) sans aucune modification morphologique spéciale de l'un d'eux ce qui suppose même organisation, même réaction et même psychologie sexuelle, si l'on peut dire, chez les deux conjoints.

Tel n'est pas le cas sans doute chez les Grégarinides où l'accouplement parfois très précoce se fait par les extrémités de nom contraire comme chez les Clepsidrine et les Gamocystis. Dans ces Grégarines, certains individus, les satellites, doivent être attirés par les autres ou primites, à l'extrémité postérieure desquels ils viennent s'accoler par leur protomérite ce qui dénote une certaine différence physiologique entre les deux individus d'un même couple, quelque chose de semblable à ce qui se passe chez *Adelea dimidiata*

où nous voyons (LÉGER et DUBOSCQ 1902) les macrogamètes rechercher de bonne heure les microgamètes intracellulaires pour venir s'accoler à leur partie postérieure.

De plus, chez certaines Clepsidrines, notamment chez celle qui parasite la *Chrysomela lucida* et que je rapporte à *Gregarina munieri* SCHN., j'ai observé une différence de coloration très nette entre les deux individus du couple. Le protomérite du primate est fortement coloré en jaune et renferme très peu de granulations, tandis que celui du satellite, très fortement granuleux est peu ou point coloré. La même différence existe mais moins prononcée entre les deutomérites des deux conjoints.

L'étude de la formation des gamètes de *Stylorhynchus* m'a conduit à distinguer, dans les Grégarines en activité sexuelle, deux types de noyaux que j'ai considérés, les uns comme noyaux-souches des cellules sexuelles ou noyaux germinatifs, les autres comme des noyaux somatiques, en raison de ce que, vers la fin de la gamétogénèse, les derniers se trouvent logés au sein des masses cytoplasmiques qui portent à leur surface les cellules sexuelles.

Au cours de la description détaillée, j'ai montré la différenciation précoce des noyaux somatiques dont le mode de division présente des caractères particuliers: expulsion de chromatine dans le cytoplasma et chromosomes sous forme de nombreux petits grains ou bâtonnets chromatiques (fig. 7 texte et fig. 20 à 25), tandis que les noyaux germinatifs avec leurs 4 chromosomes en U se divisent par des mitoses typiques (fig. 26, 27).

Ces faits qui méritent d'être comparés avec les intéressantes observations de BOVERI sur la différenciation précoce des cellules germinatives dans le développement de l'*Ascaris* (1887) nous portent à concevoir la Grégarine, au cours de la gamétogénèse, comme un organisme plus complexe qu'on ne le pensait jusqu'ici, en quelque sorte presque un Métazoaire, puisqu'il comprendrait un soma nucléé comportant des cellules sexuelles (fig. 29). Chez *Stylorhynchus*, ce soma, il est vrai, périt rapidement après la formation des éléments reproducteurs mais chez les Clepsidrines, d'après les observations de BERNDT (1902) et les miennes il n'en est pas ainsi. Chez *Gregarina cuneata*, en effet, après l'émission des produits sexuels, on voit chaque soma grégarinien, loin de se comporter comme un reliquat sans vie, émettre, d'après BERNDT, des pseudopodes à mouvements actifs destinés à brasser les gamètes. En étudiant ce phénomène très important dans les kystes de *Gregarina munieri*,

j'ai remarqué que les somas n'émettent pas seulement des pseudopodes obtus, mais effectuent de véritables mouvements de rotation l'un sur l'autre, à direction alternativement inverse, pendant un temps assez long. De tels mouvements sont éminemment favorables pour assurer le mélange des deux sortes d'éléments sexuels qui sont logés dans des dépressions superficielles du corps maternel. Et, comme ils se manifestent encore quelque temps après l'émission des gamètes, force nous est d'admettre que, ici, l'individualité grégarienne ne disparaît pas avec l'émission des produits génitaux. En d'autres termes, il y a lieu de distinguer, au moins quelque temps, un soma et des cellules sexuelles, et cela d'autant mieux que, après la formation des sporocystes, les somas se transforment, comme on le sait, en un sac contractile muni de sporoductes.

L'anisogamie des *Stylorhynchus* m'a amené à étudier, chez ces animaux, la spermatogénèse et l'ovogénèse. Nous avons vu que ces deux développements marchent de pair et s'effectuent semblablement jusqu'au stade que nous avons appelé stade de perlage à partir duquel commence la différenciation sexuelle. Tandis que cette différenciation sexuelle est de peu d'importance chez les femelles où elle consiste simplement dans l'individualisation de la cellule-œuf sans modification de forme et de structure, elle est, par contre, des plus intéressantes chez les mâles où nous voyons les différentes parties constitutives du spermatozoïde se former comme les parties correspondantes du spermatozoïde des animaux supérieurs.

Comme chez le *Lithobius* (TÖNNIGES) et la Salamandre (MEVES) par exemple, nous voyons, chez *Stylorhynchus*, la tigelle ou acrosome, dériver de la sphère, le filament axile émaner du centrosome, et ce dernier se transformer lui-même en une petite baguette colorable comparable au *mittelstück* (fig. 43 à 51). Mais ce qui caractérise essentiellement le spermatozoïde du *Stylorhynchus*, c'est que, contrairement à ce qui a lieu dans la plupart des spermatozoïdes des Métazoaires, la chromatine du noyau ne se condense pas en une masse compacte celui-ci restant normal et identique à celui de l'œuf. C'est, en somme, un spermatozoïde qui, au point de vue nucléaire, est resté au stade spermatide. La division du travail qui caractérise la différence sexuelle dans l'anisogamie typique est donc seulement ici ou bien à son début ou bien en voie de régression : les éléments mâle et femelle étant tous les deux porteurs de vitellus nutritif, tous les deux de taille assez grande, à noyaux semblables et différant seulement par la présence d'un appareil locomoteur. Grâce à cet

appareil locomoteur, les éléments mâles, dès qu'ils ont quitté le soma se rendent directement dans la chambre femelle où ils sont, je crois attirés par une substance sécrétée par les œufs encore fixés au corps maternel. J'ai fait, en outre, remarquer que les œufs ne se détachent que lorsque les éléments sexuels mâles sont réunis en grand nombre dans leur chambre ce qui me porte à admettre une action réciproque entre les deux éléments, les spermatozoïdes agissant à leur tour sur les œufs mûrs pour les inciter à quitter le soma. Cette manière de voir paraît confirmée par ce fait, rapporté précédemment, que, dans un kyste où la Grégarine mâle était morte, les œufs, bien que complètement développés à la surface du soma femelle, ne quittèrent pas celui-ci et s'altérèrent sur place au bout de quelques jours.

Quoi qu'il en soit, le fait que les œufs ne se détachent que lorsque les éléments mâles sont réunis en grand nombre dans leur chambre explique le synchronisme si remarquable que l'on constate dans la succession des phénomènes de la fécondation chez toutes les copulas d'un même kyste.

Les spermatozoïdes de *Stylorhynchus*, par leur taille plus considérable que celle des œufs et par leur noyau à chromatine non condensée, donnent à l'étude de la copulation un caractère particulièrement instructif. L'anisogamie de *Stylorhynchus* diffère en effet de l'anisogamie typique des Coccidies, des Volvox et de la plupart des Métazoaires (oogamie de LÜNE, 1902) par ce fait que les noyaux des deux gamètes sont morphologiquement identiques au moment de la copulation ce qui permet de suivre en détail les différentes phases de l'union nucléaire. Après que les deux cytoplasmas se sont fusionnés, on voit les deux noyaux se rapprocher puis venir en contact, en même temps que les karyosomes se placent en regard l'un de l'autre. Puis les noyaux se fusionnent ainsi que les deux karyosomes (fig. 53 à 58). L'union des deux karyosomes est un fait qui mérite d'être noté et qui pourrait être cité à l'appui des idées de POLJAKOV (1900) lorsqu'il considère la fécondation comme le résultat de la fusion de deux nucléoles appartenant à des organismes différents. Sans vouloir envisager le phénomène d'une façon aussi étroite, on ne peut s'empêcher de penser que le karyosome doit jouer un rôle important dans la biologie cellulaire de *Stylorhynchus*. A toutes les phases de la vie de l'animal, il est présent dans le noyau où on peut le distinguer du corps nucléolaire, dans lequel il est plongé, comme un petit grain sphérique beaucoup plus fortement colorable que le reste du nucléole (fig. 4 texte). On le voit encore non modifié dans le noyau des Grégaires accouplées



alors que la substance nucléolaire s'émiette et entre manifestement en dégénérescence. On le trouve dans les uoyaux germinatifs et dans le noyau des gamètes; on assiste à sa copulation, enfin on le retrouve dans les noyaux au repos de la copula ainsi que dans celui du sporozoïte où LÉGER et DUBOSCQ ont déjà attiré l'attention sur sa présence (1902).

Dans mon étude cytologique détaillée de la fécondation, j'ai émis l'hypothèse que les centrosomes de chaque gamète se fusionnent pour donner le centrosome de segmentation. Bien que dans les copulations à gamètes hautement différenciés (fécondation des Métazoaires) la plupart des auteurs s'accordent aujourd'hui pour reconnaître que le centrosome de segmentation est apporté à l'œuf qui en est dépourvu par le spermatozoïde et qu'il agit comme un stimulus destiné à fournir à l'œuf l'excitation nécessaire à sa segmentation (BOVERI, WILSON), il n'est pas irrationnel d'admettre que, dans la copulation de gamètes de taille peu différente à noyaux semblables et pourvus chacun d'un centrosome, ces deux noyaux apportent chacun une part égale de stimulus avec leur centrosome et que ces deux parts s'additionnent pour déterminer la segmentation. Remarquons en outre, avec WILSON (1902) que, chez les Infusoires, la conjugaison des fuseaux achromatiques correspond aussi en quelque sorte à une union des centrosomes ou de leurs équivalents.

Un fait qui caractérise encore le processus sexué chez *Stylorhynchus* et que SIEDLECKI a déjà signalé chez le *Monocystis ascidia*, c'est que les gamètes ne montrent pas, au cours de leur développement, de réduction chromatique. SIEDLECKI interprète alors comme telle l'expulsion d'une grande quantité de substance chromatique dans le cytoplasme par le noyau grégarien au moment de la formation du premier fuseau sexuel.

Chez *Stylorhynchus*, un phénomène semblable se passe au moins à chaque division des noyaux somatiques et, sans doute, au cours de la première division du début. J'ignore s'il s'agit là d'une réduction chromatique destinée à préparer la fécondation, mais je considère volontiers comme une épuraison nucléaire le fait que, au cours de leur maturation, les éléments sexuels, œufs et spermatozoïdes, expulsent dans le cytoplasma une petite quantité de substance de leur karyosome (fig. 30 n, n'; fig. 31 b; fig. 43 a); en tous les cas, je n'ai pas observé une réduction chromatique typique.

Pour terminer, je dirai quelques mots des deux sortes de spermatozoïdes qui se développent chez le *Stylorhynchus* mâle. Des

observations déjà assez nombreuses ont montré la fréquence de l'existence de deux ou plusieurs formes de spermatozoïdes chez un grand nombre de Métazoaires mais jusqu'ici rien de semblable n'a été, je crois, encore signalé chez les Protozoaires.

En ce qui concerne les Métazoaires, on sait que chez les uns la différence ne porte que sur la taille: ex. les spermatozoïdes géants observés chez les Oligochètes, les Némertes, les Insectes, les Amphibies, les Oiseaux et les Mammifères; chez les autres, qui paraissent surtout fréquents chez les Prosobranches, la différence porte non seulement sur la taille mais encore sur la forme et la constitution cytologique. Tels sont les spermatozoïdes vermiformes connus depuis longtemps chez la Paludine. On sait qu'un des caractères essentiels de ces spermatozoïdes vermiformes est la disparition progressive de la chromatine au cours de leur développement de sorte que, lorsqu'ils sont complètement formés, ils sont extrêmement pauvres en substance nucléaire (spermatozoïdes oligopyrènes de MEVES). Cette remarquable particularité suffit pour rendre impossible une homologation des spermatozoïdes fusiformes de *Stylorhynchus* avec ces derniers.

Nous avons vu, en effet, que les spermatozoïdes fusiformes de *Stylorhynchus* renferment, au contraire, un gros noyau très riche en chromatine massive. La présence de deux rostres et de deux filaments axiles montre, d'ailleurs, leur grande analogie avec les spermatozoïdes géants si répandus dans la série animale. En outre, leur développement est tout à fait comparable à celui des spermatozoïdes géants des Insectes, étudié par HENKING (1891) chez *Pyrhhororis* et PAULMIER chez l'*Anasa tristis* (1899) où ces auteurs ont montré que ces éléments atypiques proviennent de spermatides doubles ou quadruples résultant de ce que la dernière en les deux divisions des spermatocytes et de leur noyau n'ont pas eu lieu; néanmoins, le centrosome a continué sa division d'où la présence de deux ou quatre filaments axiles.

J'ai interprété le développement des spermatozoïdes fusiformes du *Stylorhynchus* d'une façon identique. Leurs noyaux n'ont pas subi la dernière division qui conduit aux noyaux des spermatozoïdes piriformes normaux; ils sont, par cela même, de taille un peu plus grosse que ces derniers et renferment beaucoup plus de chromatine; cependant cette division s'est ébauchée par la division des centrosomes d'où il est résulté deux filaments axiles, et celle de la sphère ce qui a donné deux rostres.

La structure des spermatozoïdes fusiformes de *Stylorhynchus*

se rapproche plus particulièrement de celle des spermatozoïdes à une tête et deux queues qui sont fréquents chez les Mammifères, notamment chez le Cochon et chez l'Homme, où déjà en 1878 Roujou les avait signalés et dessinés. BROMAN (1902) qui a étudié leur genèse et a montré leur présence constante dans le sperme de l'homme sain dans la proportion de 1 à 2 pour 1000 spermatozoïdes (proportion susceptible d'augmenter considérablement dans certains états pathologiques), les considère comme fertiles et leur accorde même une grande importance pour la procréation des jumeaux (jumeaux d'un seul œuf), en insistant sur ce fait que, avec leurs deux queues, ils doivent se mouvoir plus vivement que les normaux.

Chez *Stylorhynchus*, malgré de nombreuses recherches, je n'ai pu observer avec certitude la copulation des spermatozoïdes fusiformes avec les œufs. Je les considère donc comme des éléments stériles. La cause de cette stérilité est à rechercher non dans l'absence des éléments nucléaires puisqu'au contraire ils renferment, avec deux centrosomes, plus de chromatine que les spermatozoïdes fertiles mais peut-être dans l'altération de cette chromatine ou encore dans ce fait qu'ils sont dépourvus de ce cytoplasma formatif pur que nous avons vu se condenser toujours autour du noyau des éléments fertiles (fig. 31 *a* et *b*). Leur corps n'est, en effet, constitué que d'un cytoplasme alvéolaire identique à celui du pseudokyste résiduel. Quoi qu'il en soit, leur présence constante dans tous les kystes, leur grande agilité et le fait que, la plupart du temps, ce sont eux qui passent les premiers dans la chambre femelle, montrent qu'ils doivent jouer un rôle dans l'ensemble du processus sexué. Je les regarde volontiers comme des éléments excitateurs, mécaniques et peut-être même physiologiques: mécaniques, parce que leurs mouvements vifs doivent contribuer puissamment à mélanger les gamètes fertiles; et physiologiques, en sécrétant une substance qui, comme nous l'avons dit plus haut, agirait sur les éléments femelles en les incitant à se détacher du soma pour tomber dans le copularium.

Grenoble, 30 Septembre 1903.

## Index bibliographique.

1902. BERNDT, A.: Beitrag zur Kenntnis der im Darne der Larve von *Tenebrio molitor* lebenden Gregarinen. Arch. f. Protistenk. I. Bd. 3. Heft.
1887. BOYER, L.: Über Differenzierung der Zellkerne während der Furchung des Eies von *Ascaris megalocephala*. Anat. Anz.
1902. BROMAN: Über atypische Spermien und ihre mögliche Bedeutung. Anat. Anz. 11. August 1902. XXI. Bd. Nr. 18 u. 19.
1902. COCONI: De la sporulation de la „*Monocystis agilis*“ STEIN. Arch. mikr. Anat. T. V. fasc. 1. 1902.
1899. CUENOT, L.: Sur la prétendue conjugaison des Grégaires. Bibliographie anatomique. T. 7. p. 70.
1901. —: Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégaires. Archives de Biologie. T. XVII. 1900. Liège.
1891. HENKIN, H.: Über Spermatogenese bei *Pyrrhocoris apt.* Zeitschr. f. wiss. Zool. 51. Bd. 1891.
1902. HERTWIG, R.: Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. V. 1. 1901. p. 1.
1900. LÉGER, L.: La reproduction sexuée chez les Ophryocystis. C. R. Soc. Biologie. 1900.
1901. —: Les éléments sexuels et la fécondation chez les Stylorhynchides. C. R. Ac. des Sc. 1901.
1902. —: Note sur le développement des éléments sexuels et la fécondation chez le Stylorhynchus longicollis. F. St. Arch. Zool. exp. Notes et Revue. Nos 4 et 5.
1903. —: Sur l'*Embia solieri*. C. R. Ass. Fr. Av. Sc. Congrès d'Angers 1903.
1902. LÉGER et DUBOSCQ: La reproduction sexuée chez Pterocéphalus. C. R. Ac. Sc. 1902.
1902. —: Les Grégaires et l'épithélium intestinal chez les Trachéates. Arch. de Parasitologie.
1903. —: La reproduction sexuée chez Pterocéphalus. Arch. de Zool. exp. et générale. Notes et Revue. 1903. (4). Vol. I. Nr. 9.
1903. —: *Aggregata vagans* n. sp., Grégarine gymnosporée parasite des Pagures. Arch. de Zool. exp. et générale. (4) 1903. Notes et Revue. Vol. I.
1902. LÜBE: Über Befruchtungsvorgänge bei Protozoen. Schriften der Physikal.-ökonom. Gesellsch. zu Königsberg in Pr. Sitzung der biol. Sektion am 30. Januar 1902.
1899. MENIL, F.: Essai sur la classification et l'origine des Sporozoaires. Cinquantenaire de la Société de Biologie. 1899.
1899. MRAZEK: Studie o sporozoích. I. Dělení jaderné o sporulaci u Grégaria. Vestník Kral. společnosti nauk.
1899. PAULMER, F. C.: The Spermatogenesis of *Anasa tristis*. Journ. Morph. Vol. 15. 1899.
1900. POLJAKOV: Biologie der Zelle. II. Arch. mikr. Anat. LVII. 1900.
1902. PROWAZEK: Zur Entwicklung der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. I. Bd. II. Heft.
1886. ROBOZ: Math. u. Naturw. Ber. aus Ungarn, IV. 1886.
1878. ROYJOU: Quelques mots sur les spermatozoïdes II<sup>e</sup> partie avec 27 planches Mémoires de la Société des Sciences nat. de Saône et Loire. T. 2. Nr. 3.

1903. **SCHAUDINN**: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XIX. 1903.
1875. **SCHNEIDER, A.**: Thèse. Contribution à l'histoire des Grégarines des Invertébrés de Paris et de Roscoff. Arch. de Zool. expérimentale. T. 4. 1875.
1899. **SIEDLECKI**: Über die geschlechtliche Vermehrung der Monocystis ascidia. R. LANK. Bulletin international de l'Académie des Sciences de Cracovie. Décembre 1899.
1902. **WILSON**: The cell in Development and inheritance. Second Edition.
1891. **WOLTERS**: Die Konjugation und Sporenbildung bei Gregarinen. Arch. f. mikr. Anatomie. XXXVII. 1891.

## Explication des planches.

### Planche XIII.

#### *Stylorhynchus oblongatus* HAMM.

Toutes les figures de cette planche ont été dessinées sur le vivant.

Fig. 1. Kyste de *Stylorhynchus oblongatus* HAMM., vu par transparence au moment du passage des premiers spermatozoïdes dans la chambre femelle. L'hémisphère supérieur représente la chambre mâle et montre les spermatozoïdes encore attachés au soma lobulé de la Grégarine mâle; l'hémisphère inférieur représente la chambre femelle et montre les œufs encore fixés au soma lobulé de la Grégarine femelle. Quelques spermatozoïdes fusiformes ont déjà pénétré dans la chambre femelle.  $\times 200$ .

Fig. 2. Kyste de *Stylorhynchus oblongatus* HAMM., vu par transparence sur le vivant au moment où la plupart des copulations sont effectuées. Dans le copularium, se voient de nombreuses copulas libres ou déjà associées en chaînes ou en anneaux qui se souderont plus tard pour former les chapelets de sporocystes, puis les grands spermatozoïdes fusiformes stériles ainsi que les œufs et les spermatozoïdes libres ou en voie de copulation. Le pseudokyste se voit par transparence comme une boule granuleuse sombre.  $\times 200$ .

Fig. 3. Portion du kyste de *Stylorhynchus oblongatus* HAMM., au niveau du couloir mitoyen, à la fin du stade de perlage. — *m*, portion de la chambre mâle; *f*, portion de la chambre femelle; *c*, couloir mitoyen.  $\times 650$ .

Fig. 4. Portion du kyste de *Stylorhynchus oblongatus* HAMM., au niveau du couloir mitoyen vers la fin de la différenciation sexuelle. — *m*, chambre mâle; *f*, chambre femelle; *c*, couloir mitoyen.  $\times 650$ .

Fig. 5. *m*, spermatozoïde piriforme ou fertile; *f*, œuf mûr.  $\times 1600$ .

Fig. 6. Les deux gamètes immédiatement avant la copulation.  $\times 1600$ .

Fig. 7. Début de la copulation.  $\times 1600$ .

Fig. 8. Copula à noyaux sexuels encore distincts; les deux karyosomes en regard l'un de l'autre sont visibles dans chaque noyau.  $\times 1600$ .

Fig. 9. Copula plus âgée, vue de profil. Les deux noyaux sont fusionnés.  $\times 1600$ .

Fig. 10. Deux sporocystes avant la division nucléaire.  $\times 1600$ .

Fig. 11. Différents aspects de l'extrémité antérieure d'un spermatozoïde fusiforme.  $\times 1600$ .

Fig. 12, 13, 14 et 15. Différents aspects des spermatozoïdes fusiformes pendant leurs mouvements.  $\times 1600$ .

Fig. 16, 17 et 18. Stades successifs de dégénérescence des spermatozoïdes fusiformes.  $\times 1600$ .

Fig. 19. Pseudocopula représentant le terme final de la dégénérescence des spermatozoïdes fusiformes.  $\times 1600$ .

#### Planche XIV.

##### *Stylorhynchus longicollis* F. St.

Toutes les figures sont dessinées d'après des préparations fixées au sublimé alcool et colorées à l'hématoxyline ferrique.

Fig. 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 et 27. Différents stades de mitoses au commencement de la multiplication des noyaux dans chaque Grégarine enkystée.  $\times 1100$ .

Fig. 28. Portion superficielle d'une des Grégarines enkystées montrant, de profil, les premières éminences nucléées: *c*, *d*, *e*, *f*, dont 2: *a* et *b* sont en voie de division; de face se voient également de nombreux noyaux sexuels aux divers stades de la mitose. En outre, se voit par transparence dans la profondeur un gros noyau somatique *N*.  $\times 1100$ .

Fig. 29. Un lobe du soma grégarinien portant à sa surface les cellules sexuelles et montrant 2 noyaux somatiques *N* dans sa profondeur.  $\times 350$ .

Fig. 30. Portion plus grossie de la surface d'un lobe du soma femelle montrant des œufs: *f*, *f*<sup>1</sup>, *f*<sup>2</sup>, au moment de leur mise en liberté; *f*<sup>3</sup>, œuf en voie de dégénérescence; *n*, noyau dégénéré; *N*, noyau somatique montrant une mitose atypique.  $\times 1500$  environ.

Fig. 31 et 32. Portion d'un lobe du soma mâle au moment de la formation des spermatozoïdes: *a*, éminence nucléée constituant un spermatozoïde au début; *b*, spermatozoïde au stade de perlage; *c*, noyau d'un spermatozoïde fusiforme; *g*, spermatozoïde fusiforme au début de sa formation; *N*, noyau somatique en voie de dissolution; *n* et *n'*, noyaux sexuels en voie de dégénérescence mais montrant néanmoins un filament axile *f* et une tigelle *t*.  $\times 1500$ .

Fig. 33, 34, 35 et 36. Divers aspects des spermatozoïdes fusiformes.  $\times 1500$ .

Fig. 37, 38, 39, 40 et 41. Diverses phases de la dégénérescence des spermatozoïdes fusiformes dont la dernière ou pseudocopula est représentée par la fig. 41. (Toutes ces figures ainsi que les suivantes sont représentées avec une amplification de 1500 D.)

Fig. 42. Spermatozoïde piriforme à double rostre.

Fig. 43. Formation du spermatozoïde piriforme: *a*, différenciation au début; *n*, acrosome (sphère); *b*, spermatozoïde au moment où il va quitter le soma; *s*, acrosome (sphère); *c*, centrosome.

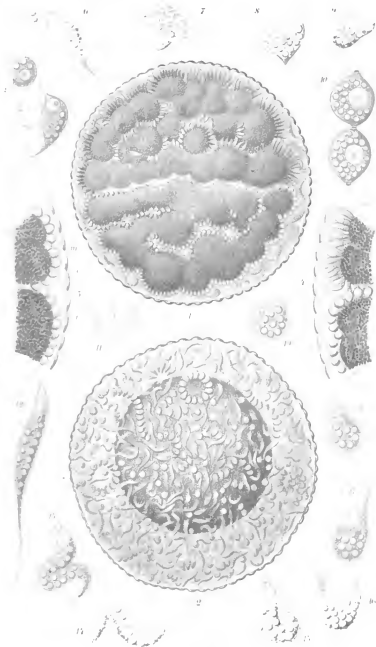
Fig. 44, 45, 46 et 47. Diverses formes atypiques du spermatozoïde piriforme; *s*, acrosome.

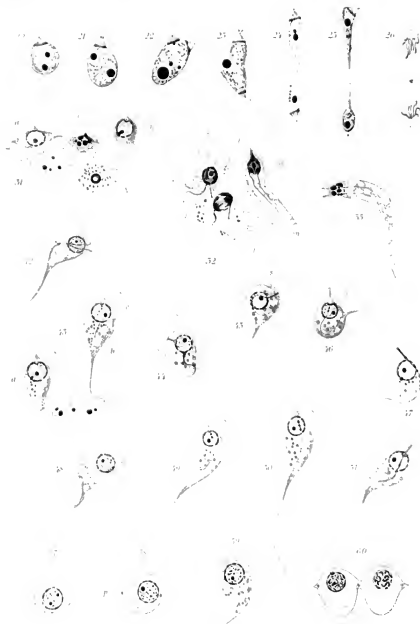
Fig. 48. Spermatozoïde piriforme, vu de profil. — On voit le filament axile longeant la face dorsale.

Fig. 49, 50 et 51. Divers aspects des spermatozoïdes piriformes.

Fig. 52, 53, 54, 55 et 56. Stades successifs de la copulation.

Fig. 57. Copula montrant encore les 2 karyosomes distincts, ainsi que les 2 centrosomes.







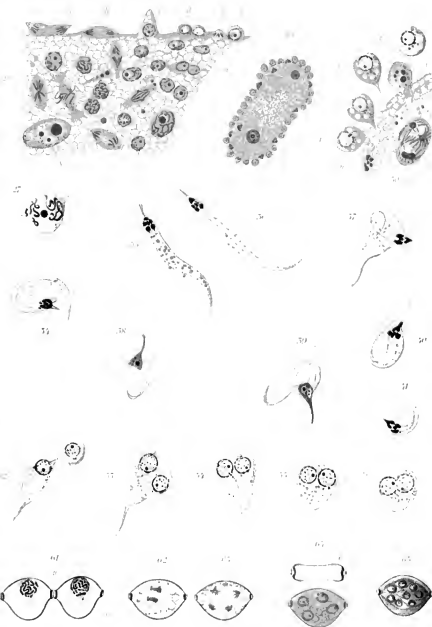


Fig. 58. Copula avec un unique gros karyosome de conjugaison: *p*, tache chromatique papillogène.

Fig. 59. Copula en poire.

Fig. 60. Association des copulas: *p*, début de la papille.

Fig. 61. Deux sporocystes au début de la première mitose: *c*, centrosome, *p*, papille.

Fig. 62 et 63. Première et deuxième mitoses.

Fig. 64. Sporocyste au stade de 4 noyaux au repos: *a*, vu de face; *b*, vu d'en dessus.

Fig. 65. Sporocyste montrant les noyaux des 8 sporozoïtes.

---

P. S. Au moment de remettre mon manuscrit à l'impression, je prends connaissance d'un mémoire de JÓZEF NUSBAUM<sup>1)</sup> sur la reproduction sexuée hétérogame d'une nouvelle Grégarine: *Schaudinella henleae* NUSBAUM qu'il a découverte dans l'intestin d'un Enchytræide, le *Henlea leptodera* VEJD. et qui s'éloigne étonnamment de toutes les autres Grégarines actuellement connues par la modalité très particulière de son processus sexué et par la forme globuleuse de ses sporozoïtes. Je regrette de n'avoir pu, au cours de mon travail, prendre en considération les faits qu'il renferme et je noterai seulement ici que l'auteur nous apporte, avec cette étude, un nouvel exemple d'anisogamie avec caractères sexuels secondaires chez les Grégarines.

---

<sup>1)</sup> JÓZEF NUSBAUM: Über die geschlechtliche heterogame Fortpflanzung einer im Darmkanale von *Henlea leptodera* VEJD. schmarotzenden Gregarine *Schaudinella henleae* mihi. Zeitschr. f. wiss. Zool. LXXV. Bd. 2. Heft. Oktober 1903.