

Étude sur la fécondation de l'œuf de la Truite.

Par

Henri Blanc,

Professeur de Zoologie et d'Anatomie comparée à l'Université de Lausanne.

(Planche VI.)

Chargé d'un cours de zoologie à l'Institut agricole, nous nous appliquons chaque hiver, depuis 1889, à faire, en compagnie de nos élèves, quelques essais de pisciculture artificielle avec la Truite des lacs. (*Trutta lacustris*). C'est en poursuivant ce but essentiellement pratique, que l'idée nous est venue de suivre dans l'œuf de ce poisson, les phénomènes de la maturation, de la fertilisation et de la fécondation, l'embryologie des Vertébrés manquant encore de faits précis sur ces trois étapes importantes du développement.

Nous devrions peut-être, avant d'exposer les résultats des recherches qui font l'objet de cette étude annoncée dans une note préliminaire (7), faire l'histoire de la fécondation, analyser les travaux parus sur cette question; mais pour ne pas ennuyer les naturalistes qui auraient quelque envie de nous lire, sans autre préambule, nous présenterons les faits observés, leurs résultats seront comparés et nous terminerons en tirant les conclusions qui nous paraissent justifiées.

Méthode.

L'œuf de la Truite est trop volumineux pour pouvoir être observé directement sous le microscope et sa transparence n'est que relative. D'autre part la membrane coquillière épaisse ne permet pas le durcissement, la coloration, l'enrobage in toto, de l'œuf suivant les méthodes usuelles; pour obtenir de bonnes coupes, il faut

donc le traiter d'une façon spéciale, le vitellus nutritif étant fait en outre, de substances grasses et albuminoïdes facilement coagulables, se durcissant toujours plus que le germe qui le recouvre à l'un des pôles. En présence de ces difficultés, nous avons cherché une méthode qui nous permit d'étudier le germe de l'œuf isolé, débarrassé de tout vitellus. Ce n'est qu'après avoir beaucoup tâtonné, employant toujours les mêmes liquides, que nous avons trouvé un mélange remplissant le but que nous nous étions proposé.

Les œufs de Truite fécondés par la méthode russe sont fixés par lots dans un mélange d'acide picrique sulfurique et d'acide acétique glacial préparé comme suit:

600 vol. eau

2 vol. acide sulfurique concentré

100 vol. acide picrique concentré

8 vol. acide acétique glacial

Les œufs, qui peuvent rester dans ce mélange plusieurs heures, des jours même, sans être endommagés, sont ouverts dans de l'acide acétique à 10 %; celui-ci dissout en partie le vitellus nutritif et la séparation du germe peut ainsi se faire à l'aide d'un pinceau ou d'une lancette. Les germes sont ensuite traités par l'alcool à 80 % jusqu'à décoloration complète, conservés dans l'alcool absolu, puis colorés au carmin boracique, avant d'être enfermés in toto dans la glycérine ou le baume.

Le pôle animal des jeunes stades a été découpé pour avoir des germes fixés avec la capsule de l'œuf.

Comme moyen de contrôle, nous devons employer la méthode des coupes; pour cela nous avons fixé les œufs dans notre liquide, les conservant dans de l'alcool à 80 % et n'utilisant l'alcool absolu que quelques minutes avant l'enrobage pour permettre la pénétration du xylol.

Des deux procédés, nous recommandons tout particulièrement le premier comme donnant de belles préparations, faciles à faire, même par des débutants dans la technique microscopique.

De l'œuf extrait de la cavité abdominale.

Lorsqu'il mesure de 4 à 5 m.m. de diamètre, l'œuf de la Truite tombe dans la cavité abdominale pour y compléter sa maturité. Il a alors une forme irrégulièrement arrondie, sa couleur est d'un jaune clair et il est plus ou moins translucide. Son enveloppe

externe est une capsule épaisse de 0,030 m. m. à 0,035 m. m., elle est traversée par une infinité de petits canalicules; elle présente à l'un des pôles de l'œuf, une ouverture, le micropyle, qui se trouve au fond d'une dépression en forme de cuvette; cette ouverture communique avec un canal étroit ne permettant que le passage d'un seul spermatozoïde à la fois; il ne mesure donc que 0,003 m. m. de diamètre. Nous laissons en suspens la question de savoir si le micropyle occupe réellement le pôle animal de l'œuf ou s'il est excentrique.

Au-dessous de la capsule de l'œuf existe une couche vitelline ou corticale séparée de celle-ci, du moins dans l'œuf submergé, par un espace périvitellin plus ou moins considérable. Cette couche est faite de protoplasme granuleux émettant des prolongements dans la masse vitelline, enfermant ainsi comme dans une sorte de trame, les nombreux globules graisseux jaunes qu'elle présente à sa surface, tandis que son centre est occupé par du vitellus nutritif plus ou moins homogène. Cette couche corticale n'a pas partout la même épaisseur; nous affirmons qu'elle est plus épaisse au pôle micropylaire de l'œuf qu'au pôle opposé ou à son équateur; elle constitue donc, avant que l'œuf ait été submergé, un véritable germe que nous avons pu séparer très facilement. Dans des œufs mûrs submergés et non fécondés, le germe devient peu à peu très apparent; nous avons donc là, la meilleure preuve que l'on puisse avancer pour prouver que la copulation ou la fertilisation n'a rien à faire avec la formation du germe.

C'est peut-être au centre du germe, à une très petite distance du micropyle, que nous avons toujours pu observer une vésicule germinative, le noyau de l'œuf. Tandis que ce noyau est très visible dans des œufs retenus encore aux lames de l'ovaire, limité qu'il est par une membrane enfermant un liquide qui tient en suspension plusieurs taches germinatives, celui d'œufs plus avancés a un tout autre aspect. La fig. 1. représente la vésicule germinative d'un œuf d'une Truite qui n'était pas encore prête pour la fécondation, c'est-à-dire dont les œufs ne sortaient que difficilement de l'abdomen. On voit que ce n'est plus une vésicule limitée; à sa place, existe un espace clair mesurant 0,012 m. m. et contenant des amas de petits grains de chromatine autour desquels rayonnent dix-huit à vingt bâtonnets ou filaments faits de granulations que l'on est convenu d'appeler des microsomes. Nous n'hésitons pas à considérer cette figure comme étant un noyau en voie de dislocation dont les éléments nucléiniens se préparent à fonctionner

comme chromosomes. Tout autour de l'espace clair, et même entre les chromosomes déjà distincts, le protoplasme du germe est comme partout ailleurs granuleux. C'est cette transformation du noyau de l'œuf qui a pu faire croire à sa disparition momentanée.

Dans les œufs de Truite prête pour la fécondation, la dislocation des éléments nucléiniens est plus avancée, c'est-à-dire que les chromosomes qui se forment ainsi les uns après les autres sont beaucoup plus nombreux. La fig. 2. démontre que tout en restant indépendants les uns des autres, ils sont situés maintenant dans un plan équatorial parallèle à la surface du germe, plus près de celle-ci que du vitellus et plusieurs d'entre eux sont nettement recourbés en anse. Cette disposition va amener une division longitudinale des chromosomes, la division karyokinétique sera donc complète pour le premier globule polaire. Ce stade précède la formation du premier fuseau polaire ou de direction (fig. 3); celui-ci se forme donc bien alors que l'œuf est encore dans la cavité abdominale. En se transformant, le noyau s'est couché puisque les chromosomes forment une plaque presque perpendiculaire à la surface du germe. Nous n'avons malheureusement pas pu déterminer le nombre des éléments composant la plaque équatoriale de ce premier fuseau dont les filaments achromatiques et les asters se distinguent sans peine.

Les phénomènes que nous allons décrire se passent dans l'œuf de la Truite et des Salmonides en général avec une certaine lenteur puisqu'ils ne sont terminés que dix heures après la fertilisation; mais tel n'est pas le cas lorsqu'on les suit dans les œufs adhérents de nos poissons blancs, dans les œufs pélagiques des poissons marins, où ils sont souvent terminés une demi-heure après la pénétration du spermatozoïde.

L'existence du germe a été souvent niée, non-seulement pour l'œuf non fécondé de la Truite, mais pour celui des poissons en général. Les diverses opinions émises à ce sujet ont été déjà résumées par HENNEGUY (22) qui dit parlant de l'œuf de la Truite pris dans l'abdomen (p. 13) "Enfin les éléments plastiques se sont aussi fusionnés en une masse finement granuleuse, irrégulièrement étalée au dessous du micropyle". AGASSIZ ET WHITMAN (1) seraient d'accord avec cet auteur s'ils ne réservaient le mot de disque qu'à la couche corticale ayant une certaine épaisseur, tandis que FUSARI (18) ne voit le germe que dans des œufs fécondés depuis un certain temps. Nos observations concordent donc avec celles d'HENNEGUY.

Plusieurs embryologistes ont affirmé que la vésicule germinative disparaissait dans les œufs de poissons et d'autres animaux, lorsqu'ils étaient prêts à être fécondés. OELLACHER (34), entre autres, tire la conclusion suivante de

ses observations faites sur des œufs vivants et débités en coupes (p. 25): „Im Forellenei geht der Ausstossung des Keimbläschens die Eröffnung seiner Membran auf der Oberfläche des Keimes vorher und bleibt dieselbe, nachdem ihr Inhalt ausgestossen, noch einige Zeit als auf dem Keime ausgebreitetes Schleierchen zurück, um endlich auch zu verschwinden.“ HENNEGUY (22) déclare n'avoir pu surprendre le moment précis où cette vésicule si visible dans l'œuf ovarien se transforme probablement en noyau de l'œuf. HOFFMANN (25) est le premier observateur qui ait bien décrit la transformation de la vésicule en fuseau de direction dans l'œuf les poissons osseux. KINGSLEY ET COXN (28) ont vu dans les œufs de *Merlucius* le noyau de l'œuf arrivé à maturité, remplacé par un aster simple. Utilisant le procédé des coupes avec les œufs des Sélaciens, KASTSCHENKO (27) a pu établir que la vésicule germinative après avoir émigré du centre de l'œuf où elle était, dans le germe, ne s'évanouissait pas, mais qu'elle prenait aussi la forme d'un fuseau polaire. Ce sont là autant d'observations avec lesquelles nous sommes d'accord.

Copulation ou fertilisation.

Deux méthodes, la méthode russe par voie sèche et la méthode ordinaire par voie humide sont employées dans les établissements de pisciculture pour opérer la fécondation artificielle. La première permettant de fertiliser le plus grand nombre d'œufs, nous l'employons de préférence. Les œufs d'une Truite prête sont reçus dans un récipient, puis nous répandons sur ces œufs quelques gouttes de laitance qui sont immédiatement mélangées aux œufs; on ajoute une petite quantité d'eau et on remue avec le doigt ou avec une plume. On laisse reposer le tout pendant un quart d'heure, on décante pour laver jusqu'à ce que l'eau soit claire. Une demi-minute après le mélange des œufs et de la laitance, la copulation a eu lieu, c'est-à-dire que la pénétration du spermatozoïde dans l'œuf est effectuée. Cet acte se passe donc très rapidement et il faut qu'il en soit ainsi, car la capsule de l'œuf imbibée d'eau, trop tendue, ne laisserait plus passer de spermatozoïdes.

A ce moment-là, la constitution du germe est celle que nous avons déjà décrite; peut-être y a-t-il eu une légère concentration du vitellus formatif au pôle micropylaire.

Une goutte de laitance examinée sous le microscope et sans eau, montre que les spermatozoïdes de la Truite comme du reste ceux de tous les Salmonides, sont sans mouvement; mis en contact avec l'eau, ils se meuvent en tourbillonnant pendant quelques secondes, puis ils redeviennent peu à peu immobiles.

Le spermatozoïde de la Truite a une tête cordiforme munie d'une queue (fig. 4). La tête est formée d'une masse qui mesure

0,003 m. m.; ello se colore très bien, partout avec la même intensité, et paraît être homogène.

Quant au nombre des spermatozoïdes pouvant s'engager dans le canal micropylaire, les opinions varient; d'après les observations que nous avons pu faire sur plusieurs séries d'œufs fécondés, nous dirons que dans la plupart des cas, il n'y pénètre qu'un seul spermatozoïde; mais plusieurs fois nous avons vu un certain nombre de spermatozoïdes engagés les uns après les autres dans le canal micropylaire; il va sans dire qu'ils n'y restent pas et qu'ils suivront dans le germe le premier qui y a pénétré, provoquant des cas de polyspermie que nous avons pu étudier et sur lesquels nous reviendrons plus tard.

L'élément spermatique s'engage tout entier dans le germe, ce que démontre la fig. 4; ce qui a fait supposer que la queue restait dans le canal micropylaire, c'est que celle-ci est résorbée dans le germe qui doit la digérer rapidement.

Si CALBERLA (13) étudiant la pénétration des spermatozoïdes, dans l'œuf du *Petromyzon* a prétendu que la queue de cet élément restait dans le canal micropylaire obstruant celui-ci, KUPFFER ET BENEKE (32) utilisant le même objet, ne sont pas d'accord avec lui, puisqu'ils ont vu le spermatozoïde pénétrer dans le germe avec sa queue. Du reste, les observations faites sur des œufs de plusieurs invertébrés ont démontré que l'élément spermatique tout entier arrive dans le germe; nous confirmons donc ces faits.

Elimination des corpuscules polaires ou maturation du noyau de l'œuf; sa sphère attractive.

Envisageant le noyau de l'œuf pris dans la cavité abdominale d'une Truite prête à être fécondée, nous avons démontré qu'à ce moment-là, les chromosomes étaient disposés en couronne équatoriale pour former le premier fuseau polaire aux filaments distincts (fig. 3). C'est l'état du noyau le plus avancé que nous ayons pu fixer avant la copulation.

Une demi-minute après la fertilisation ou la fécondation, (les pisciculteurs emploient le terme de fécondation), l'élaboration du premier globule polaire est terminée, les chromosomes ont dû donc exécuter leurs ascensions polaires pendant un laps de temps très court.

Le globule polaire, situé à la surface du germe, à une distance très variable du micropyle, nous le démontrerons plus loin, est une vésicule ovale contenant une masse granuleuse, la moitié du noyau primitif de l'œuf (fig. 5, *g. p.*). Celui-ci, toujours placé dans le germe, mais à la même distance de son corpuscule polaire, se montre sous

différents aspects correspondants à divers stades de réédification et de dislocation. La fig. 5, *n* représente un noyau dont les chromosomes sont réunis en neuf ou dix paquets granuleux plus ou moins indépendants les uns des autres; toute membrane nucléaire fait défaut. La réédification du corps nucléaire n'est pas complète, car une minute après la pénétration du spermatozoïde, les éléments nucléiniens sont réunis et forment déjà une sorte de boudin ou de ruban allongé replié sur lui-même à une de ses extrémités; il est déjà disposé dans le plan équatorial du futur fuseau dont les filaments et les asters commencent à apparaître (fig. 6). Cinq minutes après la fertilisation, la dislocation de ce ruban est plus avancée, puisqu'il s'est fragmenté transversalement, et les tronçons sont disposés dans un plan équatorial qui tendra à devenir perpendiculaire à la surface du germe; cette position est encore nettement indiquée par les deux extrémités du fuseau où se voient les deux asters (fig. 7C).

Pendant que l'expulsion du second globule polaire se prépare, le premier, toujours situé à la même distance du noyau est en voie de désagrégation; ce n'est plus une masse compacte, sa membrane a disparu et son contenu est plus ou moins défait. Cette désagrégation du premier globule polaire s'opère dans un temps très variable; en tout cas, elle est terminée quand le second globule est déjà visible à la surface du germe.

Les éléments nucléiniens de ce second fuseau polaire continuent à augmenter en nombre jusqu'à 40 minutes après la copulation et se divisent transversalement, ce qu'indiquent les fig. 8, 9, *n*. qui représentent deux étapes fixées à dix minutes d'intervalle. La disposition en anse, distincte pour beaucoup de chromosomes dans le premier fuseau polaire, ne peut plus s'observer dans le second, celui-ci se présentant de profil sous le microscope. Il se pourrait que nous n'ayons à faire qu'à de simples bâtonnets et que la figure karyokinétique ne soit pas complète. Quarante minutes après la fertilisation, la plaque équatoriale du second fuseau polaire est terminée (fig. 10); les chromosomes qui la forment, que ce soient des bâtonnets droits ou recourbés en anses, moins nombreux, plus grêles que dans le stade précédent, sont disposés suivant deux rangées parallèles et sont en relation par des filaments achromatiques avec les deux asters bien visibles. Pour expulser son second globulaire polaire, ce qu'il a fait une heure et demie après la fertilisation, le noyau s'est redressé, et de transversal qu'il était

par rapport à la surface du germe (fig. 11 A), il devient oblique ou perpendiculaire à celle-ci (fig. 12). Mais pendant que ce changement de position s'opère, les filaments achromatiques subissent une légère torsion (fig. 11 A). Le second corpuscule polaire a la forme du premier; (fig. 12. 14 *g. p.*²). Il possède une membrane très distincte contenant un liquide tenant en suspension des grains de chromatine mais qui ne forment plus une masse compacte comme dans le premier corpuscule; malgré cela, il subsiste longtemps et nous avons pu constater de ses restes à la surface du germe, neuf heures après la fertilisation. La moitié du fuseau enfermée dans le germe est un amas de granulations arrondies, sortes de sphérules, se colorant très bien au carmin boracique; elles sont contenues dans un liquide coagulé que limite, car il n'y a pas encore de membrane. le protoplasme granuleux du germe (fig. 11, A et 12, C, *p. n. f.*).

Deux heures après la copulation, le fuseau étant perpendiculaire. on aperçoit entre le corpuscule polaire (fig. 12 *g. p.*².) et le noyau contenu dans le germe *p. n.*, un espace circulaire *s. a.* clair, mais assez mal limité, coloré légèrement en rose, autour duquel rayonnent des rangées de granules très fins et réfringents.

Le noyau de l'œuf, que nous appellerons désormais pronucléus femelle, les deux corpuscules polaires étant expulsés, ne subit pas de transformations notables de deux heures à quatre heures après la fertilisation, et l'examen de coupes nous démontre que, tout en occupant le centre du germe, il est encore en relation avec le second corpuscule polaire par des filaments achromatiques. Les chromosomes qui résultent de la dernière division cinétique tendent à se rapprocher les uns des autres pour prendre la forme de petites sphères qui ont été désignées sous le nom d'ovomérîtes. Mais ce qu'il importe de signaler, trois heures après la fertilisation, c'est la présence dans le voisinage immédiat du pronucléus (fig. 14 *p. n. f.*) d'une tache circulaire *s. a.* avec rangées de granulations rayonnantes plus longues et plus nombreuses que dans le précédent stade. Cette figure solaire accompagnera désormais comme sphère attractive, le pronucléus femelle jusqu'à la fécondation.

Nous pouvons donc établir que la sphère attractive du noyau de l'œuf ne naît pas dans le protoplasme du germe comme on l'a prétendu; elle n'est pas le résultat d'une division de la sphère attractive qui escorte le pronucléus mâle comme cela est encore généralement admis. Cette sphère se forme aux dépens du noyau de l'œuf; elle ne devient visible, que lorsqu'il élabore son second

globule polaire; c'est l'espace clair, mal limité *s. a.*, autour duquel rayonnent des rangées de granules et dans lequel tout centrosome est invisible. Soit avant, soit après la maturation du noyau femelle, nous n'avons jamais pu constater dans le germe autre chose que ce que nous venons de décrire.

Nous possédons une série de préparations de germes provenant d'œufs pondus, non fécondés, dont l'examen nous a démontré que l'expulsion des globules polaires avait lieu sans qu'il y ait eu fertilisation; mais elle se fait plus lentement.

Les observateurs qui ont décrit le premier fuseau polaire dans l'œuf des poissons ont constaté aussi l'expulsion du premier globule polaire; mais ils ne sont pas d'accord sur le moment de son apparition et sur son sort: HOFFMANN (25) admet par exemple que le premier globule polaire est expulsé peu après la pénétration du spermatozoïde à travers le canal micropylaire, le fermant à d'autres corps spermatiques. Cet embryologiste est moins affirmatif lorsqu'il parle du nombre des globules polaires expulsés et p. 70 nous lisons: „Sehr schwierig ist es mit Bestimmtheit zu sagen, ob nur ein einziges oder zwei Richtungskörperchen ausgestossen werden.“

KINGSLEY et CONN (28) observant des œufs de *Merlucius pondus* et supposés non fécondés déclarent avoir vu la vésicule germinative transformée en aster, donner naissance à un globule polaire s'échappant par le micropyle. Ils considèrent comme le reste d'un second globule polaire dont ils n'ont pas vu les stades préliminaires, un petit noyau accolé à la surface du germe déjà divisé en deux blastomères.

Les faits décrits par AGASSIZ ET WHITMAN (1) sont beaucoup plus précis. Ces observateurs ont vu et figuré le premier fuseau polaire, situé à une certaine distance du micropyle. 15 minutes après la pénétration du spermatozoïde, l'expulsion du premier globule est terminée et le second fuseau qui procède à l'élaboration du suivant est déjà formé. Une seule fois, l'un d'eux a vu le premier globule polaire expulsé par le micropyle, mais ils écrivent à ce propos p. 18: „It follows from these observations that the escape of the polar globules through the micropyle is not a normal occurrence; and the idea that they are regularly lodged in the micropyle and serve as a mechanical means of eluding spermatozoa is wholly untenable.“ N'ayant pu suivre la formation du second globule polaire, ces auteurs pensent avec BOVERI (10) et PLATNER (35) que l'état de repos du noyau est sauté et que de la plaque équatoriale du premier fuseau polaire se forme immédiatement le second fuseau; c'est en effet ce qui se passe quelquefois, non seulement pour l'expulsion du second globule polaire, mais pour la seconde division cinétique des spermatocytes de divers invertébrés.

BÖHM (8) ne signale l'apparition d'un premier fuseau de direction que 10 minutes après la fertilisation et il compte 6 bâtonnets épais et allongés dans sa plaque équatoriale; 30 minutes après, il en compte douze, mais réduits de moitié en épaisseur et en longueur. A une heure l'expulsion du premier globule est terminée, les douze chromosomes qui restent dans le germe forment ensuite deux

plaques parallèles faites chacune de douze chromosomes et à 1 h. 20 m après la fertilisation, le second globule polaire est élaboré.

Nos observations diffèrent donc de celles de BÖHM (8) sur le moment où apparaît le premier globule polaire et sur le nombre des chromosomes constituant les plaques équatoriales. Sans doute, il est établi que la température et la qualité de l'eau, l'obscurité ou la lumière peuvent modifier sensiblement l'allure du développement des œufs, nous l'avons démontré ailleurs (7); mais nous ne pensons pas que ces facteurs puissent être invoqués pour expliquer les divergences qui existent entre les observations de BÖHM et les nôtres quant au moment où se fait l'expulsion du premier globule polaire. Nous pensons avoir démontré avec évidence que le premier globule apparaît à la surface du germe déjà une demi-minute après la fertilisation. N'usant que de la méthode des coupes, cet observateur consciencieux a été trompé par elle, il n'a pas pu saisir la préparation du premier globule et tout ce qu'il dit de celui-ci, doit se rapporter au second globule polaire.

Quant au nombre des chromosomes en jeu dans la formation des deux fuseaux de direction, nous pensons qu'il y en a au moins vingt-quatre; mais nous sommes d'accord avec BÖHM pour admettre qu'ils sont moins volumineux dans le second fuseau que dans le premier.

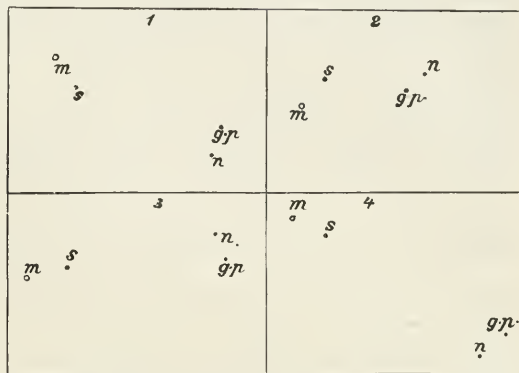
La maturation du noyau de l'œuf des poissons est donc un nouvel exemple de la réduction des éléments nucléiniques, mais nous ne pouvons affirmer si cette réduction se fait à la fois pour la masse et pour le nombre des chromosomes comme l'entend WEISMANN (41), car l'œuf de la Truite ne se prête pas à l'étude de pareils détails.

Le spermatozoïde pendant l'expulsion des globules polaires; sa sphère attractive.

Nous avons vu qu'une demi-minute après avoir effectué le mélange du frai et de la laitance, la fertilisation avait déjà eu lieu et que plusieurs spermatozoïdes pouvaient parfois s'engager dans le canal micropylaire provoquant ainsi des cas de polyspermie. Pour le moment, nous ne nous occuperons que du sort d'un spermatozoïde, de celui qui entre seul dans le germe ou de celui qui y pénètre le premier lorsqu'il est suivi par d'autres; car c'est en effet celui-là seulement, nous n'aurons pas de peine à le démontrer, qui se fusionne avec le noyau femelle.

Pendant que l'expulsion des globules polaires s'opère, le spermatozoïde qui fécondera, subit quelques modifications qui doivent être signalées. Sa queue, nous l'avons déjà dit, disparaît très tôt et elle doit être digérée par le protoplasme du germe. Cinq minutes après sa pénétration, le spermatozoïde n'a pas changé d'aspect, il est là; enfermé dans le protoplasme granuleux du germe, près de sa

surface, à une certaine distance du micropyle, mais plus ou moins éloigné du noyau de l'œuf (fig. 7 B, *sp.*). Tandis que la distance qui sépare le micropyle du spermatozoïde qui fécondera reste sensiblement la même durant les premières étapes de la maturité, celle qui existe entre le micropyle ou le spermatozoïde et le noyau de l'œuf est fort variable, comme le démontrent les quatre figures ci-dessus.



m = micropyle. *s*. spermatozoïde. *n*. noyau de l'œuf.
g. *p*. globule polaire.

Ces variations dans les distances qui séparent de bonne heure les corps nucléaires, ne peuvent s'expliquer que par certains mouvements que doit présenter le contenu de l'œuf au moment où celui-ci arrive en contact avec l'eau; ils ont pour effet d'éloigner plus ou moins du micropyle, le noyau de l'œuf accompagné de son globule polaire. Mais la position stable du spermatozoïde par rapport au micropyle permet d'affirmer que celui-ci ne peut pas se mouvoir dans le germe et que sa pénétration se fait toujours avec le même élan. Nous démontrerons que dans les cas de polyspermie, les spermatozoïdes supplémentaires qui ont passé dans le canal micropylaire doivent se mouvoir dans l'espace périvitellin avant d'entrer dans le germe. Dix minutes après la copulation, (fig. 8. *sp.*), le corps spermatique à contenu homogène est, sans avoir grossi d'une façon apparente, entouré d'une zone claire, circulaire, limitée très nettement par le contenu granuleux du germe. Le spermatozoïde a perdu sa forme primitive trente minutes après la fertilisation (fig. 9. B), il est devenu ovale et a un peu grossi. C'est à ce stade que nous avons pu constater dans son voisinage immédiat une sphère se colorant en rose pâle, rappelant tout-à-fait l'espace clair circulaire qui apparaît lors de l'expulsion du second globule polaire (fig. 14 B *s. a.*). A partir de ce moment, le spermatozoïde continue à grossir et son homogénéité disparaît petit à petit. Quarante minutes après la fertilisation, on remarque (fig. 10 B) dans le protoplasme granuleux qui l'entoure, quelques courtes rangées rayonnantes de granulations.

Une heure et demie après son arrivée dans le germe, le corps spermatique mesure 0,004 *mm.* (fig. 11 B); à une de ses extrémités, ou dans son voisinage immédiat, existe un cercle rose, coupe optique d'une sphère de laquelle partent une quantité de fibrilles radiaires longues et distinctes, faites de granulations réunies par des interfils et toujours plus réfringentes que celles qui composent la presque totalité du germe. De deux à trois heures après la copulation, ce cercle ou ce corps sphérique très distinct est séparé de son lieu d'origine (fig. 13, 14, C). C'est la sphère attractive qui accompagnera désormais le spermatozoïde jusqu'au moment de sa réunion avec le pronucléus femelle. L'observation de germes colorés et enfermés in toto ne nous ayant pas permis de constater autre chose que ce qui vient d'être décrit, nous avons pratiqué des coupes à travers des germes du même âge dans lesquelles nous n'avons jamais réussi à voir de corps central, le spermocentre que contient ordinairement la figure solaire.

Si nous comparons maintenant les spermatozoïdes que représentent les fig. 8, 10 et 11 nous ne pouvons nous empêcher de considérer le corps sphérique homogène accolé au corps spermatique trente minutes après sa fertilisation, comme étant la sphère attractive qui se sépare peu à peu du spermatozoïde.

Pendant que ces phénomènes se sont effectués, le germe a subi des modifications importantes. Son protoplasme s'est condensé à la surface du vitellus avec lequel il reste en relation intime par l'intermédiaire de nombreux prolongements. C'est aux dépens du protoplasme du germe que se sont formées les fibrilles des sphères attractives qui, très courtes au début, croissent toujours en longueur. Ces fibrilles nous rappellent les fins pseudopodes des Héliozoaires.

Depuis que VAN BENEDEN et NEXT (3) ont affirmé que la sphère attractive avec son corpuscule central constitue un organe permanent, non seulement dans les premiers blastomères, mais dans toute cellule, l'attention des naturalistes s'est portée sur cet organe et nous savons maintenant, grâce aux travaux récents, que cette différenciation cellulaire existe dans nombre d'œufs d'invertébrés, dans des cellules animales et végétales appartenant aux tissus les plus divers (Voir sur ce sujet les travaux publiés par BOVERI (10), FLEMMING (14), HENNEGUY (23), VAN DER STRICHT (39) et GUIGNARD (19) etc.

HOFFMANN (25) a vu, puisqu'il les dessine, les sphères attractives accom-

pagnant, l'une le pronucléus mâle, l'autre le pronucléus femelle, dans les œufs transparents de *Scerpaena porcus*, mais il les désigne sous le nom de "SONNE".

AGASSIZ et WHITMAN (1) signalent la présence d'une sphère attractive dans les œufs de *Ctenolabrus* 30 minutes après la pénétration du spermatozoïde, c'est-à-dire au moment où la fécondation va s'opérer; ils n'ont pas pu découvrir leur origine.

(Quoique BÖHM (8) ait assisté à l'expulsion du second globule polaire dans l'œuf de la Truite, il ne parle pas de la sphère attractive à ce moment-là; du reste, ce n'est que 3 h. 30 m. après la pénétration du spermatozoïde, qu'il constate dans le germe la présence des deux sphères attractives et il dit à ce propos p. 68 „3 Stunden 30 Minuten (Fig. 9) erscheinen an einer Seite des Spermakernes (m), welcher die gewöhnliche Gestalt eines ruhenden Kernes angenommen hat anstatt einer Sonne zwei solcher, die mit grösster Wahrscheinlichkeit aus einer hervorgegangen sind“.

VAN BENEDEN et NEYT (3 p. 59) n'ont pas pu observer, dans l'œuf de l'*Ascaris*, les sphères attractives au moment de la formation du globule polaire et ils écrivent: "nous ne pouvons rien dire de certain quant à leur origine"; cependant ils supposent que les sphères attractives dérivent de la division qui donne naissance au second globule polaire. Pour BOVERI (10) l'origine des deux sphères attractives qui présideront à la fécondation et à la segmentation de l'œuf est à chercher dans la division de la sphère attractive qui accompagne le spermatozoïde, la sphère attractive de l'œuf s'atrophiant. VEJDOWSKY (40) étudiant la fécondation chez le *Rynchelmis* est aussi de cette opinion. BALBIANI (2), envisage le noyau vitellin des œufs d'araignée comme un centrosome femelle dégénéré ayant perdu sa signification physiologique pour la vie cellulaire. Déjà en 1879, FOL (16) avait signalé après le détachement des cellules polaires un centre marchant dans l'œuf en avant du pronucléus femelle, lorsque celui-ci quitte la périphérie pour gagner les régions profondes de l'œuf. Deux ans plus tard, MARK confirmait ce fait, en décrivant dans l'œuf de la limace une figure rayonnée partant d'un point situé en avant du pronucléus femelle et l'entraînant à sa suite. Depuis lors, le regretté FOL (17) étudiant la fécondation de l'œuf du *Strongylocentrotus lividus* confirmait ses premières observations pendant que GUIGNARD (20) observait des faits semblables chez les plantes. Il ressort donc des observations de ces deux naturalistes et des nôtres, que la sphère attractive du pronucléus femelle provient du noyau de l'œuf et n'a pas une autre origine.

Les deux pronucléus jusqu'à la fécondation.

A partir d'une heure et demie après la fertilisation, le spermatozoïde est, nous l'avons démontré, accompagné d'une sphère attractive; nous l'appellerons désormais pronucléus mâle. Entre deux heures et quatre heures, alors que le noyau du germe est en voie de rompre toute relation avec le second globule polaire, une sphère attractive semblable à la première est située dans le voisinage du pronucléus femelle. Le distance qui sépare les deux pronucléus varie, ce qu'indiquent bien les fig. 7, 9, 14, 15, 17; mais à partir de quatre heures,

elle tend à devenir toujours plus petite, ceux-ci devant entrer en conjonction. Mais jusqu'au moment où ce phénomène se passera, les sphères attractives resteront toujours à 0,020 *mm* de distance de leurs noyaux respectifs.

Quatre heures après la fertilisation, le pronucléus mâle (fig. 15 B) toujours ovale, bien limité, ayant un peu grossi, n'a plus la même structure, son contenu s'est divisé en spermatomérîtes, en petites sphérules d'égale grosseur, de même aspect, dont nous n'avons pu déterminer le nombre.

Quant au pronucléus femelle, il n'a pas de membrane nucléaire, son contenu est fait de grains irréguliers composés de microsomes; ce sont les ovomérîtes qui se constituent. L'étude des coupes faites à travers les germes du même âge confirment ce que montrent les germes enfermés *in toto*. La sphère attractive du pronucléus femelle encore en relation avec le second globule polaire est réellement située à côté de celui-ci, c'est toujours le même espace clair dans lequel on ne remarque aucun vestige de corpuscule central ou ovocentre (fig. 16 A, *s. a.*). Il en est de même pour la sphère attractive du pronucléus mâle qui a exceptionnellement une forme ovulaire; le spermocentre est invisible (fig. 16 B, *s. a.*).

Cinq heures après la pénétration du spermatozoïde, nous ne remarquons pas encore de changements notables, soit dans la structure des pronucléus et de leurs sphères, soit dans leurs positions réciproques; seules, les sphérules du pronucléus mâle semblent être devenues plus évidentes; le pronucléus femelle paraît aussi mieux délimité et séparé du germe granuleux qui l'environne. La fig. 17 représente deux pronucléus qui, cinq heures après la fertilisation, se trouvaient exceptionnellement très près l'un de l'autre; quoique très rapprochés, leur structure est celle que nous venons de décrire pour les noyaux situés à la distance ordinaire. Cette constatation est intéressante parce qu'elle prouve avec évidence que si la conjonction s'opère à un moment donné, toujours le même pour tous les œufs d'un même lot, c'est parce qu'il faut aux pronucléus le même temps pour se préparer à cet acte et qu'il ne peut s'accomplir sans cette préparation. A partir de cinq heures, le contenu du pronucléus femelle se condense, les microsomes tassés les uns contre les autres forment également des sphérules nombreuses dont l'ensemble constitue un corps ovulaire ayant non seulement le même aspect, mais encore la même grosseur que le pronucléus mâle. Six heures ou six heures et demie après la fertilisation, l'identité entre les deux

pronucléus est parfaite; ils ont les mêmes dimensions, leur structure paraît être identique et ils se colorent également bien; il est impossible de les distinguer l'un de l'autre (Fig. 18). Escortés de leurs sphères attractives, ils se sont en outre rapprochés et la distance qui les sépare n'est plus que de 0,018 *m. m.*; la sphère attractive mâle, le pronucléus mâle, le pronucléus femelle et la sphère femelle, ces quatre éléments sont situés dans un même plan équatorial, suivant une ligne droite dont les sphères occupent les extrémités. Les fibrilles des sphères s'étendent à une grande distance dans le vitellus du germe et celles qui émanent des secteurs qui se regardent sont intimement entre-croisées les unes avec les autres, ensorte que les pronucléus sont enfermés dans une sorte de chiasma. C'est ainsi que se prépare l'acte de la fécondation que nous allons étudier. Relevons le fait que dans aucun des nombreux germes examinés, dans aucune coupe, nous n'avons pu constater, sauf dans les cas de polyspermie que nous décrirons, d'autres corps nucléaires pouvant provenir soit du pronucléus mâle, soit du pronucléus femelle; nous pensons aux „Partialkerne“ ou aux „Mérocystenkerne“ qui ont été décrits dans des germes de l'œuf de la Truite et des poissons Sélaciens.

AGASSIZ ET WHITMAN (1) ayant à leur disposition des œufs transparents de poissons marins ont pu faire toute une série de belles observations sur les mouvements que présente l'œuf submergé dans sa membrane coquillière. D'accord avec HIS (24) ces auteurs admettent que le micropyle est excentrique et ils ajoutent, p. 20. „It will be seen from Figs. 1—7 that the spermatie(?) body shows no constant relation either to the micropyle or to the spindle, and this fact certainly suggests that the spermatozoide may move about inside the egg membrane before entering the egg.

L'origine de la sphère attractive accompagnant le spermatozoïde a été souvent discutée. C'est O. HERTWIG (26) qui le premier a vu dans des œufs d'Oursins une figure étoilée avec le spermatozoïde, mais il la centrail sur le noyau spermatique. FOL (16), après lui, a fourni la preuve que cette figure étoilée était centrée sur un point situé en avant du noyau spermatique. FLEMING (15), confirme les observations de Fol et suppose que la tache claire qui renferme le noyau spermatique pourrait provenir de la partie postérieure de la tête du spermatozoïde. Nous avons déjà rappelé que VAN BENEDEN (5) pensait que les deux sphères attractives apparaissaient simultanément dans l'œuf. BOVERI (10) rapporte leur origine au spermatozoïde. Celui-ci occupe d'abord le centre d'une figure étoilée faite d'archoplasme, puis il la quitte, alors apparaissent dans cette figure deux corpuscules, les centrosomes nés par division d'un corpuscule unique, les deux corpuscules occupent le centre des deux sphères

attractives. BOVERI admet que le corps spermatique apporte avec lui son corpuscule central. FOL (17), VEJDOWSKY (40), PLATNER (36) ont confirmé par des faits cette dernière manière de voir. GUIGNARD (20) a découvert la présence d'un centre dans la cellule mâle du tube pollénique chez les plantes; enfin BRAUER (12) vient de démontrer la présence d'un centrosome dans le noyau des cellules spermatiques chez l'*Ascaris megalocephala*. Avec HOFFMANN (25), les observateurs qui ont étudié les premiers stades embryonnaires des œufs de poissons ont en général tous décrit le noyau spermatique au centre d'une figure étoilée, c'est ce qu'ont fait AGASSIZ ET WHITMAN (1). Etudiant les phénomènes de la fécondation dans l'œuf du *Petromyzon*, BÖHM (9) avait déjà remarqué, 15 minutes après la fécondation, une figure étoilée, un aster, autour de la tête du spermatozoïde, mais celle-ci n'en formant pas le centre. KUPFFER (30) constata quelque chose d'analogue dans l'œuf de la truite 1 heure après la fertilisation. Enfin BÖHM étudiant le même matériel, est d'accord avec nous pour démontrer que dans cet œuf, la sphère attractive est située à une certaine distance du corps spermatique (fig. 6); mais il n'a pas pu observer sa formation.

Fécondation.

Si la méthode des coupes ne nous a pas été d'une bien grande utilité pour nous aider à démêler la marche des phénomènes que nous venons de décrire, elle nous a par contre fourni quelques renseignements précieux sur la conjonction des pronucléus mâle et femelle.

Envisageant la fig. 18 et tenant compte de ce que l'on sait sur le rôle dynamique des sphères attractives, on peut faire la supposition suivante. Les deux pronucléus escortés de leurs sphères attractives s'étant jusqu'ici rapprochés l'un de l'autre, il est naturel d'admettre que ce rapprochement va se continuer d'une façon régulière et amener la juxtaposition des deux pronucléus avec la fusion des deux sphères en une seule. C'est en effet ce qui peut se passer; la fig. 19, représentation fidèle d'une coupe d'un germe fixé sept heures après la fertilisation, le prouve. Les deux pronucléus identiques ne sont plus séparés l'un de l'autre que par une bande très mince de protoplasme granuleux. Tout en gardant leur forme ovale, ils ont encore un peu grossi puisqu'ils mesurent 0,006 *m. m.*; mais leur structure a complètement changé. Chaque membrane nucléaire limite maintenant un contenu réticulaire dans lequel on ne voit plus trace de sphérules; celles-ci sont remplacées par de grains de chromatine qui se colorent très bien. Que sont devenues les sphérules, de quelle façon est-ce que leur contenu s'est transformé en un réticule? Nous avouons notre ignorance à cet égard. Les deux sphères attractives sont en partie confondues, car les fibrilles appartenant aux secteurs qui se regardent ont disparu. Mais les pronucléus peuvent se rapprocher

dans d'autres conditions; c'est à dire que les attractions qu'exercent la sphère femelle sur le pronucléus mâle et la sphère mâle sur le pronucléus femelle ne sont pas égales et que l'une d'elle doit être plus violente que l'autre; ce cas est l'exception (fig. 20). L'identité dans la structure des pronucléus et des sphères ne nous permet pas de décider si, dans ce cas particulier, c'est la première ou la seconde de ces attractions qui est la plus forte; les faits acquis pourraient nous engager à admettre que c'est la sphère accompagnant le pronucléus mâle qui joue le rôle prépondérant. La fig. 20 est encore intéressante à étudier parce qu'elle fait voir que la conjonction des pronucléus, dont le contenu est toujours réticulaire, peut aussi avoir lieu avant celle des sphères. Comme dans les figures précédentes, les quatre éléments en jeu sont encore placés dans un même plan équatorial et suivant une ligne droite, les deux sphères étant toujours aux extrémités.

Dans les germes fixés sept heures et demie après la copulation, la fusion des sphères est accomplie, c'est la phase auréole; elles n'en forment plus qu'une dont le centre est occupé par les deux pronucléus en conjonction complète (fig. 21). Dans notre note préliminaire, nous annonçons que la fusion des pronucléus s'opérait huit heures après la fertilisation et qu'à neuf heures, le noyau de segmentation était constitué dans le germe. Nous n'avions alors à notre disposition que des germes enfermés en entier (fig. 23); mais ceux-ci débités en coupes font voir qu'à 8 heures (fig. 22) les contenus des deux pronucléus sont encore séparés dans l'intérieur de l'auréole, qu'ils le sont encore à neuf heures (fig. 24) et que ce n'est qu'à neuf heures et demie ou dix heures après la fertilisation (fig. 25) que l'acte de la fécondation est consommé; c'est-à-dire que les deux pronucléus ne forment plus qu'un noyau qui sera le noyau de segmentation.

Pendant que la conjonction s'opère, les membranes des deux pronucléus ont peu à peu disparu aux surfaces en contact et on voit dans l'auréole deux masses réticulées en forme de demi-lune. Si nous comparons les figures 20, 21, 22, 24, nous remarquons que la conjonction des pronucléus a presque toujours lieu dans le même sens, c'est-à-dire suivant un plan méridien perpendiculaire à la surface du germe. Une seule fois, nous avons vu cette conjonction s'opérer dans un plan équatorial (fig. 20).

Le noyau de segmentation ovale est horizontal, couché au milieu du germe selon son grand axe (fig. 25). Très bien limité,

son contenu est un réticule fait de microsomes régulièrement distribués en son centre comme à la périphérie.

Ainsi, neuf heures après la fertilisation, les éléments des pronucléus mâle et femelle sont séparés et à neuf heures et demie, ils sont intimément et également mélangés les uns avec les autres, c'est-à-dire que dans une portion quelconque du noyau de segmentation, on doit trouver, en nombre égal, des microsomes des deux pronucléus du père et de la mère. A ce moment, la phase auréole est bientôt terminée puisque les fibrilles des sphères confondues sont en voie de disparition.

Nous envisageons le mélange intime des microsomes comme une sorte de réédification qui doit précéder l'amphiasier de segmentation.

Dix heures après la fertilisation, un sillon divisera le germe en deux blastomères, il passera dans un plan méridien perpendiculaire au plan équatorial dans lequel était placé l'amphiasier.

Nous n'avons pas parlé du germe pendant ces dernières étapes du développement parcequ'il n'offrait pas de transformation notable. Il a continué à se concentrer, surtout au pôle animal de l'œuf, où parfois il se relève d'une façon très sensible. Les fibrilles des sphères ont continué à grandir, atteignant leur longueur maximale pendant la phase de l'auréole, puis nous les avons vu diminuer en longueur et en nombre après la conjonction complète des pronucléus. Quant au contenu des sphères attractives, nous devons répéter que nous ignorons ce qu'il doit être et nous n'avons jamais pu observer quelque chose qui rappelât, un centrosome, un ovocentre ou un spermatocentre.

HOFFMANN (25) a suivi les phénomènes de la fécondation dans des œufs transparents de *Scorpaena porcus* et de *Julis vulgaris*; il écrit à ce propos p. 103: „Um beide Kerne stehen die Protoplasmakörnchen in scharf ausgeprägten Radien. Beide Kerne werden nun allmählich grösser und grösser, wandern auf einander zu, um schliesslich miteinander zum ersten Furchungskern zu verschmelzen. Noch während der Conjugation bildet sich aus den mit einander verschmelzenden Kernen eine neue Spindel, deren longitudinale Axe in der Eiaxe liegt.“ BÖHM (9) donne d'intéressants détails sur la conjonction des pronucléus chez le *Petromyzon*. 1 heure après la fertilisation le pronucléus mâle est venu se placer près du pronucléus femelle, la conjonction se fait perpendiculairement à l'axe de l'œuf et pendant que les pronucléus se touchent, la figure étoilée accompagnant le pronucléus mâle reste à côté de celui-ci, pareille figure manquant absolument au pronucléus femelle jusqu'à la constitution du noyau de segmentation.

AGASSIZ ET WHITMAN (1) n'ayant aperçu, tout d'abord, que la figure solaire qui accompagne le spermatozoïde affirment (p. 24): „the male pronucleus becomes the centre around which the discoidal aggregation of protoplasm takes place, and towards which after the formation of the second polar globule the female pronucleus gravitates.“ Ils ajoutent que 20 minutes après la fertilisation, le pronucleus femelle est en route pour rejoindre le pronucleus mâle; les deux pronucleus ont la même dimension et la même structure, mais la figure solaire qui entoure le premier est moins apparente.

Quoique faisant jouer un rôle prépondérant au pronucleus mâle, ces observateurs supposent que les deux pronucleus doivent être identiques au point de vue morphologique et physiologique.

RÜCKERT (38) écrit à propos de la fécondation des œufs de Sélaciens (p. 317): „Die inzwischen etwas länglich gewordenen Vorkerne treten zunächst mit ihren Schmalseiten in Kontakt, platten sie aber dann gegen die Berührungspunkte zu ab. Im Anfang der Berührung finde ich den männlichen Kern entweder noch schräg unter dem weiblichen oder horizontal neben ihm.“ Les pronucleus en contact, entrent ensuite dans une phase de repos qui transforme leur contenu en un peloton unique, celui du premier noyau de segmentation.

BÖHM (8) a vu dans l'œuf de la Truite, 5 h. 15 après la fertilisation, les deux pronucleus grossis avec leurs contenus transformés en ovomérites et spermatomérites accolés l'un à l'autre. Le pronucleus femelle tend à se placer au-dessus du pronucleus mâle. 7 h. 15 après la fertilisation, les deux noyaux toujours accolés, sont l'un au-dessus de l'autre, le pronucleus femelle en haut pendant que les deux sphères attractives sont placées vis-à-vis l'une de l'autre, de telle façon que leurs centres touchent à la fois les deux pronucleus.

C'est BÖHM (9) qui le premier, a le mieux décrit chez les poissons, les transformations dont les pronucleus sont le siège avant la fécondation, proposant de nommer spermatomérites les sphérules du pronucleus mâle et ovomérites celles du pronucleus femelle.

AGASSIZ ET WHITMAN (1) ont depuis lors remarqué ces changements de structure dans le pronucleus mâle des œufs de *Ctenolabrus* et RÜCKERT (38) dans les pronucleus d'œufs de poissons Sélaciens.

Les observations que BÖHM (8) a faites en étudiant l'œuf de la Truite ne concordent pas toujours avec les miennes. Ainsi, déjà à partir de 4 h. 15 après la fertilisation, il décrit et figure une membrane nucléaire plus épaisse au pronucleus mâle qu'au pronucleus femelle; les sphérules du premier sont plus petites que celles du second qui se conduit encore d'une façon spéciale vis-à-vis des colorants, puisqu'il est toujours plus clair que l'autre. Enfin, détail qui n'est pas sans importance à partir de 3 h. 30 après la fertilisation, cet observateur a vu des ovomérites se séparer du pronucleus et jusqu'à 7 h. 15 m., il signale dans le voisinage des pronucleus des noyaux „Partialkerne“ qui proviendraient du pronucleus femelle.

Polyspermie.

Si des faits précis peuvent être invoqués pour affirmer que des cas de polyspermie se présentent dans la fécondation d'œufs d'In-

vertébrés, nous démontrerons que des cas pareils peuvent être observés dans la fécondation de l'œuf de la Truite et que la polyspermie n'est point pathologique, mais un acte physiologique se passant dans des conditions normales de la vie.

La fig. 26 représente, fixé une heure et un quart après la fertilisation, un germe enfermé in toto et dessiné à un faible grossissement. La capsule de l'œuf ayant été enlevée, l'ouverture micropylaire est absente; mais, par contre, on distingue dans le germe, le pronucléus femelle *p. n. f.* avec son second globule polaire expulsé dans son voisinage *g. p.*² et, situé à une distance variable d'un germe à l'autre, le pronucléus mâle. A côté de ces corps nucléaires très distincts, on en compte encore onze autres dans le germe en question disséminés ici et là dans le protoplasme.

A un faible grossissement, on reconnaît sans peine le pronucléus mâle au milieu des autres corps nucléaires parcequ'il est plus gros que tous les autres. Nous avons réuni sur la figure 27 le corps spermatique et deux autres corps nucléaires appartenant à un autre germe polyspermatique et les avons dessinés à un fort grossissement; on constate entre eux des différences notables. Tandis que l'un, le pronucléus mâle, sphérique homogène, entouré d'une sphère attractive en voie de formation, mesure 0,004 *m. m.* de diamètre, les autres n'ont que 0,003 *m. m.* de grosseur; ils sont en outre plus ou moins cordiformes et chacun d'eux possède une tache claire dans sa région la plus épaisse. En étudiant ces corps nucléaires dans des germes plus avancés, on voit qu'ils changent peu à peu d'aspect. La fig. 28 représente un germe polyspermatique fixé six heures après la fertilisation. Les deux pronucléus *p. n. f.* et *p. n. m.* sont divisés en sphérules, chacun d'eux a près de lui sa sphère attractive et le tout est encore en ligne droite comme dans la fig. 18. Dans le voisinage d'un des pronucléus, on remarque un corps nucléaire *sp. s.* Comme ses congénères, il est plus petit que les pronucléus; il a une forme irrégulière, son contenu granuleux est vacuolaire, et cependant tout près de lui à une distance de 0,01 *m. m.*, on observe une belle sphère attractive. Nous avons recherché ces corps nucléaires dans des stades plus avancés encore, mais en vain, ensorte que nous ne sommes pas renseigné sur leur sort. Peut-être sont-ils résorbés petit à petit dans le germe? En tout cas, ils ne se fusionnent jamais avec aucun des deux pronucléus. Que penser de ces corps faits de chromatine se colorant très bien, ressemblant au début aux spermatozoïdes avec lesquels on les confondrait et acquérant plus tard, comme eux, une sphère attractive?

Nous ne nous trompons pas, lorsque nous affirmons que ces noyaux ne peuvent pas provenir de l'un ou de l'autre des pronucléus, leur dissémination dans les germes où nous les avons vus parle contre une pareille hypothèse; du reste, ils sont trop gros, se voient dans des germes trop jeunes et ils ne pourraient avoir de sphère attractive; par contre, ce sont ces mêmes raisons qui nous engagent à ne voir dans ces noyaux que des spermatozoïdes plus ou moins modifiés. L'œuf de la Truite ne permettant pas d'observer directement la pénétration du spermatozoïde, nous sommes donc forcé de nous représenter par la pensée comment les choses peuvent et doivent se passer. Le fait est établi: plusieurs spermatozoïdes peuvent s'engager dans le canal micropylaire, où ils sont tous obligés d'aller les uns après les autres. Le premier engagé arrive dans le germe; là, soit qu'il perde très rapidement sa queue ou que la substance du germe soit pour lui un obstacle, ou que tout mouvement ait été anéanti, il est forcé de s'arrêter à une distance du micropyle qui, nous l'avons déjà dit, est pour ce spermatozoïde arrivé premier toujours la même, à peu de chose près. Que deviennent ceux qui suivent? Leur dissémination dans toute l'étendue du germe démontre suffisamment que leur trajet est différent. Nous supposons, et cela nous paraît très-plausible, que les spermatozoïdes qui suivent les premiers dans le canal micropylaire sont entraînés par l'eau qui doit passer par ce canal plus rapidement que par les pores, dans l'espace périvitellin qui existe au moment où l'œuf est immergé et que de là, ces spermatozoïdes égarés arrivent dans le germe, perforant la surface de celui-ci un peu partout. Le fait qu'une heure et quart après la fertilisation, ces spermatozoïdes sont plus petits que le premier arrivé dans le germe, pourrait encore démontrer qu'ils se meuvent quelque temps peut-être dans l'espace périvitellin avant de pénétrer dans le germe de l'œuf et qu'ils n'y grossissent pas aussi rapidement que le premier parce qu'ils ne se trouvent pas dans les mêmes conditions de vie.

Si nous comparons la série des germes que nous possédons de 1892 avec celle de 1893, la première série provenant d'une fécondation faite avec plusieurs gouttes de semence, la seconde, d'une fécondation que nous avons crue manquée parcequ'il ne nous restait qu'un mâle dont nous n'avions obtenu qu'une goutte de laitance, nous constatons de nombreux cas de polyspermie dans la série de 1892 tandis que nous n'en avons que deux en 1893. Jusqu'à ce que l'expérimentation soit venue fournir la preuve contraire, il est permis de supposer

que les cas de polyspermie peuvent être provoqués chez les poissons par une plus ou moins grande abondance de semence au moment de la fertilisation, qu'en tout cas la polyspermie n'est pas constante.

Qu'advient-il de ces œufs polyspermatiques; se développent-ils normalement; meurent-ils ou sont-ils l'origine de cas tératologiques? Nous ne le savons pas. En tout cas, ce que nous avons pu constater, c'est que six heures après la fertilisation, aucun des phénomènes qui caractérisent la maturation du pronucléus n'a été altéré. La fig. 28 démontre cette affirmation. Lorsque cette étude paraîtra, nous aurons déjà fait quelques expériences pour essayer d'élucider les questions intéressantes que soulève la polyspermie.

KUPFFER (29. p. 86) a le premier signalé dans l'espace périvitellin de l'œuf du Hareng la présence de nombreux spermatozoïdes; il en a compté une fois 23, une autre fois 231. Plus tard, le même observateur a vu plusieurs spermatozoïdes dans les œufs du Petromyzon et dans l'œuf du Crapaud. HOFFMANN (25 p. 91) affirme au contraire qu'il n'a jamais vu un seul spermatozoïde dans l'espace périvitellin de l'œuf du Hareng ou d'autres poissons marins. Pour cet auteur, le globule polaire expulsé bouche le canal micropylaire et il ne peut pénétrer dans l'œuf qu'un spermatozoïde.

Si HERTWIG et FOL (26 et 16) ont assisté à la pénétration de plusieurs spermatozoïdes dans les œufs d'Oursins, ceux-ci, disent-ils ne se développent pas normalement. VAN BENEDEN (4) a signalé la présence de deux zoospermes dans le vitellus de l'œuf de l'Ascaris; mais il n'est pas arrivé à être renseigné sur leur sort; quelques années auparavant, le même auteur (5) avait décrit de nombreux zoospermes dans l'espace périvitellin de l'œuf des mammifères. HENKING (21) a vu plusieurs spermatozoïdes pénétrer dans l'œuf du *Pieris brassicae* et PLATNER (37) a fait la même observation en étudiant l'œuf de l'*Arion empiricorum*.

Nous avons ailleurs relevé le fait que BÖHM (8 p. 73) signalait dans les germes d'œufs de Truite des noyaux qu'il fait provenir du pronucléus femelle; quant à leur sort il s'exprime comme suit: „Aus angegebenen Gründen nehme ich an, dass die Partialkerne um die 8. Stunde als solche verschwinden, also entweder sich auflösen oder verschmelzen a) mit dem Spermakern, b) mit dem Eikern.“ Et plus loin: „Alles spricht dafür, dass sämtliche Partialkerne mit dem weiblichen Vorkerne confluieren. Man sieht förmlich alle Stadien des Verschmelzens wie ich in meiner ausführlichen Arbeit durch zahlreiche Belege nachzuweisen hoffe.“

Nous nous demandons si les „Partialkerne“ de BÖHM qui ne signale aucun cas de polyspermie ne seraient pas des spermatozoïdes plus ou moins modifiés. Quoiqu'il en soit, BÖHM en écrivant ces lignes n'est pas d'accord avec RÜCKERT (38 p. 320) qui a vu dans le germe fécondé de poissons Sélaciens, à côté des pronucléus très reconnaissables, un nombre variable d'autres noyaux dont il dit: „dieselben erleiden schrittweise die gleichen Strukturveränderungen wie

die Vorkerne, speziell wie der männliche.“ Puis plus loin (p. 321 et 322) parlant de leur origine et de leur sort, il écrit: „dieser Befund lässt nur eine Deutung zu, dass mehrere Spermaköppe in die Keimscheibe eindringen und hier ausser dem männlichen Vorkern auch merocyten Kerne liefern.“ Ce serait donc là, pour cet observateur, l'origine des éléments cellulaires du parablaste chez les poissons. OPPEL (33.) étudiant les germes d'*Anguis fragilis* a également observé plusieurs noyaux spermatiques „Nebenspermakerne“ comme il les désigne. S'il n'est pas fixé sur leur sort, seule la polyspermie peut expliquer d'après lui, leur origine et leur présence dans les germes.

Conclusions.

Nous concluons des faits que nous venons d'exposer en tirant les déductions suivantes :

Le germe existe dans l'œuf avant qu'il ait été submergé et la fertilisation n'a rien à faire avec son apparition.

La vésicule germinative ne disparaît pas vers la fin de la maturation de l'œuf, elle se transforme en fuseau polaire alors que l'œuf est encore contenu dans la cavité abdominale.

Le premier globule polaire est expulsé si tôt après la ponte.

En contact avec l'eau, le contenu de l'œuf (germe et vitellus) doit exécuter quelques mouvements qui, quoique peu accentués et de courte durée, suffisent pour faire varier la position du noyau de l'œuf par rapport au micropyle.

La fertilisation a lieu une demi-minute après le mélange des produits sexuels.

Ordinairement, il ne pénètre qu'un spermatozoïde dans le germe; la polyspermie est l'exception.

Le second fuseau polaire prépare en même temps l'expulsion du second globule polaire et l'élaboration de la sphère attractive du pronucléus femelle.

Si la sphère attractive du pronucléus mâle tire son origine de la tête du zoosperme, la sphère attractive du pronucléus femelle tire la sienne du noyau de l'œuf ayant élaboré les deux corpuscules polaires.

La maturation de l'œuf n'est complète que lorsque les deux sphères attractives ont été élaborées par les deux noyaux sexuels.

Le fait que les deux globules polaires sont expulsés dans des œufs non fécondés prouve que la fertilisation n'a rien à faire avec ces phénomènes; ce qui explique pourquoi ils peuvent se passer en entier, soit avant, soit après cet acte.

Si le protoplasme du germe de l'œuf joue vis à vis des pronu-

cléus le rôle d'un stratum nutritif, il ne reste pas indifférent pour les centres des futures sphères attractives, car ils y trouvent rapidement les éléments contractiles qui leur permettront de jouer leur rôle dynamique.

Les phénomènes de nutrition doivent être les mêmes pour les deux pronucléus puisqu'ils s'identifient et cela dans le même espace de temps.

Les pronucléus mâle et femelle sont attirés l'un vers l'autre avec la même intensité par les sphères attractives; toutefois il peut arriver, que l'une d'elles agisse momentanément avec une intensité plus grande.

La conjonction des pronucléus se fait, entre neuf et dix heures après la fertilisation, dans un plan méridien, plus rarement dans un plan équatorial; elle débute très probablement par la fusion des deux sphères.

Lorsque les sphères attractives sont confondues, que les membranes nucléaires ont disparu, les contenus identiques des deux pronucléus ne sont pas encore mélangés.

Cependant ce mélange s'opère; il a pour résultat un noyau dont le réticule unique est contenu dans une membrane évidente.

Une réédification complète du noyau en conjonction précède donc la formation du premier fuseau de segmentation.

Le sillon qui divisera le germe en deux blastomères passera dans un plan perpendiculaire au plan équatorial dans lequel se trouve le fuseau de segmentation.

La polyspermie n'est pas pathologique.

Les spermatozoïdes supplémentaires doivent pénétrer dans le germe après s'être préalablement dispersés dans l'espace périvitellin.

C'est le premier spermatozoïde qui a réussi à pénétrer dans le canal micropylaire qui seul se transformera en pronucléus mâle.

Tout spermatozoïde supplémentaire est accompagné d'une sphère attractive et doit probablement dégénérer.

Index bibliographique.

- 1) A. AGASSIZ AND C. O. WHITMAN. The development of osseous fishes II. The pre-embryonic stages of development. Memoirs of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College. Vol. XIV. No. 1. Part. II. — 1. 1889.
- 2) E. G. BALBIANI. Centrosome et „Dotterkern“. Journal de l'Anatomie et de physiologie XXIX^e Année No. 2. 1893.
- 3) E. VAN BENEDEN et A. NEYT. Nouvelles recherches sur la fécondation et la division cellulaire chez l'Ascaride mégalocephale. Bulletins de l'Académie royale de Belgique 57^{me} année 3^{me} série T. XIV. 1887.
- 4) E. VAN BENEDEN. Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire. 1883.
- 5) id. La maturation de l'œuf, la fécondation, les premières phases du développement embryonnaire des mammifères. Bulletins de l'Académie royale de Belgique 1875.
- 6) H. BLANC. Note préliminaire sur la maturation et la fécondation de l'œuf de la Truite. Bulletin de la société vaudoise des sciences naturelles vol. XXVII. No. 105. 1891.
- 7) id. Pisciculture expérimentale. Chronique agricole 2^{me} année. No. 8. 1890.
- 8) A. BÖHM. Die Befruchtung des Forelleneies. Sitzungsberichte der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie zu München 1891.
- 9) id. Ueber Reifung und Befruchtung des Eies von Petromyzon Planeri. Archiv für mikroskopische Anatomie. Bd. XXXII. 1888.
- 10) TH. BOVERI. Zellen-Studien. Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft. Bd. XXII. 1888.
- 11) id. Zellenstudien. id. Bd. XXIV. 1890.
- 12) A. BRAUER. Zur Kenntniss der Spermatogenese von Ascaris megaloccephala. Archiv für mik. Anatomie. Bd. XXXII. 1893.
- 13) E. CALBERLA. Befruchtungsvorgang beim Ei von Petromyzon Planeri. Zeitschrift für wiss. Zoologie. Bd. XXX. 1877.
- 14) W. FLEMMING. Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle. Archiv für mik. Anatomie. B. XXXVII. 1891.
- 15) id. Beiträge zur Kenntniss der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen. Archiv für mik. Anatomie. Bd. XX. 1882.

- 16) H. FoL. Recherches sur la fécondation et le commencement de l'hénogénie. Mémoires de la société de physique de Genève. 1879.
- 17) id. Le quadrille des centres. Archives des sciences physiques et naturelles. 3^{me} période. T. XXV. 1891.
- 18) R. FUSARI. Sur les premières phases du développement des Téléostéens. Résumé de l'auteur dans les Archives italiennes de Biologie. T. XVIII. Fasc. 11. 1892.
- 19) L. GUIGNARD. Sur l'existence des sphères attractives dans les cellules végétales. Compt. rend. Acad. des Sciences. 9. mars 1891.
- 20) id. Nouvelles études sur la fécondation, comparaison des phénomènes morphologiques observés chez les plantes et les animaux. Annales des Sciences naturelles. Botanique. 7^{me} Série. T. XIV. 1891.
- 21) H. HENKING. Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. II. Zeitschrift für wiss. Zoologie. B. LI. 1891.
- 22) L. T. HENNEGUY. Recherches sur le développement des poissons osseux. Embryologie de la Truite. Journal de l'anatomie et de la physiologie. T. XXIV. 1888.
- 23) id. Nouvelles recherches sur la division cellulaire indirecte. Journal de l'anatomie et de la physiologie. T. XXVII. 1891.
- 24) W. HIS. Untersuchungen über das Ei und die Entwicklung der Knochenfische. Leipzig 1873.
- 25) C. K. HOFFMANN. Zur Ontogenie der Knochenfische. Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen. B. 21. 1881.
- 26) O. HERTWIG. Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies. Morphologisches Jahrbuch. Bd. 1. 1875.
- 27) N. KASTSCHENKO. Ueber den Reifungsprocess des Selachiereies. Zeitschrift für wiss. Zoologie. B. L. 1890.
- 28) J. S. KINGSLEY AND H. W. CONN. Some Observations on the Embryology of the Teleosts. Mem. of the Boston society vol. III. 1883.
- 29) C. KUPFFER. Die Entwicklung des Herings im Ei. Jahresberichte der Commission für Untersuchung der deutschen Meere. 1874—76.
- 30) id. Aktive Betheiligung des Dotters am Befruchtungsakte. Sitz-Berichte der k. bay. Akademie. 1882.
- 31) id. Die Befruchtung des Forelleneies. Bayerische Fischereizeitung. 1886.
- 32) C. KUPFFER UND BENNECKE. Der Vorgang der Befruchtung am Ei der Neunaugen. Königsberg 1878.
- 33) A. OPPEL. Die Befruchtung des Reptilieneies. Archiv für mik. Anatomie. B. XXXIX. 1892.
- 34) J. OELLACHER. Beiträge zur Geschichte des Keimbläschens im Wirbelthierei. Archiv für mik. Anatomie. B. 1. 1872.
- 35) G. PLATNER. Ueber die Bedeutung der Richtungskörperchen. Biologisches Centralblatt. B. VIII. 1889.

- 36) id. Beiträge zur Kenntniss der Zelle und ihrer Theilungserscheinungen. Archiv für mik. Anatomie. B. XXXIII. 1889.
- 37) id. Ueber die Befruchtung bei Arion empiricorum. Archiv für mik. Anatomie. B. XXVII. 1886.
- 38) J. RÜCKERT. Zur Befruchtung des Selachiereies. Anatomischer Anzeiger. B. VI. 1891.
- 39) O. VAN DER STRICHT. Contribution à l'étude de la sphère attractive. Archives de Biologie. T. XIV. Fasc. IV. 1892.
- 40) T. VEJDOVSKY. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen. H. 1. Reifung, Befruchtung und Furchung des Rhynchelmis-Eies. Prag 1888.
- 41) A. WEISMANN. Amphimixis oder die Vermischung der Individuen. Jena 1891.

Explication de la planche VI.

Grossissements employés: $\times$ 925 et $\times$ 90.

ap. l. f. signifie après la fertilisation.

- Fig. 1. Vésicule germinative du germe d'un œuf de Truite qui n'était pas prête pour la fécondation.
- Fig. 2. Vésicule germinative du germe d'un œuf prêt à être fécondé.
- Fig. 3. Premier fuseau polaire dans le germe d'un œuf enlevé de l'abdomen.
- Fig. 4. $\frac{1}{2}$ minute ap. l. f. Premier spermatozoïde arrivé dans le germe.
- Fig. 5. $\frac{1}{2}$ minute ap. l. f. Le premier globule polaire *gp.*¹ est expulsé près du noyau de l'œuf *n.*
- Fig. 6. 1 minute ap. l. f. Apparition du second fuseau polaire.
- Fig. 7. 5 minutes ap. l. f. A. Noyau femelle *n. f.* et le spermatozoïde *s. p.* dans le germe. Gross $\times$ 90. B. Le spermatozoïde Gross $\times$ 925. C. Le second fuseau polaire. Gross $\times$ 925.
- Fig. 8. 10 minutes ap. l. f. Le premier globule polaire *g. p.* Le spermatozoïde, *sp.* a été dessiné près du second fuseau polaire *fp.*², alors qu'il en était plus éloigné en réalité.
- Fig. 9. 30 minutes ap. l. f. A. Second fuseau polaire et spermatozoïde dans le germe. Gross 90. B. Spermatozoïde. C. Second fuseau polaire.
- Fig. 10. 40 minutes ap. l. f. A. Second fuseau polaire horizontal dans le germe. B. Le spermatozoïde élaborant son centre.
- Fig. 11. $1\frac{1}{2}$ heure ap. l. f. A. L'expulsion du second globule polaire est terminée. *gp.*², le pronucléus femelle *p. n. f.* lui est encore relié par des filaments achromatiques. B. Le spermatozoïde du même germe avec une sphère attractive.
- Fig. 12. 2 heures ap. l. f. Le second fuseau polaire est perpendiculaire à la surface du germe A. B. C. représentent trois coupes optiques de ce fuseau. Le second globule polaire *gp.*² espace clair avec auréole *c.* *pmf.* le pronucléus femelle.
- Fig. 13. Le spermatozoïde du même germe accompagné de sa sphère attractive.
- Fig. 14. 3 heures ap. l. f. A. Les pronucléus mâle et femelle dans le germe. Grosse $\times$ 90. Le second globule polaire. B. *gp.*². *Sa.* La sphère attractive du pronucléus femelle *p. n. f.* en voie de se séparer du second fuseau. C. Le pronucléus mâle et sa sphère attractive dans le même germe.

- 191] ÉTUDE SUR LA FÉCONDATION DE L'OEUF DE LA TRUITE. 29
- Fig. 15. 4 heures ap. l. f. A. Les pronucléus mâle et femelle d'un germe. B. Le pronucleus mâle *p. n. m.* accompagné de sa sphère attractive a un contenu déjà divisé en sphérules.
- Fig. 16. Coupes passant à travers un germe du même âge. A. *gp.*² Le second globule polaire expulsé à la surface du germe est encore en relation par des filaments achromatiques avec le pronucléus femelle *p. n. f.* qui se trouve dans la profondeur; près de lui est sa sphère attractive. *s. a.*
- Fig. 17. 5 heures ap. l. f. Germe contenant les pronucléus mâle *p. n. m.* et femelle *p. n. f.* exceptionnellement près l'un de l'autre. Le second globule polaire est visible *gp.*² les sphères attractives sont évidentes.
- Fig. 18. 6 heures ap. l. f. Les deux pronucléus identiques et en ligne droite avec leurs sphères attractives.
- Fig. 19. 7 heures ap. l. f. Coupe d'un germe montrant les deux pronucléus, à contenu réticulé, l'un près l'autre; les sphères en voie de conjonction.
- Fig. 20. 7 heures ap. l. f. Conjonction spéciale des deux pronucléus; les sphères attractives sont encore séparées l'une de l'autre.
- Fig. 21. 7½ heures ap. l. f. Coupe d'un germe qui montre que la conjonction des deux pronucléus est plus avancée: les deux sphères attractives sont confondues, c'est la phase auréole.
- Fig. 22. 8 heures ap. l. f. Coupe d'un germe. Les membranes des deux pronucléus ont disparu, mais leurs éléments nucléiniens ne sont pas encore mélangés.
- Fig. 23. 8 heures ap. l. f. Les pronucléus paraissent conjugués en un seul.
- Fig. 24. 9 heures ap. l. f. Les contenus des deux pronucléus conjugués ne se sont pas encore mélangés.
- Fig. 25. 10 heures ap. l. f. Le noyau de segmentation à contenu réticulé est constitué.
- Fig. 26. Germe polyspermatique fixé 1¼ heures ap. l. f. *p. n. f.* pronucléus femelle. *gp.*² second globule polaire *p. n. m.* pronucléus mâle *s. s.* spermatozoïdes supplémentaires. Gross. 90.
- Fig. 27. Germe polyspermatique fixé 1¼ heures ap. l. f. *p. n. m.* pronucléus mâle *sp.* les corps spermatiques supplémentaires *sps.* La sphère attractive en formation se voit autour du pronucléus.
- Fig. 28. Germe polyspermatique fixé 7 heures ap. l. f. A côté d'un des deux pronucléus en voie de conjugaison, existe un spermatozoïde supplémentaire accompagné de sa sphère attractive.
-



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der naturforschenden Gesellschaft zu Freiburg im Breisgau](#)

Jahr/Year: 1894

Band/Volume: [8](#)

Autor(en)/Author(s): Blanc Henri

Artikel/Article: [Etude sur la fecondation de l'oeuf de la Truite. 163-191](#)