

L'élément nucléinien pendant les divisions de maturation

dans l'œuf de l'*Aplysia punctata*

PAR

F. A. JANSSENS

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ
DE LOUVAIN

& G. A. ELRINGTON

CANDIDAT EN SCIENCES NATURELLES
ASSISTANT AU LABORATOIRE DE ZOOLOGIE

(Mémoire déposé le 15 mars 1904.)

L'élément nucléinien pendant les divisions de maturation

dans l'œuf de l'*Aplysia punctata*

Le but de ce travail est de décrire les formes absolument remarquables et démonstratives des chromosomes pendant les cinèses de maturation de l'œuf de l'*Aplysia punctata*. Le matériel de ce travail a été fixé par M. le Dr LEBRUN pendant un séjour à la Station zoologique de Naples. Les figures décrites se trouvent dans le dernier tractus de l'oviducte et dans les œufs à peine pondus. L'enrobage réussit très difficilement et il est à remarquer que deux enrobages menés absolument de la même façon ne réussissent pas toujours. Nous avons obtenu les meilleurs résultats avec la nouvelle méthode au sulfure de carbone décrite par M. HEIDENHAIN⁽¹⁾. La coloration à la méthode du même auteur donne de très bons résultats, mais a le désavantage de colorer très fort les plaques de vitelline. Cet inconvénient est diminué par la coloration à 72° C recommandée par l'un de nous⁽²⁾, mais aucune méthode ne l'évite complètement.

Première cinèse de maturation.

Les premières *prophases* de cette cinèse sont d'une étude impossible dans cet objet. Le nucléole très colorable et probablement très nucléinien

(1) *Ueber Paraffineinbettung mit Schwefelkohlenstoff*, Zeitschrift f. wiss. Mikroskopie, Bd XVIII, p. 166.

(2) F. A. JANSSENS & AD. MERTENS : *Étude microchimique et cytologique d'une Torula rose* ; La Cellule, t. XX, 2^d fasc.

de la vésicule germinative en cache presque complètement les divers stades ⁽¹⁾.

Au moment de la *disparition de la membrane* du noyau, on trouve dans l'aire nucléaire l'élément nucléinien sous la forme d'une ou plusieurs bandelettes noueuses. Il ne nous a pas été possible de démontrer *avec certitude* l'existence d'une division longitudinale de ces bandelettes; très souvent, nous y avons entrevu un tel clivage, d'une façon trop peu nette toutefois pour entraîner une conviction. Il est certain qu'une seule bandelette donne naissance à plusieurs chromosomes hétérotypiques juxtaposés, FIG. 1, *c-d*, *e-f*, *g-h*, *i-j* et *k* ⁽²⁾. La séparation complète suit de très près cette étape. Des *couronnes équatoriales* vues à plat à ce moment, FIG. 2, nous ont permis à plusieurs reprises de compter le nombre de bâtonnets. Il est de 16 comme dans l'*Aplysia depilans* d'après BOCHENEK ⁽³⁾.

Les deux segments pairs qui les constituent sont parfois enroulés, FIG. 3 (dyade de droite), FIG. 4, *d*, *l*; mais d'ordinaire les deux éléments sont droits et parallèles. Leurs extrémités sont le plus souvent libres, FIG. 1, *a*, *b*, *e*, et FIG. 2. Parfois, on voit les quatre bouts libres, FIG. 2, 1, 7, 8; parfois, deux bouts seulement sont visibles, 3, 6, 14, même figure. Ces chromosomes sont d'ailleurs déjà insérés au fuseau et les ascensions polaires ont d'ordinaire commencé. C'est pour cette raison qu'à certains endroits le chromosome est indéchiffrable, FIG. 2, 3, 6, 8. D'autres montrent encore deux V superposés, FIG. 2, 11, 12. Pour certains d'entr'eux, les anaphases sont déjà avancées et nous y voyons alors en raccourci des figures en croix à bras inégaux, FIG. 2, 4, 15.

Des *anaphases* un peu plus avancées nous mettent devant les yeux des figures absolument semblables à celles décrites par beaucoup d'auteurs

(1) Les chromosomes sont très souvent en contact avec le nucléole, comme cela a été vu par GÉRARD dans le *Prostheceræus vittatus* (O. GÉRARD : *L'ovocyte de premier ordre du Prostheceræus vittatus*; La Cellule, XVIII, 1er fascicule). Nous avions même cru au commencement de cette étude que le nucléole jouait un rôle au moins nutritif dans la formation des chromosomes. Nous sommes maintenant absolument persuadés qu'il n'en est rien. Dans l'espèce que nous étudions en ce moment, cet organe disparaît pendant la première cinèse. Il est rare qu'on le retrouve encore aux anaphases. Il n'en est pas ainsi dans d'autres espèces que nous avons observées et où la tache germinative gêne considérablement l'observation des phénomènes.

(2) Peut-être le cas que nous signalons ici est-il comparable à celui décrit par R. SCHOCKAERT dans le *Thysanozoon brocchi* (La Cellule, t. XX, 1er fasc., p. 136). Cet auteur émet l'opinion qu'une anse présentant une unité remarquable aux premières prophases de l'hétérotypic se scinde en plusieurs tronçons et fournit de cette manière plusieurs chromosomes.

(3) A. BOCHENEK : O Dojrzwaniu i zapłodnieniu jaja u ślimaka *Aplysia depilans*; Akadem. Umiejtnos. w Krakowie, t. XXXIX. — Dans ce travail, écrit en polonais et que nous nous sommes donné la peine d'examiner avec un interprète, l'auteur ne dit rien de la question qui nous occupe.

dans l'hétérotypie des éléments mâles, tant dans les plantes que dans les animaux ⁽¹⁾. Nous appelons l'attention du lecteur sur la ressemblance absolument frappante de ces figures avec celles du lis et encore plus des spermatoocytes des batraciens, FIG. 3 et 4 ⁽²⁾. Les différentes figures s'expliquent en général par l'insertion au fuseau, comme dans les liliacées, les tritons, le *Batrachoseps* et les phasmes. Une insertion médiane donnera généralement des figures en losanges, FIG. 3 et FIG. 4, *e, f*; tandis qu'une insertion plus ou moins excentrique produira des figures en E à branches courtes comme les chromosomes, FIG. 3, *3*, et FIG. 4, *a, b, c* ⁽³⁾. Cependant il y a un autre facteur qui joue ici un rôle pour donner leur figure aux chromosomes en ascension polaire, c'est l'adhérence plus ou moins grande des deux moitiés. Quand cette adhérence est complète sur toute la longueur, il se produira des croix à bras plus ou moins inégaux, FIG. 4, *h, i, j*, suivant que l'insertion aura été médiane, FIG. 4, *h, j*, ou excentrique, FIG. 4, *i*. Si l'adhérence est plus forte d'un côté que de l'autre, il pourra se produire des anneaux, comme FIG. 4, *g, k*, déjà figurés par JANSSENS dans les tritons, dont les branches les plus longues seront libres, tandis que les branches courtes restent soudées. A des anaphases plus avancées, ces chromosomes donneront des E à branches longues, FIG. 4, *m*. Nous appelons aussi l'attention sur la différence énorme de dimension des divers chromosomes, FIG. 4 ⁽⁴⁾.

Nous avons été assez heureux pour trouver de magnifiques V doubles aux ascensions polaires. Ils sont représentés dans les figures suivantes. Des images aussi belles que celles des FIG. 5, 7 et 8, sont assez rares dans notre objet, mais elles sont absolument démonstratives. Dans plusieurs cas, le nombre de chromosomes a pu être déterminé avec une entière certitude; il ne peut donc être question ici d'un accollement. D'ailleurs, les filaments rétracteurs uniques de tous ces V doubles indiquent avec

(1) Pour la littérature de cette question, voyez les travaux de GREGOIRE, JANSSENS et DE SINETY, dans cette revue.

(2) Les figures ne sont pas également belles dans toutes les pontes et, dans une même ponte, dans tous les œufs. Souvent les bâtonnets sont moins fournis et dans ce cas les figures se rapprochent beaucoup de celles du *Thysanozoon*. De plus, nous avons examiné plusieurs autres espèces d'*Aplysia*, qui donnent des figures beaucoup moins nettes.

(3) Nous ne pouvons admettre avec BRYCE que les figures en losanges proviennent comme les autres d'une insertion terminale des chromosomes avec division longitudinale aux premières anaphases (THOMAS H. BRYCE : *Maturation of the ovum in Echinus esculentus*; The Quat. Journal of microscop Science, vol. 24, part. 2, p. 213).

(4) Voyez à ce point de vue le travail de JANSSENS sur les tritons, et celui de JANSSENS & DUMEZ sur le *Batrachoseps*.

certitude qu'il s'agit ici d'un chromosome unique ayant subi un clivage longitudinal suivant toute sa longueur. Nous appelons surtout l'attention du lecteur sur les chromosomes, FIG. 5, *b*, *d*, FIG. 7, *a* (sectionné par le rasoir à la partie inférieure), et surtout sur l'anaphase, FIG. 7, *c*, et une analogue plus avancée, FIG. 8, *b*. Nous avons tâché de reproduire ces beaux objets avec toute la fidélité possible. Les préparations elles-mêmes sont plus belles encore. Le clivage se voit complètement dans le chromosome inférieur de la tétrade, FIG. 7, *c*. Cela est dû à cette circonstance particulièrement heureuse que le plan du V double inférieur est presque à angle droit avec le plan de celui d'au-dessus; le dessinateur peut plonger dans l'intérieur de la fente et voir les deux points d'inflexion séparés.

Nous osons affirmer que ces figures, quoique beaucoup plus petites que celles du *Batrachoseps attenuatus* ⁽¹⁾, sont aussi claires et aussi démonstratives.

Dans beaucoup d'autres œufs, des faits analogues s'observent et on peut dire que dans les premières anaphases les bâtonnets présentent presque toujours des indices plus ou moins évidents d'un clivage longitudinal.

Aux *anaphases plus avancées* et même dans les *couronnes polaires bien formées*, cette division se maintient; les FIG. 9 et 10 en sont une preuve évidente.

Tous ces faits sont patents et il suffit d'appeler l'attention sur les figures pour en faire admettre tout l'intérêt. C'est la première fois à notre connaissance que des cas aussi évidents d'hétérotypie sont signalés dans les cinèses sexuelles des œufs.

Les seuls travaux qui aient décrit des V doubles lors de l'expulsion du premier globule polaire sont ceux de KING, 1901 ⁽²⁾, février 1902 ⁽³⁾, SCHOCKAERT, 1902 ⁽⁴⁾, LERAT, 1902 ⁽⁵⁾, et NEKRASSOFF, nov. 1903 ⁽⁶⁾.

(1) JANSSENS & DUMEZ : *L'élément nucléinien pendant les cinèses de maturation chez Batrachoseps attenuatus et Pletodon cinereus*; La Cellule, t. XX, 2^d fasc.

(2) HELEN ELAN KING : *The maturation and fertilisation of the egg of Bufo lentiginosus*; Journal of Morphology, vol. XVII, n° 2 (1901).

(3) Idem : *Preliminary note on the formation of the first polar spindle in the egg of Bufo lentiginosus* (11th Feb. 1902); Anatomischer Anzeiger, Bd XX1, n° 15, 1902.

(4) R. SCHOCKAERT : *L'ovogénèse chez le Thysanotoxon brocchi* (avril 1902, 2^e partie); La Cellule, t. XX, 1^{er} fasc.

(5) PAUL LERAT : *La première cinèse de maturation dans l'ovogénèse et la spermatogénèse du Cyclops strenuus* (juillet 1902); Anatomischer Anzeiger, Bd XX1, n° 15.

(6) NEKRASSOFF : *Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung des Eies von Cymbulia peronii* (Nov. 1903); Anatomischer Anzeiger, Bd XXIV, n° 4.

C'est à Miss HELEN D. KING que revient l'honneur d'avoir décrit pour la première fois ce phénomène dans les œufs⁽¹⁾. Sa description est très semblable à celle que JANSSENS a donnée de ces phénomènes dans les testicules du triton et de la salamandre⁽²⁾. Ces deux auteurs voient aux premières prophases des anneaux qui subissent un clivage longitudinal. Celui-ci disparaît dans la suite pour se remontrer aux anaphases. Ces anneaux se coupent en deux. Il se forme ainsi 24 demi-anneaux, qui bientôt prennent la forme de **V** lors des ascensions polaires. Aux anaphases, beaucoup de ces **V** montrent une division longitudinale. On trouve donc dans l'œuf du *Bufo lentiginosus* des **V** doubles aux couronnes polaires de la première cinèse de maturation. Les deux parties qui se séparent aux anaphases du premier globule sont celles qui se retrouvent aux métaphases du second.

SCHOCKAERT, 1902, retrouve à la métaphase de la première cinèse des croix et des anneaux, des bâtonnets en forme de poignard, et des chromosomes à deux crochets. Ces trois formes s'expliquent d'après lui par l'insertion des chromosomes au fuseau. Aussi observe-t-il aux couronnes polaires les trois formes décrites par GRÉGOIRE et consorts dans les plantes, c'est-à-dire 1° les **V** doubles dérivant des anneaux et des croix et se formant lorsque les chromosomes ont une insertion médiane; 2° les **V** simples dérivant des bâtonnets en poignard et correspondant à une insertion terminale; ces **V** se coupent à la pointe; et enfin 3° des **V** à queue dérivant des bâtonnets à deux crochets et correspondant à une insertion subterminale, dont l'une des deux branches seule se serait divisée longitudinalement⁽³⁾. Cette description, comme on le voit, ressemble beaucoup à ce que nous observons dans l'*Aplysia*. La différence entre ces deux animaux réside dans l'absence d'insertion terminale dans l'*Aplysia*⁽⁴⁾. Ces bâtonnets jumeaux se retrouvent à la deuxième cinèse de maturation.

LERAT, 1902, retrouve les mêmes figures dans l'œuf de cyclops et il en tire un argument convaincant contre les interprétations de HÆCKER et

(1) GRIFFIN (*Studies on the maturation.... of Thalassema and Zirphæa*; Journal of Morphology, 1899) n'est pas parvenu à les mettre en évidence.

(2) F. A. JANSSENS : *La spermatogénèse dans les tritons* (1901); La Cellule, t. XIX, 1^{er} fasc. Comparez les fig. 9 et 22 de ce travail avec les fig. 25 et 26 de KING, 1901.

(3) Je pense que ces dernières figures peuvent correspondre à une insertion médiane de deux chromosomes-filles, qui se seraient soudés à une extrémité seulement (A. JANSSENS).

(4) Les bâtonnets, FIG. 6, *e*, pourraient être considérés comme provenant d'un chromosome en insertion terminale et clivé suivant toute sa longueur. Nous ferons remarquer que ces chromosomes sont coupés par le rasoir, comme aussi *b* (au milieu) et *c* (en bas).

RÜCKERT sur cet objet. Il n'a pas poussé ses recherches au-delà des anaphases de la première cinèse.

Dans une note préliminaire très importante illustrée de 16 figures, A. NEKRASSOFF publie une étude sur un ptéropode méditerranéen. Il y trouve comme nous 16 chromosomes dans la première figure de maturation. Ses figures de la métaphase se rapprochent beaucoup des nôtres et son interprétation ne diffère que dans des détails de seconde importance. Il ne signale toutefois les divisions longitudinales qu'aux anaphases complètes et sa fig. 10 est loin d'avoir l'évidence et la beauté de nos FIG. 5 à 10.

Ces diverses études concordent toutes et tendent à faire admettre comme définitivement démontré que *la première cinèse se fait, tant dans les éléments mâles que dans les œufs, suivant un type uniforme qui, dans les grandes lignes, correspond à l'hétérotypie de FLEMMING.*

Deuxième cinèse de maturation.

Les chromosomes doubles résultant de la première cinèse sexuelle se rapprochent aux pôles pendant les *dernières télophases*, mais ne se soudent ni ne se vacuolisent. Tant dans le globule que dans l'œuf, FIG. 11, on peut reconnaître toujours certains filaments jumeaux des télophases de l'hétérotypie. Le noyau ne se reforme pas et l'amphiaster de la deuxième cinèse sexuelle retrouve les bâtonnets pairs à peu près dans la situation qu'ils occupaient à la fin de la première figure, FIG. 12 *a* et *b*. Leur courbure et leur forme de V doubles ne peuvent s'expliquer autrement. Il est difficile de voir si les filaments du fuseau restent attachés aux V pendant cette période. Cela ne semble pas devoir être, car à la métaphase on observe des points de courbure, où ils sont plus rapprochés et où par conséquent ils avaient été probablement attachés pendant la première cinèse, FIG. 14, *b, d, ef, h*, et FIG. 15, *b, c, e*. Ces points ne coïncident souvent pas avec les endroits d'insertion actuels.

Ici encore nous retrouvons les mêmes insertions et les mêmes différences entre les grandeurs relatives des chromosomes, par conséquent aussi les mêmes inégalités de longueur des deux branches qu'aux métaphases de la première cinèse. La simple inspection des figures en dit plus qu'une description fastidieuse.

Nous pouvons donc dire que *la deuxième cinèse de maturation dans les œufs de l'Aplysia punctata est absolument semblable aux cinèses ana-*

logues dans les éléments mâles des deux règnes, et qu'elle se fait, sauf les détails, d'après le type décrit par FLEMMING sous le nom d'homœotypie.

Après cette dernière cinèse, les chromosomes prennent la forme vésiculaire. Ces diverses vésicules se soudent pour former le pronucléus femelle. Pendant ce temps, la tête du spermatozoïde se développe et finit bientôt par atteindre le volume et les dimensions du noyau femelle.

Nous avons observé que le spermatozoïde entoure souvent les figures de maturation.

Notre FIG. 17 reproduit un œuf particulièrement complet. On y trouve le premier globule polaire divisé, le second globule et les deux pronucléi. Nous remarquons avec NEKRASSOFF qu'à ce moment on ne trouve aucune trace de figure achromatique pour la première segmentation.

EXPLICATIONS DES FIGURES.

Les dessins ont été faits à la hauteur de la table de travail. Tous leurs détails ont été pris à la chambre claire d'ABBÉ, avec l'apochromatique 2 mm., ouv. num. 1,30, oculaire compensé 18 de ZEISS. L'éclairage était obtenu par la lampe NELSON de SWIFT, le condenseur à immersion de BECK, le bull's-eye aplanatique de BAKER et le filtre de lumière en biseau décrit par JANSSENS.

FIG. 1. Prophase. Les bâtonnets *c-d*, *e-f*, *g-h*, *i-j* et *k* sont encore réunis.

FIG. 2. Métaphase. Vue polaire d'une couronne équatoriale.

FIG. 3. Métaphase. Dessin fait à l'oculaire 12.

FIG. 4. Métaphase. Les chromosomes *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, à l'oculaire 12, appartiennent à un même œuf, les chromosomes *g*, *h*, *i*, *j*, *k* à un second œuf, *f* à un troisième et *l*, *m* à un quatrième.

FIG. 5. Ascension polaire. Commencement du clivage longitudinal des chromosomes-filles.

FIG. 6. Anaphase. Le chromosome *b* est coupé par le rasoir en son milieu à droite, *c* à sa partie inférieure, *c* à leurs extrémités. Les parties manquant ici se retrouvent dans la coupe suivante du même œuf.

FIG. 7. Anaphase. *a* est coupé par le rasoir à la partie inférieure.

FIG. 8. Anaphase un peu plus avancée.

FIG. 9. Couronne polaire à **V** doubles à insertion subterminale se correspondant aux deux pôles.

FIG. 10. Télaphases. Les **V** doubles se voient très bien. Les deux parties sont un peu plus rapprochées dans cet œuf. Les bâtonnets *d* et *d'* se trouvaient à la place des *. *d'* est coupé par le rasoir.

FIG. 11. Dernières télaphases.

FIG. 12. *A* et *B*. Prophases de la 2^e cinèse. Les **V** doubles se retrouvent surtout en *A* dans le globule polaire et en *B* dans l'œuf.

FIG. 13, *A*. Vue polaire d'une métaphase de la deuxième cinèse. Le premier globule polaire se trouve deux coupes plus bas. On compte 16 groupes de **V** doubles.

B. Les 16 faisceaux rétracteurs dans la même coupe, l'objectif étant installé plus bas.

C. Coupe suivante. On y retrouve, outre les 16 faisceaux rétracteurs, des parties de bâtonnets manquant à la FIG. *A* en 1, 2, 3. Remarquons que le bâtonnet 1 a été coupé longitudinalement en deux par le rasoir, la moindre partie se trouvant dans la coupe *A* et la plus grande dans la coupe *C*.

FIG. 14. Métaphase. Le chromosome double *c* n'est pas encore à l'équateur.

FIG. 15. Anaphase. Remarquez que les deux extrémités des deux **V** *e* ont conservé leur parallélisme.

FIG. 16. Télaphase de la deuxième cinèse.

FIG. 17. Œuf montrant le premier globule polaire divisé avec le reste du fuseau, le second globule avec le reste de son fuseau et les deux pronucléi.





