

Études sur la Fécondation et l'Embryogénie du *Ginkgo biloba*.

(Second mémoire.)

Par

Sakugorô HIRASÉ,

Préparateur à la Faculté des Sciences de l'Université
impériale de Tôkiô.

Depuis que j'ai publié en 1895 mes premiers travaux sur la fécondation et l'embryogénie du *Ginkgo biloba* (1), j'ai continué à étudier le développement du tube pollinique chez cette plante pour combler les lacunes qui restent encore même après les belles recherches de M. le Prof. E. STRASBURGER (2).

Tous mes spécimens ont été récoltés entre 1893 et 1896 sur un bel arbre du Jardin botanique de notre Université. J'y ai recueilli des ovules de trois à six fois par jour, ordinairement pendant la journée, quelquefois le matin de bonne heure ou même pendant la nuit. Les échantillons recueillis ont été traités comme suit. Les ovules ont été coupés tout d'abord transversalement en deux parties, alors leur amande se divise en deux et la pièce supérieure se sépare naturellement de son tégument. Celle-ci consiste en l'endosperme et la nucelle qui est mince comme une feuille de papier. J'ai coupé la partie nucellaire au sommet de l'endosperme en morceaux de 4 à 5 millimètres

(1) Jour. of the Coll. of Sc., Imp. Univ., Vol. VIII, Part II, 1895.

(2) STRASBURGER, Ueber das Verhalten des Pollens und die Befruchtungsvorgänge bei den Gymnospermen. Hist. Beitr., IV, 1892.

cubes et j'ai fixé ces pièces principalement avec la solution de FLEMMING et quelquefois à l'alcool absolu, à l'alcool 70 p. 100, ou à la solution de MERKEL. Les échantillons, après avoir plongé pendant 24 à 48 heures dans la solution de FLEMMING ont été lavés pendant 24 à 40 heures à l'eau courante et conservés dans un mélange d'alcool, de glycérine, et d'eau, additionné d'un peu de camphre. Sur les pièces ainsi traitées et conservées pendant quelques mois, il est assez facile d'isoler avec une aiguille le tube pollinique du tissu nucellaire. Pour étudier un tube dans son ensemble, je le mets dans de la glycérine diluée avec de l'eau et de l'alcool ou dans de l'essence de girofle, mais pour en étudier la structure en détail, j'ai toujours employé des coupes microtomiques. Il est à remarquer que les pièces fixées à la solution de FLEMMING ont été traitées à l'eau oxygénée pour faire disparaître le noircissement produit par l'acide osmique.

Pollen.

Lors de la maturité complète à la fin d'avril, le pollen du *Ginkgo biloba* est sphérique et est muni d'une exine qui ne couvre qu'à peu près les deux-tiers de son corps. La forme ressemble beaucoup à celle d'une spore en germination (Pl. VII, fig. 1 b). Il comprend alors trois cellules d'inégale grosseur, les deux petites sont nommées « cellules prothalliennes » et la plus grande, « cellule embryonnaire » (1). En outre, on voit en dehors des cellules prothalliennes une cellule qui a l'apparence d'une fente ; c'est, comme l'a justement remarqué M. STRASBURGER (2), une cellule-fille qui s'est détachée lors de la première division

(1) STRASBURGER, l. c. p. 6.

(2) Ib., p. 8.

du pollen en germination et s'est résorbée immédiatement après la formation. Les deux cellules prothalliennes vivantes sont formées par les deux divisions successives d'une autre cellule-fille (Pl. VII, fig. 1a).

Le pollen, arrivé au stade de développement que je viens de décrire, ne tarde pas à se préparer pour la pollinisation. Les gros grains d'amidon, conservés jusqu'alors en grande abondance dans la cellule embryonnaire, disparaissent et on n'y trouve plus que de petites leucoplastides. Le pollen perd une certaine quantité d'eau en vertu de la transpiration, de sorte que sa mince membrane se plisse et qu'il devient assez léger pour pouvoir être transporté aisément par le vent (Pl. VII, fig. 1c). Le grain de pollen ainsi desséché, ayant été cultivé pendant trois jours dans de l'eau sucrée, j'ai trouvé que non-seulement la membrane pliée revenait bientôt à la forme primitive, mais encore qu'elle s'allongeait un peu, c'est le premier indice de la formation d'un tube pollinique. Je n'ai cependant pas prolongé la durée des cultures, car ce mode d'investigation ne peut naturellement nous donner de bons résultats.

Tube pollinique.

La conduite du tube pollinique chez les Gymnospermes ayant été étudiée depuis longtemps par la plupart des savants, nous avons un grand nombre de travaux sur ce sujet, parmi lesquels les mémoires de M. le Prof. BELAJEFF sont de la plus haute valeur (1). Ce qu'il dit à propos du *Taxus baccata*, observation confirmée par M. STRASBURGER (2) pour un grand nombre

(1) BELAJEFF, Zur Lehre v. d. Pollenschlauche der Gymnospermen. Ber. d. D. B. Ges., Bd. IX, 1891, p. 280.

(2) STRASBURGER, l. c.

des Gymnospermes et par le professeur russe lui-même pour quelques Conifères (1), peut être résumé comme suit :

(1) La grande cellule de pollen s'allonge en un tube pollinique dont l'extrémité finit par venir au contact avec les cellules du col de l'archégone. Le nucléus de cette grande cellule s'achemine vers l'extrémité du tube à mesure que celui-ci s'accroît ;

(2) les deux cellules-filles formées lors de la division d'une petite ou d'une des deux petites cellules du pollen abandonnent l'une après l'autre leur position primitive et s'acheminent vers l'extrémité du tube ;

(3) une des deux cellules-filles qui a abandonné premièrement sa position primitive, après avoir grossi beaucoup, se dédouble, et les deux cellules, ainsi formées, participent à la fécondation ; quelquefois, mais rarement une seule d'entre elles y concourt ;

(4) au moment de la fécondation, les noyaux mâles sont accompagnés du cytoplasme.

D'après M. STRASBURGER, le pollen du *Ginkgo* se comporte à peu près de la même façon que d'autres Gymnospermes. Voici ce qu'il en a dit :

« Mitte Mai erfolgt die Bestäubung. Die Pollenkörner gelangen, wie bei Cycadeen, in eine wohlentwickelte Pollenkammer und treiben alsbald kurze Schläuche in das Gewebe des Nucellus. Die embryonalen Zellkerne wandern in diese Schläuche ein.....Ende Juli hatten die Samenanlagen ihre definitive Grösse annähernd schon erreicht und begannen nun aus den inneren Theilen ihres fleischigen Integuments die harte

(1) BELAJEFF, Zur Lehre von dem Pollenschlauche der Gymnospermen (Zweite Mitth.) Ber. d. D. B. Ges., 1893, p. 200.

Kernschale auszubilden. Auf diesem Entwicklungszustand ist der Nucellus bereits zu einer papierdünnen Haut gedehnt, an welcher ein vorspringender, an seiner Spitze gebräunter Höcker den ursprünglichen, die Pollenkammer bergenden Scheitel angiebt. In diesem Nucellarhöcker sind die Pollenschläuche aufzusuchen.....So zeigt es sich denn, dass in der zweiten Hälfte des Septembers die vordere der beiden Prothalliumzellen in eine Körperzelle und eine Stielzelle zerfällt, während die äussere Prothalliumzelle gewöhnlich ungetheilt bleibt. Körperzelle entspricht der Centralzelle eines Antheridiums, sie schwillt zum mehr als Doppelten noch an, und im demselben Maasse vergrössert sich ihr Zellkern. Hierauf erfährt diese Centralzelle schon vielfach eine quere oder schräge Theilung, wodurch zwei generative Zellen geschaffen werden. Die Stielzelle des Antheridiums scheint sich nur unter Umständen zu theilen. Dann geben Stielzelle und erste Prothalliumzelle ihre Selbständigkeit auf, und die befreite generative Zelle wandert in den Pollenschlauch ein. In diesem liegen grosse Stärkekörner und lässt sich der embryonale Zellkern auch auffinden » (1).

Ayant fini de rappeler les recherches des principaux auteurs, nous allons rapporter maintenant nos observations personnelles.

L'anthèse du *Ginkgo* finit généralement à la fin d'avril. À peu près une semaine avant ce processus, une chambre pollinique se forme à la cime du nucelle; cette chambre n'est autre chose qu'une cavité produite en vertu du développement exclusif des parties externes du tissu situé à la cime du nucelle et par suite de la rupture consécutive de ses parties internes (Pl. IX, fig. 31-33). Vers le moment de la pollinisation, cette chambre n'est pas vide, mais elle renferme un liquide. Après

(1) l. c., p. 17.

que le pollen y est arrivé, elle s'étend de proche en proche vers la partie intérieure du nucelle à mesure que son tissu se développe, de sorte que le pollen pénètre de plus en plus profondément dans le nucelle. Deux semaines environ après la pollinisation le pollen atteint la position d'où il commence à produire un tube (Pl. IX, fig. 32), qui, au début de la germination, s'oriente vers le sommet du sac embryonnaire. Dès lors, l'ouverture supérieure de la chambre se referme, le tissu environnant devient brunâtre et forme une protubérance solide qui s'élève sur la cime du nucelle et persiste pendant longtemps.

Au commencement de juin, lorsque le nucelle a atteint un grand développement, la chambre grandit beaucoup et forme une grande cavité irrégulière. Un, deux, ou parfois même un plus grand nombre de tubes polliniques très jeunes se trouvent accolés aux parois de cette cavité dans le voisinage de la protubérance nucellaire (Pl. IX, fig. 33-34). Il est fort remarquable qu'on y trouve parfois des grains de pollen des autres Conifères (par exemple du Pin), qui peuvent être ou non déjà en état de germination ; j'ai compté en un cas jusqu'à neuf grains de cette sorte dans une cavité ; en d'autres cas, je n'y ai trouvé que des grains d'autres plantes.

Vers ce stade du développement, le tube pollinique pénètre partiellement dans le tissu nucellaire de façon à faire saillie seulement en partie en dedans de la chambre pollinique. Les extrémités ne se dirigent pas toutes deux vers le sommet du sac embryonnaire : l'extrémité croissante qui pénètre dans le nucelle, au lieu de s'orienter dans cette direction s'allonge vers l'éminence nucellaire, tandis que l'extrémité dirigée vers la cavité est couverte, comme auparavant, d'une exine et comprend

deux cellules prothalliennes aplaties qui restent dans leur situation primitive (Pl. IX, fig. 34).

Au commencement de juillet, le tube pollinique est encore plus développé. Son extrémité croissante se divise en plusieurs branches grêles qui pénètrent de plus en plus profondément dans le nucelle; cette disposition du tube est plus facile à comprendre lorsqu'on l'isole du nucelle avec une aiguille que lorsqu'on coupe le nucelle en entier au moyen du microtome. Vers ce moment, le nucléus embryonnaire ne s'est pas du tout acheminé jusqu'à l'extrémité du tube, mais est demeuré au point où le tube commence à se diviser, là où se rencontrent un certain nombre de gros filaments cytoplasmiques contenant de gros grains d'amidon (Pl. VII, fig. 2a). À l'extrémité du tube qui est couverte par l'exine et fait saillie dans la cavité, on trouve à l'intérieur deux cellules prothalliennes aplaties qui sont maintenant séparées l'une de l'autre. Entre elles, sont de grandes vacuoles et on voit aussi qu'elles sont unies par le cytoplasme qui forme deux cylindres creux placés l'un dans l'autre, de sorte que si l'on coupe selon son axe longitudinal un tube pollinique parvenu à ce stade, les deux cellules semblent être réunies ensemble par quatre filaments cytoplasmiques (voyez le

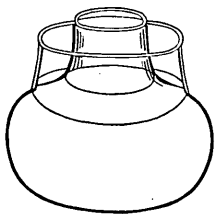


diagramme ci-joint). Cet état du tube persiste jusqu'au moment de la fécondation (Pl. VII-IX, fig. 2b, 3, 4, 8, 18, 20, et 28). Alors, une des deux cellules, qui est située plus intérieurement, est plus grande que l'autre et présente une ou plusieurs vacuoles; elle a aussi un noyau, plus grand que celui de l'autre, et sphérique (Pl. VII, fig. 2b).

La figure 13 de M. STRASBURGER (1) représente le stade du

(1) l. c., p. 18.

développement du tube pollinique du *Ginkgo* au milieu d'août et c'est le plus avancé des stades dessinés par lui. Il n'a pas parlé de la division de l'extrémité du tube (dans sa figure cette partie n'est pas dessinée). Si l'on veut bien comparer sa figure avec les miennes, on verra qu'elle représente un stade un peu plus jeune que celui correspondant à ma figure 2a (Pl. VII); cela prouve que les mêmes stades de développement ne sont pas atteints à la même époque au Japon et en Europe.

Au milieu de juillet, le nucléus de la cellule intérieure susdite se partage en deux nucléus-fils (Pl. VII, fig. 3). Je n'ai pas eu la chance de pouvoir observer la karyokinèse de cette division, mais jugeant de la position relative des deux nucléus-fils, je ne doute pas que l'axe longitudinal du fuseau karyokinétique ne soit perpendiculaire à celui du tube pollinique. Aussitôt après leur formation, l'un des nucléus devient beaucoup plus gros que l'autre et vient occuper la partie centrale de la cellule-mère en grossissant de plus en plus (Pl. VII, fig. 4, 5). Au contraire, le plus petit des deux nucléus-fils quitte la cellule-mère ou mieux en est refoulé par le plus grand et s'achemine jusqu'à l'espace compris entre les deux cylindres cytoplasmiques qui joignent la cellule-mère et la cellule prothallienne postérieure (Pl. VII, fig. 4, 5; Pl. VIII, fig. 20; Pl. IX, fig. 28). La grande cellule dont je viens de parler correspond au « Körperzelle » de M. STRASBURGER et le noyau qui a été refoulée à l'état nu à celui de son « Stielzelle » (1).

Jusqu'à la fin de juillet, le « Körperzelle » s'accroît de jour en jour et devient peu à peu ellipsoïde. Il se remplit complètement de cytoplasme, de sorte qu'il n'y reste plus du tout de vacuoles; le noyau, grandissant beaucoup, acquiert une forme

(1) l. c., p. 18.

sphérique. À ce moment, deux sphères attractives se montrent dans cette cellule dans le sens de son axe longitudinal; chacune d'elles est située très près du noyau (Pl. VII, fig. 5). C'est dans ce stade que j'ai pu observer dans le «Körperzelle» du *Ginkgo* les plus jeunes sphères attractives. Je ne peux pas encore sûrement assurer si elles sont ou non déjà entourées par des stries radiaires, car je n'ai pas encore eu à ma disposition de coupes microtomiques spécialement préparées pour l'explication de cette question. Après quelques jours, les deux sphères s'écartent un peu du noyau en suivant la direction de l'axe longitudinal du «Körperzelle» et s'approchent de ses deux pôles; durant cet encheminement, elles s'aggrandissent un peu et sont entourées de stries assez nettes (Pl. VII, fig. 6, 7). Dès lors les deux pôles du «Körperzelle» deviennent aplatis ou un peu concaves (Pl. VII, fig. 8 et 10). À partir du moment où les sphères vont commencer à cheminer, le noyau change peu à peu de forme; les surfaces qui regardent chacune des sphères s'aplatissent et le noyau acquiert finalement une forme lenticulaire, de sorte qu'une coupe faite suivant le grand axe du «Körperzelle» donne alors une ellipse ou diverses courbes aplaties suivant le degré du changement de forme (Pl. VII, fig. 7, 8, 10), tandis qu'au contraire une coupe faite suivant le petit axe est toujours circulaire (Pl. VII, fig. 9; Pl. VIII, fig. 17). En même temps que le noyau commence à changer de forme, deux corps sphériques homogènes apparaissent très près de chacune des deux surfaces qui sont devenues plates; on voit d'ailleurs parfois ça et là autour du noyau quelques granulations d'un aspect semblable à ces corps, mais beaucoup plus petites qu'eux (Pl. VII, fig. 8) et qui ne tardent pas à disparaître bientôt; mais ces plus grands corps ci-dessus signalés s'écartent

du noyau, atteignent une certaine position près des deux sphères attractives et s'accroissent beaucoup.

En général, au milieu d'août le « Körperzelle » atteint le maximum de sa croissance. On voit autour de corps sphériques un grand nombre de granulations. Dans le nucléus du « Körperzelle » on trouve deux nucléoles, l'un au centre et l'autre vers un côté. En face de celui-ci et séparée par la membrane nucléaire, une masse irrégulière de substance prend naissance alors dans le cytoplasme (Pl. VII, fig. 10) ; quelque temps après, dans le nucléus on trouve un nucléole central, tandis que la masse irrégulière susdite ne tarde pas à écarter un peu du noyau. Cet état du « Körperzelle » persiste jusqu'à la troisième semaine avant la fécondation.

Le noyau de la cellule embryonnaire qui était auparavant au milieu du tube pollinique commence au début du mois d'août à s'acheminer du côté du « Körperzelle » (Pl. VII, fig. 6), près duquel il arrive généralement au milieu de ce même mois (Pl. VII, fig. 9, 10) et il reste là jusqu'au moment de fécondation (Pl. VIII, fig. 17, 20).

À ce moment, ainsi que je viens de le dire, les quatre noyaux du tube pollinique se rassemblent à une de ses extrémités ; celle-ci, à la fin d'août, se dirige vers les cellules du col, mais en est resté trop distante pour les toucher (Pl. IX, fig. 35).

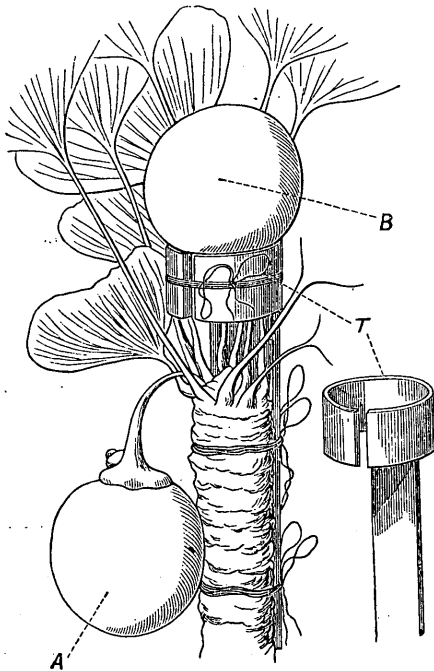
Au début d'août, quand l'extrémité du tube n'arrive pas encore à une position telle que je viens de le décrire tout à l'heure, les ovules atteignent déjà leur grosseur définitive et leur tégument solide est complètement formé. Comme il y a cependant encore un petit espace entre le tégument et la cime du corps endospermique, celui-ci continue à s'accroître. En vertu

de la pression produite par cette croissance, le nucelle est étiré et se détruit; la chambre pollinique s'élargit de plus en plus et la partie nucellaire opposée à la cime du corps endospermique finit par se rompre. Dès lors le tissu dans le voisinage de la protubérance nucellaire est réduit à une peau mince composée seulement de quelques couches cellulaires, comme l'a décrit justement M. STRASBURGER (1). Au début d'août, au sommet du corps endospermique, une saillie commence à se former, au sein des parties terminales de deux ou d'un plus grand nombre d'oosphères. À la fin d'août, la saillie prend l'apparence d'une colonne; à son sommet est placée la protubérance nucellaire, l'ensemble constitue ainsi une espèce de tente supportée par un piquet, à l'abri de laquelle les quelques tubes polliniques complètement mûrs peuvent se mettre en sûreté. La fonction de cette saillie est facile à comprendre si l'on tient compte du sort des tubes polliniques dans un cas anormal tel que le suivant. Lorsque, par exemple, la protubérance nucellaire n'est pas placée exactement sur la colonne, les tubes polliniques sont obligés de se coucher sur le corps endospermique, de telle sorte qu'ils sont exposés au danger d'être soumis à la pression exercée par le nucelle. Un tube pollinique qui se trouve sous la tente, en vertu tant de ses nombreuses branches minces s'étendant comme une racine sur la surface intérieure du nucelle que de sa turgescence, peut soutenir son corps ellipsoïde debout sur cette surface.

Si le tube pollinique se dirige vers les cellules du col, cela est dû vraisemblablement à ce fait que grâce à la croissance du corps endospermique la partie nucellaire sur laquelle le tube est maintenu debout vient se placer presque tangentiellement sur la

(1) STRASBURGER, l. c.

cime du corps. Les pédicules des ovules du *Ginkgo* étant cependant très flexibles, se dirigent toujours vers le bas déjà avant que le tube se soit encore mis dans cette position, et l'extrémité du tube du côté des cellules du col s'oriente aussi dans la direction diamétralement opposée au centre du globe (c'est-à-dire, à l'état naturel en sens inverse de la fig. 35 de la Planche IX), de sorte que l'on peut se demander si la direction du tube est due simplement à l'action mécanique décrite ci-dessus ou bien au géotropisme négatif possédé par le tube. L'expérience suivante a été faite pour résoudre cette question. Vers le 10 juillet, 1896, au moment où chez un tube en croissance très vive, l'extrémité ne se dirigeait pas encore vers les



cellules du col, j'ai maintenu au moyen d'un petit tube de bambou une ovule vers le ciel, c'est-à-dire dans une position diamétralement opposée à l'état naturel (*B*). Vers le 29 août, lors de la maturation complète, j'ai examiné la direction des tubes dans onze graines soutenues inversement (*B*) et j'ai toujours trouvé qu'ils s'orientaient dans le sens indiqué par la figure 35, tandis qu'au contraire dans toutes les graines de l'expérience-témoin (*A*), ils se dirigeaient

dans le sens contraire. Quoique l'expérience ne suffise pas pour établir positivement l'absence de toute propriété géotropique négative chez les tubes polliniques du *Ginkgo*, elle prouve tout

au moins que cette propriété, si elle existe, n'est pas possédée à un tel degré qu'elle puisse seule balancer les effets de toutes les autres forces en action. L'absence entière de géotropisme chez les tubes du *Ginkgo* est très vraisemblable, car on a déjà prouvé que ceux de quelques Angiospermes ne jouissaient à aucun degré de propriétés géotropiques (1). Enfin il faut aussi remarquer qu'on ne pourra pas réfuter la présence des autres forces stimulantes qui seront en action en même temps.

Tous les tubes polliniques parvenus à complète maturité ne sont pas égaux en longueur, celle-ci dépend principalement de la position occupée par eux. On peut poser comme règle générale que tout tube situé plus près de la protubérance nucellaire est relativement plus court que tout autre qui en est plus éloignée. Cette position du tube par rapport à la protubérance nucellaire commence déjà à se dessiner dès le moment de la germination du pollen, car alors le tube doit nécessairement pénétrer d'autant plus profondément dans le tissu nucellaire qu'il est plus éloigné de la protubérance nucellaire (Pl. IX, fig. 36). Cette relation entre la position et la longueur d'un tube pollinique persiste après sa maturité. Le tube représenté dans la figure 20 (Pl. VIII) est de longueur moyenne; si l'on veut bien la comparer avec la figure 9 représentant celui au milieu d'août, on verra qu'il y a un écart non moins considérable entre leurs longueurs respectives; on voit par là que le tube peut s'allonger jusqu'à un certain degré parfois même après que le noyau embryonnaire a déjà fini son cheminement. Il atteint le maximum de l'allongement presque deux semaines avant la fécondation. Un tube situé plus près de la protubérance, et conséquemment plus court, se place dans la position

(1) MIYOSHI, Ueber Reizbewegungen d. Pollenschlauches. (Flora, 1894).

indiquée par la fig. 35 durant ces deux semaines et se dirige vers les cellules du col, mais il ne les touche pas du tout. Celui qui est plus loin de la protubérance doit, par suite de sa longueur considérable ainsi que de la petitesse de l'espace qu'il occupe, se coucher horizontalement sur la surface du corps endospermique et tend à toucher les cellules du col, mais n'y arrive pas (Pl. IX, fig. 36). En effet, nous reviendrons plus tard sur le fait que la fécondation du *Ginkgo* peut être effectuée sans que le tube vienne en contact avec les cellules du col.

Quelques jours avant la fécondation, le «Körperzelle» se partage comme à l'ordinaire en deux cellules-filles. À l'approche de la prophase on observe souvent le phénomène suivant. Chacune des sphères attractives se rapproche un peu du noyau; en même temps les deux corps sphériques qui se trouvent en voie d'acheminement vers le noyau s'échappent, soit tous les deux d'un même côté, soit chacun de son côté. Il m'est cependant arrivé aussi de rencontrer des cas où le noyau entre dans la prophase sans que la transmission des sphères ainsi que des corps sphériques ont eu lieu au préalable; dans ces cas, ceux-ci et les granulations autour d'eux changent de position vers le stade de la métaphase, tandis qu'au contraire les sphères attractives s'observent dans la position primitive. Il est donc vraisemblable que la transmission des corps sphériques et des granulations est un processus préparatoire à la division nucléaire, mais il n'est encore conclusivement prouvé que les sphères se rapprocheront toujours du noyau.

Au cours de la prophase, le nucléus pourvu encore de sa membrane continue à conserver une forme discoïde et possède un nucléole (Pl. VIII, fig. 16). Vers la métaphase, les deux sphères attractives se trouvent aux deux pôles du «Körperzelle»

comme auparavant, l'axe longitudinal du fuseau karyokinétique coïncide à peu près avec la ligne de jonction des deux sphères et ses fibres achromatiques ne courent pas de manière à converger vers les deux pôles du fuseau; de même, les deux sphères en sont à une certaine distance (Pl. VIII, fig. 18). Vers l'anaphase, on trouve deux nucléus-fils à deux extrémités du fuseau comme à l'ordinaire, mais à une certaine distance des deux sphères (Pl. VIII, fig. 19) et bientôt les deux cellules-filles ne tardent pas à être formées; leur plan de séparation passe à travers le grand axe du tube pollinique. Les noyaux grossissent de plus en plus et possèdent en général un ou quelques nucléoles relativement petits.

Les sphères attractives que nous venons de décrire sont différentes de celles signalées jusqu'à ce jour par plusieurs savants, en premier lieu, en ce qu'elles sont toujours à une certaine distance des pôles du fuseau et en second lieu en ce qu'au cours de la karyokinèse elles ne se divisent pas en deux sphères-filles. Cependant quand on observe leur apparence et de leur action au moment de la formation des anthérozoïdes (voir la description plus bas), on est amené rationnellement à supposer qu'elles sont identiques avec celles d'autres plantes; remarquons seulement que l'on ignore encore leur conduite pendant la karyokinèse.

Les deux corps sphériques, après l'entrée dans la métaphase, cheminent vers l'équateur du fuseau et chacun d'eux est donné à chacune des deux cellules-filles, tandis qu'au contraire, la masse irrégulière de substance décrite ci-dessus est reçue tout entière par l'une ou par l'autre. Les corps sphériques ainsi que la masse irrégulière restent invariables jusqu'au moment de la fécondation, tandis que les granulations disparaissent peu à peu après la formation des cellules-filles.

Si nous comparons le tube pollinique du *Ginkgo* avec celui des autres Gymnospermes observés jusqu'à ce jour nous verrons qu'il y a des divergeances considérables entre leur conduite.

La grande cellule du pollen s'accroît et devient un tube pollinique dans les deux cas. Il est cependant bien connu que chez des autres Conifères, son extrémité croissante arrive à travers du nucelle jusqu'aux cellules du col de l'archégone, mais chez le *Ginkgo*, cette extrémité se divise en plusieurs branches aussitôt après la germination, se fixe au voisinage de la protubérance nucellaire, qui est placée à l'opposé des cellules du col, et c'est l'autre extrémité qui se dirigera vers le col. Dans les deux cas, la petite cellule du pollen qui reste à sa position primitive, après une certaine croissance, subit une bipartition. D'après MM. BELAJEFF et STRASBURGER, chez des autres Conifères, la cloison de cette division est, soit perpendiculaire, soit plus ou moins inclinée, sur l'axe longitudinal du tube; de même, les deux cellules-filles abandonnent leur position primitive et émigrent vers l'extrémité du tube pollinique. Chez le *Ginkgo*, cependant, le fuseau karyokinétique de cette division est perpendiculaire à l'axe longitudinal du tube; de même, le plus petit des deux noyaux-fils est refoulé à l'état nu en dehors de la cellule-mère.

Le fait que chez le *Ginkgo* tous les noyaux d'un tube pollinique se rassemblent à une de ses deux extrémités lui est commun avec les autres Gymnospermes. Mais chez ceux-ci, cette extrémité correspond à l'extrémité croissante, tandis que chez celui-là, tous les noyaux se rassemblent à l'extrémité du tube diamétralement opposée. Rien n'est plus facile que de s'en convaincre non-seulement en poursuivant le développement,

mais encore en observant que cette extrémité est couverte d'une exine jusqu'au moment de la fécondation.

Anthérozoïdes.

On connaît aujourd'hui deux Gymnospermes dont la fécondation a lieu au moyen d'anthérozoïdes, savoir le *Ginkgo biloba* (1) et le *Cycas revoluta* (2). Selon M. le Prof. IKENO; les anthérozoïdes du *Cycas* sont fort semblables à ceux du *Ginkgo*; il n'est pas non plus douteux que ceux-là soient doués du pouvoir de mouvement. L'hypothèse émise, il y a presque cinquante ans, par HOFMEISTER sur la formation des anthérozoïdes sur les Conifères (3) est donc maintenant reconnue au moins partiellement juste.

La formation d'un anthérozoïde du *Ginkgo* débute par la jonction d'un nucléus de la cellule-mère avec une de ses sphères attractives. Sur un de ses côtés, le centrosome s'allonge en forme de crochet. L'extrémité du filament en contact avec le nucléus est assez épaissie (Pl. VIII, fig. 21). Dès lors, la partie du nucléus en contact avec le filament produit une protubérance, qui, s'allongeant considérablement, forme un bec et se dirige obliquement. Au fur et à mesure que celui-ci s'avance, le filament se courbe de plus en plus et alors la configuration primitive de la sphère attractive n'est plus visible (Pl. VIII, fig. 22).

(1) HIRASE, Sur l'anthérozoïde du *Ginkgo biloba* (Bot. Magaz., Tôkiô, 1896, Vol. X). Japonais.—Untersuchungen über d. Verhalten d. Pollens v. *Ginkgo biloba* (Bot. Centb., 1897, Bd. LXIX).

(2) IKENO, Les anthérozoïdes du *Cycas revoluta* (Bot. Magaz., Tôkiô, 1896, Vol. X). Japonais.—Vollständige Mitth. über d. Spermatozoiden v. *Cycas revoluta*. (Bot. Centb., 1897, LXIX).

(3) HOFMEISTER, Vergleichende Untersuchungen, 1851, p. 140.

Si l'on examine de près le bec nucléaire et la partie qui l'environne, on observe qu'une masse de substance s'y est amassée en abondance. Dans des préparations fixées au liquide de FLEMMING et lavées à de l'eau, cette masse a pris une coloration très foncée vers l'extrémité du bec et se colore de moins en moins à mesure que l'on s'en éloigne. Sur des coupes microtomiques préparées avec les mêmes matériaux, traitées à l'eau oxygénée, et colorées d'après la méthode de double coloration de M. ROSEN, cette masse indique une grande affinité pour la fuchsine acide, de sorte qu'on observe la même diminution graduelle de teinte rouge de la masse à mesure qu'on s'éloigne de l'extrémité du bec, comme on le verra à la figure 22 (Pl. VIII) où j'ai indiqué la gradation de la teinte par un ton plus ou moins soutenu. Ce phénomène s'observe même au stade le plus avancé (Pl. VIII, fig. 24-27). Il ne peut cependant pas s'observer sur les préparations faites avec des matériaux incomplètement fixés (Pl. VIII, fig. 21, 23), où très vraisemblablement l'agent fixateur a amené la dissolution de la substance en question (comparez la note à la fin de ce mémoire). Elle est très différente en apparence du produit artificiel qui a pris naissance sous l'action de réactifs fixateurs (surtout de l'alcool) et que l'on trouve fréquemment chez les noyaux au repos. La teinte foncée prise par cette substance sous l'action de l'agent colorant indiquera son accumulation plus dense et aussi le fait que sa coloration est la plus forte vers l'extrémité du bec porte à penser que cette substance y coule abondamment, peut-être pour lui fournir les matériaux nourrissants nécessaires à son allongement.

Les deux anthérozoïdes-frères d'un tube pollinique se développent presque uniformément. Leur corps sont au contact l'un

avec l'autre et ont une forme hémisphérique acquise déjà au moment de leur formation par la division d'un « Körperzelle ». Le sommet de chaque corps, qui correspond à chacun des deux pôles du « Körperzelle » commence maintenant à former des tours de spire. L'extrémité du bec formant un filament grêle aplati, s'allonge en spirale de dehors en dedans à travers la surface externe du corps hémisphérique et forme trois tours de spire qui sont séparés les uns des autres par des canaux. Si, par conséquent, on observe d'en haut ce corps hémisphérique, on aperçoit vers son sommet soit une spire grêle (Pl. VIII, fig. 27), soit une courbe pareille à une fente (Pl. VIII, fig. 23) respectivement, suivant qu'on a affaire au stade plus ou moins avancé. Le mode de formation des tours de spire est très facile à comprendre, si l'on veut bien comparer ce qui a été dit ci-haut à l'apparence présentée par le corps hémisphérique vu d'un de ses côtés latéraux (Pl. VIII, fig. 24, 25). Si l'on observe la section longitudinale d'un corps, dont tous les tours de spire soient complets, on verra que le contour demi-circulaire formant le sommet de cette section est divisée en une suite de lobes obtus d'inégale grosseur (Pl. VIII, fig. 26). Le côté externe de ces lobes est bordé par une ligne très marquée, sur laquelle on peut toujours distinguer un petit point (Pl. VIII, fig. 26). Cette ligne et surtout ce point sont colorés très vivement par la fuchsine acide, d'où l'on peut conclure que ce point n'est autre chose que la section de la spire grêle qui est la plus marquée chez un anthérozoïde vu de haut. Cette spire est un centrosome formant un filament qui s'est allongé beaucoup et sur lequel les cils se développent en abondance. Les cils ne se colorent pas aussi vivement que le filament. Tant qu'un anthérozoïde demeure dans le tube, les cils se trouvent dans les

canaux le long des tours de spire (Pl. VIII, fig. 27), de telle sorte que sur une section longitudinale d'un anthérozoïde on peut distinguer entre chaque lobe un grand nombre de points qui sont des cils vus d'en dessus en raccourci (Pl. VIII, fig. 26).

Passons maintenant à la description du mouvement d'un anthérozoïde adulte que j'ai suivi le 9 septembre de l'année dernière. À l'époque de la fécondation, j'ai trouvé quelques ovules frais chez qui l'espace entre la cime du corps endospermique et le nucelle était remplie de suc et qui étaient cependant pourvue seulement de tubes polliniques déjà vides; cela représente certainement un stade peu éloigné de la fécondation. J'ai cependant obtenu un tube non encore vide plongé dans du suc, sur lequel les observations suivantes ont été faites. À un certain moment, les deux anthérozoïdes dans ce tube commencèrent à s'ébranler. L'un d'eux se dirigea vers l'extrémité du tube, s'en échappa et se jeta dans du suc accumulé sur la surface du nucelle; ensuite, il y nagea assez rapidement avec un mouvement rotatoire et finit enfin par se cacher dans la cavité du tissu nucellaire. J'ai fixé alors le tout sur-le-champ au liquide de FLEMMING. Le second anthérozoïde n'était pas assez développé pour pouvoir s'échapper.

On peut trouver du suc entre le sommet du corps endospermique et le nucelle pendant un court espace de temps au moment de la fécondation. Comme l'anthérozoïde nage réellement dans ce suc, il est évident que ce suc est nécessaire pour la fécondation. Il est très vraisemblablement le produit de la sécrétion de l'organe femelle.

En ce qui concerne certains Cryptogames, il est bien connu qu'un suc contenant certaines substances spéciales est nécessaire

pour attirer les anthérozoïdes (1); il en doit être évidemment de même chez le *Ginkgo*, seulement nous ne connaissons pas la nature de cette substance. Il est à remarquer que M. IKENO a reconnu, ainsi que moi, du suc de même sorte dans des ovules du *Cycas revoluta* et a émis une opinion analogue à la mienne (2).

L'anthérozoïde mis en liberté a un corps oval et plus long que chez celui renfermé dans le tube. Il mesure 82 μ de long et 49 μ de large. Le noyau qui devient plus long qu'auparavant se trouve au sein du corps et est entièrement entouré de cytoplasme, seulement l'extrémité supérieure amincie du noyau s'allonge et se continue par la spire. Un nucléole y est présent. Les tours de spire, qui composent la tête, ne forment alors que des éminences faibles, car les canaux sont maintenant considérablement réduits. Les cils s'élèvent sur les tours du spire. À l'extrémité postérieure se voit une queue aiguë, longue de 28 μ ; à côté de son point d'insertion il y a un corps sphérique (Pl. IX, fig. 30). Chez le second anthérozoïde, signalé plus haut, on trouve sur le côté du corps une queue très faiblement développée. Cet anthérozoïde se distingue du premier non-seulement par le faible développement de la queue, mais encore par la présence d'une masse irrégulière de substance à côté du noyau. (Pl. IX, fig. 29). Comme on ne trouve jamais de queue aux anthérozoïdes hémisphériques, restés encore dans le tube, il semble rationnel de conclure que la queue est formée presque momentanément peu de temps avant la sortie du tube et aux dépens d'une certaine portion du cytoplasme.

(1) PFEFFER, *Locom. Richtungsbew. durch chem. Reize*. (Untersgn. aus d. bot. Inst. z. Tübingen, 1883).

(2) IKENO, l. c.

M. BELAJEFF (1) a suivi très minutieusement chez les anthérozoïdes du *Chara* le développement des cils sur le soi-disant «Plasmahöcker». Chez ceux du *Marchantia*, M. SCHOTTLÄNDER a observé qu'à la pointe de chacune des deux branches de l'extrémité de leur corps, il y a un grain cytoplasmique qui se trouve au point d'insertion des cils (2). M. STRASBURGER a étudié chez les zoospores de l'*Oedogonium* le développement des cils sur le soi-disant «Mundstelle» (3). Enfin, sur les anthérozoïdes du *Marattia*, M. CAMPBELL a observé qu'à l'extrémité antérieure de leur corps on voit un petit point cytoplasmique (4). Nous voyons donc que chez les Cryptogames les cils se développent sur un corps qui sert de base spéciale d'insertion. En outre, d'après M. SCHOTTLÄNDER, les grains découverts par lui sont des centrosomes; d'après M. STRASBURGER, le soi-disant «Mundstelle» n'est autre chose qu'une centrosphère (5) et chez les anthérozoïdes des Cryptogames en général le soi-disant «Kinoplasma», d'où se développent les cils, ressemble au «Mundstelle» en nature (6). Voilà les opinions que MM. SCHOTTLÄNDER et STRASBURGER ont émises concernant les rapports des cils et des sphères attractives. L'avis émis par M. BELAJEFF à propos des rapports de «Höcker» avec la sphère attractive est exprimé ainsi: «Sehr wahrscheinlich bildet der Höcker, der als erstes Anzeichen der Entstehung des Spermatozoïdenkörpers

(1) BELAJEFF, Ueb. Bau. und Entw. d. Spermatoz. d. Pflanzen (Flora, 1894, Bd. 79, p. 34).

(2) SCHOTTLÄNDER, Beitr. z. Kenntn. d. Zellkerns und d. Sexualzellen bei Kryptogamen. (Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1892, Bd. VI).

(3) STRASBURGER, l. c. p. 65.

(4) CAMPBELL, Observ. on the Develop. of *Marattia Douglasii*. (Ann. of Bot. 1894, Vol. VIII, No. XXIX).

(5) l. c., p. 63.

(6) l. c., p. 114, etc.

in geringer Entfernung von Kern hervortritt, die Attraktions-sphäre;» (1).

Or nous avons vu que chez les anthérozoïdes du *Ginkgo biloba*, le filament produit en vertu de l'allongement d'un centrosome accompagne toujours les tours de spire et sert comme base d'insertion des cils. Ce fait concorde bien avec les observations des divers savants sur les anthérozoïdes des Cryptogames que j'ai citées tout à l'heure.

Nous avons maintenant un grand nombre des recherches précises sur la composition histologique des anthérozoïdes. Les résultats obtenus par M. BELAJEFF à propos de ceux du *Chara foetida* et qui sont bien en accord avec ce qu'il a observé jadis chez les Cryptogames vasculaires sont que le corps des anthérozoïdes consiste d'un nucléus et du cytoplasme (2); ce qui a été confirmé par M. STRASBURGER, qui a étudiée la composition des anthérozoïdes du *Chara fragilis* et des Cryptogames vasculaires (3). M. CAMPBELL, au contraire, étudiant la même chose chez ceux du *Marattia Douglasii* pense que le corps d'un anthérozoïde consiste seulement d'un noyau (4), ce qui est en accord avec l'opinion de M. SCHOTTLÄNDER (5) concernant la composition des anthérozoïdes du *Chara foetida* et d'autres Cryptogames. Il est à remarquer seulement que MM. CAMPBELL et SCHOTTLÄNDER pensent néanmoins que la base d'insertion des cils est de nature cytoplasmique.

Il est bien connu que les anthérozoïdes des Cryptogames, au moment de commencer à mouvoir, se déroulent et prennent

(1) l. c., p. 45.

(2) l. c., p. 43-4.

(3) l. c., p. 114.

(4) l. c., p., 6.

(5) l. c.

conséquemment la forme d'une spire. Chez ceux du *Ginkgo*, au contraire, les tours de spire composant la tête sont toujours adhérents les uns aux autres, de sorte que leur corps ne prend qu'une forme ovale. Cette propriété, ainsi que la présence d'une queue, sont des caractères importants qui distinguent les anthérozoïdes de notre plante de ceux des autres. La composition de leur corps en noyau et en cytoplasme est tellement nette qu'elle est reconnaissable même sans coloration, d'où l'on peut voir que, malgré la diversité de forme extérieure, les anthérozoïdes du *Ginkgo* ressemblent parfaitement avec ceux des Cryptogames au point de vue de leur composition histologique. D'ailleurs, l'allongement d'une sphère attractive au début de la formation des tours de spire dans les anthérozoïdes du *Ginkgo* ressemble au fait que M. BELAJEFF a observé à propos des «Höcker» chez le *Chara*; seulement, chez celui-ci, d'après cet auteur, les «Höcker» s'allongent indépendamment, tandis que dans notre plante, le noyau et le centrosome s'allongent ensemble.

Lequel des deux corps, le noyau ou bien la sphère produit-il à l'origine le filament de jonction que nous avons vu se former entre un noyau et une sphère attractive lors de la formation des tours de spire? Lequel des deux est l'agent principal dans la formation des tours? Voilà les deux questions qui importent de résoudre et dont on ignore cependant encore la solution. À un stade avancé, l'allongement du bec nucléaire est beaucoup plus marqué que celui du centrosome et rappelle le processus qui a lieu au moment du développement des anthérozoïdes des Cryptogames, suivi si soigneusement par MM. GUIGNARD, CAMPBELL, SCHOTTLÄNDER, etc.

Si l'on veut bien comparer les recherches de MM. STRASBURGER et BELAJEFF citées plus haut avec mes observations

sur les anthérozoïdes du *Ginkgo*, on pourra dire probablement que ceux-ci sont égaux à ceux de certains Cryptogames dont les tours de spire sont supposés être adhérents et par conséquent le corps ne prend qu'une forme ovale. Les tours de spire composant la tête des anthérozoïdes du *Ginkgo* représenteront donc un caractère héréditaire transmis par les ancêtres, chez lesquels les tours de spire n'étaient pas adhérents au moment de la complète maturité. La forme en tire-bouchon des anthérozoïdes des Cryptogames est évidemment la mieux adaptée à leur translation dans le liquide. Or, ceux du *Ginkgo*, malgré leur forme non-spirale, peuvent bien remplir parfois toutes leurs fonctions; et cela est dû vraisemblablement à la présence d'une queue. Il est vrai que les tours de spire à la tête sont nécessaires non-seulement comme la structure la plus apte à servir de base d'insertion aux cils, mais encore par ce qu'ils facilitent probablement beaucoup le mouvement rotatoire qui accompagne la translation. Mais si la queue n'agissait en même temps, il serait impossible aux anthérozoïdes de bien remplir leur fonction, de telle sorte que les tours de spire et la queue sont deux organes en relation fort intime l'un avec l'autre. Non-seulement le fait même de la présence des anthérozoïdes chez le *Ginkgo* indique nettement le lien phylogénétique des Cryptogames vasculaires et des Gymnospermes, mais encore leur forme représente probablement un terme de passage entre la forme enroulée en tire-bouchon des Cryptogames et la forme sphérique des cellules génératrices des Gymnospermes siphonogames.

Conclusions.

1. Au fur et à mesure que les grains de pollen du *Ginkgo* se rapprochent de la maturité, le tissu interne du nucelle se détruit de plus en plus pour former enfin une peau mince; le nucelle est alors supporté sur la cime d'une protubérance qui se développe au sommet du sac embryonnaire, de telle sorte que le nucelle forme une tente, à l'abri de laquelle peuvent se mettre des tubes polliniques mûrs. Ceux-ci ne participent pas à cette destruction du nucelle.

2. Le grain de pollen mûr comprend trois cellules de grandeur inégale. La plus grande est la cellule végétative; une petite cellule intermédiaire aplatie représente la cellule génératrice ou anthéridiale; et enfin la plus petite extérieure ne révèle aucune action positive et demeure dans sa position primitive jusqu'à la fin de la vie du tube.

3. La cellule la plus grande germe sous le nucelle et pénètre dans son tissu. Tout d'abord, le tube se dirige vers la cime du sac embryonnaire, mais bientôt il ne tarde pas à changer de direction; sa cime croissante se divise en plusieurs branches grêles, qui se répandent sur la surface intérieure du nucelle et maintiennent fermement les tubes mûrs, de sorte que cette partie du tube ressemble à une rhizoïde non-seulement en apparence, mais aussi comme fonction.

4. Le tube, même après avoir cessé de s'allonger, ne vient pas en contact avec les cellules du col de l'archégone. Une des extrémités du tube, qui correspond non pas à celle croissante, mais à celle diamétralement opposée où s'est trouvée d'abord la cellule génératrice, se dirige vers les cellules du col; cela est dû, non pas à l'action positive du tube, mais à l'action

mécanique qui consiste à étirer le nucelle par suite du grossissement du corps endospermique. -

5. Le noyau de la cellule intermédiaire se dédouble ; un des deux noyaux-fils est refoulé à l'état nu au dehors de la cellule-mère, tandis que l'autre, y restant, prend une forme discoïde. La cellule, à laquelle ce noyau appartient, grossit beaucoup et forme ainsi un corps ellipsoïde. Une sphère attractive est présente à chacun des deux pôles de la cellule. En outre, on y trouve des granulations fort marquées et en arrangement régulier.

6. Le « Körperzelle » déjà grossi se divise de nouveau. Pendant la karyokinèse, les sphères attractives n'occupent pas les pôles du fuseau, mais ceux du « Körperzelle » comme auparavant, ce qui distingue la karyokinèse en question de ce qui se passe communément. L'axe longitudinal de la figure karyokinétique coïncide avec la ligne de jonction des deux sphères. Leur action à l'égard du processus karyokinétique n'est pas encore connu.

7. La cellule-fille qui ne change ni de forme ni de position dans le tube, se transforme en anthérozoïdes, de sorte qu'on trouve deux anthérozoïdes dans un tube pollinique.

8. Après que le noyau-fils, toujours éloigné de la sphère attractive, a grossi beaucoup, la formation des anthérozoïdes va commencer. Le premier processus est la jonction d'un centrosome avec un noyau. La partie de celui-ci au contact avec le filament de jonction forme une protubérance, qui, s'allongeant, produit un bec. Son extrémité, formant un filament grêle et aplati, s'allonge et se courbe de plus en plus et finit par décrire trois tours de spire dans le cytoplasme à travers la surface terminale de la cellule hémisphérique.

9. Le centrosome s'allonge en un filament grêle et accompagne toujours le bord extérieur des tours de spire ; il ne conserve plus dès lors sa forme primitive.

10. Le corps d'un anthérozoïde est à peu près oval, et possède à la tête trois tours de spire adhérents. Les cils s'élèvent sur eux. On observe une queue en pointe.

a. Le noyau se trouve au sein du corps oval et est complètement entouré par du cytoplasme, sauf à l'une de ses extrémités qui est en communication avec les tours de spire. On observe un nucléole.

b. Les cils se développent sur le long filament formé par le centrosome qui accompagne le bord extérieur des tours de spire. Les cils sont probablement identiques aux centrosomes.

c. La queue se forme aux dépens du cytoplasme et semble être produite très rapidement au moment où les anthérozoïdes vont commencer à être mis en liberté.

d. À une certaine distance du point d'insertion de la queue, il y a des corps sphériques. En outre, on trouve quelquefois une masse irrégulière de substance près de noyau. Les corps sphériques ainsi que cette masse irrégulière doivent être probablement de la substance nourricière qui sera rapportée dans l'oosphère.

Si l'on veut bien comparer ce que j'ai cité plus haut avec ce qu'on connaît aujourd'hui des Gymnospermes, on verra qu'il y a des divergences assez considérables. Le fait décrit dans l'article (a) doit être la cause primordiale de toutes les autres divergences qui n'en seraient alors que des corollaires nécessaires.

Ici à Tôkiô, l'anthèse du *Ginkgo* a lieu de la fin d'avril au début de mai. Après plus de dix semaines, au milieu de

juillet, la cellule prothallienne anthéridiale se divise; après neuf semaines, c'est-à-dire au début de septembre, le «Körperzelle» se divise et forme deux anthérozoïdes. La fécondation a lieu quelques jours après cela. Ainsi entre l'anthèse et la fécondation intervient une durée de quatre mois et demi. Deux mois après la fécondation, c'est-à-dire au début de novembre, le développement de l'embryon est fait. Les graines tombent de la plante-mère, tantôt après maturité complète de l'embryon, tantôt avant; dans ce dernier cas, l'embryon continue à se développer après que les graines sont déjà tombées. Si l'on compare les recherches de M. STRASBURGER sur le *Ginkgo* avec les miennes, on verra que tous les processus à partir de la pollinisation jusqu'au développement de l'embryon n'ont pas lieu au Japon aux mêmes époques qu'en Europe.



APPENDICE.

Nous allons maintenant mentionner quelques observations concernant, 1° l'absence fréquente de certains constituants cellulaires sur des préparations traitées avec des agents fixateurs différents, 2° des vacuoles qui se trouvent souvent dans les sphères attractives et les nucléoles, et 3° la coloration.

Ni la solution saturée alcoolique de sublimé, ni l'alcool absolu, ni l'alcool à 70 p. 100, n'ont le pouvoir de fixer sans altérer le «Körperzelle» grossi dans le tube pollinique. Dans les préparations fixées par ces agents, on trouve encore dans la cellule la masse irrégulière de substance, le nucléole et les centrosomes, ces derniers partiellement détruits à ce qu'il semble; mais les corps sphériques et les granulations groupées disparaissent toujours; la structure du cytoplasme se relâche et le noyau prend une forme fort défectueuse.

Le liquide de MERKEL est un fixateur quelque peu meilleur que les différents agents cités ci-dessus. Dans les cellules traitées avec lui, le noyau se gonfle à un tel degré qu'il s'écarte de la forme discoïde et que son contenu devient lâche. Bien que les sphères attractives conservent leur forme sphérique, de vacuoles contenant de l'air s'y forment en si grand nombre que les sphères semblent spongieuses. Le nucléole se comporte de la même façon que les sphères attractives. Dans la masse irrégulière de substance on ne voit pas de vacuoles. Les corps sphériques et les granulations groupées disparaissent toujours. La place occupée par les corps sphériques à l'état naturel est indiquée par un espace vide, qui, dans des matériaux arrivés au stade où ces corps sont au contact avec une sphère attractive, est à peu près triangulaire et un des sommets se dirige

vers cette sphère. Le cytoplasme est lâche et les stries radiaires de chaque sphère sont très accusées. (Pl. VII, fig. 11 *a* et *b*).

Dans les préparations fixées au liquide de FLEMMING, il n'est pas rare que le contenu cellulaire soit semblable à celui de celles traitées avec le liquide de MERKEL, comme on verra par exemple dans la figure 18 (Pl. VIII), où l'espace vide correspondant à un des corps sphériques n'est pas dessiné (*1° cas*). Dans les cas où les corps sphériques ne disparaissent pas, on trouve parfois quelques vacuoles, qui contiennent souvent de l'air (*2° cas*) (Pl. VII, fig. 12, 13), d'autrefois ces corps sont entièrement détruits, de sorte qu'une quantité de leurs fragments se trouvent d'un côté de l'espace vide (*3° cas*) (Pl. VII, fig. 14); dans les deux dernier cas, les centrosomes et le nucléole contiennent souvent des vacuoles et les granulations groupées disparaissent toujours, mais la masse irrégulière reste en bon état; le cytoplasme est lâche et le noyau se gonfle un peu. Dans d'autres cas, les granulations groupées disparaissent, le cytoplasme devient lâche, le noyau se gonfle un peu; les centrosomes, les corps sphériques, la masse irrégulière et enfin le nucléole sont bien fixés (*4° cas*) (comparez la figure dans mes « Notes on the Attraction-Spheres in the Pollen-Cells of *Ginkgo biloba* », Bot. Magaz., Tôkiô, 1894, Vol. VIII, No. 91, p. 360). Dans un autre cas encore, les granulations groupées sont préservées, le cytoplasme est dense, le noyau maintient sa forme discoïde et contient de la substance nucléaire à l'état dense; les centrosomes, les corps sphériques, la masse irrégulière, le nucléole, en un mot, tout est en parfait état de fixation (Pl. VII, VIII, fig. 10, 15, 16); dans ce cas où le cytoplasma est dense, on éprouve une grande difficulté à mettre en évidence les stries radiaires autour des sphères attractives (*5° cas*).

Même chez différents tubes polliniques sous un même nu-celle et au même stade de développement, le contenu du « Körperzelle » n'est pas quelquefois au même état de fixation. Je me suis convaincu néanmoins que dans des matériaux fixés au liquide de FLEMMING la grande partie est fixée comme dans le 5° cas indiqué ci-dessus, qui représente l'état de fixation le plus parfait, ce que nous pouvons prouver par l'observation-témoin sur la cellule vivante.

La résistance à l'eau du « Körperzelle » à l'état vivant est très faible. Dès que l'eau pénètre dans le tube pollinique, la cellule se gonfle excessivement sur-le-champ, son noyau devient sphérique au lieu de rester discoïde, et tous les deux ne tardent pas à se détruire, ainsi que les autres contenus cellulaires. Plongé dans de l'eau sucrée plus ou moins concentrée, ou du suc obtenu de la chair du *Ginkgo*, du melon d'eau ou du poire, il peut se maintenir un peu plus longtemps qu'il ne le fait dans l'eau pure, mais bientôt il subit le même sort. En employant de l'eau contenant de 7 à 9 p. 100 de sucre, j'ai pu observer fréquemment le contenu du « Körperzelle » à l'aide de l'objectif à immersion homogène, avant que l'eau n'y soit pénétrée. Alors, les centrosomes, les corps sphériques, et la masse irrégulière sont d'une constitution homogène; ils sont incolores, ainsi que les granulations groupées et le nucléole. Celui-ci contient à son centre une grande portion nettement limitée qui se distingue aisément et qu'on observe souvent même dans les matériaux fixés. Je n'ai pu cependant observer ni dans le nucléole, ni dans les centrosomes, ni dans les corps sphériques, les vacuoles qui se montrent très fréquemment dans les cellules traitées par certains agents fixateurs. Quelquefois on y trouve à l'état frais les points obscurs qui ne sont pas des bulles d'air; l'établissement de leur

nature exigera une étude spéciale, quoiqu'ils représentent probablement le premier indice de la destruction de la cellule à la suite de la pénétration de l'eau. La zone hyaline («Hof» des auteurs allemands), ainsi que les stries radiaires ne sont pas visibles à l'état frais.

Si certains corps qui s'observaient avec netteté chez une cellule vivante, ne peuvent plus être retrouvés une fois qu'elle est fixée, il est évident qu'ils ont disparu dans l'opération de la fixation. Comme on le verra par ce que j'ai décrit ci-dessus, les granulations groupées sont ce qui se fixe le plus difficilement; les corps sphériques, le nucléole et les centrosomes le sont sans trop de peine, et la masse irrégulière est très facile à fixer. De plus il est certain qu'il y a dans le cytoplasme une certaine substance aussi difficile à fixer que les granulations groupées, et que je ne peux pas encore distinguer nettement. Le noyau semble prendre une forme discoïde en vertu de la pression exercée par cette substance qui remplit la cellule; si, au moment de la fixation, une partie au moins vient à se dissoudre, sa pression diminue, ce qui se traduit par le gonflement et le changement de forme du noyau. Celui-ci a à l'état frais toujours une forme discoïde.

Vers le moment de la formation des anthérozoïdes, la substance accumulée dans le filament de jonction du noyau avec la sphère attractive, ainsi que celle du bec du noyau, ne sont pas visibles souvent même après la coloration; je ne doute pas que cela ne soit dû à la dissolution partielle de cette substance.

Il n'est pas rare de rencontrer des vacuoles dans un nucléole à l'état fixé. M. le Dr. ZACHARIAS (1) a observé en dedans du nucléole à l'état frais un nombre plus ou moins grand

(1) ZACHARIS, Ueber den Nucleolen. (Bot. Zeit, 1885, Jahrg. 43, p. 278).

de vacuoles. Chez le nucléole du noyau du « Körperzelle » du *Ginkgo*, on peut observer des vacuoles seulement à l'état fixé, non pas jamais à l'état frais. Dans cette cellule, les corps sphériques fixés sont généralement homogènes; mais tantôt ils renferment des bulles d'air, tantôt ils se décomposent en de fine granulations, tantôt ils disparaissent entièrement et laisse un espace vide dans le cytoplasme; tous ces phénomènes représentent différents stades de leur destruction par l'agent fixateur (1). Le nucléole dans le noyau du « Körperzelle » du *Ginkgo* doit contenir, ainsi que l'a démontré le savant botaniste de Hambourg pour quelques plantes, outre différentes substances, un certain corps fort soluble, qui se dissout au moment de la fixation et donne naissance à des vacuoles, comme dans les corps sphériques. L'origine des vacuoles du centrosome est vraisemblablement le même que pour un nucléole. Sur des matériaux n'ayant subi que la fixation seulement, les vacuoles ne renferment pas ordinairement de bulles d'air; mais sur les coupes microtomiques préparées comme à l'ordinaire par l'inclusion dans la paraffine, il y a presque toujours des bulles d'air; aussi est-il certain qu'elles ont pénétré dans les vacuoles à un certain moment des manipulations d'inclusion et n'ont pas été refoulées depuis.

Après leur découverte par M. le Prof. GUIGNARD (2), les sphères attractives ont été observées par beaucoup de savants dans un grand nombre des plantes. Selon leurs observations, qui concordent bien avec celles du célèbre professeur français, une sphère attractive consiste en un centrosome qui est entouré d'une zone transparente non colorable (« Hof ») et autour duquel

(1) D'après M. ZACHARIAS, les nucléoles consistent principalement de l'albumine et contiennent en outre de la plastine (l. c., p. 273).

(2) GUIGNARD, Sur l'existence des sphères attractives dans les cellules végétales. Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. de Paris, 1891.

les rayons sont visibles avec une netteté plus ou moins grande au moment de la karyokinèse. Les sphères attractives que M. P. SCHOTTLÄNDER (1) a découvertes chez le *Gymnogramme* et le *Chara* concordent quant à leur structure avec celles d'autres plantes, mais selon lui, celles du *Marchantia* en sont assez différentes, car il dit : « In den männlichen Sexualzellen von *Marchantia* habe ich nur Centrosomen wahrgenommen; von Sphären um sie herum habe ich nichts sehen können, womit natürlich nicht gesagt sein soll, dass sie nicht vorhanden wären » (2). MM. le Prof. BÜTSCHLI und LAUTERBORN ont observé chez une Diatomacée, *Surirella calcarata*, à l'état frais une centrosphère, dans laquelle la zone hyaline « Hof » fait défaut (3). Quant au « Körperzelle » du *Ginkgo*, quoique j'ai pu distinguer fréquemment une zone transparente autour d'un centrosome dans la cellule à l'état fixé (4), je ne l'ai pu guère observer dans la cellule fraîche, d'où l'on peut conclure que chez le « Körperzelle du *Ginkgo* au moins, la zone hyaline autour du centrosome, ainsi que celle quelquefois visible autour des corps sphériques et des autres granulations, doivent être produites par la contraction plasmolytique au moment de la fixation et n'existent pas à l'état naturel. Donc la sphère attractive chez le *Ginkgo* consiste simplement en un centrosome et ce que j'ai observé sur le *Ginkgo* concorde bien avec la description de MM. SCHOTTLÄNDER, BÜTSCHLI, et LAUTERBORN. Seulement le professeur d'Heidelberg semble avoir pu observer des stries radiaires à l'état

(1) l. c.

(2) l. c., p. 8.

(3) LAUTERBORN, Ueb. Bau u. Kernth. d. Diatomeen. (Verhand. d. N.-M. Vereins z. Heidelberg. N. F., V. Bd., 2. Heft, 1893).

(4) HIRASE, Notes on the Attraction-Spheres in the Pollen-Cells of *Ginkgo biloba*. (Bot. Mag., Tôkiô, 1894, Vol. VIII).

vivant, tandis que je n'ai pu les mettre en évidence qu'à l'état fixé, et jamais à l'état frais.

Nous allons maintenant passer à certaines observations concernant les réactions des contenus d'un «Körperzelle» vis-à-vis de différentes matières colorantes. Toutes les observations mentionnées ci-dessous ont été faites sur des coupes microtomiques préparées avec des matériaux fixés au liquide de FLEMMING, traités avec de l'eau oxygénée et enfin inclus dans le baume de Canada.

Sur des coupes colorées à la fuchsine acide et au bichromate de potasse d'après le procédé de M. ZIMMERMANN, rien de ce qui est contenu dans la cellule ne prend de teinte foncée, tandis que dans l'expérience-témoin sur le tissu endospermique, les grains d'aleurone se colorent en rouge foncé, d'où l'on conclura aisément que ceux-ci et le contenu du «Körperzelle» sont de nature différente.

Colorés à l'hématoxyline de BÖHMER, le cytoplasme, les granulations groupées, et le nucléole (sauf une certaine portion), prennent une coloration pourprée sombre, tandis qu'une portion du nucléole, les corps sphériques, la masse irrégulière, et les centrosomes se colorent en jaune brunâtre.

La méthode de double coloration par la fuchsine et le vert d'iode d'après M. ZIMMERMANN ne m'a pas donné de bons résultats, ce qui doit être expliqué probablement par la qualité de l'agent fixateur employé par moi.

Traités avec la fuchsine acide et le vert d'iode, le cytoplasme se colore en violet; le nucléole, les corps sphériques, la masse irrégulière, et les centrosomes se colorent en rouge foncé; les chromosomes sont colorés en rouge assez clair.

Avec la solution aqueuse 0,2 p. 100 de fuchsine acide, tous les contenus cellulaires se colorent en rouge.

La méthode de double coloration par la fuchsine acide et le bleu de méthylène de M. ROSEN colore le nucléole et la masse irrégulière en bleu foncé; les granulations groupées, les corps sphériques, et les centrosomes, en beau rouge; ceux-ci se colorent quelquefois en violet. Le nucléole qui se montre dans le nucléus-fils, peu après la division, prend une couleur rouge foncée. Les chromosomes se colorent en rouge foncé.

Placez des coupes d'abord dans une solution aqueuse 0,2 p. 100 de fuchsine acide pendant 1 à 2 heures, lavez les attentivement à l'eau, plongez les ensuite dans une solution aqueuse 0,2 p. 100 de bleu de méthylène pendant $\frac{1}{2}$ à 1 heure, lavez les à l'alcool absolu, plongez les alors sans les dessécher dans de l'essence de girofle, traitez les par la xylène, et enfermez les dans le baume. Dans des préparations ainsi traitées, les centrosomes se colorent en rouge ou en pourpre rougeâtre; les granulations groupées, en rouge ou clair ou foncé; le nucléole et la masse irrégulière en bleu foncé; le nucléole qui se montre dans le nucléus-fils, bientôt après la division, généralement en rouge foncé; les corps sphériques, en bleu ou clair ou foncé, et en rouge, lorsqu'ils sont réduits en fragments; et enfin, les chromosomes, toujours en rouge clair.

Avec l'iode, les granulations de toute sorte, ainsi que les centrosomes prennent une belle teinte jaune brunâtre.

Si l'on généralise ce que j'ai dit ci-dessus, on verra que les différents contenus d'un «Körperzelle» ont chacun leur propriété particulière et se distinguent les uns des autres. La masse irrégulière et le nucléole néanmoins se distinguent seulement par le fait que les vacuoles font défaut dans celle-là. Les corps sphériques et le nucléole se comportent différemment selon les agents fixateurs et colorants. Il ne faudrait d'ailleurs pas

considérer comme constant le mode de coloration des nucléoles en présence d'un même agent colorant. Comme je l'ai indiqué plus haut, le nucléole renferme une certaine substance qui est soluble dans l'agent fixateur et les corps sphériques se dissolvent souvent même en entier. Donc on peut supposer que le nucléole et les corps sphériques se composent chacun de deux constituants, dont l'un est soluble et l'autre insoluble dans les agents fixateurs. Le nucléole doit être composé d'une substance fondamentale insoluble et d'une petite quantité de substance soluble ; et les corps sphériques consistent en une grande partie de substance soluble. Comme les substances solubles dans le nucléole ainsi que dans les corps sphériques se dissolvent en vertu d'un même agent fixateur, elles peuvent être supposées identiques en nature. Si cette supposition-là était juste, comme il est prouvé, ainsi que nous l'avons déjà vu, que les corps sphériques ont une affinité plus puissante pour la fuchsine acide que pour le bleu de méthylène, la substance soluble du nucléole doit se conduire envers les matières colorantes de la même manière que les corps sphériques. Au contraire, la matière insoluble du nucléole, qui en forme une grande portion, ressemble à la masse irrégulière en ce qu'elle a une affinité plus grande pour le bleu de méthylène que pour la fuchsine acide. Aussi le nucléole consiste-t-il en une substance fondamentale insoluble cyanophile et une petite portion de substance soluble érythrophile, tandis qu'au contraire les corps sphériques consistent en grande partie en une substance soluble pareille à celle du nucléole ; en un mot, les deux constituants qui composent le nucléole ainsi que ceux qui constituent les corps sphériques sont identiques, mais les proportions où ils entrent dans les deux corps sont différentes, de sorte qu'ils se conduisent de différente façon avec des agents colorants.

Le fait que les granulations qui se conduisent comme la substance nucléolaire se trouvent dispersées dans le cytoplasme pendant le processus karyokinétique a été observé par la plupart des savants. Selon M. ZIMMERMANN (1), le nucléole émigre dans le cytoplasme sans se dissoudre et tel nucléole est appelé par lui le nucléole extra-nucléaire. Son opinion a été toutefois contestée par plusieurs savants. M. STRASBURGER a observé récemment qu'au cours de la karyokinèse le nucléole se dissout et passe dans le cytoplasme pour s'y condenser alors en des granulations qui se colorent de la même façon que les nucléoles (2). Chez le «Körperzelle» du *Ginkgo*, les corps sphériques et la masse irrégulière se montrent successivement autour du noyau au repos ; mais peu de temps avant cela, on y trouve deux nucléoles (Pl. VII, fig. 6, 7, 10). Après que les granulations se sont montrées autour du noyau, on n'y trouve qu'un seul nucléole. Ce fait, joint à leur conduite identique vis-à-vis des agents fixateurs et colorants, est en faveur de la supposition que ces granulations proviennent du nucléole. Je les ai observées souvent accolées à la face externe de la membrane nucléaire ; mais il ne me semble pas probable que le nucléole émigre dans le cytoplasme sans se dissoudre au préalable ; par conséquent, je partage la manière de voir de M. STRASBURGER qui admet qu'il se dissout dans le noyau et puis se solidifie de nouveau en dehors. Comme un nucléole s'est formé dans le noyau-fils et en même temps les granulations ne changent guère de forme, il est évident que les granulations et le nucléole dans le noyau-fils n'ont aucune relation entre eux (Pl. VIII, fig. 20).

(1) ZIMMERMANN, Beitr. z. Morph. u. Phys. d. Pflanzenzelle, 1893, II, 1.

(2) STRASBURGER, Karyokin. Probleme. (Jahrb. f. wiss. Bot., 1895, p. 156).

Quant à la relation entre les sphères attractives et le nucléole, M. KARSTEN a émis une opinion bien connue (1), qui a été combattue par MM. HUMPHREY (2) et GUIGNARD (3). L'opinion de M. LAVDOWSKY (4) ressemble beaucoup à celle du botaniste de Kiel, qui a été de plus contestée par M. ROSEN (5).

Or, chez le «Körperzelle» du *Ginkgo*, la sphère attractive diffère du nucléole quant à la coloration, mais elle lui ressemble bien en égard aux différents agents fixateurs. Toutes les fois que des vacuoles se montrent dans les sphères, les corps sphériques se dissolvent presque toujours; par conséquent les substances solubles dans ces deux corps doivent être identiques en nature. Donc les corps sphériques contiennent une quantité plus grande d'une substance soluble que les sphères attractives, et celles-ci contiennent, à leur tour, une quantité plus grande des mêmes matières que le nucléole. Aussi quant à leur conduite sous l'action des agents fixateurs, les sphères attractives se rapprochent plus du nucléole que des corps sphériques. En outre, il y a un fait fort remarquable et qui rend bien probable le lien génétique des sphères attractives et du nucléole, c'est qu'avant qu'elles ne soient visibles autour du noyau, on y trouve toujours deux nucléoles, et qu'après, on n'en voit plus qu'un seul.

KARSTEN a, ainsi que nous l'avons dit plus haut, émis l'opinion que les sphères attractives dérivent du nucléole. Mon

(1) KARSTEN, Ueb. Beziehgn. d. Nucleolen z. d. Centrosomen b. *Psilotum triquetrum* (Ber. d. D. B. Ges., 1893, XI, p. 556).

(2) HUMPHREY, Nucleolen. u. Centrosomen (Ibid., 1894).

(3) GUIGNARD, Sur l'origine des sphères attractives. (Journ. de Bot., 8^e année, 14, 15, 1894).

(4) LAVDOWSKY, V. d. Entsthg. d. chrom. u. achrom. Subs. in d. thier. u. pflanz. Zellen. (Anat. Hefie, 1894).

(5) ROSEN, Beitr. z. Kenntn. d. Pflanzenzellen, III. (Beitr. z. Biol. d. Pflanzen, 1895, VII; 2, p. 251).

opinion sur le «Körperzelle» du *Ginkgo* est d'accord sur le fond avec celle de ce botaniste, mais les détails des observations sont différents, car bien qu'il dit que les nucléoles vont dans le cytoplasme sans se dissoudre préalablement, je crois que chez le *Ginkgo*, le nucléole se dissout et coule alors dans le cytoplasme, où il forme des sphères. L'éclaircissement complet de ce problème exigera cependant une recherche plus approfondie.

Avant de terminer ce travail, je veux témoigner ici ma vive reconnaissance envers M. le Prof. J. MATSUMURA qui a bien voulu me permettre de travailler dans son laboratoire.

Le 21 mars 1897.

Supplément.

Pendant que ce mémoire était sous l'impression, quelques travaux qui sont relatés très intimement avec le nôtre, ont été publiés et nous allons en tenir compte succinctement dans ce supplément.

M. BELAJEFF (1) a observé chez les Fougères et les Équisétacées qu'un grain rond qui se trouve auprès du noyau de la cellule-mère de l'anthérozoïde s'allonge au commencement de son développement, ensuite se joint avec le noyau pour ainsi former ensemble la spire à la partie antérieure de l'anthérozoïde et sert comme la base d'insertion des cils. Voilà ce que le savant

(1) BELAJEFF, Ueber den Nebenkern bei den spermatogenen Zellen und die Spermatogenese bei den Farnkräutern (Ber. d. Deuts. Bot. Ges., XV, 1897).—Ueber die Spermatogenese bei den Schachtelhalmen (Ib.).—Ueber die Aehnlichkeit einiger Erscheinungen in der Spermatogenese bei Thieren und Pflanzen (Ib.).

professeur russe a observé, qui est en accord avec ce que j'ai constaté ci-dessus chez le *Ginkgo biloba*. Seulement le grain rond énoncé ci-dessus, que le professeur russe tient pour être identique aux «Höcker» observé par lui chez les Characées, n'est pas d'après son opinion un centrosome, mais un noyau accessoire (Nebenkernel).

D'un autre côté, M. WEBBER (1) a récemment découvert chez la cellule-mère de l'anthérozoïde du *Zamia* un corps sphérique qui, à un certain stade de son développement s'allonge et forme la base d'insertion des cils. Selon lui, cette sphère ne représente pas un centrosome.

D'après M. IKENO (2), qui a découvert chez le *Cycas* un corps sphérique similaire à ce que M. WEBBER a vu dans le *Zamia*, cette sphère n'est qu'un centrosome, ce qui s'accorde parfaitement avec ma propre opinion sur ce corps.

Si l'on tient compte des recherches de M. BELAJEFF et de mes propres sur le *Ginkgo*, il est évident que le phénomène de la jonction du filament du centrosome avec le noyau allongé aura une grande importance, ou pour le développement de l'anthérozoïde, ou pour sa fonction locomotrice. Les considérations de diverses circonstances nous conduisent à la supposition que cette jonction a une relation intime avec celle-ci plutôt qu'avec celle-là, c'est-à-dire que cette jonction représente pour le noyau, qui est le seul gouverneur de la force locomotrice de l'anthérozoïde, peut-être le mécanisme le plus apte pour imprimer aux cils le pouvoir de locomotion.

Le 17 mai 1898.

(1) WEBBER, Bot. Gazette, XXIII, XXIV, 1897.

(2) IKENO, Flora, LXXXV, 1, 1898.



Explication des Planches.

Sauf pour les Fig. 1 c, 11, et 35, toutes les figures ont été dessinées d'après les préparations fixées au liquide de FLEMMING.

Les abréviations communes à toutes les figures sont : *c. op.*, coupe optique; *c. l. op.*, coupe longitudinale optique; *c. mic.*, coupe microtomique; *c. l. mic.*, coupe longitudinale microtomique; *p. d. c.*, préparation à double coloration; *rec.*, recueilli; *gr.*, grossi.

Planche VII.

Fig. 1.—Pollen, rec. le 24 avril. *a*, pollen après la troisième division et se rapprochant de la maturité; *b*, pollen déjà mûr; *c*, pollen déjà sorti de l'anthere, la cellule plus grande formant une concavité. *a* et *b*, *c. op.* Gr. 750.

Fig. 2.—Tube pollinique plus ou moins crû sous le nucelle; rec. le 10 juillet; *a*, tube entier isolé du nucelle; *b*, une extrémité du même, *c. op.* Gr. 750. *E*=exinè; *P*₁, *P*₂=cellules plus petites ou prothalliennes du pollen plus ou moins agrandies. *P*₃, cellule embryonnaire allongée; *cn*, le reste du tissu nucellaire.

Fig. 3.—Une extrémité du tube. Rec. le 11 juillet. *c. l. mic.*; *d. c.* Gr. 750. Première bipartition de la cellule prothallienne intermédiaire.

Fig. 4.—Ibid. Rec. le 13 juillet. *c. l. op.* Gr. 750.

Fig. 5.—Ibid. Rec. le 24 juillet. *c. mic.*, *d. c.* Gr. 750. Un nucléus-fils quittant déjà la cellule-mère ou le «Körperzelle», et deux sphères attractives prenant naissance autour du «Körperzelle».

Fig. 6.—Ibid., rec. le 31 juillet. C. l. Gr. 750. Sphères s'éloignant un peu du nucléus; nucléus embryonnaire (P_3) retrouvé près du «Körperzelle».

Fig. 7.—Ibid., rec. le 27 juillet; c. l. mic.; p. d. c., gr. 750. Les sphères se trouvent chacune à un pôle du «Körperzelle»; le nucléus aplati renferme deux nucléoles.

Fig. 8.—Ibid., rec. le 6 août. C. l. mic.; p. d. c. Gr. 750. Au dehors du noyau se montre une grande granulation.

Fig. 9.—Tube entier isolé du nucelle, rec. le 18 août. C. l. op. Gr. 180. Coupe menée à travers la partie médiane du grand axe du «Körperzelle», de sorte que le contour du nucléus est circulaire. Nucléus embryonnaire près du «Körperzelle»; *en*, reste du tissu nucellaire.

Fig. 10.—Coupe du «Körperzelle» menée suivant le grand axe. Rec. le 18 août. C. m.; p. d. c.; Gr. 750. Près des sphères attractives on voit des corps sphériques entourés de fines granulations groupées. Nucléus renfermant deux nucléoles. Masse irrégulière près du nucléus et prête à s'agrandir; P_3 , le nucléus embryonnaire.

Fig. 11.—Ibid., rec. le 18 août. C. m.; d. c. Coupe faite sur une préparation fixée au liquide de MERKEL. Gr. 520; *a*, nucléus s'en gonflé beaucoup, les corps sphériques se sont dissout en laissant des espaces vides au-dessous des sphères attractives; de fines granulations groupées sont dissoutes; il y a des bulles d'air dans le nucléus; *b*, une portion du même, grossie 900 fois; dans des sphères on trouve des vacuoles qui contiennent des bulles d'air.

Fig. 12.—Corps sphériques contenant de nombreuses vacuoles pleines d'air.

Fig. 13.—Corps sphériques se désorganisant partiellement en forme de granulations.

Fig. 14.—Ibid., le processus de désorganisation est plus accentué.

Planche VIII.

Fig. 15.—Un «Körperzelle», coupé suivant le grand axe. Rec. le 11 sept. c. m.; p. d. c.; gr. 520. Sphères attractives, ainsi que granulations changeant déjà leur position primitive; masse irrégulière vaguement visible.

Fig. 16.—Ibid., rec. le 12 sept. C. m.; p. d. c.; gr. 520. Division nucléaire pendant le stade de prophase.

Fig. 17.—Une extrémité du tube. Rec. le 12 sept. Coupe transversale menée au milieu du grand axe du «Körperzelle». Gr. 340. Un stade de prophase.

Fig. 18.—C. l. suivant l'axe longitudinal du «Körperzelle». Rec. le 12 sept.; c. op. Gr. 520. Stade de métaphase; les corps sphériques se dissolvent et laissent un espace vide; des granulations groupées sont dissoutes; les sphères attractives sont à l'état spongieux.

Fig. 19.—Ibid., rec. le 12 sept. c. m., p. d. c. Gr. 520.

Fig. 20.—Tube en entier; rec. le 12 sept. C. l. opt. représentant le tube en direction suivant l'axe longitudinal du «Körperzelle»; gr. 180. «Körperzelle» se divise en deux cellules qui formeront des anthérozoïdes.

Fig. 21.—Partie terminale de la cellule qui forme un anthérozoïde; rec. le 13 sept. C. op. Gr. 900. Noyau et sphère joints l'un à l'autre (préparé avec des matériaux de fixation incomplète).

- Fig. 22.—Ibid., rec. le 12 sept. C. m.; p. d. c.; gr. 900. Noyau formant un bec.
- Fig. 23.—Ibid., vu obliquement de haut; rec. le 12 sept.; p. d. c., Gr. 520. Bec nucléaire se courbant et commençant à décrire des tours de spire. Contour du noyau indiqué par une ligne des points. Préparé avec des matériaux de fixation incomplète.
- Fig. 24.—Ibid., rec. le 12 sept. Gr. 520. Formation des tours de spire un peu plus avancée.
- Fig. 25.—Anthérozoïde presque mûr, vu un peu obliquement. Rec. le 15 sept.; p. d. c.; Gr. 500. Contour du noyau indiqué par une ligne de points.
- Fig. 26.—Ibid., rec. le 12 sept., c. l. m.; p. d. c. Gr. 520.
- Fig. 27.—Ibid., vu du sommet; rec. le 12 sept.; gr. 520. Contour du noyau indiqué par une ligne de points. Corps sphériques visibles.

Planche IX.

- Fig. 28.—Une extrémité du tube; coups menée parallèlement au grand axe et à quelque distance de lui; rec. le 12 sept., gr. 340. Deux anthérozoïdes presque mûrs; noyau et corps sphériques visibles; *E*, exine; *P*, nucléus plus petit du pollen se restant encore; *S*, le nucléus refoulé au moment de développement du «Körperzelle» et prêt à se désorganiser; nucléus embryonnaire étant masqué n'est pas visible.
- Fig. 29.—Un anthérozoïde, rec. le 9 sept. Gr. 520. Prêt à sortir du tube; son corps s'est allongé, mais sa queue n'est pas encore formée. Masse irrégulière ainsi que les corps

sphériques y contenus. Contour du noyau indiqué par la ligne de points.

Fig. 30.—Anthérozoïde sorti du tube. Rec. le 9 sept. Gr. 520; *a*, corps vu extérieurement, nucléus et corps sphériques visibles; les cils de la tête ont été malheureusement perdus lors de la préparation); *c. l. op.*

Fig. 31.—Un ovule. C. l. Rec. le 21 avril. Chambre pollinique bien développée; gr. 50.

Fig. 32.—Ibid., rec. le 8 mai. Gr. 48. Grain de pollen en germination. Chambre pollinique prête à se fermer.

Fig. 33.—Une portion du nucelle; *c. l.* Rec. le 5 juin. Gr. 48. La chambre pollinique s'agrandit; deux tubes polliniques sont attachés de chaque côté de la chambre. *H* représente la protubérance nucellaire devenue brunâtre.

Fig. 34.—Le même. Rec. le 5 juin. Gr. 120.

Fig. 35.—Une portion du nucelle âgé. C. l., menée à travers de l'ovule à l'état frais; rec. le 29 août. Gr. 30. *o*, oosphère.

Fig. 36.—Ibid., rec. le 9 sept. Gr. 36.

