

## Recherches sur l'embryologie des Mammifères.

De la segmentation, de la formation  
de la cavité blastodermique et de l'embryon didermique  
chez le Murin

PAR

EDOUARD VAN BENEDEN.

---

Planches I à V et une figure dans le texte

---

### AVANT-PROPOS

En 1899, dans une communication préliminaire parue dans le volume XVI de l'*Anatomischer Anzeiger*, Ed. VAN BENEDEN a fait connaître de façon sommaire, mais avec une clarté lumineuse, les principaux résultats de ses longues recherches sur les premières phases du développement de l'œuf du Murin. Quelques figures illustraient son texte ; plusieurs d'entre elles ont été reproduites depuis lors dans des traités ou des travaux spéciaux.

Après la mort de l'illustre savant, ceux qu'il avait chargés de la mise au point de ses travaux scientifiques en cours ont trouvé, prêtes à être envoyées au lithographe, 5 planches montrant avec une richesse de stades incomparable, toute l'évolution de l'œuf de Murin, depuis la fécondation jusqu'à l'apparition de la ligne primitive.

Je crois me souvenir qu'Ed. VAN BENEDEN en avait fait la démonstration aux membres de l'*Anatomische Gesellschaft*, réunis en Congrès à Tübingen en 1899.

Ces planches étaient certainement destinées à accompagner



le mémoire *in-extenso* qui était annoncé dans la communication préliminaire de 1899.

Malheureusement tout texte faisait défaut ; dans le volumineux amas de notes manuscrites qui m'a été confié, je n'ai rien trouvé qui se rapportât à ce travail.

J'ai cru cependant qu'il serait utile pour la science, que les résultats objectifs auxquels Ed. VAN BENEDEN était arrivé après de longues années de recherches, fussent livrés à la publicité. Car ce mémoire, tant par la richesse de la documentation que par le scrupule dans l'exécution et dans le choix des dessins, ne l'eut cédé en rien aux autres œuvres du grand embryologiste belge.

J'ai donc pris la décision de rédiger un texte, mais je tiens à bien préciser la façon dont je me suis acquitté de cette tâche.

Les documents que je possédais étaient les suivants : la note préliminaire de 1899, qui résume tous les faits essentiels et formule les conclusions principales ; des croquis, faits à la chambre claire, d'œufs étudiés vivants ou *in toto*, accompagnés de quelques indications sommaires sur l'aspect et la constitution générale de l'objet étudié ; enfin, une série de plusieurs centaines d'œufs et de blastocystes débités en coupes avec la corne utérine qui les contenait : j'ai pu retrouver dans ce matériel presque toutes les préparations qui ont été dessinées, et il m'a été possible de reconnaître dans chaque cas, la raison qui avait déterminé le choix des figures ; j'ajouterai, que dans plusieurs de ces longues conversations que les amis et les élèves d'Ed. VAN BENEDEN aimaient tant, il m'avait parlé des résultats de ses recherches et des doutes qu'il avait encore sur certains points.

Je possédais donc des éléments suffisants pour une description objective des faits et j'avais aussi un fil conducteur assez sûr pour me permettre d'établir l'enchaînement des stades.

Toutefois, dans la rédaction d'un travail scientifique telle qu'on la comprend habituellement, la personnalité de l'auteur se manifeste aussi bien dans la partie descriptive que dans le reste ; le plan adopté, la façon de présenter les faits, font que le lecteur prévoit les conclusions et qu'il est préparé à comprendre les considérations théoriques qui terminent l'ouvrage.



Or, je ne suis pas l'auteur de ce travail ; rien ne m'autorise à substituer une rédaction personnelle à celle qu'eut pu écrire VAN BENEDEN, et à le rendre responsable d'un texte qu'il n'eut peut-être pas approuvé.

Aussi me suis-je contenté d'exposer simplement ce qu'Ed. VAN BENEDEN avait découvert, d'indiquer ce que signifient les dessins qu'il avait fait exécuter, et de fournir la démonstration objective des conclusions formulées par lui dans la note de 1899. Si j'avais développé ces conclusions, si j'avais comparé ses observations à celles faites, depuis lors, par d'autres auteurs sur des sujets analogues, si j'avais ajouté un chapitre de considérations générales, j'aurais pu trahir la pensée du Maître : aussi m'en suis-je abstenu.

Plus tard, quand ce travail sera sorti de presse, quand il sera établi que le mérite des observations qui y sont relatées revient

Ed. VAN BENEDEN seul, je pourrai, comme tout autre embryologiste, les discuter, les confronter avec d'autres et en tirer des considérations qui n'engageront que ma propre responsabilité. Pour le moment, mon unique but est d'honorer la mémoire du Maître disparu en augmentant, dans la mesure de mes moyens, les droits personnels qu'il a à la reconnaissance du monde scientifique.

Pénétré de ces idées, j'ai décrit scrupuleusement, mais exclusivement, les œufs qui ont été figurés et qui sont reproduits sur les planches, en respectant l'ordre que l'auteur leur avait assigné par le numérotage des dessins. A l'aide de tous les documents dont je disposais, je les ai rattachés les uns aux autres, afin de mettre en lumière la continuité des divers processus et j'ai répété, presque sans y rien ajouter, les conclusions formulées en 1899. En agissant ainsi je suis sûr de n'avoir rien dit que VAN BENEDEN n'eût pu exprimer lui-même.

Cependant, en de rares endroits, j'ai dû déroger à cette ligne de conduite. Il ressort de l'examen des figures et des préparations quelques faits dont l'importance n'a certainement pas échappé à Ed. VAN BENEDEN, mais qu'il n'a pas mentionnés dans ses travaux antérieurs, peut-être parce qu'il se réservait d'en faire une analyse plus complète. J'ai cru devoir les sou-



ligner ; toutefois dans l'ignorance où je suis de la signification réelle que leur reconnaissait l'auteur du travail, j'ai mis entre parenthèses les réflexions qu'ils m'ont suggérées. S'il s'y trouve des erreurs, j'en suis seul responsable. Enfin j'ai employé les mêmes parenthèses chaque fois qu'un doute ou une explication nécessaire m'obligeait à faire reparaître ma personnalité.

Il est évident que ce travail ne sera pas ce qu'il eut été si Ed. VAN BENEDEN l'avait écrit lui-même. Avec son puissant esprit de synthèse, il en eut certainement tiré des conclusions d'une haute portée scientifique. Je n'ai pas à m'en excuser : il n'est pas en mon pouvoir de réparer la perte qu'a fait faire à la Science la mort d'Ed. VAN BENEDEN.

A. BRACHET.



## INTRODUCTION.

L'époque de l'ovulation, de la fécondation et des premières segmentations de l'œuf chez les Chauves-souris, de même que certains détails concernant la biologie sexuelle de ces animaux ont été signalés dans des travaux antérieurs, et notamment en 1880. (Ed. VAN BENEDEN et C. JULIN: Observations sur la maturation, la fécondation et la segmentation de l'œuf, chez les Cheiroptères. *Arch. de Biologie*, t. I.) Il serait sans grand intérêt d'y revenir. Presque tous les œufs qui seront décrits dans ce travail ont été observés en avril, et ont été recueillis de 1881 à 1891. Les récoltes ont été particulièrement fructueuses en 1887, 1888, 1889 et 1891; elles ont fourni les stades les plus importants et les coupes les mieux réussies.

Il est indispensable, pour se faire une idée exacte de l'aspect réel des premiers stades de la segmentation, de les étudier tant sur le vivant, ou sur des préparations montées *in toto*, que sur des coupes sériées de l'œuf contenu dans la corne utérine. Il est des détails admirablement visibles sur l'œuf vivant et que la fixation fait disparaître; en outre, l'œuf étant contenu dans l'utérus, son orientation réelle n'est pas connue et il peut avoir été entamé par le rasoir suivant un plan qui en rend l'étude très difficile; on verra par la suite que certaines questions ne peuvent être résolues par la seule méthode des coupes.

Voici le procédé employé pour examiner les œufs vivants: on étale l'utérus sur un porte-objet et on le coupe en travers, soit à l'union des deux cornes, soit au niveau de l'orifice tubaire droit, l'œuf étant toujours dans la corne droite chez le Murin. Avec le manche d'un scalpel, on frotte la surface de l'organe en appuyant légèrement: l'œuf est ainsi amené petit à petit en regard de la surface de section et tombe dans une goutte de sérum artificiel de KRONECKER, que l'on a préalablement déposée sur la lame.

Dans le sérum, les œufs se conservent pendant un temps



relativement long, parfois 2 heures et plus, sans altération notable. Après examen, on peut faire apparaître certains détails en ajoutant une goutte d'acide osmique à 1 %, ou d'une solution faible d'acide chromique. On peut aussi les fixer par les réactifs histologiques ordinaires, mais ils se modifient toujours fortement dans leur aspect.

Plusieurs centaines d'œufs et de blastocystes ont été fixés *in situ* avec la corne utérine dans laquelle ils étaient contenus. Les fixateurs employés ont été : l'acide nitrique, le liquide de Kleinenberg, le sublimé additionné d'acide acétique, le chlorure de platine (liquide de Hermann) et le liquide de Flemming. On laissait agir le réactif pendant 1 à 5 heures. Les colorations ont été faites en masse au carmin boracique. La majorité des cornes utérines ont été débitées en coupes longitudinales de  $\frac{1}{100}$  de millimètre d'épaisseur. Quelques-unes ont été coupées transversalement.

(Le liquide de Flemming employé comme il vient d'être dit, c'est-à-dire n'agissant que pendant très peu de temps (en général  $1\frac{1}{2}$  à 2 heures) donne souvent de fort belles préparations qui sont très bien colorées par le carmin boracique. Mais il va de soi que cette coloration est d'autant meilleure que l'action de l'acide osmique s'est fait moins sentir.

En général, la muqueuse utérine et l'œuf n'ont été pénétrés que par l'acide chromique et par l'acide acétique. Néanmoins toutes ces préparations sont remarquables par la netteté des colorations nucléaires et des délimitations cellulaires.)

Les stades du développement du Murin qui seront décrits dans ce travail, s'étendent depuis l'œuf fécondé jusqu'à l'apparition de la ligne primitive. Aussi, pour plus de facilité, divisons-nous notre exposé en deux grands chapitres : I. La segmentation de l'œuf et la formation de la cavité blastodermique. II. La formation de l'embryon didermique et de la cavité amniotique primaire.



## CHAPITRE I.

**La segmentation de l'œuf et la formation de la cavité blastodermique.**

Ce chapitre sera lui-même subdivisé en deux paragraphes : le premier comportera la description des œufs examinés sur le vivant ou *in toto* ; le second sera consacré à l'étude des œufs débités en coupes sériées dans la corne utérine.

§ 1. — *Nous décrirons ici les œufs représentés dans les fig. 1 à 15 de la Pl. I.*

*Fig. 1.* — C'est un œuf de *Vesperugo dasyncnema* ; il est le seul de cette espèce qui figure dans les planches, tous les autres sont des œufs de Murin.

Il a été observé le 30 mars 1882 ; son diamètre mesuré sur le vivant est de 0 mm, 1176. Deux globules polaires sont nettement visibles ; une troisième masse globuleuse, située du côté droit, est plus difficile à identifier ; il est peu probable que ce soit le 3<sup>e</sup> globule polaire ; elle appartient plutôt à un ensemble de gouttelettes et de granulations que l'on trouve constamment dans l'œuf des Chauve-souris, dans l'espace péri-vitellin, au voisinage des globules polaires, et qui ont été expulsées de l'œuf en même temps que ces derniers. (Cf. Ed. VAN BENEDEN et C. JULIN ; *Arch. de Biologie*, t. I).

Le vitellus de l'œuf est constitué de deux couches : une couche corticale, claire et homogène ou finement granuleuse, et une couche médullaire chargée de gouttelettes et de granulations réfringentes. Cette dernière affecte la forme d'un croissant dont les cornes se rapprochent du pôle germinatif ; elles se continuent là dans une zone plus finement granuleuse et d'aspect spécial qui s'étend, en traversant la couche corticale, jusqu'au fond de la fossette où siègent les deux globules polaires. La concavité du croissant médullaire est occupée par



une tache plus claire remplie en grande partie par un gros pronucleus, bien visible sur le vivant.

Un second pronucleus, plus petit, est situé juste entre les pointes du croissant médullaire.

Il s'agit donc ici d'un œuf fécondé dont les deux pronucléi sont en train de se rapprocher. Sa polarité est nettement caractérisée par la structure du vitellus et la disposition des pronucléi.

*Fig. 2.* — Cet œuf a déjà été figuré en 1880. (*Arch. de Biologie*, t. I, pl. XXII, fig. 5). Il n'est pas décrit spécialement dans le texte, mais dans l'explication des planches on lit : " Œuf de Murin retiré de l'oviducte le 28 décembre 1870. Par le carmin appliqué après l'action de l'acide osmique, la partie centrale des globules polaires s'est colorée en rose. L'un de ces corps paraît en voie de division. "

Cependant les notes de laboratoire contiennent un croquis très exact de cet œuf, qui y est renseigné comme ayant été observé le 16 mars 1876. Une erreur de notation se sera donc glissée dans le mémoire de 1880. Le diamètre de l'œuf, mesuré sur le vivant, était de 0 mm. 1074.

Le croissant médullaire de la figure précédente est devenu un anneau complet par suite de la soudure de ses deux cornes ; le centre de cet anneau est occupé par une plage claire où se trouvent logés les deux pronucléi, fort bien visibles après fixation et coloration par le carmin ; chacun d'eux contient un gros nucléole.

La comparaison des fig. 1 et 2 indique bien que l'accolement des deux pronucléi s'est effectué suivant une ligne correspondant à l'axe vertical de l'œuf. La fermeture du croissant médullaire a fait disparaître la bande de cytoplasme différencié qui aboutissait au pôle germinatif, et la couche corticale du vitellus passe sans interruption sous les globules polaires.

*Fig. 3.* — Œuf de Murin observé le 3 avril 1882, et provenant d'un envoi du 31 mars. Les Chauve-souris avaient donc séjourné 3 jours dans le laboratoire. L'œuf se trouvait dans



l'oviducte, tout près de l'utérus. Il est segmenté en deux blastomères de taille inégale, mais d'aspect identique sur le vivant. Le plus volumineux s'étend et s'étale un peu sur l'autre.

Les noyaux, difficilement visibles, apparaissent comme des taches claires, vaguement délimitées, occupant le centre d'un amas de globules et de granulations réfringentes. Comme dans l'œuf fécondé, le vitellus de chaque blastomère est composé d'une couche médullaire entourant le noyau, et d'une couche corticale claire et en apparence homogène.

Aux deux extrémités du plan de division, on voit un globule polaire; la petite masse représentée en haut et à droite dans la figure est peut-être le 3<sup>me</sup> globule. Tous trois sont entourés de gouttelettes et de granulations claires et brillantes qui ont été expulsées de l'œuf avec les globules polaires et se disséminent dans l'espace périvitellin; quelques spermatozoïdes sont mêlés à ces granulations.

Après traitement par l'acide osmique chaud, les blastomères gonflent un peu, tandis que la zone pellucide se rétracte. L'espace périvitellin s'efface, mais l'inégalité des deux blastomères devient d'autant plus frappante que le petit prend une teinte un peu plus brune que l'autre.

*Fig. 4.* — Œuf de Murin observé le 1<sup>er</sup> avril 1882, et provenant d'un envoi fait le 28 mars. Plusieurs individus du même lot, examinés le 30 mars, avaient dans l'oviducte des œufs fécondés, mais non segmentés.

L'œuf figuré a été retiré de la corne utérine, étudié sur le vivant, et dessiné de face. Il est segmenté en 4 globes, transparents et finement ponctués, dont les noyaux apparaissent comme des taches mates, sphériques, contenant plusieurs nucléoles brillants. Au niveau de l'ancien pôle germinatif de l'œuf, que, pour plus de facilité, nous appellerons le pôle supérieur, se trouvent deux globules polaires nettement délimités par un bord réfringent, et facilement reconnaissables à une tache claire qui en occupe le centre et qui n'est autre chose que leur noyau. Les globules polaires sont situés au milieu d'amas de granulations de tailles très diverses entre lesquelles



on remarque encore trois spermatozoïdes. Dans le restant de l'œuf, le liquide périvitellin est tout à fait clair et hyalin. Nous connaissons ces détails pour les avoir déjà observés sur d'autres œufs.

Les globes de segmentation doivent retenir un instant notre attention. Parmi les quatre blastomères, deux sont un peu plus petits que les deux autres et leur vitellus est plus foncé; l'un d'entre eux est régulièrement sphérique sur la vue d'ensemble et est aisément reconnaissable, l'autre est plus convexe et occupe le côté droit du dessin.

Les deux blastomères plus gros se touchent par des surfaces planes et dans l'orientation donnée à la figure, ils sont situés l'un à gauche et l'autre au centre.

(Bien que n'ayant pas découvert sur le croquis d'étude d'indication spéciale, je crois que l'œuf, après avoir été étudié sur le vivant, a été fixé à l'acide osmique, lequel a fait apparaître, dans le vitellus des blastomères, les zones corticale et médullaire que le dessin représente nettement.)

*Fig. 5.* — Œuf de Murin retiré de l'oviducte et examiné vivant, le 3 avril 1882.

Il est segmenté en quatre. Les globules polaires sont très fragmentés et leurs débris se disséminent dans les sillons qui séparent les blastomères; le liquide périvitellin tient encore en suspension de nombreuses granulations et des spermatozoïdes plus ou moins altérés.

L'étude des globes de segmentation est fort instructive. L'œuf est vu par son pôle supérieur ou à peu près (comparer avec fig. 4). Les différences de taille et d'aspect des blastomères sautent aux yeux; deux d'entre eux sont plus petits et plus foncés, les deux autres plus grands et plus pâles.

Les quatre blastomères sont régulièrement groupés deux à deux, donnant ainsi à l'ensemble de l'œuf tous les éléments d'une symétrie bilatérale dont le plan, passant entre les deux gros et les deux petits globes est, dans la figure 5, obliquement dirigé en haut et à droite.

Sur le vivant, les noyaux dans chaque globe ont l'aspect de



taches claires, à surface muriforme, chaque bosselure superficielle revêtant un nucléole. Dans le vitellus, on retrouve les couches corticale et médullaire avec leurs caractères habituels.

L'œuf que nous venons de décrire, peut être facilement dérivé de celui que représente la figure 3 ; chacun des deux blastomères du premier stade s'est divisé en deux, suivant un plan perpendiculaire au premier plan de segmentation et passant, comme lui, par les pôles.

L'œuf segmenté en 2 (fig. 3) est également symétrique bilatéral : seulement, le plan de cette symétrie est perpendiculaire au premier plan de segmentation, et dès lors, on peut dire que dans l'œuf segmenté en 4 (fig. 5), c'est la seconde division qui est faite suivant le plan de symétrie bilatérale.

Nous reviendrons là-dessus un peu plus loin.

D'autre part, il suffit d'examiner la figure 4 pour reconnaître que si l'œuf qu'elle représente avait été dessiné, vu de son pôle supérieur, l'image obtenue aurait été très analogue à la figure 5. Un croquis de ce genre, pris à la chambre claire, mais non reproduit dans les planches, confirme d'ailleurs ce que nous venons de dire. Il en résulte que les œufs des figures 4 et 5 sont susceptibles de la même interprétation, et sauf quelques détails accessoires, sont absolument identiques.

*Fig. 6.* — Œuf de murin segmenté en 4 : deux blastomères sont plus volumineux, deux autres plus petits et un peu plus foncés ; dans tous les quatre on retrouve les couches corticale et médullaire du vitellus ; les noyaux n'apparaissent que comme des taches claires irrégulières. Deux globules polaires sont appliqués contre le blastomère qui, dans la figure, est situé à gauche.

La situation des quatre globes de segmentation est très différente de ce qu'elle est dans la figure 5, et l'orientation des plans de division diffère de ce qu'elle était dans les deux autres œufs du même stade que nous avons étudiés jusqu'ici. Il semble qu'après la première segmentation, la disposition des deux premiers blastomères était bien celle de la figure 3, mais qu'au



cours de la deuxième, l'un de ces deux blastomères s'est divisé suivant un plan horizontal, l'autre suivant un plan vertical. Dès lors la symétrie bilatérale, si elle existe encore dans cet œuf, ne présente plus de relation certaine avec la segmentation.

(Aucune note manuscrite n'accompagnant le croquis qui a été pris de cet œuf au moment où il a été examiné, j'ignore l'aspect qu'il offrait vu sous une autre incidence. Etant donné la disposition quelque peu aberrante des blastomères, j'ai cherché à en faire une reconstruction plastique, en m'appuyant sur les détails du dessin. J'ai pu ainsi me convaincre que l'interprétation donnée plus haut est exacte : le gros blastomère du stade de la fig. 3 s'est effectivement divisé suivant un plan vertical (l'axe de l'œuf étant considéré comme vertical) et perpendiculaire au premier, comme dans les figures 4 et 5, mais le petit paraît s'être segmenté suivant un plan horizontal. Il en résulte que, dans l'œuf divisé en quatre, les deux gros blastomères sont juxtaposés, tandis que les deux petits sont superposés.

Toutefois, il est très possible que cet aspect spécial soit dû à un déplacement secondaire, à un mouvement de rotation des globes de segmentation les uns sur les autres, résultant d'une pression anormale subie par l'œuf pendant les manipulations.

Ce n'est là qu'une hypothèse ; si elle est inexacte, la figure 6 comparée aux autres témoignera des variations possibles de la direction des premiers plans de segmentation chez les mammifères.)

*Fig. 7.* — Œuf de Murin observé le 14 Avril (?). Il est très intéressant parce qu'il est segmenté en cinq blastomères, dont l'un est beaucoup plus petit que les quatre autres, qui sont sensiblement de même taille. L'aspect du vitellus et des noyaux est identique à ce qu'il est dans les autres œufs. Toutefois le petit globe est plus pâle.

Il n'y a qu'une seule interprétation possible : Un des blastomères du stade 4 a subi une division inégale, donnant ainsi naissance à 2 cellules, une petite et une grande. Nous pouvons aller plus loin encore et dire que cette division s'est effectuée.



très probablement suivant un plan horizontal, c'est à dire perpendiculaire à l'axe de l'œuf ; en effet, les deux globules polaires qui occupaient le pôle supérieur, sont accolés au petit blastomère. N'oublions pas cependant qu'un déplacement de ces globules a pu se produire.

Il est impossible de préciser, par le seul examen de la figure lequel des quatre premiers blastomères a subi cette division inégale.

*Fig. 8.* — Œuf de Murin observé le 1<sup>er</sup> avril 1882. Il provient de la partie tout à fait inférieure de l'oviducte.

Il est segmenté en six globes dont les noyaux apparaissent comme des taches claires et dont le vitellus présente les deux couches caractéristiques, seulement ils sont de dimensions très inégales. Il y en a deux gros, fort semblables entre eux ; ils sont presque superposés dans le dessin et occupent le haut de la figure. Un autre, situé en bas, est notablement plus petit et repose en partie sur un quatrième qui le déborde fortement vers la droite et est encore de dimensions plus réduites. Enfin, les deux derniers se caractérisent par leur taille restreinte, encore que celui de droite soit plus gros que celui de gauche.

Il est très difficile, en examinant simplement le dessin, de reconnaître l'orientation qu'ont affectée les deux premiers plans de segmentation, et il est probable que des déplacements secondaires se sont produits.

Toutefois, un point est certain : si l'on compare les fig. 7 et 8, on doit admettre qu'un second blastomère du stade quatre a subi une division inégale. Dans l'œuf figuré sous le n<sup>o</sup> 8, les 6 blastomères se répartissent en 3 groupes : deux gros, deux moyens et deux petits ; mais nous avons fait remarquer que si les deux gros sont très sensiblement égaux, les quatre autres sont nettement groupés : à droite le plus petit des moyens est accolé au plus gros des petits et à gauche c'est l'inverse. Les moyens et les petits blastomères résultent donc, sans aucun doute, de la division inégale de deux blastomères de même ordre du stade quatre.

(Nous avons vu qu'au stade à quatre blastomères, il y en a



deux gros et deux petits, groupés deux à deux (fig. 5). Lequel de ces deux groupes a subi une division inégale ?

Il est très difficile de répondre à cette question dont l'importance ressortira plus loin. Cependant, en comparant le volume des gros blastomères à la masse totale des moyens et des petits, on a l'impression que le progrès de la segmentation a porté sur les deux petits. Cela est d'autant plus plausible qu'*en général* la rapidité de la division cellulaire est en raison inverse de la dimension des cellules. C'est là une loi bien connue.)

Signalons pour terminer la description de cet œuf, la présence, dans le liquide périvitellin, de débris des corpuscules polaires, mêlés aux granulations habituelles.

*Fig. 9.* — Œuf de Murin observé le 17 avril 1881. Il est d'une netteté et d'une clarté qui contrastent avec l'obscurité relative de certains autres.

Il est divisé en 8 globes qui se répartissent très exactement en 4 micromères et 4 macromères, *à la condition, bien entendu, de n'attacher à ces termes que leur signification étymologique.* Toutefois un examen attentif révèle de légères différences de taille entre les micromères, comme entre les macromères. Les deux groupes de blastomères sont séparés par un plan sensiblement horizontal.

Cet œuf, tel qu'il est figuré, a la constitution typique d'un œuf d'amphibien, par exemple, arrivé au stade 8. Nous savons que chez la grenouille ou chez le triton ce stade est atteint par la formation successive de deux sillons verticaux et perpendiculaires entre eux, puis d'un sillon horizontal et latitudinal, c'est-à-dire passant entre le pôle supérieur et l'équateur. Par analogie nous pourrions aussi chez le Murin, appeler latitudinal, le plan de séparation des micromères et des macromères.

La comparaison des figures 8 et 9 permet de constater qu'il n'y a qu'une seule façon de passer de l'une à l'autre : c'est d'admettre, non pas une division des deux micromères déjà formés, mais une nouvelle segmentation inégale, en micro et macromères, subie par les deux gros blastomères restés jusqu'alors inactifs.



Il en résulte, par conséquent, qu'au stade que nous décrivons, chacun des quatre blastomères visibles sur les fig. 4 et 5, s'est divisé par un plan latitudinal en deux cellules inégales, et que selon toutes probabilités, le stade à 8 blastomères a été atteint par le même processus que chez les Amphibiens.

(Tous les stades décrits jusqu'ici d'après les observations faites sur le vivant sont du plus haut intérêt et pourraient servir de point de départ à de très suggestives considérations.

Tout en désirant ne pas me départir de la ligne de conduite que j'ai adoptée, je voudrais cependant insister sur l'importance des faits que nous venons d'exposer, envisagés au double point de vue de la symétrie bilatérale de l'œuf et de la potentialité des premiers blastomères.

J'hésite d'autant moins à développer ce point qu'Ed. VAN BENEDEN a été l'un des premiers à attirer l'attention sur ce chapitre capital de l'embryologie.

Ainsi qu'il est dit plus haut, le stade à 8 blastomères de l'œuf du Murin est en tout point analogue au même stade de l'œuf d'un Amphibien, de *Rana fusca* par exemple. Or, l'œuf de *Rana* est peut-être le mieux connu au point de vue de sa structure intime, de sa "prospektive Potenz", et de sa "prospektive Bedeutung". Fécondé, il présente une symétrie bilatérale visible extérieurement, et il est établi actuellement que le plan de cette symétrie devient toujours le plan médian du corps de l'embryon. Si l'on suit la marche de la segmentation, on constate que le 1<sup>er</sup> plan de division coïncide très souvent avec le plan de symétrie bilatérale; le 2<sup>e</sup> plan lui est perpendiculaire et le 3<sup>e</sup> est latitudinal.

Le 2<sup>e</sup> plan, par son orientation même, divise l'œuf en une partie craniale et une partie caudale, et il est aujourd'hui parfaitement démontré, que la moitié craniale est plus active que l'autre, que la segmentation s'y fait plus rapidement et que notamment le 1<sup>er</sup> sillon latitudinal y apparaît d'abord pour ne s'étendre que plus tard dans la moitié caudale. Le résultat est que l'œuf de *Rana* se divise d'abord en 2, puis en 4, puis en 6 et finalement en 8. Il est intéressant de constater qu'il en est



de même chez le Murin. Mais il y a plus : dans l'œuf de grenouille on voit presque toujours que le 2<sup>e</sup> plan de division ne passe pas exactement par les pôles, mais bien un peu au devant, de telle sorte que l'œuf segmenté en 4 est formé de 2 blastomères craniaux un peu plus petits que les deux blastomères caudaux. Cette différence n'est pas toujours considérable, mais elle est parfois fort nette et l'aspect de l'œuf est alors exactement celui de la fig. 5 du présent travail.

Enfin, l'œuf de *Rana* en segmentation nous permet un dernier rapprochement fort intéressant avec celui du Murin. Quand le 1<sup>er</sup> plan de division passe par le méridien de symétrie bilatérale, les deux premiers blastomères formés sont de taille égale. Mais il est des cas, dénommés par Roux anachronismes de la segmentation, où le 1<sup>er</sup> plan occupe la situation du 2<sup>e</sup> et fait un angle droit avec le méridien de symétrie. Dans la majorité des cas de ce genre que j'ai observés et pour la raison que j'ai indiquée plus haut, les deux premiers blastomères sont inégaux, l'un, le cranial étant un peu plus réduit que son congénère de la partie caudale de l'œuf.

N'est-ce pas absolument ce que l'on constate dans la fig. 3 ? L'œuf de Murin se segmente aussi en deux blastomères inégaux séparés par un sillon qui est perpendiculaire au plan de symétrie bilatérale de l'œuf ; seulement ici c'est précisément l'inégalité de taille des blastomères qui permet de reconnaître cette symétrie.

On fera remarquer qu'Ed. VAN BENEDEN a observé des œufs de Murin segmentés en 3 (la fig. 16 en représente un cas), un autre divisé en 5 blastomères, et qu'il est difficile de donner une interprétation de ces anomalies.

On les rencontre aussi chez *RANA fusca* et elles s'expliquent facilement. Depuis 1902, j'ai beaucoup étudié la segmentation de l'œuf de grenouille ; or, j'ai vu souvent des œufs divisés en 3 et en 5 blastomères et cela dans les conditions suivantes : dans l'anachronisme de la segmentation, le 2<sup>e</sup> plan de division, qui passe par le méridien de symétrie, s'ébauche fréquemment dans le blastomère cranial d'abord, pour gagner peu à peu le blastomère caudal ; il y a donc un moment, court, mais réel,



pendant lequel l'œuf est composé de deux petites cellules et d'une plus grande. Les causes de l'apparition d'un stade à 5 blastomères sont du même ordre; il arrive très souvent que le 1<sup>er</sup> plan de division fait un angle, non pas de 90°, mais de 45° avec le plan de symétrie bilatérale; le 2<sup>e</sup> sillon, dans ces cas est simplement perpendiculaire au premier, et il en résulte que l'un des quatre blastomères formés est cranial, un autre caudal, et les deux autres latéraux.

Quand le sillon latitudinal apparaît, il débute très souvent dans le blastomère cranial, en vertu de la loi qui ressort de tout ce que j'ai dit plus haut. Il y a donc un stade très fugace, où l'œuf est segmenté en 5 blastomères, dont l'un très petit, est, par son volume, un micromère. N'est-ce pas ce que nous montre aussi la figure 7 ?

Peut-être ne sont-ce là que des analogies, mais elles n'en sont pas moins frappantes, et peuvent orienter les recherches dans une voie très fructueuse. Elles nous donnent aussi la clef des divergences existant entre les auteurs au sujet de la taille des deux premiers blastomères chez les mammifères. On a souvent contesté qu'ils étaient inégaux; en réalité, il n'y a rien là d'absolu, ils peuvent être de même taille ou de taille différente; cela dépend probablement des espèces et même des œufs dans une même espèce. Selon que le plan de division coïncide avec le méridien de symétrie ou lui est perpendiculaire, les deux premiers globes de segmentation seront égaux ou inégaux.

Il serait abusif ou tout au moins prématuré, en se basant sur les considérations que nous venons d'émettre, de reconnaître aux premiers blastomères de l'œuf du Murin, la même potentialité qu'à ceux de l'œuf de grenouille en segmentation anachronique. Ce serait aller trop loin, dans l'état actuel de nos connaissances, que de transformer en une homologie, ce qui n'est peut-être qu'une simple analogie. D'autant plus que l'œuf des mammifères a une tâche plus lourde à remplir que celui des Amphibiens, il doit développer un ectoplacenta qui assurera la nutrition de l'embryon.



On peut cependant considérer comme probable que les deux premières cellules issues de la segmentation chez les mammifères, interviennent toutes deux dans la constitution de l'embryon pour une part que l'avenir déterminera peut-être.

Bien du temps se passera encore avant que l'on puisse appliquer à l'œuf des Mammifères les procédés de l'embryologie expérimentale, et d'ici-là la méthode comparative est la seule dont nous puissions disposer.

Si je me suis permis des comparaisons et même des interprétations dans les lignes qui précèdent, c'est parce qu'il m'a paru que l'admirable étude qu'Ed. VAN BENEDEN a faite des œufs vivants méritait plus qu'une simple description; si un jour la potentialité de l'œuf des Mammifères se révèle à nous comme conforme aux prévisions, on devra lui attribuer tout le mérite d'une découverte aussi importante.)

*Fig. 10.* — Œuf de Murin observé le 3 avril 1882. Comme le précédent, cet œuf est divisé en 8 globes, ayant la structure habituelle du vitellus; les noyaux apparaissent comme des taches mates parsemées de quelques corpuscules brillants. Dans la zone pellucide, on trouve encore quelques spermatozoïdes, et dans le liquide périvitellin, des amas de granulations résultant, en partie, de la désintégration des globules polaires.

Parmi les 8 blastomères, on voit très bien qu'il y en a 4 gros et 4 notablement plus petits. L'œuf est beaucoup moins clair et moins régulier que l'autre du même stade, mais il semble incontestable que les 4 grands globes et les 4 petits sont groupés, les uns d'un côté, les autres de l'autre. L'objet est certainement vu obliquement, d'où une certaine difficulté dans l'analyse.

Après traitement par l'acide chromique à  $\frac{1}{500}$ , les noyaux deviennent plus visibles et paraissent régulièrement granuleux; il en est de même du vitellus des blastomères, lesquels ne tardent pas à s'altérer.

(Cet œuf est loin d'avoir la régularité de celui qui est représenté dans la fig. 6. VAN BENEDEN le reconnaît dans une note manuscrite.



A certains points de vue, on doit le rapprocher de la fig. 6; il est possible qu'il se soit produit des déplacements secondaires dans la topographie des blastomères.

Quelle est leur importance réelle? Nous l'ignorons et dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons que signaler l'existence de variantes dans l'aspect des divers stades de la segmentation.

Chez de nombreux organismes, le développement typique peut subir des déformations qui n'altèrent en rien le résultat final.)

*Fig. 11.* — Œuf de Murin observé le 6 avril (1882?). Il est endommagé; aussi on ne peut en donner qu'une analyse sommaire. Il paraît être segmenté en 24 blastomères et d'autre part, il est certain: 1) qu'il y a des différences considérables dans les dimensions des blastomères; 2) qu'un certain nombre de grands blastomères sont contigus sans qu'il y en ait de petits interposés entre eux; de même les petits blastomères sont en général accolés les uns aux autres, et groupés d'un même côté de l'œuf. Toutefois il est impossible d'affirmer que les micromères forment une véritable couche enveloppante en voie d'épibolie, car il semble que quelques uns d'entre eux soient plus centraux et incorporés à la masse enveloppée.

Il est difficile de préciser exactement l'incidence sous laquelle cet œuf est vu dans le dessin; son axe est à coup sûr fortement oblique, et le pôle inférieur doit se trouver au-dessous du centre de la figure.

*Fig. 12.* — Œuf de Murin observé le 30 Avril 1888. On y remarque 12 à 16 grands blastomères et un nombre plus considérable de petits, ces derniers étant eux-mêmes de taille fort variable. Le protoplasme de tous les blastomères est très clair et contient des globules réfringents autour des noyaux.

(Telles sont les brèves notes accompagnant le croquis; l'examen minutieux de la figure ne me permet d'ajouter aucun détail.)



*Fig. 13.* — Œuf de Murin observé le 30 Avril 1888. Il est divisé en 16 blastomères environ. Les contours sont bien accusés, brillants. Ils sont de tailles différentes, mais on ne constate aucune régularité dans la répartition des grands et des petits.

\* \*  
\* \*

Ainsi que cela ressort de l'examen des trois dernières figures, l'étude sur le vivant des œufs en segmentation se complique beaucoup dès que le nombre de blastomères dépasse la dizaine et il serait illusoire de chercher à analyser par ce moyen des phénomènes quelques peu compliqués, comme, par exemple, une épibolie de la part des micromères. Les différences de taille entre les blastomères vont d'ailleurs en diminuant, et il est évident que dans cette régulation, les divisions répétées des macromères jouent un rôle important.

*Fig. 14 et 15.* — Blastocyste de Murin observé in toto après imprégnation par le nitrate d'argent. Dans la fig. 14 on a mis au point la surface extérieure de la couche enveloppante ; les cellules sont régulièrement polygonales et délimitées par des traits noirs. Dans l'amas cellulaire central, qui est mis au point dans la fig. 15, on voit la formation de la cavité blastodermique par apparition de vacuoles irrégulières, séparées par des tractus de cytoplasme parfois nucléés. Ces deux figures ont été reproduites et décrites dans la note de 1899 (page 313). Il n'y a rien à ajouter à ce qui a été dit alors.

§ 2. — *La segmentation de l'œuf du Murin étudiée sur des coupes sériées de la corne utérine qui le contient.*

*La formation de la cavité blastodermique.*

Sauf indication spéciale, la corne utérine contenant l'œuf à toujours été coupée longitudinalement. Il est indispensable de tenir compte de cette mention, parceque, dès que l'embryon devient reconnaissable comme tel, son diamètre cranio-caudal est dans l'axe de la cavité utérine.

*Fig. 16.* — Murin n° 4, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf est segmenté en trois ; il est signalé mais non



décrit dans la communication de 1899. L'œuf se trouve sur 6 coupes à  $\frac{1}{100}$  de mm., dont la 3<sup>me</sup> a été dessinée ; il semble cependant que la 1<sup>re</sup> coupe manque, ce qui modifierait le numérotage.

En examinant la figure et en la comparant avec la série des coupes, on constate aisément que l'un des trois blastomères est plus volumineux et possède un noyau vésiculeux, trilobé, pauvre en chromatine. Les deux autres blastomères sont de taille sensiblement égale ; leur noyau est sphérique, régulier et se colore faiblement.

Dans les trois cellules, le cytoplasme a le même aspect clair et finement granuleux. L'espace périvitellin a disparu sauf au niveau des sillons de segmentation ; en haut, on y voit quelques granulations non colorées, correspondant à celles qui ont été décrites dans les œufs vivants.

De l'examen de cet œuf, on peut simplement conclure que l'un des deux premiers blastomères est susceptible de se diviser avant l'autre ; il est impossible de préciser d'avantage.

Enfin, il est utile de constater que la composition en vitellus, si clairement représentée dans les dessins d'œufs vivants, est totalement effacée. On verra qu'il en est de même dans la plupart de autres stades.

*Fig. 17.* — Murin n° 9, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique. Cet œuf, très beau et très clair, se présente sur 7 coupes, dont la 4<sup>me</sup> a servi à faire le dessin. Il est divisé en 15 ou 16 blastomères environ ; ce chiffre n'est qu'approximatif, parce que la première coupe manque certainement.

La figure montre très bien les différences de taille entre les cellules de segmentation ; les plus réduites ont des noyaux plus petits aussi et plus vivement colorés, tandis que les noyaux des autres sont vésiculeux et plus pâles. Il est possible que cette différence d'aspect soit due à ce que les premiers viennent de se reconstituer après une mitose.

En examinant la série des coupes, on compte 7 petits blastomères et 4 gros ; les autres ont des dimensions intermédiaires. L'aspect du cytoplasme est sensiblement le même dans tous.



En ce qui concerne leur répartition, il est difficile de la déterminer de façon tout à fait exacte. Toutefois l'on peut dire : 1° qu'il n'y a pas encore de blastomères nettement centraux, bien que la figure 17 offre des traces d'un chevauchement par lequel l'un des petits blastomères tend à s'engager dans la profondeur.

2° qu'en général les gros et les petits blastomères sont groupés, les deux groupes étant réunis par des formes intermédiaires. Ce fait est essentiel et se constate aisément, mais il est impossible de préciser d'avantage.

*Fig. 18.* — Murin n° 7, 1891. Sublimé, carmin boracique. L'œuf se présente sur 8 coupes successives, dont la 5<sup>me</sup> a été dessinée. On peut y compter une trentaine de blastomères environ ; une numération plus exacte serait fort sujette à caution.

La figure caractérise le stade, en ce qu'elle montre une volumineuse cellule centrale, entourée de toutes parts par d'autres. Sur la coupe figurée, les blastomères sont plus petits à droite, où ils sont disposés en une rangée régulière de 4 éléments. L'examen des autres coupes indique qu'en réalité l'œuf est composé en grande majorité de petits blastomères ; la grosse cellule centrale est la plus profonde et la plus volumineuse d'un groupe de 3 ou 4, dont 2 affleurent, vers la gauche, à la surface de l'œuf. Enfin, il y a des cellules de taille intermédiaire. L'une de ces dernières, visible sur l'avant-dernière coupe de la série, est en mitose, et l'axe de la mitose est orienté de telle sorte que si aucun déplacement secondaire n'intervient, les deux cellules filles resteront corticales.

*Fig. 19.* — Le porte-objet portant les coupes étant brisé, l'œuf n'a pu être complètement étudié. Il semble avoir été fixé au liquide de Flemming et coloré au carmin boracique. Il occupe 6 ou 7 coupes, dont le dessin reproduit fort exactement la 4<sup>me</sup>. Toutefois ce que l'on peut voir des autres coupes indique assez que les différences de taille et d'aspect entre les blastomères sont peu accusées. Dans la figure, le blastomère



central est à peine plus grand que les autres et son noyau n'offre aucune particularité.

En somme, cet œuf, sans montrer d'épibolie vraie, indique qu'à des stades relativement peu avancés, certaines des cellules de segmentation deviennent centrales.

*Fig. 20.* — Murin II, 1887. Liquide de Kleinenberg, carmin boracique. L'œuf existe sur 6 coupes, dont la figure représente la 4<sup>me</sup>. Bien qu'il soit moins bien conservé que les précédents, on peut reconnaître qu'il est composé d'environ 20 à 25 blastomères. Dans le haut de la figure se trouvent les restes d'un des globules polaires. L'inégalité de taille des blastomères saute au yeux, de même d'ailleurs que l'irrégularité de leur groupement. Sur une coupe précédant celle qui a été dessinée, une cellule occupe le centre de l'œuf, mais elle n'est pas plus volumineuse que certaines de celles qui sont rangées à la périphérie.

Moins encore que les autres, cet œuf ne peut servir à la démonstration d'une épibolie des macromères par les micromères, si toutefois on peut encore employer ces expressions, à des stades où la régulation de la taille des cellules a déjà fait de grands progrès.

*Fig. 21.* — Murin n° 21, 1888. Liquide de Flemming, carmin boracique. La figure représente la 5<sup>me</sup> coupe de l'œuf qui est entamé par 8 coupes successives. La zone pellucide a été complètement dissoute par les réactifs, et c'est probablement pour cette raison que le contour de la figure est irrégulier, bosselé. La numération exacte du nombre total des blastomères est très difficile : on peut en compter 25 à 28. Le petit corps sphérique contenant un grain fortement coloré est très vraisemblablement le reste d'un des globules polaires.

La figure 21 met en évidence, mieux encore que la précédente, l'irrégularité très grande de la répartition des gros et des petits blastomères. Cette irrégularité est certes réelle, mais elle est exagérée par l'orientation des coupes, laquelle est souvent défectueuse, étant donné l'impossibilité de la déterminer d'avance. Même dans le cas où une véritable épibolie se



produirait, des coupes latitudinales ou équatoriales permettraient difficilement de la reconnaître. En tous cas, dans l'œuf dont il est question ici, la figure montre très bien que les quelques blastomères centraux ne diffèrent par aucun détail de la plupart de ceux qui les enveloppent.

*Fig. 22.* — Murin n° 15, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique.

L'œuf comporte 9 coupes; la 6<sup>me</sup> a été dessinée. Il est segmenté en 25 à 30 blastomères. Des restes de globules polaires se retrouvent dans le bas du dessin.

Encore une fois les différences de taille entre les cellules sont très réelles, mais, même sur la série des coupes, on ne peut reconnaître aucun groupement déterminé. On a l'impression, surtout quand on examine les noyaux, que ces différences sont dues à ce que les mitoses se font sans ordre régulier.

Les quelques blastomères qui occupent le centre de l'œuf ne diffèrent des autres, ni par leur taille, ni par leur aspect.

Il n'y a qu'une seule cellule en mitose; elle se voit dans la figure 22, et est au stade de la plaque équatoriale. Il est intéressant de constater que le grand axe du fuseau achromatique est presque radiairement orienté, de sorte que s'il ne se produit aucun déplacement, l'une des deux cellules filles deviendra centrale, tandis que l'autre restera périphérique.

Nous trouverons encore, dans la suite, plusieurs cas analogues et nous les signalerons, parce que ce détail a peut-être une valeur plus grande qu'il n'apparaît à première vue.

*Fig. 23.* — Murin 1 (Sans autre indication.) L'œuf est déformé; il se présente sur 6 coupes dont la 3<sup>me</sup> a été dessinée.

Il est divisé en une quarantaine de blastomères dont quelques uns sont centraux et entourés par les autres. Tous sont identiques tant par leur taille que par leur aspect. Quelques noyaux, plus petits et plus colorés, semblent provenir d'une mitose récente. Une belle plaque équatoriale est représentée dans le dessin et, comme sur la figure précédente, l'axe du fuseau achromatique, fort bien visible, est radiaire. Sur la 4<sup>e</sup>



coupe de l'œuf, une autre cellule corticale est en voie de division, mais ici le grand axe de la figure est tangentiel, de sorte que les deux cellules filles resteront corticales, à la condition, naturellement, qu'aucun déplacement secondaire n'intervienne.

*Fig. 24.* — Murin, n° 43, 1891. Sublimé, carmin boracique. L'œuf comprend 7 coupes; la figure est la 4<sup>e</sup>. Il est à un stade notablement plus avancé que le précédent, et il est devenu impossible de compter le nombre des cellules; on peut seulement dire qu'il y en a de 80 à 100.

L'examen du dessin, comme l'étude de la série des coupes, montre que l'œuf est formé d'un amas compact de cellules toutes semblables, et moulées les unes sur les autres. Celles qui sont superficielles s'engrènent par leur face profonde avec celles qui occupent le centre, et si l'on peut dorénavant parler d'un amas central, on n'est pas encore autorisé à distinguer une *couche* enveloppante plus ou moins bien délimitée.

Du côté droit de la figure, on voit une légère dépression; si cet œuf ou les précédents avaient présenté des indices nets d'un processus d'épibolie, on pourrait considérer cette dépression comme étant due au bord d'arrêt de la couche enveloppante, et la rapprocher de celle qu'on observe à des stades semblables, chez le lapin par exemple (Ed. VAN BENEDEN, 1880). Mais les faits sont insuffisants pour nous autoriser à admettre sans réserve une semblable interprétation.

*Fig. 25.* — Murin n° ?. Fixateur ? Carmin boracique.

La figure représente la 4<sup>e</sup> coupe de l'œuf qui en comporte 6. L'une d'entre elles est déchirée, de sorte qu'il est impossible de compter, même approximativement, le nombre des blastomères; il est en tous cas notablement moins grand que dans le cas précédent.

Ainsi qu'on peut en juger par le dessin, l'œuf offre une polarité assez nette, en ce sens qu'une calotte de cellules plus foncées, dépassant l'équateur, recouvre un amas d'éléments plus clairs et *parfois* un peu plus grands. Mais si on examine la face concave de cette calotte, on voit qu'elle est très irrégulière et pénètre par places dans l'amas interne. De plus les



cellules qui la composent sont de taille assez variable; l'une d'entre elles, très grande, située à droite dans le dessin, est à la prophase de la mitose.

Sur la coupe précédente, une plaque équatoriale apparaît dans la grande cellule claire qui occupe le pôle inférieur de la figure; le grand axe du fuseau est placé tangentiellement par rapport à la surface.

De la description que nous venons de donner, il résulte que l'on peut considérer cet œuf comme montrant des traces de l'épibolie d'une masse cellulaire compacte, par une calotte de cellules légèrement différenciées.

*Fig. 26.* — Murin E. 1887, Liquide de Flemming, carmin boracique.

L'œuf est entamé par 6 à 7 coupes dont la 4<sup>e</sup> a été dessinée. Il est au même stade que celui de la fig. 24 et est surtout remarquable par la grosse cellule en mitose, à grand axe tangentiel, représentée dans le bas du dessin.

Dans la masse cellulaire centrale, il y a plusieurs noyaux en chromatolyse et des indices de désintégration du cytoplasme.

Quelques cellules renferment des vacuoles rares et plus ou moins volumineuses.

*Fig. 27.* — Murin B. Sublimé, carmin boracique.

Cet œuf s'est fortement rétracté sous l'influence des réactifs. Il n'existe que sur 4 coupes, dont la 2<sup>e</sup> est figurée.

Il est superflu d'en faire une description qui ne serait que la répétition de ce que nous avons dit à propos de la figure 24.

*Fig. 28.* — Murin, n<sup>o</sup> 30, 1891. Sublimé, carmin boracique.

L'œuf est entamé par 6 ou 7 coupes; c'est la 3<sup>e</sup> qui a été dessinée.

Il est sensiblement au même stade que le précédent, mais se signale par un détail intéressant. En certains points, la couche des cellules périphériques tend à se régulariser par sa face profonde et à prendre ainsi l'aspect d'une véritable lame enveloppante, formée de cellules cubiques. Toutefois, cela ne se voit guère que sur la coupe figurée; sur celle qui précède, on



trouve deux cellules corticales plus grandes et plus claires que les autres, et dont le noyau est en mitose. Or, dans toutes deux, le grand axe de la figure achromatique est radiairement orienté. Il est donc probable que des 4 cellules filles sur le point de se former, deux auraient été incorporées dans la masse centrale, tandis que les deux autres seraient restées corticales.

*Fig. 29.* — Murin, n° ?. Liquide de Kleinenberg, carmin boracique.

Cet œuf a été décrit dans la communication préliminaire de 1899 et y est représenté dans la fig. 1, page 310. La production du dessin étant assez défectueuse dans l'anatomischer Anzeiger, nous en donnons une nouvelle image, qui est scrupuleusement exacte.

L'œuf se présente sur 7 coupes dont la 3<sup>me</sup> a été dessinée. C'est la seule sur laquelle la calotte de cellules claires ait une étendue aussi considérable; elle n'existe que sur les 4 coupes moyennes. Les cellules sombres sont très serrées les unes contre les autres, formant une masse compacte; le carmin a coloré leur cytoplasme d'une façon un peu diffuse.

La ligne de séparation entre la calotte claire et l'amas sombre est épaisse et vivement colorée; de même le long des cloisons intercellulaires un précipité de matière colorante exagère la netteté de celles-ci.

La zone pellucide a été complètement dissoute par les réactifs.

Parmi les centaines d'œufs en segmentation dont se compose le matériel, on n'en trouve aucun qui puisse être rapproché de celui qui vient d'être décrit. D'autre part, l'aspect très clair des cellules superficielles contraste avec la coloration plus sombre que prennent toujours les éléments de la couche enveloppante, lorsqu'ils sont bien différenciés. Enfin, les précipités de carmin, l'aspect trouble de la masse partiellement enveloppée, rendent cet œuf suspect au point de vue de sa bonne conservation.

Aussi, malgré sa netteté apparente, ne peut-il être considéré comme suffisant pour permettre d'affirmer l'existence d'une véritable épibolie. (Voir la communication préliminaire de 1899.)



*Fig. 30.* — Murin, n° 32, 1891. Sublimé, carmin boracique.

La figure est la 4<sup>e</sup> coupe de la série qui en comporte 8 en tout. Une d'entre elles étant déchirée, il est impossible de déterminer, même approximativement, le nombre des blastomères, mais le stade est visiblement très voisin de celui qui est représenté dans la fig. 28.

Dans la coupe dessinée, comme dans les deux autres qui la précèdent, on remarque certains noyaux plus grands et plus vésiculeux; le protoplasme qui les entoure est parfois plus clair.

Les cellules superficielles tendent à s'isoler en une couche enveloppante qui commence à se délimiter à sa face profonde; par places, en effet, elles s'engrènent moins intimement avec les éléments qui composent la masse centrale de l'œuf.

Sur la 3<sup>me</sup> coupe de la série, deux cellules claires, avec un gros noyau vésiculeux, affleurent à la surface de l'œuf (en haut et à gauche en se repérant sur la fig. 30) et l'image donne là l'impression d'une épibolie encore inachevée. En y regardant de plus près cependant, on voit qu'il est bien d'autres points encore, où la couche enveloppante et l'amas central se pénètrent et perdent toute délimitation.

Un autre détail visible sur une des coupes qui suivent celle qui a été dessinée, doit encore rendre très prudent sur la question de l'épibolie: c'est l'existence, dans la partie supérieure et droite de l'œuf (en se repérant sur la fig. 30), d'une cellule qui achève sa mitose; les deux cellules filles sont en train de se séparer; or, l'une d'entre elles fait partie intégrante de l'amas central, tandis que l'autre est incorporée dans la couche corticale.

Il y a encore une autre cellule corticale en mitose dans cet œuf; elle est située en haut et à gauche dans la 2<sup>e</sup> coupe; c'est une plaque équatoriale, vue trop obliquement pour que l'on puisse déterminer exactement l'orientation du grand axe du fuseau achromatique.

*Fig. 31.* — Murin, n° 5, 1887. Liquide de Flemming, carmin boracique.



La figure est la 5<sup>me</sup> coupe de l'œuf, qui en comporte 7. La zone pellucide est complètement dissoute; les cellules, très rétractées, chevauchent les unes sur les autres, rendant ainsi l'analyse des coupes très difficile. La seule particularité qui mérite d'attirer l'attention, c'est le nombre considérable de mitoses.

Il y en a 4 sur la figure 31 et on en trouve encore d'autres sur les coupes précédentes et suivantes. Comme sur les autres œufs étudiés jusqu'ici, elles siègent toutes dans la couche corticale, ou dans les cellules qui lui sont immédiatement sous-jacentes. Ainsi qu'on peut le voir, leur orientation est variable : tangentielle, oblique ou radiaire.

*Fig. 32.* — Murin n° 14, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf est entamé par 9 coupes, dont la 6<sup>me</sup> a été dessinée. Elle est très analogue à la figure 30, mais la délimitation de la couche enveloppante, à sa face profonde, est beaucoup moins nette.

Vers le bas, on remarque un reste de globule polaire, et dans la masse des cellules centrales, plusieurs noyaux en chromatolyse, avec commencement de dégénérescence du cytoplasme qui les entoure. Les cellules en nécrose n'ont pas de répartition topographique spéciale.

En résumé, cet œuf confirme, sans rien ajouter de neuf, ce que nous avons observé jusqu'ici.

*Fig. 33.* — Murin n° ?, 1887. Fixation ? carmin boracique. L'œuf existe sur 7 à 8 coupes ; la figure en représente la 5<sup>me</sup>. L'utérus qui le contient a été coupé transversalement.

Deux points méritent d'attirer notre attention : 1°) La figure montre que la couche enveloppante tend à se délimiter nettement vis-à-vis de l'amas central, et à prendre en plusieurs endroits, l'aspect d'un épithélium cubique régulier. 2°) Toutefois, le processus n'est probablement pas achevé : dans le bas du dessin se trouve une belle figure mitosique, dont le grand axe, radialement placé, fait penser à une intervention des cellules superficielles dans la formation des cellules centrales.



Sur une autre coupe du même œuf, existe encore une autre mitose, identique par sa situation comme par son orientation.

*Fig. 34.* — Murin n° 5, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf comporte 10 coupes ; la figure en représente la 6<sup>me</sup>. Son intérêt réside en ce que la couche corticale (enveloppante) se détache assez nettement, grâce à un aspect un peu plus sombre des cellules qui la composent. Vers la droite elle semble être interrompue au niveau d'une grosse cellule en mitose, dont on voit, de face, la plaque équatoriale. Sur les autres coupes de l'œuf, on trouve, toujours dans la couche corticale, plusieurs autres cellules au même stade de division.

Il est à remarquer que le stade de la segmentation, c'est à dire le nombre des blastomères, n'est pas sensiblement plus grand que dans les œufs immédiatement précédents. Dès lors, la coloration spéciale de la couche enveloppante, ou bien peut disparaître sous l'influence de la fixation, ou bien est sujette à des variations individuelles

*Fig. 35* — Murin n° 47. Fixation ? carmin boracique. La figure est la 4<sup>me</sup> coupe de l'œuf qui en comporte au moins 8. L'utérus qui le renferme a été coupé transversalement. La couche enveloppante se détache bien et, en général, revêt l'aspect d'un bel épithélium cubique, un peu plus sombre dans l'hémisphère supérieur de l'œuf que dans l'hémisphère inférieur.

L'amas central montre, sur la figure, une cellule en mitose ; il en est d'autres encore, sur les coupes précédentes et suivantes.

En certains points, notamment dans le haut du dessin, l'amas des cellules centrales se décolle un peu de la couche enveloppante, comme si du liquide s'accumulait entre eux. On remarque également à droite du centre de l'œuf une grosse cellule dont le noyau est contenu dans une couche médullaire de protoplasme plus compact et plus sombre, qui se fond dans une zone corticale claire. Peut-être s'agit-il là d'un début de formation du liquide blastodermique. (Voir plus loin)

*Fig. 36.* — Murin I, 1887. Liquide de Flemming, carmin



boracique. L'œuf se présente sur 7 coupes, dont la 5<sup>me</sup> a été dessinée. Les deux coupes précédentes (nos 3 et 4), auraient donné une image tout à fait semblable. La comparaison avec les figures précédentes indique que la délimitation de la couche enveloppante est de plus en plus manifeste ; les cellules ont un cytoplasme plus sombre qui les rend facilement reconnaissables. Toutefois il est important de remarquer que dans la moitié droite de la figure (et de l'œuf), ces caractères spéciaux s'effacent, et une bande de cellules plus claires, semblables à celles qui constituent l'amas central, achève de limiter la surface de l'œuf.

Ce n'est donc pas une interprétation, mais bien une constatation objective de dire que, dans cet œuf, la couche enveloppante, en tant que couche différenciée, est encore incomplète. Nous avons constaté des faits semblables dans les figures 34 et 35.

*Fig. 37.* — Murin ? 1887. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf existe sur 7 coupes. La 5<sup>me</sup> a servi à exécuter le dessin, mais certains détails ont été pris sur la coupe précédente ; la figure est donc une combinaison de deux coupes. La différence dans l'aspect de la couche enveloppante et de l'amas des cellules centrales a été un peu exagérée, mais elle est très réelle. La description des œufs précédents permet de ne pas insister longuement. Au pôle inférieur de la figure, un petit groupe de cellules plus claires, ayant les caractères de l'amas central, vient s'interposer entre les dernières cellules sombres. La différenciation d'une couche enveloppante à structure caractéristique est donc en progrès sur la figure 36 ; elle ne fait défaut qu'en un petit point de la surface de l'œuf.

Si l'on tient compte de ce que les derniers œufs décrits sont à des stades très voisins de la segmentation, et se composent d'un nombre sensiblement égal de cellules, on doit en conclure qu'il y a, dans la rapidité de la formation de la couche enveloppante, de légères différences individuelles.

*Fig. 38.* — Murin n° 18, 1888. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf existe sur 10 coupes ; la figure en



représente la 4<sup>me</sup> ou la 5<sup>me</sup>. Le diamètre de cet œuf est donc notablement plus grand que celui des précédents. L'examen de la série des coupes révèle d'ailleurs qu'il est à un stade plus avancé que ne l'indique son n<sup>o</sup> d'ordre ; en coupe de pôle à pôle, il ressemblerait fort à la fig. 43 ; seulement, il est coupé très obliquement. L'œuf est d'ailleurs assez médiocre ; les limites cellulaires ne sont pas indiquées. La coupe est destinée à démontrer la formation dans le cytoplasme, spécialement vers le centre de l'œuf, de vacuoles dont plusieurs renferment un produit coagulé et rétracté, légèrement coloré en brun.

*Fig. 39.* — Murin n<sup>o</sup> 38, 1891. Chlorure de Platine (liquide Hermann ?), carmin boracique. L'œuf s'étend sur 9 coupes, dont la 5<sup>me</sup> a été dessinée.

La figure montre : 1<sup>o</sup>) la formation de vacuoles, qui, étant donné leurs rapports avec les noyaux, sont certainement intracellulaires ; 2<sup>o</sup>) la localisation de ces vacuoles dans une région déterminée de l'œuf (partie inférieure du dessin) ; 3<sup>o</sup>) la destruction chromatolytique de plusieurs noyaux de l'amas cellulaire central et la fonte du protoplasme qui les entoure.

Ce sont ces détails, importants au point de vue de la formation de la cavité blastodermique, qui ont décidé du choix du dessin.

La coupe suivante (n<sup>o</sup> 6) du même œuf montre beaucoup plus nettement l'existence d'une couche enveloppante continue et aussi bien différenciée que dans la figure 5, page 315 de la communication préliminaire de 1899. A partir de ce moment, on peut dire que l'œuf segmenté est composé d'un amas central de cellules serrées les unes contre les autres, et entouré de toutes parts d'une couche enveloppante, formée d'un épithélium cubique bien régulier, à cytoplasme généralement plus sombre. (Voir la note de 1899.)

*Fig. 40.* — Murin IV, 1887. Sublimé, carmin boracique. Cet œuf, un peu moins avancé que le précédent, a été décrit et figuré en 1899, dans l'anatomischer Anzeiger, mais la reproduction y étant défectueuse, nous croyons utile de publier à nouveau le dessin.



Plusieurs coupes de la série sont perdues ; aussi préférons-nous nous borner à répéter la description donnée à la page 311, du volume XVI de l'anat. Anz. : „La figure 2 représente la coupe médiane d'un autre œuf, où la distinction en une couche périphérique et une masse interne est également incontestable. Dans cet œuf, fixé au sublimé, les cellules de la couche périphérique sont plus sombres que celles de l'amas enveloppé. La couche périphérique est d'ailleurs incomplète : quelques cellules voisines affleurant à la surface ont le même aspect clair que les cellules de l'amas central : elles occupent l'orifice de la couche enveloppante.,,

Il n'y a rien à ajouter, et l'on ne peut que rapprocher la fig. 40 de la fig. 37, qui représente un stade et un aspect complètement identiques.

*Fig. 41.* — Murin n° 25, 1891. Liquide de Flemming, carmin boracique. L'œuf se présente sur 9 coupes ; la figure en représente la 4<sup>me</sup>. Il est segmenté en une bonne centaine de cellules.

L'étude de la série entière permet de reconnaître à cet œuf une polarité évidente, due à une différence d'aspect entre les deux hémisphères. Dans l'un d'entre eux, que nous appellerons inférieur, des vacuoles nombreuses et irrégulières occupent les parties de l'amas central les plus proches de la couche enveloppante et préparent la formation de la cavité blastodermique. Au dessus de l'équateur, au contraire, la disposition est celle que nous avons observée au stade précédent : une couche enveloppante formée d'un épithélium cubique, revêt un amas de cellules polyédriques, moulées les unes sur les autres.

On ne peut relever ces détails qu'en reconstruisant l'œuf par la série des coupes. Celle qui a été figurée est, en effet, fort oblique ; elle passe par l'équateur dans une moitié, et en dessous de lui dans l'autre. Elle est cependant intéressante à différents points de vues. D'abord, la couche enveloppante y est très reconnaissable grâce à son aspect plus sombre : la différence de coloration a cependant été un peu exagérée sur le dessin.



Les vacuoles sont très nombreuses, surtout en bas et à gauche, c'est-à-dire dans la partie sous équatoriale de la préparation ; les unes, certainement intracellulaires, sont remplies d'un produit coagulé, et légèrement coloré en brun verdâtre par l'acide osmique ; les autres, plus grandes, plus irrégulières aussi et très claires, sont séparées par de minces tractus protoplasmiques ; vraisemblablement les plus grandes sont dues à la rupture de certains de ces tractus et à la confluence de vacuoles voisines.

Il est un fait remarquable que l'on constate facilement en bas et à gauche sur la fig. 41 : certaines cellules de la couche enveloppante semblent participer à la formation des vacuoles ; s'il en est ainsi, le liquide clair qu'elles forment est expulsé vers l'intérieur, dans la cavité blastodermique ; en outre, ce processus doit être très éphémère, car dans les stades suivants on n'en trouve plus trace. Nous donnons une forme dubitative à cet exposé, parcequ'il est fort possible que cette participation des cellules corticales soit une simple apparence, due à la pression exercée par le liquide qui s'interpose entre elles et l'amas central, et qui déprime leur surface.

Les figures 38, 39 et 41 illustrent admirablement les premières phases de la formation de la cavité blastodermique, telles qu'elles sont décrites dans la note de 1899, aux pages 314 et 315. Dans cette note le nom de lécithocèle a été proposé pour désigner cette cavité.

*Fig. 42.* — Murin, n° 9, 1891. Chlorure de platine (Liquide de Hermann ?) carmin boracique. Le diamètre de l'œuf a encore légèrement augmenté, si bien qu'il occupe 11 coupes dont la 4<sup>m</sup>e a été dessinée. On peut lui appliquer la même description et la même interprétation qu'à celui qui a été représenté dans la fig. 8, page 315, de la note de 1899.

La couche enveloppante est nette et distincte sur toute la surface de l'œuf ; elle est formée d'un épithélium cubique qui, par places, notamment là où il intervient dans la délimitation des vacuoles, s'abaisse un peu, comme s'il était distendu ; les noyaux prennent alors une forme ovale.



L'amas central, toujours formé de cellules moulées les unes sur les autres, se décolle, par toute une partie de sa surface, de la couche enveloppante. En cet endroit, l'ébauche du lécithocèle prend la forme d'un croissant, traversé par de multiples cloisons protoplasmiques, qui partant de la surface convexe de l'amas central, viennent se terminer, soit en s'effilant, soit en s'étalant, au contact des cellules corticales. Un ou deux noyaux peuvent s'engager plus ou moins complètement dans ces cloisons. L'origine centrale de ces tractus ne fait aucun doute après l'examen des préparations.

A ce stade, la cavité blastodermique commence à indiquer la forme qu'elle prendra bientôt, mais, en réalité, elle n'est encore formée que de grandes vacuoles de dimensions inégales.

Elles ont pour origine la confluence des vacuoles plus petites, irrégulièrement formées dans les cellules de la masse centrale à des stades antérieurs, et qui se sont accrues secondairement.

Dans les cellules de l'amas central, on retrouve encore, par-ci par-là, de grosses gouttelettes légèrement colorées en brun verdâtre par l'acide osmique.

Dans la partie de l'œuf opposée au lécithocèle et que nous pouvons appeler *portion embryonnaire*, la couche enveloppante tapisse régulièrement les cellules centrales et leur forme un revêtement continu.

*Fig. 43.* — Murin, 28, 1891. Liquide de Flemming, carmin boracique.

(Je n'ai pas retrouvé, dans les préparations, l'œuf qui a servi à exécuter ce dessin. Je dois donc me borner à signaler les particularités de la coupe).

Cette figure fait voir un mode de formation de la cavité blastodermique un peu différent de celui que nous avons vu dans l'œuf précédent. Il paraît s'être formé ici, dans le pôle anti-embryonnaire de l'œuf, une seule grande vacuole, qui n'aura qu'à grandir pour former le lécithocèle définitif.

Nous ne savons naturellement pas si cette grande vacuole, déjà intercellulaire, ne résulte pas de la confluence de vacuoles plus petites, intracellulaires.



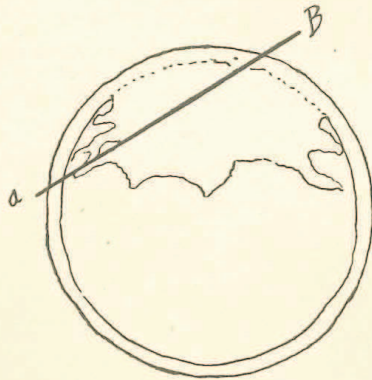
Quoiqu'il en soit, cet œuf aberrant doit être signalé à titre documentaire.

*Fig. 44.* — Murin, n° 33, 1888. Liquide de Flemming, carmin boracique.

L'œuf a encore grandi; on le trouve sur 12 coupes. Des restes d'une zone pellucide amincie l'entourent encore; cet aspect peut toutefois être dû à l'action des réactifs qui dissolvent facilement cette zone.

La figure est une combinaison de 2 coupes; la 3<sup>me</sup> et la 5<sup>me</sup>.

Le stade est en réalité plus avancé qu'on ne pourrait le croire par le seul examen du dessin.



La reconstruction d'une coupe méridienne de cet œuf donne l'image ci-contre; le plan *a b* indique l'orientation réelle des coupes dans l'objet et la place occupée par les préparations qui ont été dessinées. L'amas central est refoulé dans l'hémisphère supérieur; toute la partie moyenne du lécithocèle forme une vaste cavité, devenue unique par suite de la rétraction des prolongements de l'amas central. Il n'y a qu'au niveau des cornes du croissant que figure la cavité blastodermique, c'est-à-dire au pourtour marginal de l'amas cellulaire enveloppé, que le creusement par vacuoles isolées se poursuit encore. A ce point de vue, le dessin donne une bonne idée de la marche réelle du processus, et il peut être comparé à la fig. 15, où les mêmes détails se vérifient sur l'œuf examiné *in toto*.



Cet œuf démontre donc, que lorsque le lécithocèle s'est formé dans l'hémisphère inférieur de l'œuf par vacuolisation, puis confluence des vacuoles, il s'étend, par le même processus, le long des faces latérales de l'amas central, jusqu'au voisinage du pôle supérieur de l'œuf, sans toutefois l'atteindre jamais.

Quant à la couche enveloppante, elle est bien délimitée de toutes parts, et n'offre aucun détail digne d'être mentionné.

*Fig. 45.* — Murin, n° 13. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le dessin est la 5<sup>e</sup> coupe de l'œuf, qui en comporte 9. Il est donc notablement plus petit que le précédent, mais il paraît un peu rétracté sous l'influence des réactifs. La cavité blastodermique, en forme de croissant régulier, est unique et continue; la confluence des vacuoles primitives est complète, et les tractus qui la parcouraient sont rentrés dans l'amas cellulaire central dont ils provenaient.

La couche enveloppante, formée dans toute son étendue par un bel épithélium cubique, délimite la cavité blastodermique dans la plus grande partie de son étendue. En haut seulement, dans la région que nous appelons le pôle embryonnaire, elle tapisse la surface du bouton cellulaire central, auquel elle est intimement accolée. Tout le reste de ce bouton fait saillie dans le lécithocèle par une surface fortement convexe. Cette saillie est irrégulièrement bosselée. En comparant les différentes figures, on arrive à cette conclusion, que ces bosselures sont le dernier vestige des tractus protoplasmiques qui, aux stades antérieurs, séparaient les vacuoles primaires de la cavité blastodermique, et qui se sont rétractés vers leur lieu d'origine.

Notons enfin la présence, dans l'amas central, d'un certain nombre de cellules dont le noyau est en chromatolyse.

*Fig. 46.* — Murin, n° 44, 1891. Sublimé, carmin boracique.

Le blastocyste — nous pouvons, dès maintenant, employer ce nom — existe sur 10 ou 11 coupes (il en manque certainement une).

La figure est la 6<sup>e</sup> coupe de la série. Nous n'insisterons que sur un seul détail, mais particulièrement intéressant : non seu-



lement sur la coupe dessinée, mais sur toutes les autres, la cavité blastodermique contient de nombreux corpuscules sphériques, de taille variable, délimités par un contour net. Ils sont un peu réfringents et parsemés de fines granulations; tous renferment 1, 2 ou 3 granulations vivement colorées en rouge. Il n'est pas douteux qu'il s'agisse là de cellules dégénérées, dont le noyau est en pycnose.

Cette observation appelle quelques remarques. A différentes reprises, au cours de notre description, nous avons signalé l'existence, spécialement dans l'amas central, de noyaux en chromatolyse dans un protoplasme en voie de dégénérescence.

Les débris cellulaires que nous venons de signaler dans le lécithocèle proviennent-ils de ces cellules qui auraient été expulsées, ou sont-ils les restes de certaines des travées qui découpaient primitivement le lécithocèle? Les deux interprétations ne s'excluent pas, mais l'exactitude de la dernière ressort de quelques détails visibles sur les coupes. Dans la fig. 44, un noyau en début de pycnose siège au point d'insertion d'une des travées intra-blastodermiques; dans la figure 45, un autre noyau pycnotique semble se préparer à tomber dans le lécithocèle. Il semble donc que la formation de la cavité blastodermique, bien que résultant essentiellement d'un processus d'élaboration et de sécrétion des cellules, ne s'achève pas sans que certaines de celles-ci n'y trouvent la mort. Cela démontre bien que le lécithocèle est le résultat de l'activité propre des cellules de l'amas central. L'examen des figures précédentes, ainsi que des suivantes, montre que dans cet œuf, le nombre de cellules nécrosées est tout à fait anormal.

*Fig. 47.* — Murin, n° 4, 1891. Sublimé, carmin boracique.

Le blastocyste s'est étendu; il comporte 15 coupes successives; la figure en représente la 6<sup>me</sup>. L'amas central, en forme de bouton saillant dans la cavité blastodermique, recouvert sur face supérieure par la couche enveloppante, occupe 8 coupes. Il n'a donc subi qu'un accroissement minime; l'augmentation du blastocyste est due à sa distension par la présence d'une quantité de liquide plus abondante dans le lécithocèle. (Gross. 650.)



*Fig. 48.* — Murin, n° 13, 1889, et *Fig. 49.* Murin, n° 20, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Nous décrirons en même temps ces deux œufs qui, d'ailleurs, ne nous arrêteront pas longtemps.

La comparaison avec la figure 45 montre mieux que toute longue description, ce qui se passe dans les phases qui suivent immédiatement l'achèvement du lécithocèle. Les deux blastocystes (*fig. 48 et 49*) ont été coupés longitudinalement avec la corne utérine. On voit qu'ils s'étalent en longueur, leur couche enveloppante se mettant en rapport intime avec la muqueuse. Il est possible toutefois qu'ils aient été aplatis mécaniquement par la rétraction des parois utérines au moment de la fixation.

Le 1<sup>er</sup> blastocyste s'étend sur 14 coupes, dont la 7<sup>e</sup> a été dessinée; le 2<sup>e</sup> existe sur 13 coupes et la figure en représente la 6<sup>e</sup>.

L'amas central, toujours en forme de bouton saillant, s'est agrandi; on y trouve des mitoses à côté de quelques noyaux en karyolyse. Dans la figure 49, sa surface convexe est encore irrégulière et garnie de prolongements cytoplasmiques peu étendus.

Déjà à ces stades, on peut, pour la facilité de la description ultérieure, distinguer deux hémisphères: l'un contenant l'amas central, est embryonnaire; l'autre, opposé, sera appelé antiembryonnaire. A l'équateur, la couche enveloppante est un peu amincie sur les figures. Au niveau du bouton, elle le tapisse régulièrement, comme aux stades précédents.

#### Résumé et enchaînement des faits.

La longue série d'œufs et de jeunes blastocystes que nous venons de décrire, permet d'asseoir sur des bases positives les conclusions déjà formulées en 1899. Nous les reproduirons ici.

1<sup>o</sup>. Tandis que, dans les stades les plus jeunes, tous les blastomères sont superficiels et adjacents à la zone pellucide, aucun d'eux n'étant enveloppé par les autres, plus tard un ou plusieurs globes gagnent le milieu de l'œuf segmenté et se montrent entourés de toutes parts par les blastomères périphériques. Ce phénomène se produit toujours postérieurement



au stade 8 ; il ne paraît pas être lié à un stade fixe de la segmentation, mais être sujet, au contraire, à des variations individuelles.

2° Il est le plus souvent impossible de distinguer deux groupes de cellules dont l'un formerait une couche superficielle destinée à envelopper l'autre. Dans la plupart des œufs, tous les globes présentent le même aspect. On constate bien fréquemment des différences de dimensions, mais pas de groupement régulier des blastomères. Il y a cependant des cas où l'existence de deux catégories de cellules est tout à fait évidente : par exemple les fig. 34 à 37, 40.

A des stades divers de la segmentation, des indices d'un groupement des blastomères en une rangée superficielle incomplète et un amas enveloppé, ont été constatés et figurés, mais ils ne sont que des indices, insuffisants pour tirer une conclusion ferme, d'autant plus qu'ils sont loin d'être constants. On pourrait, en choisissant les seuls œufs qui montrent bien les deux catégories de cellules, et en les rangeant suivant un certain ordre, fabriquer une série démontrant, en apparence, l'existence d'une épibolie progressive, mais il n'est pas possible de faire abstraction des œufs qui ne présentent aucune trace de ce phénomène. On est donc simplement autorisé à dire qu'il existe, pendant la segmentation de l'œuf du Murin, des traces d'épibolie, mais on n'a pas le droit d'affirmer que ce processus se passe réellement.

3° Quoiqu'il en soit, tous les œufs de Murin arrivés à la fin de la segmentation, sont, au moment où le lécithocèle apparaît, constitués d'une couche périphérique complète (couche enveloppante), formée d'un épithélium cubique bien régulier, entourant de toutes part et revêtant immédiatement un amas interne, composé de cellules polyédriques moulées les unes sur les autres. La nature épithéliale de la couche enveloppante se reconnaît très bien lorsque l'on traite les œufs par le nitrate d'argent (fig. 14 et 15). Après que cette couche est délimitée, elle s'accroît au fur et à mesure que le blastocyste se dilate, mais elle le fait par ses propres moyens, sans que l'amas cellulaire interne lui fournisse de nouveaux éléments.



4° Peu après que la couche enveloppante a revêtu de toutes parts l'amas central, la cavité blastodermique commence à se former. Elle apparaît toujours, chez le Murin, sous forme de cavités multiples qui, plus ou moins rapidement, confluent de façon à former une cavité unique.

Ces vacuoles multiples se voient dans un des hémisphères de l'œuf et, de l'examen comparatif d'une série de jeunes blastocystes, il semble bien résulter : *a*) qu'après la segmentation, il apparaît des vacuoles dans celles des cellules de la masse enveloppée qui, aux stades subséquents, délimitent immédiatement la cavité blastodermique ; *b*) que ces cavités primitivement intracellulaires (intracytoplasmiques) perdent leurs parois par rétraction des lames protoplasmiques qui les séparent, ces lames s'incorporant à la surface convexe de l'amas central ; ainsi ces cavités deviennent confluentes et donnent naissance à la cavité blastodermique unique, définitive.

Il en résulte ce fait important, dont on saisira bien toute la portée dans le chapitre suivant, que les cellules qui ont, par un véritable acte de sécrétion, formé le liquide blastodermique, sont celles qui, tapissant la surface convexe de l'amas central, limitent immédiatement la cavité qui renferme ce liquide. Or, il sera démontré plus loin, que ce sont précisément ces cellules qui, dans les stades ultérieurs, vont donner naissance au feuillet interne de l'embryon didermique.

Selon toute probabilité, l'ensemble formé par ce feuillet interne et par la cavité blastodermique avec son contenu qui en procède, est l'homologue à la fois du vitellus nutritif, du deutoplasme liquéfié de la cavité sous-germinale, de la couche cellulaire qui la recouvre et des noyaux mérocytiques des Sauropsides. Chez ces derniers, tout cela constitue, en effet, une formation unique.

A cet ensemble, on peut réserver le nom de lécithophore (Ed. VAN BENEDEN). La couche interne de l'embryon didermique des mammifères doit, dès lors, être appelée : couche lécithophorale, et l'on peut désigner sous le nom de lécithocèle (Ed. VAN BENEDEN) la cavité blastodermique avec son contenu. Ces



dénominations ont le grand avantage de montrer l'origine commune de ces deux formations.

(Les lignes qui précèdent expriment exactement la pensée d'Ed. VAN BENEDEN ; elles sont d'ailleurs la copie presque textuelle de divers passages de sa note de 1899. Le lecteur peut juger, par l'examen et la description des figures, de la richesse de la documentation qu'il s'était assurée avant d'exprimer ces importantes conclusions.

Je ne me permettrai pas de les développer davantage ; elles sont d'une clarté telle que tout commentaire serait superflu.

Quelques remarques pourtant se présentent à l'esprit concernant la question de l'épibolie et la formation de la couche enveloppante (trophoblaste de HUBRECHT), et j'insisterai sur quelques points auxquels donnent de l'actualité les discussions qui ont surgi récemment, sur ce sujet, entre les spécialistes de l'embryologie des mammifères.

Conformément à la ligne de conduite que j'ai adoptée, je n'interpréterai pas et je ne comparerai pas ; j'attirerai simplement l'attention sur certains détails, observés par VAN BENEDEN, puisqu'ils sont visibles sur les dessins et sur les préparations, et dont l'avenir confirmera peut-être l'importance.

On sait avec quelle prudence Ed. VAN BENEDEN s'est exprimé sur la question de l'épibolie chez le Murin ; il s'est borné à dire que lors de la formation de la couche enveloppante, on peut trouver des indices d'épibolie, ou plutôt des dispositions qui peuvent être interprétées comme tels. Les figures jointes à ce travail, la description des œufs, justifient cette réserve. Mais deux faits se dégagent encore, que je vais brièvement exposer :

1° Les deux blastomères nés de la première segmentation de l'œuf, ne sont pas destinés à donner l'un la couche enveloppante et l'autre l'amas cellulaire central. Tous deux contribuent, pour une part qu'il est impossible de déterminer, à la constitution de ces deux formations, ce qui revient à dire que tous deux interviennent dans l'édification du corps de l'embryon et du placenta fœtal ;

2° Il est un détail, visible sur plusieurs des figures et très



fréquent sur l'ensemble des œufs composant le matériel, dont l'importance n'est pas négligeable. Pendant une série de stades, il y a dans l'œuf de nombreux blastomères centraux et corticaux, mais ils se pénètrent mutuellement, forment un amas compact, s'engrènent les uns dans les autres, même dans les cas où certaines cellules ont l'aspect plus sombre de la future couche enveloppante. Ce n'est que peu à peu que cette interpénétration cesse et que les cellules périphériques se rangent en un épithélium cubique régulier. Or, on a souvent sous les yeux des images qui donnent l'impression que cette délimitation (on pourrait dire délamination) se fait suivant un ordre déterminé, et apparaît d'abord dans un des hémisphères pour s'étendre progressivement à l'autre.

Ed. VAN BENEDEN, avec beaucoup de raison, a considéré ce processus comme représentant un vestige d'épibolie, et une semblable interprétation me paraît non seulement admissible, mais fort vraisemblable.

Un autre point encore mérite d'être signalé :

A des stades très divers, mais antérieurs à la délimitation complète de la couche enveloppante, on trouve des cellules superficielles en mitose, dans lesquelles le grand axe de la figure achromatique est radiairement placé ; nous en avons vu dont les deux cellules filles étaient en train de s'isoler : l'une d'entre elles restait corticale, tandis que l'autre s'engageait dans l'amas central.

Encore une fois, je ne veux pas tirer de conclusion de ces observations, d'autant plus que des déplacements secondaires des cellules filles peuvent se produire, mais elles semblent cependant indiquer que la différenciation des blastomères en un amas central et en une couche enveloppante ne s'accomplit que progressivement, ne commence même qu'à des stades relativement avancés de la segmentation, et affecte plutôt les caractères d'une délamination que ceux d'une épibolie véritable.)



## CHAPITRE II.

**La formation de l'embryon didermique et de la cavité amniotique primaire.**

*Fig. 50.* — Murin n° 47, 1888. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le blastocyste se présente sur 24 coupes successives, dont la 15<sup>e</sup> a été dessinée ; le bouton central se poursuit, lui, sur l'étendue de 14 coupes.

Le blastocyste est légèrement déformé et aplati ; aussi le lécithocèle est-il virtuel dans la partie moyenne de son étendue.

La couche enveloppante est délimitée par une ligne nette de la surface de l'amas central, qui s'étale un peu sous elle. Dans l'hémisphère anti-embryonnaire, cette couche est épaisse ; le protoplasme des cellules contient de nombreux corpuscules colorés en rouge vif et qui sont des débris phagocytés de l'épithélium utérin. Quelques corpuscules semblables, mais beaucoup plus rares, se rencontrent aussi dans l'hémisphère embryonnaire ; toutefois leur origine est autre : ils sont formés sur place par nécrose karyolytique de certaines cellules de la couche enveloppante elle-même. Nous savons que de semblables nécroses se produisent en toutes régions et à tous stades.

L'amas ou le bouton cellulaire central commence à montrer des traces de différenciations : sur toute sa surface convexe, limitant le lécithocèle, une couche de cellules affecte un aspect spécial ; elles s'allongent, leur noyau prend une forme ovalaire, leur cytoplasme a souvent un aspect un peu plus sombre. Par ces caractères, elles tranchent sur le reste de l'amas qui est formé de cellules irrégulières, moulées les unes sur les autres.

Un détail, visible à droite de la figure 50, et mieux encore dans la figure 51, indique clairement l'origine réelle de la couche nouvelle qui tend à se former. On voit, en effet, quelques cellules s'engager dans la cavité blastodermique ; elles sont les derniers vestiges, dans ces œufs, des travées qui découpaient



cette cavité aux stades plus jeunes. En comparant la série des dernières figures décrites, on conclut inévitablement que les cellules qui s'étalent sur la convexité de l'amas central sont celles qui ont joué un rôle actif dans la formation de la cavité blastodermique et du liquide qu'elle contient.

En résumé, l'amas cellulaire central des jeunes stades s'est maintenant subdivisé et a donné les éléments suivants : un lécithocèle, une couche lécithophorale différenciée et un bouton composé de cellules, qui reste interposé entre la couche enveloppante et la couche lécithophorale. Nous l'appellerons, en raison de sa destinée : *bouton embryonnaire*. (Voir la note de 1899, où tous ces faits sont clairement décrits.)

Dans le blastocyste que nous venons de décrire, la couche lécithophorale s'étend exclusivement sur la surface convexe du bouton embryonnaire ; elle est cependant légèrement épaissie au niveau de son pourtour marginal.

*Fig. 51.* — Murin, n° 35, 1891. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le blastocyste, déformé et aplati, s'étend sur 22 coupes, dont la 10<sup>me</sup> a été dessinée ; le bouton embryonnaire occupe 11 coupes, dont la figure est la 6<sup>me</sup>.

La distinction dans le blastocyste, d'un hémisphère embryonnaire et d'un hémisphère antiembryonnaire ou papillifère (Cf. la note de 1899) est devenue indispensable à la clarté de la description.

Examinons d'abord la couche enveloppante : dans l'hémisphère antiembryonnaire, elle est assez épaisse, formée de grosses cellules cubiques ; ces cellules ont phagocyté des débris de l'épithélium utérin, que l'on retrouve dans leur corps protoplasmique sous forme de corpuscules vivement colorés. On peut vraiment, sur les préparations, assister à toutes les phases de ce processus, car dans cette région, l'épithélium utérin est en pleine désintégration.

Dans l'hémisphère embryonnaire, la couche enveloppante reste formée d'un bel épithélium cubique. Appliquée d'une part sur le bouton embryonnaire qu'elle ne fait que tapisser, elle se met



en rapport, d'autre part, avec une mince lamelle, parsemée de noyaux en bâtonnets, presque homogènes et vivement colorés. Cette lamelle résulte de la transformation, dans cette région, de l'épithélium utérin; il n'en reste rien d'autre. Entre elle et le derme de la muqueuse, on remarque sur la figure une bande assez épaisse, formée d'un coagulum coloré en jaune verdâtre.

Enfin, au niveau de l'équateur, la couche enveloppante est un peu amincie.

La couche lécithophorale est beaucoup plus distincte que dans la figure précédente. Ses cellules, cubiques ou un peu aplaties, se détachent en sombre sur le bouton embryonnaire qui reste clair et formé de cellules groupées en amas compact.

De la couche lécithophorale partent quelques travées qui s'engagent dans le lécithocèle et dont nous avons donné la signification en décrivant le blastocyste précédent.

*Fig. 52.* — Murin, n° 27, 1891. Sublimé, carmin boracique.

Ce blastocyste médiocre, est fortement rétracté par l'action des réactifs. Il ne retient l'attention que par un seul détail : de nombreuses travées partent de la couche lécithophorale pour s'engager dans la cavité blastodermique. Toutefois l'étude de la série des coupes tend à faire croire que cette disposition est surtout due à des décollements localisés et produits artificiellement.

*Fig. 53.* — Murin, n° 8, 1891. Sublimé, carmin boracique.

Ce blastocyste est fort beau; il s'étend sur 24 coupes, dont la 12<sup>e</sup> a été figurée. A remarquer que la couche enveloppante, dans la région où elle tapisse le bouton embryonnaire, est formée de cellules un peu aplaties, à noyaux fortement colorés; en revanche, à l'équateur, elle est épaissie, comme si elle s'était rétractée en direction centrifuge.

Le bouton embryonnaire est largement étalé; il est toujours formé de cellules polyédriques claires, à grands noyaux. Sa face tournée vers la cavité blastodermique est plane, et revêtue d'une couche lécithophorale régulière, formée de cellules cubiques un peu surbaissées. Cette couche commence à s'étaler,



à dépasser le pourtour du bouton embryonnaire et à s'étendre, en dehors de lui, sur la face profonde de la couche enveloppante.

*Fig. 54.* — Murin, n° 37, 1891. Chlorure de platine, carmin boracique.

Ce blastocyste est fortement rétracté; il se présente sur 28 coupes, dont la 15<sup>me</sup> a été dessinée; le bouton embryonnaire occupe 19 coupes et c'est la 11<sup>me</sup> qui est reproduite dans le dessin.

Cette figure est destinée à montrer l'accolement de la couche enveloppante à l'épithélium utérin aminci en une lamelle homogène parsemée de noyaux allongés en bâtonnets et d'aspect pycnotique. La coupe montre en effet très bien, qu'à la limite de l'hémisphère embryonnaire du blastocyste, cette lamelle se continue, par transitions assez brusques, dans l'épithélium utérin normal. Entre elle et le derme de la muqueuse, nous retrouvons la traînée de liquide coagulé que nous avons déjà observée précédemment. Cette préparation est d'une remarquable netteté et fort importante au point de vue de la destinée de l'épithélium utérin et du rôle de la couche enveloppante dans le développement du placenta. Ici, l'épithélium est presque disparu et cela par un processus tout différent de la nécrose pure et simple qu'il subit en regard de l'hémisphère antiembryonnaire. Ces faits ont déjà été signalés dans la note préliminaire de 1899.

En ce qui concerne la couche lécithophorale, il suffit de parcourir la série des coupes du blastocyste, pour constater que le long tractus qui subdivise la cavité blastodermique est dû à un décollement suivi de plissement, produit artificiellement par l'action des réactifs.

*Fig. 55.* — Murin, n° 17, 1888. Acide nitrique, carmin boracique.

Le blastocyste, très aplati, existe sur 18 coupes: le dessin en représente la 6<sup>me</sup>; toutefois, certains détails ont été pris dans la 7<sup>me</sup>.



Le reste de l'épithélium utérin et la couche enveloppante ont les mêmes caractères que dans les œufs précédents. Le bouton embryonnaire, nettement biconvexe, est à peine plus clair que les feuillets cellulaires qui l'entourent.

La couche lécithophorale est plus intéressante. A la surface du bouton embryonnaire, elle est formée de cellules allongées ; au pourtour du bouton, elle s'épaissit en remplissant l'angle qu'il forme avec la couche enveloppante, puis se prolonge à la face profonde de cette dernière, en s'amincissant de nouveau, pour se terminer un peu au dessus de l'équateur.

La comparaison des figures 53 et 55 porte à faire admettre que l'extension de la couche lécithophorale est moins due à une prolifération cellulaire qu'à une émigration excentrique des premiers éléments formés.

Dans l'hémisphère antiembryonnaire, les cellules de la couche enveloppante renferment de nombreux débris de l'épithélium utérin, qui ont été phagocytés.

*Fig. 56.* — Murin, n° 22, 1891. Sublimé, carmin boracique.

La coupe dessinée est la 17<sup>me</sup> de la série qui en comporte 29, et la 7<sup>me</sup> du bouton embryonnaire qui se présente sur 13 d'entre elles. Ce bouton a son aspect habituel, et ne nous arrêtera pas ; dans la série de ces blastocystes les mitoses sont assez rares.

Un seul point mérite d'être signalé à propos de la couche enveloppante. Là où elle tapisse la surface du bouton, en le séparant de la muqueuse utérine, ses cellules, tout en restant bien distinctes, s'aplatissent jusqu'à devenir pavimenteuses. Nous ignorons l'importance qu'il faut attacher à ce détail ; nous inclinons même à croire qu'il est sans signification réelle. En effet, la figure 55 qui provient d'un blastocyste plus jeune que celui-ci, ne le montre pas, mais par contre il est très bien indiqué dans la figure 53, qui représente un stade encore moins avancé. En tous cas, si cette disposition est normale, elle est sujette à des variations individuelles.

L'étude de la couche lécithophorale nous arrêtera quelque peu. Son étalement en direction excentrique a légèrement progressé et elle tapisse la face profonde de la couche envelop-



pante, dans presque tout l'hémisphère embryonnaire. En outre, dans la partie gauche du bouton embryonnaire, elle est formée d'une couche de cellules très aplaties ; en dehors, sous la couche enveloppante, ces cellules s'épaississent un peu, mais elles le font davantage encore vers l'extrémité droite du bouton où les cellules redeviennent presque cubiques.

Cette disposition n'est pas spéciale à la coupe figurée ; elle se retrouve aussi sur les précédentes et les suivantes, et il en ressort une conséquence importante : *la différence d'épaisseur de la couche lécithophorale dans les deux moitiés du bouton embryonnaire, imprime à cette partie du blastocyste une symétrie bilatérale dont le plan coïncide avec l'axe longitudinal de l'utérus.*

La suite de la description montrera s'il s'agit là d'une règle générale ou d'une apparence fortuite.

*Fig. 57.* — Murin, n° 49. Chlorure de platine (Liquide Hermann ?) Carmin boracique.

Le blastocyste est très aplati. La coupe figurée est la 16<sup>e</sup> du blastocyste qui en compte 31, et la 6<sup>me</sup> du bouton embryonnaire qui en compte 10.

La description peut être brève : la lamelle homogène parsemée de noyaux en pycnose, qui représente le dernier vestige de l'épithélium utérin dans la région embryonnaire, se fragmente, se décolle et tombe ; la couche enveloppante, à la surface du bouton embryonnaire, est légèrement amincie, mais toujours formée de cellules cubiques. Dans l'hémisphère antiembryonnaire, l'aspect papillifère se caractérise par la formation de bourgeons aux dépens des cellules de la couche enveloppante, qui phagocytent activement les débris de l'épithélium utérin.

Le bouton embryonnaire est très net, arrondi, compact, constitué comme dans les autres blastocystes.

La couche lécithophorale s'est étendue, sous forme d'une lame de cellules aplaties, sur la face profonde de la couche enveloppante et en revêt maintenant tout l'hémisphère antiembryonnaire.

On ne constate pas, dans la région du bouton embryonnaire,



les différences d'épaisseur de la couche lécithopérale que nous avons signalées à propos de la figure précédente ; on ne les observe pas davantage dans les coupes précédentes et suivantes. Mais il faut noter que le blastocyste a été complètement aplati par la rétraction due aux réactifs employés ; la compression qui en est résultée a dû écraser la couche lécithopérale entre le bouton et le pôle antiembryonnaire de l'œuf.

*Fig. 58.* — Murin, n° 19, 1888. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le blastocyste se présente sur 24 coupes, dont la 15<sup>me</sup> a été dessinée ; quant au bouton embryonnaire, il existe sur 14 coupes, la figure le représente à peu près en son milieu.

L'hémisphère papillifère n'offre aucun détail nouveau méritant une description.

L'hémisphère embryonnaire est plus intéressant. De chaque côté du bouton embryonnaire, la couche enveloppante est encore formée de hautes cellules cubiques ou cylindriques. Mais en dedans, il s'amincit et, sur la coupe figurée, il est même interrompu au niveau du pôle. Nous nous bornons à rapprocher cette disposition de celle que nous avons vue dans d'autres blastocystes. Toutefois, quand on examine toute la série des coupes, on en arrive à se demander si cette assise de cellules plates et sombres ne résulte pas d'un dédoublement de la couche enveloppante en deux lames, dont la plus profonde se confondrait avec les éléments voisins du bouton embryonnaire.

Certaines images plaident en faveur de cette manière de voir, mais nous n'osons pas nous prononcer catégoriquement.

Dans le bouton embryonnaire se trouve une petite cavité, bien délimitée de toutes parts. Elle n'existe que sur la coupe figurée, et représente le tout premier début de la cavité amniotique primaire.

Enfin, certains détails de la couche lécithopérale retiendront encore notre attention. Ils rappellent complètement ce que nous avons décrit dans la figure 56. Partout où elle tapisse la face profonde de la couche enveloppante, elle est formée de cellules



aplaties, presque lamellaires. Mais si l'on examine la surface convexe du bouton, on voit que si dans sa moitié gauche (sur la figure 58), la couche lécithophorale reste mince, elle s'épaissit au contraire dans la moitié droite; là les cellules sont plus nombreuses et presque cubiques. La région embryonnaire de ce blastocyste est donc symétrique bilatérale; c'est le second cas de ce genre figuré dans les planches.

*Fig. 59.* — Murin n° 24, 1891. Liquide de Flemming, carmin boracique. La coupe figurée est la 18<sup>me</sup> du blastocyste qui en compte 31-32; elle est la 8<sup>me</sup> du bouton embryonnaire qui en compte 12. Le blastocyste est très plissé, et nous ne ferons, à son sujet, que quelques brèves remarques. Bien qu'il soit manifestement plus âgé que le précédent, la couche enveloppante est restée bien distincte dans toute son étendue et est à peine amincie dans la région du bouton. Excentriquement placée dans ce dernier, on remarque une petite cavité, bien délimitée, vers la gauche, par des cellules cylindriques. Il s'agit encore ici d'un premier rudiment de la cavité amniotique primaire.

Enfin pour la troisième fois, nous constatons à la face profonde du bouton embryonnaire, des différences nettes dans l'épaisseur de la couche lécithophérale: dans les  $\frac{2}{3}$  droits les cellules sont rares et aplaties, elles sont plus nombreuses et plus épaisses dans le  $\frac{1}{3}$  gauche. Ce blastocyste est donc, lui aussi à symétrie bilatérale.

*Fig. 60.* — Murin n° 19, 1891. Sublimé, carmin boracique. Le blastocyste se présente sur 50 coupes, dont la 30<sup>me</sup> a été figurée; d'autre part le dessin est la 10<sup>e</sup> coupe du bouton embryonnaire, qui en comporte 24. L'hémisphère antiembryonnaire ne présentant plus d'intérêt pour la suite de ce travail, on n'a représenté que la région embryonnaire.

Pour ne pas avoir à y revenir, nous dirons un mot de la couche lécithophorale. Dans toute l'étendue du bouton embryonnaire, elle est décollée et plonge librement dans la cavité blastodermique.



Dans la coupe figurée, elle est formée de cellules nombreuses et cubiques, surtout vers la droite ; dans d'autres coupes elle est exclusivement formée de cellules aplaties. Des différences d'épaisseur existent donc certainement, mais en raison du décollement qui s'est produit, il est impossible de déterminer exactement la topographie des cellules cubiques et des cellules plates. L'embryon est très probablement à symétrie bilatérale, mais nous n'oserions l'affirmer.

Le bouton embryonnaire est creusé de cavités irrégulières dont certaines communiquent entre elles, tandis que d'autres restent partout séparées par des ponts cellulaires.

En ce qui concerne la couche enveloppante, le dessin indique clairement qu'elle s'est subdivisée en deux feuilletts ; l'un superficiel, en rapport avec le derme utérin complètement dénudé, est formé d'une rangée assez régulière de cellules allongées qui, sur d'autres objets, se détachent nettement grâce à une vive coloration des noyaux, et à un aspect plus foncé du protoplasme. L'autre, profond, reste constitué de cellules cubiques ; il persiste sous forme de couche enveloppante proprement dite et, dans la figure 60, forme la voûte des deux cavités principales creusées dans le bouton embryonnaire.

Il résulte de l'exposé fait dans la note préliminaire de 1899 et dans d'autres travaux, que cette subdivision en deux de la couche enveloppante est en rapport intime avec la formation du placenta fœtal et est le prélude de sa transformation en un plasmodiblaste et un cytoblaste (Ed. VAN BENEDEN).

*Fig. 61, 62, 63 et 64.* — Nous réunirons dans une même description ces 4 figures qui ont été reproduites, dans la note de 1899, sous les numéros 12, 14, 13 et 15. Elles ont toutes pour but de montrer la formation de l'ectoplacenta et de la cavité amniotique primaire. Les processus qui accompagnent cette formation ont été très clairement exposés dans les pages 321 à 327 de la note précitée et nous n'y revenons ici que pour éviter des lacunes dans la description.

(J'ai d'autant plus de raisons d'être bref que je n'ai pu disposer des dessins originaux, mais seulement des épreuves



des figures publiées dans l'Anat. Anz. Ils ne contenaient aucune indication sur le numéro d'ordre des blastocystes dont ils provenaient et je n'ai retrouvé que partiellement dans le matériel mis à ma disposition, les préparations qui avaient été reproduites. Je me bornerai donc à décrire les dessins qui sont fort clairs et qui ont visiblement été choisis dans un but déterminé.

En ce qui concerne la couche lécithophorale, la fig. 61 démontre bien que sous le bouton embryonnaire, elle est formée de cellules cubiques dans la moitié gauche, de cellules plates dans la moitié droite. La symétrie bilatérale est donc aussi nette que dans les autres cas identiques que nous avons observés jusqu'ici.

Dans les figures 62, 63 et 64, ces différences ne se marquent pas, mais il n'en faut pas conclure qu'elles n'auraient pas été reconnues si l'on avait pu suivre toute la série des coupes. Le fait qu'elles font défaut dans les dessins en question est peut-être dû à l'orientation des coupes et au choix qui a été fait.

Dans le matériel d'Ed. VAN BENEDEN, j'ai d'ailleurs trouvé plusieurs blastocystes aux stades que nous avons étudiés jusqu'ici, et auxquels la disposition du lécithophore donnait une symétrie bilatérale évidente ; il fallait parfois, pour s'en rendre compte, reconstituer la région embryonnaire. Sur d'autres, je n'en ai relevé que des indices beaucoup moins nets, mais jamais ils ne faisaient complètement défaut.)

Dans les figures 61 et 62, la subdivision en deux de la couche enveloppante, dans l'hémisphère embryonnaire, apparaît avec une grande netteté. Dans la 2<sup>de</sup> notamment, certaines cellules sortent de la couche profonde pour venir s'étaler à la surface ; l'épithélium simple des stades antérieurs se dédouble beaucoup plus semble-t-il, par la plasticité ou l'amœboïsme des cellules que par des divisions mitosiques spécialement orientées. Dès qu'une cellule est devenue superficielle, elle s'allonge comme pour s'anastomoser avec ses voisines. Dans la fig. 61, le processus est le même, bien qu'en général moins avancé ; cependant vers la gauche du bouton embryonnaire, un léger décollement qui s'est produit rend l'image plus nette.



Dans la fig 63, le dédoublement paraît achevé sauf au centre du bouton embryonnaire, sur lequel nous reviendrons un peu plus loin. La couche externe à laquelle nous pouvons déjà donner le nom de plasmodiblaste (Ed. VAN BENEDEN) est encore constituée de cellules relativement minces, à noyaux allongés, très riches en chromatine, et se colorant fortement ; elle se détache avec la plus grande facilité du cytoblaste (Ed. VAN BENEDEN) qui lui est sous-jacent. Ce fait indique que la différenciation des deux couches s'accomplit fort rapidement, et que très tôt aussi elles deviennent indépendantes.

Enfin dans la fig. 64, le plasmodiblaste a pris sa structure définitive. Il est formé d'une lame protoplasmique sombre, dans laquelle toutes les limites cellulaires sont confondues, et qui est parsemée de noyaux très chromatiques disposés sans ordre régulier. La comparaison des figures 61 à 64 ne peut laisser aucun doute sur son origine et sur la nature des processus qui ont abouti à sa formation.

Le creusement de la cavité amniotique primaire a été très clairement décrit en 1899, et il n'y a guère lieu d'y revenir, si ce n'est pour insister sur un point : déjà dans la figure 61, le cytoblaste, au dessus du bouton embryonnaire, est devenu indistinct et paraît s'être confondu avec les éléments les plus superficiels du bouton ; il contribue donc, comme eux, à délimiter la voûte des cavités irrégulières qui formeront par confluence la cavité amniotique vraie. (Voir fig. 62 et 60). Il est probable que certaines de ses cellules constitutives continuent à se transformer en plasmodiblaste ; c'est du moins ce qu'indique la figure 64 ; mais il est très vraisemblable aussi qu'un certain nombre d'entre elles sont incorporées à la masse irrégulière de cellules disloquées, souvent en voie de dégénérescence, qui remplit l'ébauche de la cavité amniotique. En tous cas, ce qui est certain, c'est que l'on peut positivement exclure toute participation du cytoblaste à l'édification de la couche d'épithélium cylindrique qui, déjà dans la figure 64, forme le plancher, concave, de la cavité amniotique.

Nous savons que cette couche n'est autre que le feuillet externe de l'embryon didermique (blastophore Ed. VAN BENEDEN.



Voir spécialement la note de 1899); les figures démontrent qu'il provient des cellules profondes du bouton embryonnaire, mais la question est assez importante pour justifier une brève description.

Sur la fig. 61, déjà avant toute apparition de la cavité amniotique, les cellules qui délimitent la surface convexe du bouton et qui sont en rapport avec la couche lécithophorale, commencent à se ranger en un épithélium cylindrique. Plus tard (fig. 64), quand les travées qui séparent les lacunes amniotiques se disloquent et se désagrègent, le bouton embryonnaire s'étale, s'allonge, devient de moins en moins convexe et le fond de la cavité amniotique se trouve constitué d'un véritable feuillet épithélial régulièrement délimité. Dès ce moment l'embryon didermique est formé, et son feuillet externe est définitivement constitué.

De la description qui précède et de l'examen des figures sur lesquelles elle est basée, il résulte que nous connaissons maintenant avec toute la certitude nécessaire : 1°) l'origine du plasmodiblaste et du cytoblaste, c'est-à-dire des constituants essentiels de l'ectoplacenta ; 2°) le mode de creusement de la cavité amniotique primaire ; 3°) l'origine du feuillet externe de l'embryon didermique dont la couche lécithophorale forme le feuillet interne.

Nous terminerons par la description de 4 derniers stades, dont des coupes sont représentées dans les figures 65, 66, 67, 68.

*Fig. 65.* — Murin, n° 26, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le blastocyste s'étend sur 60 coupes environ ; le dessin en montre la 29<sup>me</sup>. La cavité amniotique occupe 35 coupes ; elle est donc devenue très vaste. Le pont cellulaire qui, partant de sa voûte, la divise presque complètement en deux parties, n'existe en réalité que sur 2 ou 3 coupes.

Le présence de ce pont n'est cependant pas sans intérêt : non seulement parce qu'il indique encore le mode de formation de la cavité amniotique, mais encore et surtout parce que la



large connexion qu'il présente avec la couche plasmodiblastique tend à démontrer qu'il va se confondre avec elle pour en faire partie intégrante; tout porte à croire qu'il est un reste du cytotiblaste de la couche enveloppante, qui, après la formation de la cavité amniotique, rentre dans la constitution de l'ectoplacenta.

Quant au plasmodiblaste, il est dans toute son étendue accolé au derme utérin; dans la région amniotique, il forme la voûte immédiate de cette cavité; dans le reste de son étendue, il s'applique lâchement sur le cytotiblaste de la portion extraembryonnaire du blastocyste.

Le plancher de la cavité amniotique est formé par le feuillet externe de l'embryon (blastophore VAN BENEDEN). C'est un bel épithélium cylindrique dont les noyaux sont disposés en 2 ou 3 couches; quelques irrégularités se remarquent encore à sa face supérieure. Marginalement, il se continue dans le cytotiblaste; cette continuité s'est établie et devait s'établir au moment où, la cavité amniotique s'étant creusée, sa voûte est devenue exclusivement plasmodiblastique par le processus que nous avons indiqué. (Cf. aussi la note de 1899.)

Il nous reste, pour en finir avec ce stade, à dire un mot de la couche lécithophorale. L'examen de la figure montre que les cellules de cette couche sont un peu plus épaisses dans la région embryonnaire que dans le reste du blastocyste où elles sont fort aplaties. Mais, si l'on étudie la série des coupes, on observe, sous le plancher de la cavité amniotique, les dispositions suivantes: dans les coupes qui précèdent celle qui a été reproduite, la couche lécithophorale s'épaissit plus encore et se constitue de cellules cubiques nombreuses et volumineuses; cette disposition est surtout évidente dans les  $\frac{2}{3}$  droits des coupes. Au contraire dans les coupes qui suivent la fig. 65, les cellules lécithophorales s'amincissent de plus en plus, d'abord à gauche, puis dans toute l'étendue de la zone embryonnaire; elles prennent rapidement la forme pavimenteuse qu'elles ont dans les portions extra embryonnaires du blastocyste.

Il résulte de cette description qu'une moitié de la couche externe de l'embryon est revêtue d'une couche lécithophorale



épaisse, tandis que l'autre n'est tapissée que de cellules plates. Cette disposition imprime à l'embryon didermique une symétrie bilatérale que nous avons déjà constatée à d'autres stades, mais qu'il est plus difficile de reconnaître ici, à cause de l'orientation très oblique des coupes.

Dans la fig. 66 qui représente un stade un peu plus avancé que celui que nous décrivons, la disposition réelle de la couche lécithophorale est mieux visible, parce que le plan de section du blastocyste coïncide avec le plan de symétrie bilatérale ou lui est parallèle.

*Fig. 66.* — Murin 11, 1891. Liquide de Flemming, carmin boracique.

La cavité amniotique et son plancher, que nous appellerons le "disque embryonnaire", s'étendent sur 37 coupes, dont la 19<sup>me</sup> est reproduite dans le dessin.

Tant à la voûte de la cavité amniotique qu'à sa périphérie, on voit le plasmodiblaste envahir le derme utérin, se mettre au contact de l'endothélium des vaisseaux maternels et commencer à les entourer.

Le plasmodiblaste a ses caractères définitifs : c'est une nappe protoplasmique dans laquelle sont plongés des noyaux volumineux, parfois isolés, parfois groupés en amas. En dehors de la cavité amniotique, cette nappe repose sur le cytotiblaste dont les caractères ne se sont pas modifiés ; tandis qu'au niveau de la cavité même, toute trace de cytotiblaste a complètement disparu.

Le feuillet externe de l'embryon didermique a conservé la situation et les rapports qu'il avait au stade précédent ; il est épais, bien régulier, et tout à fait plan, c'est-à-dire qu'il ne bombe plus dans la cavité blastodermique. Toutes les étapes de ce redressement sont admirablement indiquées dans la série des figures ; elles ont d'ailleurs été décrites dans la note préliminaire de 1899.

Nous avons déjà dit un mot plus haut de la couche lécithophorale : dans la moitié gauche du disque embryonnaire elle est formée de cellules cylindriques ; vers la droite, ces cellules



s'abaissent progressivement pour devenir cubiques, puis aplaties. Cette disposition existe sur quelques coupes antérieures et postérieures à celle qui a été dessinée. Partout en dehors de l'embryon proprement dit, les cellules lécytophorales sont plates. La symétrie bilatérale du disque embryonnaire est donc évidente et les coupes sont parallèles à son plan médian.

*Fig. 67.* — Murin, n° 64, 1889. Liquide de Flemming, carmin boracique.

Le disque embryonnaire occupe 55 coupes, dont la 29<sup>e</sup> a été dessinée. Cette figure est reproduite dans la note de 1899, sous le n° 16, page 325.

La cavité amniotique, agrandie, a la délimitation qu'elle avait au stade précédent; le plasmodiblaste est épaissi à sa voûte et entoure partiellement de nombreux capillaires maternels; il en est de même d'ailleurs dans les parties périphériques du blastocyste.

Sur la coupe figurée, la couche lécytophorale est manifestement plus épaisse à droite qu'à gauche et cette différence est plus accusée encore sur les coupes précédentes. Dans la partie gauche du dessin, entre les deux feuilletts primaires, existe une traînée de cellules fusiformes. Elle procède du bord de la ligne primitive qui apparaît à l'état d'ébauche très nette, coupée sagittalement sur les coupes qui précèdent.

Le mode de formation de la ligne primitive ne nous arrêtera pas parce qu'il sera décrit en détail dans un autre travail qui fera suite à celui-ci. Nous ne voulons pour le moment retenir qu'un fait, c'est qu'elle prend naissance dans la moitié du disque embryonnaire qui est caractérisée, à des stades encore très reculés, par une grande minceur de la couche lécytophorale.

De plus, son axe longitudinal est dans le plan de symétrie bilatérale que les différences d'épaisseur de cette couche avaient permis d'assigner aux jeunes blastocystes. L'embryon suivant donnera de ce fait une démonstration éclatante.

*Fig. 68.* — Murin, n° 15, 1891. Sublimé, carmin boracique.



Le disque embryonnaire existe sur 48 coupes, dont la 28<sup>e</sup> a été dessinée.

L'ectoplacenta a déjà pris un grand développement et entoure de toutes parts de nombreux vaisseaux maternels.

Un simple coup d'œil permet de reconnaître que la figure représente la coupe sagittale d'un embryon au moment où la ligne primitive commence à former son prolongement céphalique. Sa description sortirait du cadre de ce travail. Remarquons seulement que l'extrémité du prolongement céphalique s'arrête au point où la couche lécithophorale commence à s'épaissir. Nous savons dès maintenant que cette région correspond à l'extrémité craniale de l'embryon ; il sera démontré dans un prochain travail qu'elle interviendra dans la constitution d'une partie de la paroi du pharynx.

\*  
\* \*

Les conclusions qui se dégagent de la longue description qui précède ont été formulées à la page 328 de la note de 1899. Nous ne pouvons mieux faire que de les reproduire ici :

Il résulte de tout ce qui précède :

- 1) Que les deux couches cellulaires qui interviennent dans l'édification de l'embryon proprement dit procèdent, l'une et l'autre, de la masse interne de l'œuf segmenté ;
- 2) Que cet amas interne se différencie secondairement en un lécithophore et un bouton embryonnaire ;
- 3) Que dans le bouton embryonnaire se creuse une cavité qui n'est autre que la cavité amniotique ;
- 4) Qu'au moment de l'apparition de cette cavité, le bouton affecte une forme globuleuse ; que la partie du bouton qui est destinée à devenir la couche externe de la tache embryonnaire didermique, est fortement incurvée ; que cette incurvation de l'embryon tend à s'effacer peu à peu : la tache embryonnaire tend à devenir plane et la cavité amniotique à prendre l'apparence d'une fente ;
- 5) Que la couche enveloppante, complète et indépendante de l'amas interne dès le début de la formation du blastocyste,



fournit tout l'ectoplacenta, y compris la voûte de la cavité amniotique;

6) Que cette couche se dédouble en deux assises : plasmodiblaste et cytotiblaste, dans toute l'étendue de l'hémisphère embryonnaire du blastocyste;

7) Que le cytotiblaste disparaît à la voûte de la cavité amniotique chez le Murin, le plasmodiblaste persistant seul dans cette région, tandis que chez le petit fer à cheval, les deux assises se maintiennent indéfiniment.

8) Que la couche externe de l'embryon didermique, primitivement indépendante de la couche enveloppante, se met en continuité avec cette couche sur tout le pourtour de la tache embryonnaire, en même temps que l'embryon, primitivement incurvé et en quelque sorte invaginé dans la cavité blastodermique, se redresse ;

9) Que l'épithélium utérin disparaît sans laisser de traces, au contact de l'hémisphère embryonnaire, et n'intervient en rien dans l'édification du placenta. Celui-ci débute par la vascularisation du plasmodiblaste, dont l'épaisseur croît rapidement.

(Dans sa note de 1899, Ed. VAN BENEDEN faisait suivre cette énumération d'un chapitre intitulé : " Interprétation des faits „ dans lequel il émettait de façon succincte, mais très claire, des considérations fort intéressantes sur la signification morphologique des observations qui viennent d'être décrites.

Leur reproduction pure et simple dans ce travail, n'eut pas été fort utile, puisque l'Anatomischer Anzeiger se trouve dans toutes les mains. Pour faire une œuvre complète, il eut été nécessaire de les développer davantage et surtout d'entrer dans la discussion d'un certain nombre de travaux importants qui, depuis 1899, ont paru sur des sujets analogues.

Personnellement, j'ai l'absolue conviction que toutes les conclusions et interprétations d'Ed. VAN BENEDEN restent intactes, mais j'outrepasserais mes droits en me substituant à lui, même pour défendre ses idées et montrer qu'elles ont subi victorieusement l'épreuve du temps.



Le présent travail étant une œuvre posthume de VAN BENEDEN, ne peut contenir que ce qui découle des préparations qu'il a étudiées, c'est à dire les conclusions de *faits* qui se dégagent de ses recherches

A toutes celles qu'il a formulées en 1899 et qui sont de première importance, il convient, je crois, d'en ajouter une dont la portée ne me paraît pas moindre. On peut l'exprimer comme suit :

10) Peu après que la couche lécithophorale s'est délimitée, avant qu'elle n'ait tapissé l'hémisphère antiembryonnaire du blastocyste, ce dernier a une constitution symétrique bilatérale. Elle est caractérisée par le fait que l'épaisseur de la couche lécithophorale est notablement plus grande dans une moitié du bouton embryonnaire que dans l'autre. L'étude de la série des stades démontre que la ligne primitive prend naissance aux dépens du feuillet externe de l'embryon didermique, dans la partie du disque embryonnaire où le feuillet interne (lécithophoral) est formé de cellules plates. Dès lors on peut affirmer que la partie opposée, à couche lécithophorale épaisse, donnera naissance à l'extrémité craniale du corps, probablement à la région préchordale, sans qu'il soit possible, pour le moment, de préciser davantage ce qu'il faut entendre par là.

Nous avons dit, à la fin du chapitre I, que l'œuf de Murin, aux premiers stades de la segmentation, se comportait comme si sa constitution intime était à symétrie bilatérale. Celle-ci se maintient-elle pendant tout le cours du développement ? Persiste-t-elle, bien qu'invisible à nos yeux, pendant tous les stades de la segmentation pour reparaitre nettement distincte aux phases qui précèdent l'apparition de la ligne primitive ? En d'autres termes, le plan de symétrie bilatérale de l'embryon est-il le même que celui de l'œuf qui commence à se segmenter ? Nous l'ignorons et il est probable que nous n'en saurons pas plus, tant que l'expérimentation ne pourra porter sur l'œuf des mammifères. Si nous étions autorisé à raisonner par analogie, nous n'hésiterions pas à répondre par l'affirmative, nous basant sur de nombreuses observations faites chez les Ascidies (Ed. VAN BENEDEN et C. JULIN, CONKLIN), chez les Amphibiens et



même chez les Téléostéens et chez les Oiseaux ; mais pour le moment, nous croyons préférable de rester sur la réserve.

La question de la symétrie bilatérale de l'œuf et de son importance a longuement préoccupé Ed. VAN BENEDEN. Si dans sa note de 1899, il n'a pas fait allusion aux faits dont nous venons de parler, c'est qu'il conservait des doutes ; avec le scrupule scientifique qui le caractérisait, il ne voulait pas faire abstraction de la longue série de stades pendant laquelle fait défaut chez le Murin cette régularité dans le développement qui devrait exister, semble-t-il, si l'œuf en segmentation avait encore la symétrie primaire de l'œuf fécondé.

A maintes reprises, dans des conversations que nous eûmes ensemble sur les localisations germinales, sur les rapports entre la composition de l'œuf et la constitution de l'embryon qui en provient, je l'ai entendu insister sur les grandes difficultés que présente la solution de ces problèmes, et sur la prudence qu'il faut apporter dans l'interprétation des faits.

Néanmoins, et sans répondre dans un sens positif à la question posée plus haut, il ne ressort pas moins nettement des recherches d'Ed. VAN BENEDEN que l'on peut reculer très loin, chez le Murin, l'apparition de la symétrie bilatérale de l'embryon, que longtemps avant que la formation de la ligne primitive ne lui imprime ses caractères définitifs, elle existe dans les jeunes blastocystes, qu'elle devient apparente dès que la couche lécithophorale s'est délimitée et commence à s'étaler sur la surface profonde de la couche enveloppante.

C'est là un fait à coup sûr important et fructueux au point de vue des recherches futures.

A Ed. VAN BENEDEN revient donc le mérite d'avoir reconnu la symétrie bilatérale de l'œuf fécondé, de l'œuf segmenté en 2, en 4, en 8, et des jeunes blastocystes. Si dans l'avenir on parvient à la poursuivre chez les mammifères à travers tous les stades, encore confus, de la segmentation et à établir le pont qui manque encore, ce sera ici, comme dans tant d'autres questions, notre grand compatriote qui aura ouvert la voie et indiqué le chemin.



Mais si dans cette confrontation des faits, dans la position du problème et dans l'indication de la marche à suivre pour le résoudre, il y a des erreurs dont les recherches ultérieures feront justice, moi seul devrai en supporter la responsabilité.)



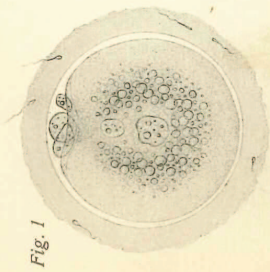


Fig. 1

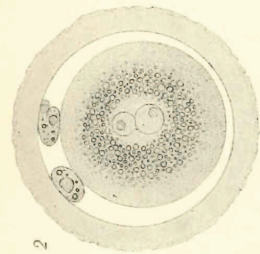


Fig. 2

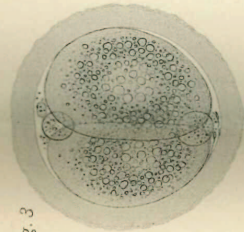


Fig. 3

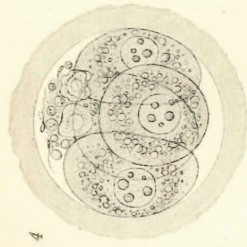


Fig. 4

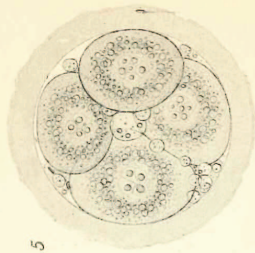


Fig. 5

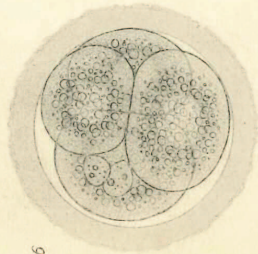


Fig. 6

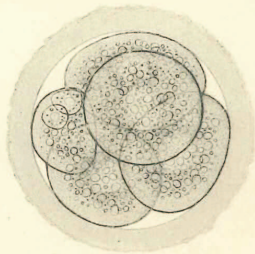


Fig. 7

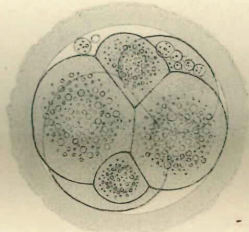


Fig. 8.

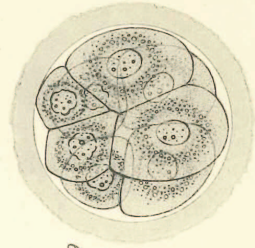


Fig. 9

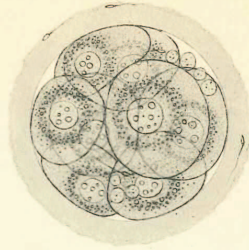


Fig. 10

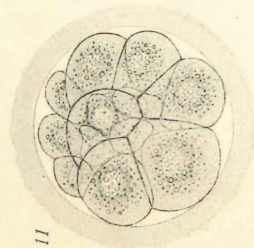


Fig. 11

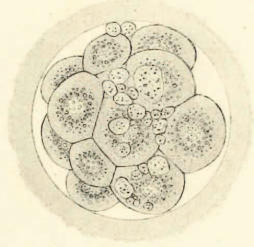


Fig. 12

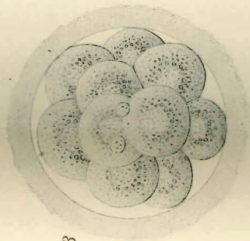


Fig. 13

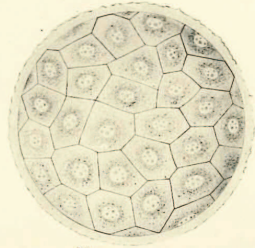


Fig. 14

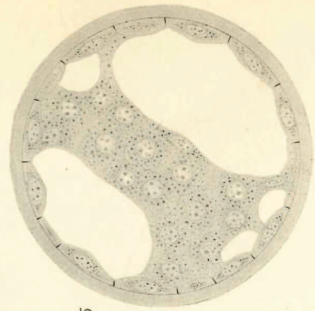


Fig. 15



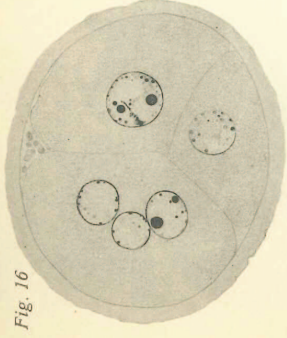


Fig. 16

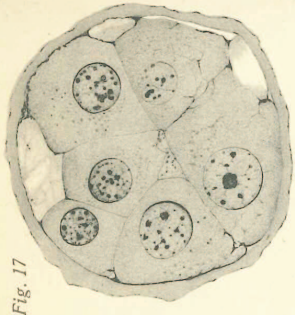


Fig. 17

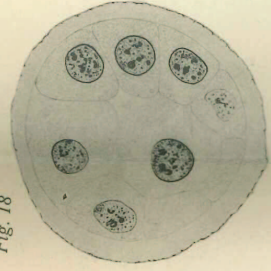


Fig. 18

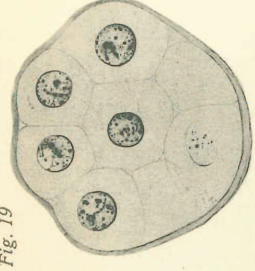


Fig. 19



Fig. 20

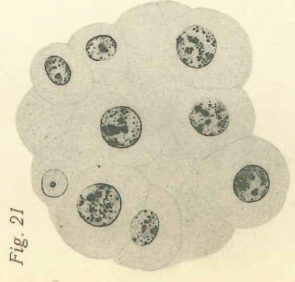


Fig. 21

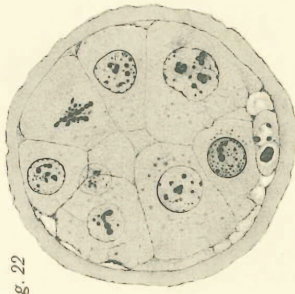


Fig. 22



Fig. 23

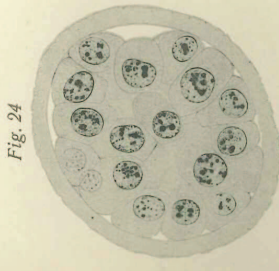


Fig. 24

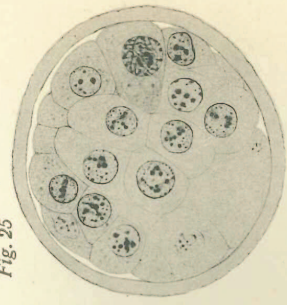


Fig. 25

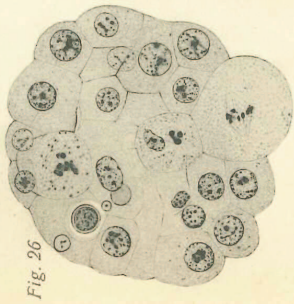


Fig. 26

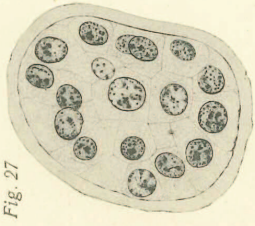


Fig. 27

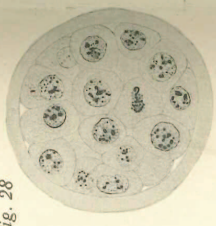


Fig. 28

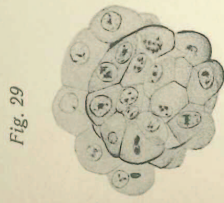


Fig. 29



Fig. 30

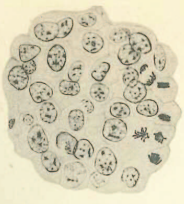


Fig. 31

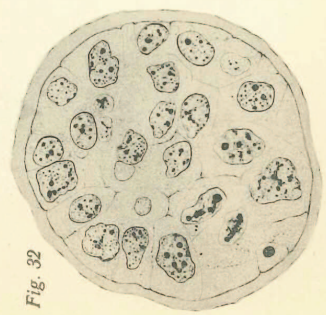


Fig. 32

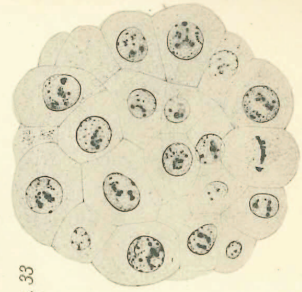


Fig. 33



Fig. 34

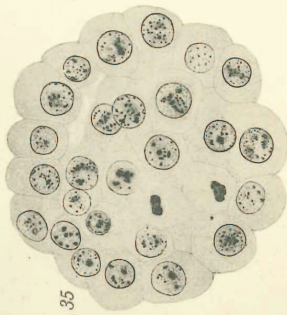


Fig. 35

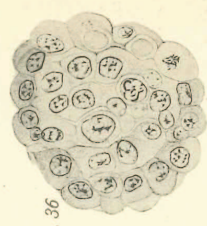


Fig. 36



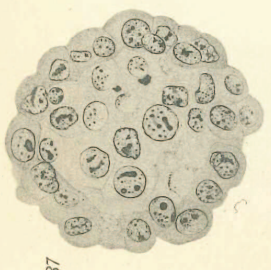


Fig. 37



Fig. 38

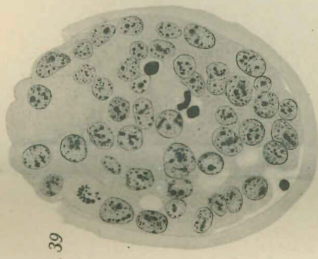


Fig. 39

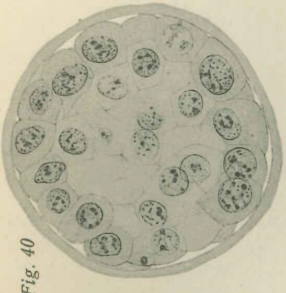


Fig. 40



Fig. 41

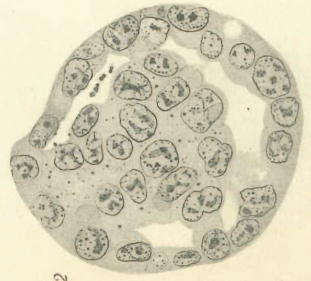


Fig. 42

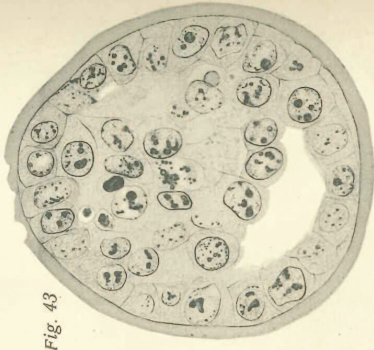


Fig. 43

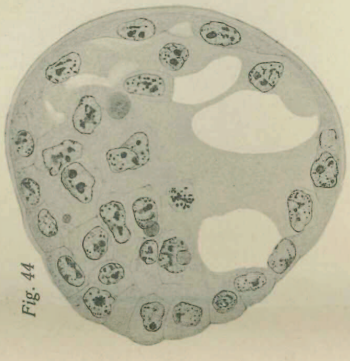


Fig. 44



Fig. 45

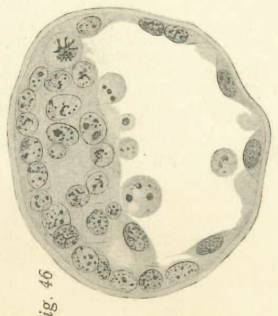


Fig. 46



Fig. 47

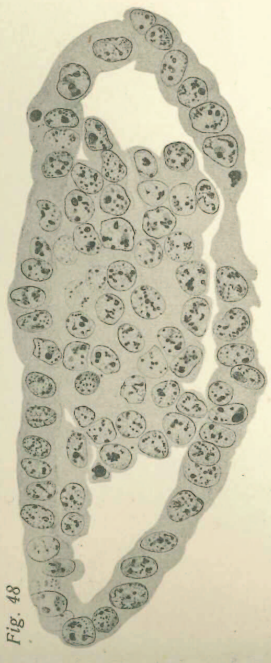


Fig. 48



Fig. 49

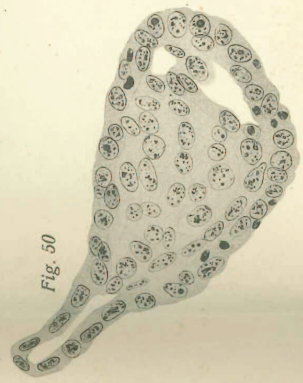


Fig. 50



Fig. 51





Fig. 52

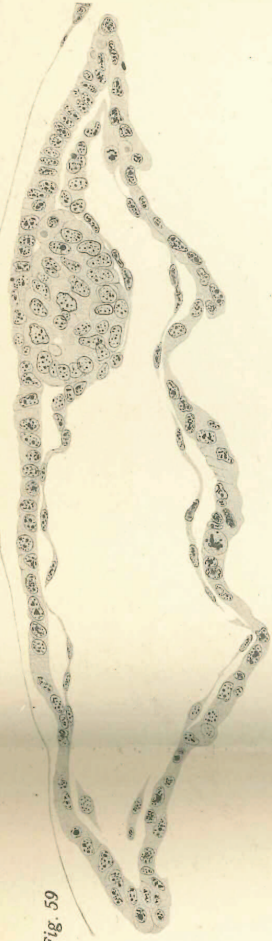


Fig. 59



Fig. 53

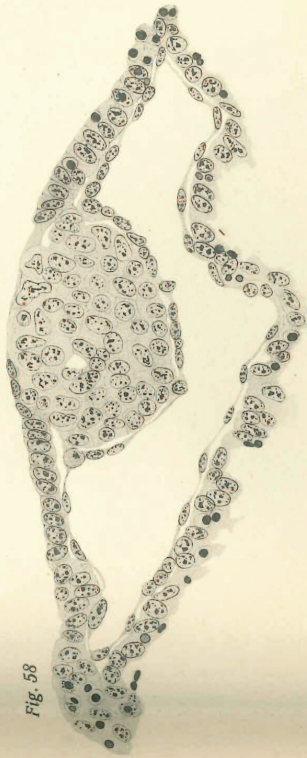


Fig. 58

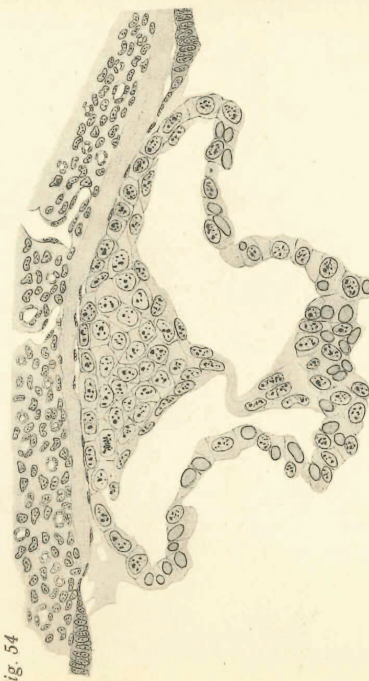


Fig. 54



Fig. 57

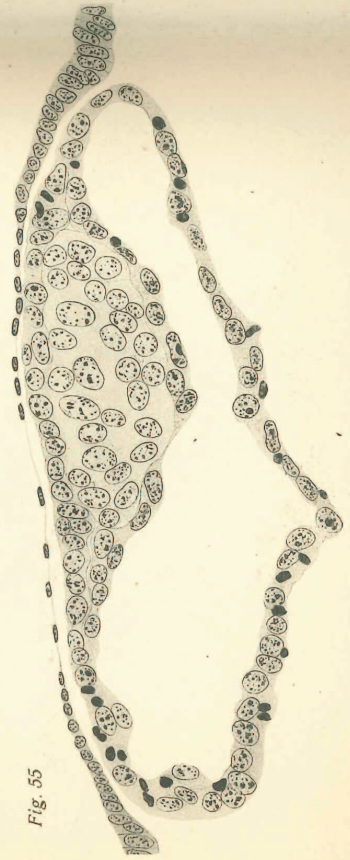


Fig. 55

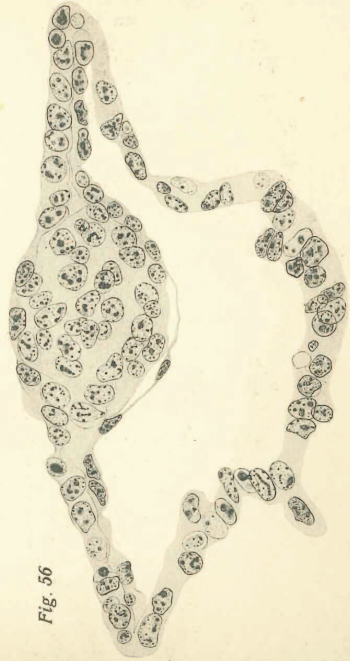


Fig. 56





Fig. 60



Fig. 62



Fig. 64



Fig. 65



Fig. 67



Fig. 61

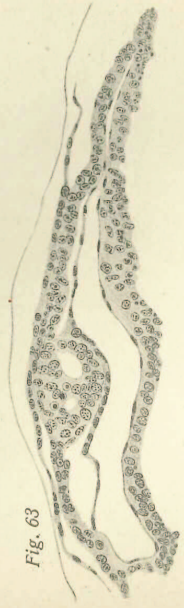


Fig. 63



Fig. 66

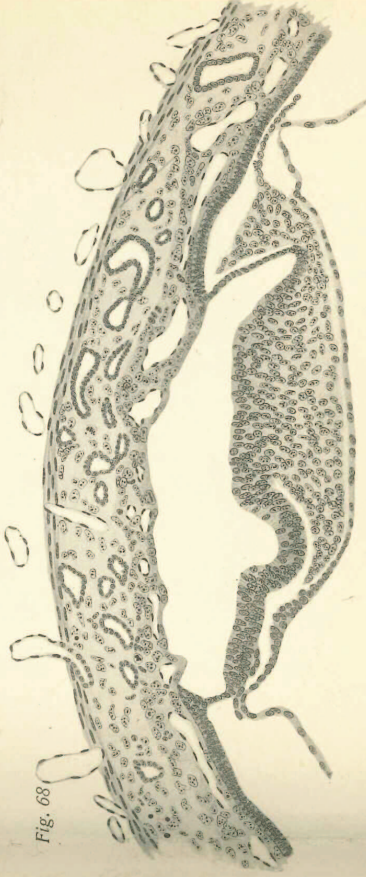


Fig. 68