

RECHERCHES

SUR

L'EMBRYOLOGIE DES MAMMIFÈRES.

LA FORMATION DES FEUILLETS

CHEZ

LE LAPIN,

PAR

Édouard VAN BENEDEN.

Il y aura bientôt cinq ans que j'ai commencé mes recherches sur le développement embryonnaire du Lapin. Je ne me suis occupé jusqu'à présent que de l'étude de l'œuf ovarien, des phénomènes de la fécondation, de la segmentation, de la formation de la vésicule blastodermique et des modifications que subit la tache embryonnaire du septième au onzième jour. C'est dans cette dernière période que les principaux organes de l'embryon apparaissent et se forment aux dépens des feuillets.

Différentes circonstances m'ont empêché jusqu'à présent de publier mes recherches. L'état de ma santé durant ces deux dernières années ne m'a pas permis de me livrer à un travail régulier; c'est là la cause principale du retard apporté à la publi-

cation des résultats auxquels j'étais arrivé quand, à la fin de 1875, j'ai publié ma communication préliminaire (1).

J'eusse désiré d'autre part pouvoir publier, en suivant l'ordre de succession naturelle des phénomènes, l'histoire de la maturation de l'œuf, de la fécondation et du développement de l'embryon. Mais quoique j'aie passé bien des mois à étudier les modifications successives que subit l'œuf pendant la période de sa maturation, quoique cette étude m'ait conduit à des résultats pleins d'intérêt, je ne suis pas encore assez avancé dans ces recherches pour pouvoir faire, dès aujourd'hui, l'histoire complète de l'œuf ovarien.

Il ne sera pas inutile cependant d'indiquer sommairement ici quelques-uns de ces résultats.

L'étude des vésicules de de Graaf chez les Lapines gravides m'a conduit à une méthode nouvelle, qui permettra, je l'espère, d'établir d'une manière certaine la série des changements que subit l'ovule pendant sa maturation et de reconnaître d'autre part les caractères distinctifs de l'œuf mûr. C'est Weil qui reconnut le premier, si je ne me trompe, qu'aussitôt après avoir mis bas, la Lapine se prête à l'approche du mâle et qu'une nouvelle conception succède immédiatement à la délivrance. A la fin de la gestation, l'ovaire présente donc des follicules mûrs, et ceux-ci renferment des ovules aptes à être fécondés. On pourra reconnaître les signes de la maturité de l'œuf en extirpant les ovaires d'une Lapine peu de temps après la mise-bas et en recherchant en quoi ses œufs diffèrent des ovules que l'on trouve à l'ovaire pendant la gestation.

Si l'on sacrifie une Lapine deux jours avant la délivrance, on doit trouver à l'ovaire des œufs qui eussent atteint leur complet développement deux jours plus tard; en ouvrant une Lapine pleine cinq jours avant la mise-bas, on est certain de trouver à l'ovaire des œufs qui eussent exigé cinq jours encore pour atteindre leur maturité complète. En recherchant ainsi les œufs ovariens

(1) *Bulletins de l'Académie royale des sciences, des lettres et des beaux-arts de Belgique*, 2^{me} série, t. LX. Décembre 1875.

aux différents moments de la gestation, on pourra décider si ces œufs subissent ou non des changements pendant les quatre semaines qui précèdent le moment où ils sont devenus propres à la fécondation et analyser la série des modifications successives qu'ils subissent. J'ai pu constater de cette façon que la « *corona radiata* » existe autour de l'œuf plusieurs semaines avant la maturité et que sa présence n'est donc pas, comme le pense Bischoff, le caractère auquel on peut reconnaître l'œuf mûr. La disparition de la vésicule germinative, la mise en liberté d'un premier corps directeur et un commencement de retrait du vitellus, au pôle germinatif de l'œuf, sont les signes distinctifs de la maturité. Ces phénomènes s'accomplissent toujours avant la chute de l'ovule, mais toujours peu de temps avant la rupture du follicule de de Graaf, qui a lieu généralement 7 à 8 heures environ après le coït.

Le pronucléus femelle dérive de la vésicule de Purkinje et il en est de même, au moins partiellement, des corps directeurs. La disparition complète de la vésicule est le dernier terme d'une série de modifications qui s'accomplissent durant les trois semaines précédant l'expulsion de l'ovule ovarien.

Au moment où commence le retrait du vitellus, il existe sous la zone pellucide une membrane mince qui s'est formée aux dépens de la couche corticale du jaune et qui est la vraie *membrane vitelline*. Cette membrane, j'ai pu l'isoler, en écartant la zone pellucide, et les préparations que j'ai obtenues ne laissent aucun doute quant à l'existence de cette membrane, qui est tout à fait indépendante de la zone pellucide. J'ai démontré son existence, il y a dix ans, dans des œufs en voie de segmentation. Je pense que cette membrane vitelline se forme tout à la fin de la période de maturation. Il est absolument certain qu'elle apparaît avant la fécondation; mais je n'ai jamais pu l'isoler sur des œufs ovariens, avant que le vitellus ait commencé à se rétracter. Ces trois phénomènes, le retrait du vitellus ou plutôt l'expulsion du liquide périvitellin, la formation de la membrane vitelline et le rejet des corps directeurs paraissent être concomitants, inséparables l'un de l'autre déterminés par une seule et même cause

à la fin de 1875,

suivant l'ordre
de la matu-
veloppement de
à étudier les
la période de
à des résul-
ancé dans ces
histoire com-

mmairement

nes gravides
i, je l'espère,
gements que
âtre d'autre
st Weil qui
t après avoir
e et qu'une
ivrance. A la
cules mûrs,
s. On pourra
xtirpant les
e-bas et en
e l'on trouve

livrance, on
eur complet
apine pleine
er à l'ovaire
r atteindre
fs ovariens

es beaux-arts

et requérir par conséquent une même explication. Le rajeunissement de la cellule présente deux phases : dans la première la cellule se débarrasse à la fois d'une partie déterminée de son noyau (corps directeurs) et de certains éléments protoplasmiques (liquide périvitellin et membrane vitelline); dans la seconde phase les parties expulsées sont remplacées grâce à la conjugaison qui se fait entre la partie femelle de l'œuf et le ou les spermatozoïdes.

L'œuf des mammifères manifeste une polarité évidente comme celui de tous les autres vertébrés. L'un des pôles est marqué par la présence de la vésicule germinative, qui se trouve déjà près de la surface de l'œuf, plusieurs semaines avant la maturité. Il existe entre elle et la zone pellucide une plaque protoplasmique hyaline, différenciée à son centre, nettement délimitée par un contour circulaire, très-semblable à cet organe que Aug. Müller a découvert chez le Pétromyzon il y a quelque vingt ans et qu'il a appelé le *couvercle* (1). Cette plaque joue un rôle dans la formation des corps directeurs; elle constitue la partie médiane de ce que j'ai appelé, dans ma Communication préliminaire, la *lentille cicatriculaire*.

Il se passe au pôle germinatif de l'œuf, non-seulement dans la vésicule germinative, mais aussi dans le protoplasme circum-polaire, une série de modifications qui n'ont pas été observées jusqu'à présent chez les vertébrés et qui ont de l'analogie avec les phénomènes si intéressants que Robin (2) et surtout Whitman (3) ont constatés chez les Hirudinées. J'espère pouvoir terminer bientôt et publier prochainement les résultats de mes recherches sur l'œuf ovarien; mais elles ne sont pas achevées : ce qui me reste encore à poursuivre, ce sont les changements dont la vési-

(1) AUG. MÜLLER, *Ueber die Befruchtungs Erscheinungen im Eie der Neunaugen*.

(2) ROBIN, *Mémoire sur le développement embryogénique des Hirudinées*. Paris 1875.

(3) WHITMAN, *The Embryology of Clepsine*, *Quarterly Journal of micr. science*. 1878.

cule germ
part, les
tiques,
les modi
produire
directeur
sujet m'a
par les pl

J'eusse
fécondati
à cause d
quences
D'autre p
fractionn
tats que
nication
notice l'
décidé à
a émise
« Entw
höhere
sur l'origi
le célèbre

• In B
• meldet
• einer p
• im Tex
• kugeln,
• vorgeht
• ganz be
• chungs
• überzeu
• Schicht
• zur Zei
• der Geg
• dreiblät

cule germinative est le siège. Que le pronucléus femelle d'une part, les globules polaires de l'autre, ont avec elle des liens génétiques, c'est certain. Mais quels sont ces liens? Quelles sont les modifications successives que subit son contenu avant de produire le pronucléus femelle et de donner naissance aux corps directeurs? L'ignorance dans laquelle je me trouve encore à ce sujet m'a empêché de commencer l'exposé de mes recherches par les phénomènes de la maturation.

J'eusse pu faire d'abord la publication de mes études sur la fécondation et la segmentation. Si je ne l'ai pas fait, c'est d'abord à cause de la difficulté de séparer la fécondation et ses conséquences immédiates des phénomènes qui en sont le prélude. D'autre part, les nouvelles observations que j'ai pu faire sur le fractionnement du vitellus confirment en tous points les résultats que j'ai exposés, avec assez de détails, dans ma Communication préliminaire. J'ai préféré faire dans cette première notice l'exposé de la formation des feuilletts. Ce qui m'a décidé à commencer par là, c'est l'appréciation que M. Kölliker a émise sur cette question dans la nouvelle édition de son **« Entwicklungsgeschichte des Menschen und der höheren Thiere. »** Parlant de l'opinion que j'ai exprimée sur l'origine des feuilletts chez le Lapin, voici comment s'énonce le célèbre professeur de Würzburg :

« In Betreff der Bildung der Keimblätter der Säugethiere » meldet E. V. Beneden dass, das Mesoderma eine Abspaltung » einer primitiven inneren Keimschicht sei, welche letztere, wie » im Texte angegeben wurde, aus den inneren Furchungs- » kugeln, die wir (!) die entodermatischen nennen wollen, her- » vorgeht. Diese Behauptung des verdienstvollen Forschers ist » ganz bestimmt irrig. — V. B. hat die entodermatischen Fur- » chungskugeln nicht lange genug verfolgt, sonst hätte er sich » überzeugt dass dieselben aus einer anfangs mehrzelligen » Schicht ganz allmählig in eine einzellige übergehen und dass » zur Zeit der Bildung des Embryonalfleckes die Keimblase in » der Gegend desselben überall doppelblättrig und nirgends » dreiblättrig ist... »

A mes observations sur la formation des feuillets, M. Kölliker oppose une manière de voir bien différente. L'éminent embryologiste pense que chez le Lapin, pas plus que chez le Poulet, le feuillet moyen ne préexiste à la ligne primitive. Le *Primitivstreif* serait le lieu d'origine du mésoblaste et tout ce feuillet serait un dérivé de l'ectoderme.

On ne peut pas exiger de celui qui publie un manuel des recherches originales sur toutes les questions qui sont traitées dans son livre. Les problèmes que soulève la connaissance des premiers phénomènes du développement sont de ceux dont la solution exige de longues, de patientes et de minutieuses recherches. M. Kölliker a fait à la hâte quelques observations pour s'orienter *de visu* dans l'histoire de la formation de la vésicule blastodermique. On doit lui en savoir gré; tous les auteurs qui publient des traités ne se donnent pas autant de peine. Mais il est dangereux, si l'on se borne à faire bien vite quelques recherches superficielles sur un sujet aussi délicat, de révoquer en doute les observations d'autrui sans se donner la peine de les contrôler. Cette manière de faire a mal réussi à l'illustre embryologiste. Avant de nier, il est toujours bon, fût-on la plus haute sommité scientifique et s'appelât-on Kölliker, de vérifier les résultats annoncés en suivant les méthodes indiquées pour les obtenir.

Pour faire l'étude de la formation de la vésicule blastodermique et pour arriver à connaître le mode de formation des feuillets, j'ai sacrifié près de quatre-vingts Lapines. J'ai trouvé en moyenne sept vésicules dans une même femelle. Le nombre des œufs utérins que j'ai utilisés pour les recherches dont je vais rendre compte est donc approximativement de cinq cent quarante. Je ne puis songer à exposer, comme l'ont fait plusieurs de mes devanciers, les observations faites sur chacun des animaux que j'ai sacrifiés et des embryons que j'ai eus sous les yeux. J'ai à choisir entre deux modes pour faire connaître les résultats auxquels je suis arrivé: je pourrais faire un exposé synthétique du développement, tel que j'ai appris à le connaître et tel que je le comprends aujourd'hui. Cette méthode aurait l'avantage d'être

plus c
certes
nient
subjec
d'appr
tique,
soit v
prépar
obteni
cules
moins
criptio
L'étud
l'embr
préala
cas pa
les co
Les
sont s
choisi
Dans
trouve
raient

Let
dimen
Sec
après
ellipso

plus commode, plus brève, et la lecture de cette description serait certes moins pénible. Elle présente malheureusement l'inconvénient d'être plus dogmatique, plus schématique et de laisser au subjectif une part plus large et dont il serait difficile au lecteur d'apprécier l'importance. J'ai préféré suivre la méthode analytique, décrire une série d'embryons, tels que je les ai observés, soit vivants, soit après les avoir soumis à tel ou tel mode de préparation. J'ai cherché dans tout le cours de mes recherches à obtenir des préparations permanentes et j'ai perdu bien des vésicules avant d'avoir trouvé des procédés satisfaisants. J'ai néanmoins fini par réussir, et j'ai choisi de préférence, pour la description des divers stades de l'évolution, des embryons conservés. L'étude que j'ai faite de l'action des réactifs, la comparaison de l'embryon soumis à leur action avec le vivant, dont l'examen préalable n'a jamais été négligé, me permettront, dans chaque cas particulier, d'indiquer les altérations subies par les cellules et les couches cellulaires sous l'influence du traitement.

Les œufs que l'on trouve côte à côte dans une même Lapine, sont souvent de volumes fort différents. En voici deux exemples choisis entre un grand nombre d'autres que je pourrais citer. Dans une Lapine sacrifiée 4 jours 19 heures après le coït, j'ai trouvé six vésicules toutes parfaitement sphériques. Elles mesuraient respectivement :

0.94 mm.		0.63 mm.
0.84 »		0.61 »
0.72 »		0.53 »

Leur diamètre variait donc à peu près du simple au double. La dimension moyenne était de 0.72 mm.

Second exemple. Chez une Lapine sacrifiée 6 jours et 10 heures après la copulation, j'ai trouvé dix vésicules, toutes de forme ellipsoïdale. Les axes de l'ellipsoïde mesuraient :

4 sur 3.3 mm.		3.3 sur 2.8 mm.
4 sur 3.8 »		3.2 sur 3.1 »
4.3 sur 3.3 »		3.5 sur 3.2 »
4.2 sur 3.6 »		3.8 sur 3.5 »
3.7 sur 3.3 »		3.2 sur 2.8 »

Soit une moyenne de 3.7 mm. pour le grand axe, de 3.2 mm. pour le petit axe. En supposant, ce qui est approximativement vrai, que la forme de ces vésicules soit celle d'un ellipsoïde de révolution, on trouve pour cette série de vésicules les volumes que voici.

Pour la 1 ^{re}	172 mm. c.		»	6 ^{me}	96 mm. c.
»	2 ^{me} 228		»	7 ^{me} 120	»
»	3 ^{me} 184		»	8 ^{me} 140	»
»	4 ^{me} 212		»	9 ^{me} 184	»
»	5 ^{me} 160		»	10 ^{me} 96	»

Soit une moyenne de volume de 159 à 160 millimètres cubes.

Il arrive assez fréquemment que dans une Lapine sacrifiée après un laps de temps plus long, le volume moyen des œufs est moins considérable que dans une autre sacrifiée moins longtemps après le coït. Voici quelques chiffres qui établissent ce fait :

Dans une Lapine sacrifiée 7 jours et 4 heures après la copulation, je trouve quatre œufs de forme ellipsoïdale.

1 ^{er} œuf.	Grand axe . . .	4.0 mm.	Petit axe . . .	3.3 mm.
2 ^{me} »	» . . .	3.7 »	» . . .	3.2 »
3 ^{me} »	» . . .	2.8 »	» . . .	2.2 »
4 ^{me} »	» . . .	2.8 »	» . . .	2.3 »

Soit une moyenne de 3.3 mm. pour le grand axe, de 2.83 pour le petit axe.

Une Lapine sacrifiée 6 jours 22 heures après le coït m'a donné six œufs.

1 ^{er} œuf.	Grand axe. . .	4.4 mm.	Petit axe. . .	4.2 mm.
2 ^{me} »	» . . .	4.5 »	» . . .	3.5 »
3 ^{me} »	» . . .	4.5 »	» . . .	3.5 »
4 ^{me} »	» . . .	4.7 »	» . . .	3.8 »
5 ^{me} »	» . . .	4.6 »	» . . .	3.9 »
6 ^{me} »	» . . .	4.8 »	» . . .	4.1 »

Soit une moyenne de 4.2 mm. pour le grand axe, de 3.8 mm. pour le petit axe.

Le plus petit des œufs trouvés dans la Lapine de 6 jours 22 heures est donc plus volumineux que le plus gros de ceux que portait la Lapine de 7 jours 4 heures. Il est donc impossible de conclure à l'âge d'un œuf d'après son volume.

Il n'y a pas non plus de rapport constant entre le volume d'un œuf utérin et l'étendue de la tache embryonnaire. Voici quelques chiffres qui le prouvent. Dans une Lapine sacrifiée 6 jours 6 heures après le coït, j'ai trouvé onze œufs. Les dimensions respectives des œufs et des taches embryonnaires étaient :

POUR LES OEUFS.		POUR LES AIRES EMBRYONNAIRES.	
Grand axe.	Petit axe.	Longueur.	Largeur.
1°) 3.8 mm.	3.5 mm.	1.4 mm.	1.2 mm.
2°) 2.8 »	2.8 »	1.0 »	1.0 »
3°) 5.7 »	5.2 »	1.2 »	1.0 »
4°) 4.2 »	5.5 »	1.5 »	1.1 »
5°) 5.7 »	5.5 »	1.1 »	1.0 »
6°) 4.2 »	3.5 »	1.4 »	1.2 »
7°) 5.5 »	5.5 »	1.5 »	1.0 »
8°) 2.9 »	2.6 »	1.1 »	0.8 »
9°) 2.8 »	2.7 »	1.0 »	0.8 »
10°) 5.6 »	3.2 »	1.5 »	1.0 »
11°) 3.4 »	3.0 »	1.0 »	0.9 »

Les vésicules 1° et 6°, quoique de volumes différents, avaient des taches embryonnaires également étendues; d'autre part, les œufs 4° et 6°, de mêmes volumes, avaient des aires embryonnaires assez différentes, l'une mesurant 1.5 mm. sur 1.1 mm. l'autre 1.4 sur 1.2 mm. Il arrive qu'un œuf moins volumineux présente une tache embryonnaire dans laquelle la ligne primitive est déjà bien manifeste, alors qu'à côté de lui s'en trouve un autre qui, quoique plus gros, montre une aire embryonnaire encore circulaire et dépourvue de toute trace de ligne primitive.

Il n'existe donc pas de rapport constant entre le temps écoulé depuis le moment du coït et le développement d'un œuf utérin.

Aussi ai-je pris le parti de désigner chacun des embryons que je décrirai par un chiffre, suivant en cela ce qu'a fait Balfour dans l'exposé de ses belles recherches sur le développement des Élasmobranches. J'aurai soin de désigner chaque fois l'âge de l'œuf et aussi ses dimensions.

Dans ma Note préliminaire, j'ai assigné aux œufs des caractères différents suivant leur âge : j'ai décrit des vésicules de 105 à 115 heures, des vésicules de 5 jours, etc. Ces déterminations sont approximatives. Quand, en exposant l'embryologie du Poulet, on dit que telle modification a lieu à telle heure ou à tel jour de l'incubation, il faut entendre cela en ce sens, que le fait se passe généralement à une époque voisine du moment indiqué. De même, si l'on prenait la moyenne d'âge d'un assez grand nombre de vésicules blastodermiques du Lapin présentant la constitution et les caractères que j'assigne aux « œufs de 5 jours », cette moyenne ne s'écarterait guère de ce chiffre. J'ai préféré néanmoins, pour être aussi exact que possible, adopter le moyen inauguré par Balfour.

MÉTHODES DE RECHERCHE, D'EXAMEN ET DE PRÉPARATION.

Je n'ai sacrifié que des Lapines couvertes sous les yeux de mon domestique, de façon à connaître exactement l'âge de tous mes embryons. Bischoff a souvent négligé d'indiquer l'âge des œufs qu'il décrit. Cette lacune constitue une véritable difficulté dans la lecture de ses travaux. Généralement, les femelles ont été piquées plusieurs fois à de courts intervalles ; le plus souvent deux, quelquefois trois fois. L'heure du premier coït a été toujours soigneusement notée, et l'âge que j'attribue aux œufs est compté à partir du moment de la première copulation.

Après avoir ouvert l'abdomen suivant la ligne blanche, je fais la ligature des vaisseaux qui se rendent au tube utérin que j'exécise en premier lieu. La cavité abdominale est ensuite rapidement refermée au moyen de quelques points de suture. Si l'opéra-

tion est faite avec quelque soin, l'animal la supporte fort bien. Le développement progresse normalement dans le tube utérin resté en place et l'on peut ne l'extirper que plusieurs heures après l'excision du premier.

Aussitôt enlevé, l'utérus est ouvert à partir de son extrémité vaginale. L'incision est toujours faite suivant le milieu de la face opposée à l'insertion du méso-péritonéal. Les œufs assez volumineux pour pouvoir être facilement découverts à l'œil nu, ce qui est le cas à partir du cinquième jour, sont espacés, d'abord dans la partie supérieure, plus tard dans toute la longueur du tube utérin. Ils sont généralement d'autant plus écartés les uns des autres qu'ils sont plus gros. Ils sont enlevés l'un après l'autre au fur et à mesure qu'ils se présentent.

Dans les premiers temps de leur séjour dans l'utérus, les œufs se tiennent, au contraire, tous dans le voisinage les uns des autres, près de la terminaison de l'oviducte. Ils sont alors fort petits : au moment de pénétrer dans la matrice, l'œuf a encore le même volume qu'au moment de la fécondation, et le diamètre de la zone pellucide au stade metagastrula est sensiblement le même que dans l'œuf ovarien. Aussi faut-il quelque habitude pour trouver les tout jeunes blastocystes ; il est même plus difficile de découvrir les ovules dans la partie supérieure de l'utérus que dans l'oviducte : l'utérus a un diamètre beaucoup plus considérable que l'oviducte et des parois plus épaisses et tout à fait opaques. Enfin les plissements de la muqueuse utérine, en permettant aux ovules de se loger dans les sillons qui séparent entre elles les portions saillantes, les dérobent facilement à la vue. Mais l'on acquiert bien vite l'habitude de découvrir les ovules en se servant de la loupe et même de les voir à l'œil nu. Ce qui facilite la recherche, c'est l'existence autour de l'ovule proprement dit, au moment où il pénètre dans la matrice et durant les premiers temps de son séjour dans cet organe, d'une épaisse couche d'une substance albuminoïde. Celle-ci est formée d'un grand nombre de couches adjacentes, concentriquement déposées autour de la zone pellucide. Le dépôt, qui s'en fait progressivement autour de l'ovule du Lapin, pendant son passage à travers l'ovi-

ducte, atteint son maximum de puissance au moment où l'œuf, transformé en une metagastrula, va passer dans l'utérus. L'épaisseur de cette couche est alors notablement supérieure au diamètre de l'ovule, de sorte que celui-ci se trouve logé au centre d'une petite perle transparente, qui mesure trois à quatre fois le diamètre de l'œuf proprement dit. Ce qui prouve que cet albumen est bien un produit de sécrétion des parois de l'oviducte et qu'il se dépose véritablement par couches successives autour de l'ovule, c'est que l'on trouve assez fréquemment dans l'oviducte des petits globes, formés de la même substance, déposée en couches concentriques autour d'une granulation ayant servi de centre de formation, autour d'une cellule ou de quelques cellules, voire même autour d'un point. A partir du moment où l'œuf pénètre dans l'utérus, la couche albuminoïde diminue d'épaisseur; mais comme en même temps le diamètre de la vésicule blastodermique augmente, suivant une progression plus rapide que celle suivant laquelle décroît la couche albuminoïde, il devient d'autant plus facile de trouver les œufs qu'ils ont pendant plus longtemps séjourné dans l'utérus.

Les petits œufs sont enlevés sur la pointe d'un scalpel et portés directement sur un porte-objet, soit dans l'humeur aqueuse, soit dans un autre liquide; les vésicules plus volumineuses sont saisies sur une palette en argent neuf et placées dans un verre à montre. Les vésicules les plus volumineuses que j'ai pu libérer complètement avaient environ 8 jours d'âge. La zone pellicule plus ou moins complètement confondue avec la couche albumineuse fort réduite est alors extrêmement mince. Aussi devient-il nécessaire d'ouvrir l'utérus dans un liquide, ou bien, après avoir dégagé la vésicule à l'air libre, de la transporter dans un verre à montre en saisissant au moyen de deux pinces le lambeau de la paroi utérine sur laquelle il repose. Plus tard il devient impossible d'isoler les vésicules entières, à raison des adhérences qu'elles contractent avec l'épithélium de la muqueuse. Je dirai dans le travail qui traitera des modifications qui se passent dans l'aire embryonnaire, à partir de l'apparition de la ligne primitive, comment j'ai opéré pour préparer ces embryons.

Beaucoup d'œufs ont été examinés à l'état frais, dans une solution d'albumine, dans l'eau salée ou dans l'humeur aqueuse, à la lumière incidente et à la lumière transmise. Quelques-uns ont été mesurés et dessinés avant d'avoir été soumis à l'action d'aucun réactif.

Les méthodes qui m'ont donné les meilleurs résultats pour la préparation des œufs utérins du quatrième au septième jour sont : 1° le traitement par l'acide osmique et le liquide de Müller; 2° le traitement par le nitrate d'argent.

La première méthode est de toutes celles que j'ai essayées la plus convenable pour la préparation et la conservation des œufs, aux diverses phases de la segmentation, de la metagastrula et des jeunes blastocystes. Elle permet de conserver les premiers stades de la vésicule blastodermique et les diverses phases de la segmentation, sans qu'il se produise d'altération, ni dans la forme des cellules, ni dans leur transparence, ni dans leur aspect, ni dans les positions relatives des globes. Des œufs et de jeunes blastocystes, qui ont été montés il y a cinq ans dans la glycérine, après avoir été préparés par cette méthode, sont aujourd'hui aussi beaux et certainement plus faciles à étudier que quand ils étaient vivants. Le protoplasme prend seulement une légère teinte jaune ou brune, suivant qu'il s'agit de l'ectoderme ou de l'endoderme. La zone pellucide prend une couleur vert clair et les couches albuminoïdes restent à peu près incolores.

L'œuf vivant est porté sur un porte-objet dans une goutte d'acide osmique à 1 %, puis enlevé sur la pointe d'un scalpel et placé dans le liquide de Müller. Après une heure le liquide est renouvelé et la préparation abandonnée pendant deux ou trois jours dans une chambre humide. On ajoute alors une gouttelette de glycérine très-diluée, puis de la glycérine plus pure; enfin l'ovule peut être monté dans la glycérine formique.

J'ai obtenu aussi des résultats satisfaisants en remplaçant le liquide de Müller par le bichromate d'ammoniaque ou l'acide picrique préparé d'après la méthode de Kleinenberg. Mais le liquide de Müller, les chromates, l'acide picrique et l'acide chromique appliqués directement sur les œufs frais les altèrent profondément.

On peut aussi, si l'on veut obtenir des préparations colorées, après avoir traité par l'acide osmique, placer l'œuf dans l'alcool au tiers, l'y laisser pendant 1 heure environ, le laver avec soin et le soumettre à l'action du carmin de Beale ou du picrocarmine.

2° Préparations au nitrate d'argent. — L'œuf vivant est porté directement dans une solution de nitrate d'argent à $\frac{1}{3}\%$. Il y séjourne pendant $\frac{1}{2}$ à 2 minutes, suivant l'âge de la vésicule. Il est ensuite immergé dans de l'eau pure et exposé à la lumière. L'examen du blastocyste resté entier permet de voir alors avec une parfaite netteté les limites des cellules de l'ectoderme. La substance unissante des cellules de ce feuillet jouit à un très-haut degré de la faculté de réduire le nitrate d'argent. On peut, en faisant rouler l'œuf sur le porte-objet, examiner tous les points de la surface du blastocyste. Les préparations au nitrate d'argent des jeunes vésicules ne peuvent être conservées en préparations permanentes. L'excès de la solution saline qui a pénétré dans l'intérieur de l'œuf ne peut en être retiré par le lavage, et les préparations noircissent, quoi qu'on fasse, au point d'être entièrement perdues au bout de peu de jours.

Il en est tout autrement des vésicules de 4 jours et au delà. Celles-ci, après avoir été préparées comme il a été dit plus haut, sont ouvertes au moyen d'aiguilles fines et les enveloppes du blastocyste sont enlevées avec soin. Cette opération réussit très-bien. La vésicule blastodermique, qui pendant la vie est intimement unie à la zone pellucide, dont elle tapisse la face interne s'en détache dès que le blastocyste soumis au préalable à l'action du nitrate d'argent est porté après cela dans l'eau. Dès que la vésicule cellulaire a été libérée, elle est incisée autant que possible, par des fentes pratiquées suivant des lignes méridiennes, à partir de son pôle inférieur. Ces fentes sont convergentes vers le centre du gastrodisque, et l'on peut rabattre la vésicule sphérique sur le plan du porte-objet. L'ensemble de la vésicule a alors la forme d'une étoile dont le centre correspond au milieu du gastrodisque (pl. V, fig. 1). La préparation est ensuite traitée par le picrocarmine, le carmin, l'hématoxyline, l'éosine

ou des so
dans le ba
glycérine
par l'hém
leures qu
longtemp
tion de l'
écouler le
sont suffi
l'excès de
tinue à ag
par le ni
et s'altère
tracte de
quelque t
Quand
saire, si
diviser d'
équateur
incisions
On obtie
le milieu
dermique
J'ai ob
d'or.
Coupe
je n'avai
jeunes ta
de coupe
1° Le
400 et l
ensuite
puis de
elles pe
vésicule
ectoderr

ou des solutions d'aniline, et montée soit dans la glycérine, soit dans le baume. Les préparations au picrocarmin montées dans la glycérine picrocarminatée et celles qui après avoir été colorées par l'hématoxyline ont été montées dans le baume sont les meilleures que j'aie obtenues. Il faut prendre garde de laisser trop longtemps dans l'eau les vésicules soumises au préalable à l'action de l'argent. Si l'on ne prend pas la précaution de faire écouler le liquide du blastocyste, quand les contours des cellules sont suffisamment marqués pour donner de belles préparations, l'excès de la solution saline qui a pénétré dans la vésicule continue à agir. Les corps cellulaires eux-mêmes sont attaqués alors par le nitrate d'argent; les cellules brunissent, puis noircissent et s'altèrent profondément. En même temps, la vésicule se contracte de plus en plus; elle se plisse, devient cassante, et après quelque temps il n'est plus possible de l'étaler.

Quand les œufs ont atteint un certain volume, il est nécessaire, si l'on veut réussir à les étaler sur le porte-objet, de les diviser d'abord, en pratiquant une incision circulaire, suivant leur équateur, en deux calottes hémisphériques. On fait ensuite les incisions méridiennes convergentes vers le pôle des hémisphères. On obtient ainsi deux lamelles étoilées, dont l'une a pour centre le milieu du gastrodisque, l'autre le milieu de la région monodermique de la vésicule.

J'ai obtenu aussi de bonnes préparations au moyen du chlorure d'or.

Coupes. — Lorsque j'ai publié ma communication préliminaire, je n'avais pas encore réussi à faire des coupes convenables des jeunes taches. Depuis cette époque, j'ai obtenu de bonnes séries de coupes au moyen des deux méthodes que je vais décrire.

1° Les vésicules sont traitées par l'acide chromique à 1 pour 400 et laissées dans ce liquide pendant 24 heures. Elles sont ensuite lavées avec soin et placées dans l'alcool faible d'abord, puis de plus en plus fort, enfin dans l'alcool absolu, dans lequel elles peuvent rester indéfiniment. L'acide chromique durcit la vésicule en maintenant une adhésion si parfaite des cellules ectodermiques contre la zone pellucide qu'il devient presque

presque impossible de les séparer. De semblables vésicules se prêtent très-bien à la confection de coupes. Voici comment il faut opérer. La tache embryonnaire est excisée avec la partie avoisinante de la région didermique du blastocyste. Il arrive souvent que le lambeau quadrilatère que l'on a ainsi isolé s'enroule sur lui-même, à cause de l'élasticité de la membrane d'enveloppe; il faut alors beaucoup de patience pour parvenir à l'étaler.

Après que le lambeau a été bien étalé sur le porte-objet, les couches cellulaires de l'embryon étant tournées vers l'observateur, on enlève le liquide et on laisse évaporer l'eau jusqu'à demi-dessiccation. Les bords du lambeau adhèrent déjà légèrement au verre, quand la partie centrale (la tache embryonnaire) restée humide est encore tout à fait libre. On peut alors, au moyen d'un scalpel à bord convexe et bien tranchant, pratiquer, sous le microscope simple, des coupes suffisamment minces de la lamelle. Dès qu'elles sont isolées, les coupes, grâce à l'élasticité de la membrane d'enveloppe s'incurvent, en formant un arc de cercle, et de cette façon elles se placent naturellement dans la position requise pour l'examen. On peut alors colorer, recouvrir d'une lamelle et monter les coupes en préparations permanentes.

2° Mon ancien assistant, Alexandre Föttinger, m'a fait d'autre part un grand nombre de coupes au rasoir à travers des taches embryonnaires de 5 jours, de 6 jours et au delà. La vésicule aussitôt retirée de l'utérus est traitée, soit par l'acide chromique, soit par l'acide osmique, soit, ce qui vaut mieux, par l'acide picrique de *Kleinenberg*. C'est ce dernier mode de préparation qui m'a donné les plus beaux résultats. Les œufs, après avoir été durcis au préalable dans ces acides, sont préparés par l'alcool, puis colorés par le picrocarmin ou l'hématoxyline. La tache embryonnaire est alors excisée et soumise à l'inclusion dans le spermacéti (quatre parties de blanc de Baleine pour une d'huile de ricin). La position de la tache qui a été étudiée, mesurée et dessinée à la chambre claire, est notée avec soin. Les coupes sont faites au moyen du rasoir, plongé au préalable dans un mélange de térébenthine (quatre parties) et de créo-

sote (u
est m
aussit
quaran
millim
rable d
exercé
sommé
de bell

L'em
d'une L
et sacri
étudié v
l'acide o
conserv
tout prè
chure de
quels to
je pus e
endoder
dermiqu
Du cō
bryon av
Dans les
ment cl

sote (une partie), puis montées dans le baume. Chaque coupe est montée seule sur un porte-objet et les préparations sont aussitôt numérotées. M. Föttinger m'a fait à main levée jusque quarante-huit coupes à travers une tache embryonnaire de 0,9 de millimètre. Il a coupé de cette manière un nombre assez considérable d'embryons de 7, de 8 et de 9 jours. Ce n'est qu'après s'être exercé pendant plus de 2 ans et avoir acquis une habileté consommée pour ce genre de préparations, qu'il a réussi à me faire de belles coupes à travers de jeunes taches de 5 et de 6 jours.

STADE I.

METAGASTRULA.

(Pl. IV, fig 1.)

L'embryon que je vais décrire, je l'ai trouvé dans l'utérus d'une Lapine couverte le 18 février 1875, à 4 heures après-midi, et sacrifiée le 21 à midi, soit 70 heures après le coït. Je l'ai étudié vivant dans l'humeur aqueuse, après quoi je l'ai traité par l'acide osmique, placé durant 2 jours dans le liquide de Müller et conservé dans la glycérine. L'utérus du côté droit renfermait, tout près de celui que je vais décrire, à proximité de l'embouchure de l'oviducte, trois autres œufs de même volume, chez lesquels toute trace de blastopore avait disparu. Dans l'un des trois je pus constater une fente étroite entre l'ectoderme et la masse endodermique, c'est-à-dire un commencement de cavité blastodermique.

Du côté gauche j'ai trouvé trois œufs. Dans l'un d'eux l'embryon avait encore un blastopore bien reconnaissable sur le vivant. Dans les deux autres, la vésicule ectodermique semblait entièrement close.

DIMENSIONS :

Diamètre de la metagastrula : 0.09 mm.

Épaisseur moyenne de l'ectoderme : 0.018 mm.

Diamètre de la masse endodermique : 0,052 à 0.06 mm.

Épaisseur de la zone pellucide : 0.015 à 0.016 mm.

L'œuf est parfaitement sphérique. La cavité circonscrite par la zone pellucide n'est pas encore complètement remplie par la metagastrula. Les cellules ectodermiques sont toutes convexes en dehors. En certains points, elles confinent à la zone pellucide; mais le contact ne se faisant que par un point de leur surface, il existe entre la zone d'une part, les cellules ectodermiques de l'autre, des espaces à section triangulaire remplis par un liquide hyalin sur le vivant, finement granuleux après l'action de l'acide osmique et du liquide de Müller. Dans ces espaces, et même entre les convexités externes des cellules d'une part, la zone pellucide de l'autre, se voient encore des spermatozoïdes. Au niveau du blastopore, il y a, entre les cellules et la membrane de l'œuf un espace un peu plus étendu : là aussi se voient des spermatozoïdes. J'ai en vain cherché les corps directeurs, je crois qu'ils n'existent plus à ce moment du développement.

Ayant réussi à amener le blastopore dans la coupe optique de l'œuf, je compte à la coupe quatorze cellules ectodermiques. Leur forme paraît cuboïde; en réalité elle est polyédrique : on peut s'en assurer en soulevant le tube du microscope, de façon à amener au foyer la surface de l'ectoderme. Ces cellules se touchent suivant des surfaces planes, et les lignes qui marquent leurs limites latérales sont difficiles à voir sur le vivant. Tout l'ectoderme apparaît à première vue comme une zone plus claire et finement granulée, dans laquelle on ne pourrait avec certitude découvrir les limites des cellules, n'était leur convexité externe. La masse endodermique constitue un noyau plus foncé et plus granuleux; mais la limite entre les deux couches est très-nette, même sur le vivant. La face profonde de chacune des cellules de l'ectoderme est également convexe; elles laissent entre elles de légers angles rentrants et les cellules de l'endoderme se moulent sur leur face profonde, de façon à remplir ces angles. Les cellules ectodermiques qui circonscrivent le blastopore ont à la coupe une forme triangulaire; elles ont d'ailleurs tous les caractères des autres cellules du même feuillet. En élevant progressivement le foyer, on peut voir le pourtour du blastopore marqué par une ligne régulière.

Les dimensions des cellules ectodermiques paraissent varier légèrement et l'épaisseur du feuillet n'est pas partout la même. J'ai observé plusieurs fois, ce qui était très-manifeste dans l'embryon dont je m'occupe, que la plus grande épaisseur de l'ectoderme se trouve près du blastopore, mais d'un côté seulement. Là se voient les plus grandes cellules, comme si la multiplication des cellules de l'ectoderme progressait plus rapidement d'un côté que de l'autre, ce qui impliquerait une dissymétrie dans l'épibolie.

Les cellules ectodermiques sont plus claires que celles de l'endoderme. Elles sont plus finement granulées. On trouve néanmoins des granulations plus volumineuses autour du noyau qu'à la périphérie. La partie profonde de ces cellules est beaucoup plus claire que le reste de leur corps protoplasmique. Elle est presque complètement dépourvue de granulations. Comme cette particularité se répète pour chacune de ces cellules, il en résulte l'existence d'une zone claire entre l'ectoderme et l'endoderme, zone que l'on est tenté de prendre pour la cavité blastodermique à son début. J'ai eu des doutes sur la nature de la cellule *a* (pl. IV, fig. 1). Je crois cependant qu'elle doit être rattachée à l'endoderme. La face profonde de la cellule *b*, au contact de la cellule *a*, présentait la zone claire que l'on observe dans toutes les cellules ectodermiques, tandis que la cellule *a* était uniformément granuleuse, quoiqu'elle fût moins opaque que les cellules voisines. D'autre part, on voyait à la surface de l'embryon une ligne régulière se porter du sommet de la cellule *c* vers le sommet de *b*. La dimension assez considérable du blastopore de l'embryon, si l'on rattache *a* à l'endoderme, m'a fait douter cependant de la nature endodermique de cette cellule. Il faut se rappeler que, parmi les autres embryons trouvés en même temps, cinq sur six avaient complètement perdu toute trace du blastopore. En outre, j'ai fréquemment trouvé dans l'oviducte des embryons chez lesquels le bouchon endodermique se trouvait réduit à une seule cellule. J'ai cherché à ramener l'embryon dans la position dans laquelle je l'avais étudié frais, après l'avoir traité par l'acide osmique et le liquide de Müller. Les cellules endodermiques prennent sous

l'influence de ce réactif une teinte plus brune qui les rend plus différentes encore des cellules de l'endoderme. Mais je n'ai pu y parvenir.

~ J'ai quelquefois observé dans les cellules ectodermiques de la gastrula des bâtonnets réfringents analogues à ceux que j'ai trouvés fréquemment dans le vitellus des œufs, peu de temps après la fécondation, dans les sphères de segmentation, et tels qu'on les rencontre constamment dans le corps des cellules de l'ectoderme, quand les blastocystes ont atteint un certain volume. Je ne m'arrêterai pas à les décrire ici, d'autant plus que je ne les ai pas remarqués dans l'embryon dont je m'occupe en ce moment.

Les noyaux des cellules ectodermiques sont clairs et à surface mamelonnée; ils renferment un nombre variable de corps nucléoliformes très-réfringents, de formes différentes. Les dimensions des noyaux ne sont pas non plus uniformes.

Je n'ai pas observé dans l'embryon que je décris de noyaux en voie de division. Mais sur d'autres embryons du même âge, j'ai vu des cellules se multiplier au milieu d'autres qui ne montraient aucune particularité indiquant l'imminence d'une division. A ce stade toutes les cellules d'un même feuillet ne se divisent plus en même temps.

Endoderme. — La masse endodermique a une forme à peu près ovoïde. Elle se moule exactement dans la cavité circonscrite par l'ectoderme et la remplit complètement. Elle est plus foncée, plus opaque que le feuillet externe, et il est fort difficile de distinguer sur le vivant les limites des cellules. On y parvient néanmoins par un examen attentif; mais ces limites deviennent beaucoup plus nettes après le traitement par l'acide osmique. Toute la masse prend sous l'influence de ce réactif une teinte brune qui la distingue nettement de l'ectoderme. Elle s'engage dans le blastopore par deux ou trois cellules formant ensemble ce que je considère comme l'homologue de ce que Ecker a désigné, chez la Grenouille, sous le nom de « *Dotterpropf* » ou « bouchon vitellin. »

Les cellules endodermiques sont polyédriques; elles se mou-

lent les u
Celles qu
le sens d
dies. Ell
cellules
breuses a
de la cell
sont asse
fait séjo
une huita
les envel
masse en
convexes
mique qu
adhèrent
isolée aff
goulot es
bouchaien
Quand
endoderm
lules qu
derme ne
sont de gr
sieurs nu
J'ai ob
parations
(pl. IV, fig
coupe op
lapine féca
fiée le 10
trois à ga
tivement l
L'argen
dermiques
délimiter
même for

lent les unes sur les autres suivant des surfaces à peu près planes. Celles qui sont engagées dans le blastopore sont allongées dans le sens de l'axe de l'embryon et terminées par des surfaces arrondies. Elles sont plus volumineuses et plus granuleuses que les cellules ectodermiques, et les granulations, quoique plus nombreuses autour des noyaux, sont répandues dans le protoplasme de la cellule jusque près de leur surface. Les caractères des noyaux sont assez difficiles à définir sur l'embryon entier. Mais si l'on fait séjourner un embryon dans le liquide de Müller pendant une huitaine de jours, on parvient, après avoir rompu et écarté les enveloppes de l'œuf, à isoler au moyen d'aiguilles fines la masse endodermique. L'ectoderme se détache par fragments convexes en dehors, concaves en dedans de la masse endodermique qui, elle, reste entière. Les cellules qui la constituent adhèrent fortement entre elles. La masse endodermique ainsi isolée affecte la forme d'un ovoïde ou celle d'un carafon, dont le goulot est constitué par celles des cellules endodermiques qui bouchaient le blastopore.

Quand on a ainsi isolé plus ou moins parfaitement la masse endodermique, il est plus facile de saisir les caractères des cellules qui la constituent. Les noyaux des cellules de l'endoderme ne me paraissent pas différer de ceux de l'ectoderme. Ce sont de grands noyaux clairs à surface bosselée et pourvus de plusieurs nucléoles brillants et assez volumineux.

J'ai obtenu au moyen du nitrate d'argent de très-jolies préparations de la metagastrula. J'en ai figuré une vue à la surface (pl. IV, fig. 2). La figure 3 de la même planche représente une coupe optique du même embryon recueilli dans l'utérus d'une lapine fécondée le 7 mai 1877, à 10 1/2 heures du matin, et sacrifiée le 10, à 9 1/2 heures. J'ai trouvé six œufs du côté droit, trois à gauche. Ils avaient tous le même volume et approximativement le même degré de développement.

L'argent réduit par la substance unissant des cellules ectodermiques forme des lignes noires, qui se coupent de façon à délimiter des espaces polygonaux. Ces polygones n'ont ni la même forme, ni les mêmes dimensions. En un point de la sur-

face de l'ectoderme, le réseau est interrompu et des lignes noires très-nettes, au nombre de cinq, convergent vers le milieu du lieu d'interruption. Cette région, plus granuleuse, correspond au blastopore; on peut s'en assurer en examinant la figure 3.

A la coupe optique de l'embryon, les limites des cellules ectodermiques sont admirablement marquées par des lignes noires convergentes vers le centre de l'œuf. Au niveau du blastopore, les lignes noires radiées font défaut entre une cellule qui se distingue au milieu de toutes les autres cellules superficielles par son opacité et son apparence granuleuse. Elle a, du reste, tous les caractères de la masse endodermique.

J'ai traité par le nitrate d'argent un assez grand nombre d'œufs recueillis dans l'oviducte vers la fin de la segmentation; j'ai obtenu plusieurs fois la même image, et l'on pourra se convaincre, si même l'on pratique pour l'étude de cette phase du développement cette seule méthode de préparation, qu'il existe dans la surface de l'œuf une région dans les limites de laquelle les contours des cellules se marquent incomplètement, ou même ne se marquent pas du tout par l'argent, alors que des figures polygonales très-nettes apparaissent sur tous les autres points de la surface de l'embryon.

Ce fait trouve son explication dans l'existence du blastopore, et dans cette circonstance que la substance unissante qui unit les cellules ectodermiques aux cellules de l'endoderme, si toutefois cette substance existe, ne jouit pas de la propriété de réduire le nitrate d'argent.

La zone pellucide présente encore à ce moment la même épaisseur, la même constitution et les mêmes caractères que durant la segmentation. Je la décrirai quand je ferai connaître mes recherches sur l'œuf ovarien et sur la segmentation. Quant à la membrane vitelline que j'ai pu isoler au début de la segmentation et plus récemment dans l'œuf ovarien arrivé à maturité, membrane dont je puis affirmer l'existence avant la fécondation et au commencement du fractionnement, je ne sais si elle existe encore à la fin du troisième jour. Je n'ai pas cherché à résoudre cette question.

La zone
extrême
qui paraît
qui marq
toutes éga
les autres
pour les d
faible, ma
minoïde
couches le
s'y accole
consistanc
sidérable
stitue, hy
nuleuse a
de Müller
pirocarm
Quand
je n'enter
couches
à décomp
mais la st
l'idée de
cessives,
séparées.

La zone
renferme
parfaitem
radiairem
toutes les
rectiligne
tillés sur

et des lignes noires
nt vers le milieu du
euse, correspond au
nt la figure 3.

es des cellules ecto-
ar des lignes noires
au du blastopore, les
ule qui se distingue
icielles par son opa-
reste, tous les caract-

grand nombre d'œufs
mentation; j'ai obtenu
rra se convaincre, si
se du développement
xiste dans la surface
elle les contours des
même ne se marquent
res polygonales très-
ints de la surface de

existence du blasto-
stance unissant qui
s de l'endoderme, si
as de la propriété de

ce moment la même
mêmes caractères que
and je ferai connaître
segmentation. Quant
r au début de la seg-
ovarien arrivé à matu-
stence avant la fécon-
ment, je ne sais si elle
Je n'ai pas cherché à

La zone pellucide est entourée d'une couche albuminoïde extrêmement épaisse. Elle présente une striation concentrique qui paraît indiquer l'existence de lamelles adjacentes. Les lignes qui marquent les limites de ces minces lamelles ne sont pas toutes également nettes. Les unes sont très-fortement indiquées, les autres si peu apparentes, qu'il faut la plus grande attention pour les distinguer. L'épaisseur des lamelles est toujours très-faible, mais pas constante. Le contour externe de la couche albuminoïde est extrêmement difficile à saisir. La consistance des couches les plus extérieures paraît être très-molle: des poussières s'y accolent et même s'y empâtent avec la plus grande facilité. La consistance de cette couche albuminoïde est beaucoup plus considérable que celle du blanc d'œuf. La substance qui la constitue, hyaline et homogène pendant la vie, devient finement granuleuse après le traitement par l'acide osmique et le liquide de Müller. Elle se teinte faiblement en rose par le carmin et le picrocarminate. Elle ne prend pas du tout l'hématoxyline.

Quand je dis que ce dépôt albuminoïde est formé de lamelles, je n'entends affirmer par là que la diversité des propriétés des couches successives qui le composent. Je n'ai jamais réussi à décomposer mécaniquement la couche en feuillets distincts; mais la stratification parfaitement manifeste du dépôt entraîne l'idée de couches différentes et par conséquent de lamelles successives, adjacentes entre elles et peut-être incomplètement séparées.

La zone pellucide, aussi bien que la couche albuminoïde, renferme encore un assez grand nombre de spermatozoïdes, parfaitement conservés et dirigés dans tous les sens, les uns radiairement, les autres tangentiellement, d'autres enfin dans toutes les positions intermédiaires. Les uns sont plus ou moins rectilignes, d'autres incurvés, d'autres encore contournés et entortillés sur eux-mêmes.

STADE II.

(Pl. IV, fig. 4.)

Ce stade, très-voisin du précédent, je l'ai trouvé un grand nombre de fois dans l'extrémité supérieure de l'utérus. Il se distingue d'une part de la metagastrula par la fermeture du blastopore, d'autre part du blastocyste à son début, en ce qu'il n'existe encore aucune trace de la fente blastodermique. L'embryon que j'ai figuré provient d'une Lapine fécondée le 3 mars 1876 à 7 $\frac{1}{2}$ heures du matin et sacrifiée le 6 à 8 $\frac{1}{4}$ heures, soit 72 à 73 heures après le coït. J'ai trouvé dans cette Lapine onze œufs. L'un d'eux montrait encore une trace du blastopore; six autres étaient arrivés au stade que je vais décrire; deux renfermaient un blastocyste à son début; deux enfin étaient anormaux : la cavité de l'œuf était incomplètement remplie par une masse granuleuse irrégulière dans laquelle je ne pus déchiffrer aucune structure régulière. C'étaient des œufs avortés. L'embryon figuré a été dessiné d'après une préparation permanente; avant d'être monté dans la glycérine, il a été traité par l'acide osmique, puis par le liquide de Müller.

On remarque tout d'abord que toute la cavité de l'œuf est parfaitement remplie par la masse cellulaire de l'embryon. Il n'y a plus ni espaces entre les cellules de l'ectoderme et la zone pellucide, ni lacunes entre les cellules. Les cellules de l'ectoderme sont à peu près planes suivant leur face externe (1) et la surface de l'embryon, considérée dans son ensemble, représente une sphère sur laquelle s'applique exactement la zone pellucide. A part cette particularité, les cellules ectodermiques pré-

(1) Il serait plus exact de dire que la face externe des cellules de l'ectoderme est une portion de surface sphérique, puisque ces cellules se moulent contre la face interne de la zone pellucide. Mais, comme chaque cellule représente une très-petite portion de la sphère, on peut faire abstraction de cette légère courbure.

sentent tous les caractères que j'ai décrits dans le stade précédent.

Je n'ai plus trouvé, ni chez cet embryon, ni chez un grand nombre d'autres arrivés à ce stade du développement, aucune trace certaine du blastopore. En soumettant les œufs à l'action du nitrate d'argent, on obtient sur toute la surface de l'œuf un réseau de lignes noires circonscrivant des polygones de formes et de dimensions variables, et l'on peut constater, en faisant rouler l'œuf sur le porte-objet, que le réticulum s'étend uniformément et sans interruption aucune sur toute la surface de l'embryon.

La vésicule ectodermique est complètement remplie par la masse cellulaire de l'endoderme, qui présente les mêmes caractères que dans le stade précédemment décrit.

Les limites des cellules ectodermiques sont extrêmement difficiles et même parfois impossibles à reconnaître sur le vivant; on peut en dire autant de celles qui forment l'endoderme. Ceci dépend, je pense, de ce que l'embryon remplit hermétiquement, à ce moment, la cavité de l'œuf; ses cellules sont pressées les unes contre les autres; elles se moulent exactement les unes sur les autres. Sur le vivant, on ne distingue qu'une masse granuleuse, plus foncée au centre, plus claire suivant une zone périphérique; celle-ci est nettement délimitée du côté de sa face profonde par une bande claire et d'apparence homogène, qui marque la surface de contact des deux feuillets.

Mais l'existence des cellules se reconnaît, même sur le vivant, par la présence des noyaux faciles à constater; elle devient très évidente, si l'on traite par l'acide acétique faible ou même simplement par l'eau; elle ne peut être méconnue après que l'on a soumis les embryons à l'action de l'acide osmique et du liquide de Müller; enfin, les résultats obtenus au moyen du nitrate d'argent font disparaître les derniers doutes que l'on aurait pu conserver.

cellules de l'ectoderma
es se moulent contre le
ale représente une très-
te légère courbure.

STADE III.

DÉBUT DE LA CAVITÉ BLASTODERMIQUE.

(Pl. IV, fig 5 et 6.)

L'embryon que je vais décrire a été trouvé en même temps que le précédent. J'ai rencontré ce stade un assez grand nombre de fois. Je l'ai observé 69 heures après la copulation et aussi chez une Lapine fécondée 78 heures avant d'être ouverte. Il est impossible de dire exactement combien de temps après la fécondation apparaissent les premières traces de la cavité blastodermique; mais tout me porte à croire que ce phénomène débute peu de temps après que l'œuf est arrivé dans la matrice.

DIMENSIONS :

Diamètre du blastocyste : 0,12 mm.

Épaisseur moyenne de l'ectoderme : 0.016 mm.

Diamètre moyen de la masse endodermique : 0.065 mm.

La plus grande largeur de la cavité blastodermique : 0.018 mm.

Zone pellucide : 0.015 mm.

L'embryon III (pl. IV, fig. 5 et 6) a été d'abord étudié vivant, sans l'addition d'aucun réactif. Sur le frais, on peut voir très-distinctement qu'une fente existe entre l'ectoderme et la masse endodermique plus foncée et plus granuleuse; 2° que la fente n'est pas concentrique au centre de l'œuf, mais excentriquement placée : la masse endodermique est adhérente d'un côté à la couche cellulaire périphérique; 3° que la fente ne s'étend pas tout autour de l'endoderme, mais qu'elle présente la forme d'un croissant à bords irréguliers, dont les cornes se terminent au point où les deux feuillettes sont accolés l'un à l'autre; 4° que le diamètre de la cavité de l'œuf a augmenté. Il mesurait chez l'embryon III, 0.09 mm. Il s'est donc accru de 0.03 mm. depuis le stade précédent. Le moment où l'œuf commence à augmenter de volume coïncide donc avec l'apparition de la fente blastodermique.

L'embryon III a été traité par l'acide osmique et le liquide de Müller, puis monté dans la glycérine. La figure que j'en donne a été faite à la chambre claire (obj. 8) d'après l'embryon conservé. L'ectoderme est intimement appliqué contre la zone pellucide; la face externe des cellules est plane; çà et là on distingue encore des spermatozoïdes entre ces cellules et la membrane de l'œuf. L'épaisseur de l'ectoderme est un peu moins considérable au point où se trouve accolé l'endoderme que sur le reste de son pourtour. Les cellules sont encore cuboïdes; elles ont la même forme que dans le stade précédent; mais elles proéminent très-inégalement dans la cavité blastodermique: l'étendue de leur face profonde, suivant laquelle elles sont très-convexes, est plus considérable, ce qui revient à dire que les angles rentrants qui existent entre elles sont plus profonds. Leur aspect est resté le même; elles sont granuleuses, sauf dans leur partie profonde, qui est marquée par une ligne très-foncée et qui paraît relativement homogène. Leurs limites latérales sont à peine visibles: elles sont marquées par des lignes très-fines dirigées suivant les rayons de la sphère. Les noyaux présentent encore les mêmes caractères que précédemment; les bosselures superficielles sont cependant moins marquées.

Les dimensions des cellules sont très-inégales; j'en compte une vingtaine à la coupe optique. Les unes sont très-hautes et relativement étroites; les autres, au contraire, développées en largeur. Là où la masse endodermique se trouve accolée à l'ectoderme, les cellules de ce feuillet sont plus plates. La ligne qui limite extérieurement la cavité blastodermique est très-irrégulière, ce qui se voit déjà très-bien sur le vivant. La masse endodermique formée par des cellules, dont les caractères sont en tous points identiques à ceux que présentent ces cellules aux stades précédents, se distingue par sa coloration brune, son apparence très-granuleuse et son opacité. Elle est bosselée à sa surface, ce qui dépend de ce que les cellules périphériques font saillie individuellement dans la cavité blastodermique et sont terminées par des surfaces nettement convexes. A la coupe optique on reconnaît que l'adhérence de l'endoderme à l'ectoderme se fait par trois

cellules. La limite entre les deux feuillets est très-nette. La cavité blastodermique est occupée par un liquide incolore, transparent, hyalin, dépourvu de toute granulation.

J'ai eu sous les yeux deux embryons chez lesquels, quoique la cavité blastodermique fût bien manifeste (chez l'un des deux elle était même plus étendue que chez celui que je viens de décrire), une cellule endodermique nettement caractérisée comme telle se trouvait engagée entre les cellules de l'ectoderme (pl. IV, fig. 7). Dans les deux cas la cellule se trouvait près du bord de la surface d'accolement des deux feuillets. On pourrait interpréter ce fait comme une preuve en faveur de l'ancienne manière de voir de Bischoff et de Remak qui pensaient que les cellules de la masse endodermique, appelée par eux *Dotterrest* ou *Dotterhaufen*, sont destinées à se transformer en cellules plates. Ce reste vitellin n'aurait aucun rapport avec la tache embryonnaire (*Fruchthof*, *Keimscheibe*) qui apparaîtrait plus tard après la disparition du *Dotterrest*. Bischoff, dans son mémoire sur le Lapin, et après lui Remak ont pensé qu'à un moment de son évolution la vésicule blastodermique est formée, sur tous les points de sa surface, par une seule rangée de cellules. Cette opinion est certainement erronée. Il n'existe pas pour la vésicule blastodermique de stade monodermique; le *Dotterrest* ne disparaît pas; c'est à ses dépens que se développent, comme je le montrerai plus loin, l'hypoblaste et le mésoblaste. Les cellules qui le constituent ne sont donc pas dans leur ensemble des globes de segmentation destinés à se transformer en cellules ectodermiques. Mais l'observation que j'ai rapportée plus haut ne pourrait-elle pas être interprétée en ce sens que quelques-unes au moins de ces cellules participeraient à la formation du feuillet externe? Je ne le pense pas. D'abord, dans tous les stades subséquents, l'ectoderme constitué par une seule rangée de cellules est nettement séparé des éléments qui constituent la masse endodermique primitive et qui subissent plus tard les modifications que je ferai connaître.

D'autre part, j'ai montré que dans les stades précédents, la vésicule ectodermique est interrompue en un point et qu'en ce

point que j'ai appelé blastopore, une ou plusieurs cellules de l'endoderme arrivent à la surface de l'œuf, en bouchant le blastopore. Il est donc probable que dans les deux embryons dont il est ici question, la cellule engagée dans l'ectoderme était un reste du bouchon de Ecker; un dernier vestige du blastopore, qui chez ces individus se serait fermé tardivement. Les caractères des cellules, leur forme, leur disposition et leur ressemblance avec ceux que j'ai décrits dans le stade précédent confirment encore cette manière de voir.

La circonstance que dans ces deux cas la cellule endodermique engagée dans l'ectoderme se trouvait non au centre, mais à la périphérie de la surface d'adhésion des deux feuillets, me paraît avoir une certaine importance en ce qu'elle semble indiquer l'excentricité de la position du blastopore.

J'ai traité par le nitrate d'argent plusieurs embryons arrivés au stade III. Ces préparations sont très-instructives; elles montrent avec une grande netteté que l'ectoderme est continu sur toute la surface de l'embryon, et qu'il est partout constitué par les mêmes cellules polyédriques, dont les limites se marquent nettement par l'argent; mais jamais je n'ai vu de lignes noires apparaître ni à la limite entre l'ectoderme et l'endoderme, ni entre les cellules de la masse endodermique.

J'ai observé un grand nombre de stades de transition entre l'embryon III et la phase IV que je vais décrire (fig. 8, 9 et 10). La fente blastodermique s'étend en même temps que le diamètre de la vésicule ectodermique augmente; la masse endodermique occupe une fraction de plus en plus faible de la vésicule sphérique que forme l'ectoderme. Sa forme change; la masse cellulaire endodermique s'aplatit à la face profonde de l'ectoderme et la surface de contact entre les deux feuillets s'étend peu à peu. En même temps que la vésicule se distend, les cellules changent peu à peu de forme; elles deviennent hémisphériques d'abord, puis s'aplatissent de plus en plus. En même temps leur nombre augmente; elles se multiplient par division. On trouve çà et là une cellule en voie de division entre d'autres qui ne manifestent aucune tendance à la multiplication. A ces deux causes, change-

ment de forme et augmentation de nombre, est due l'expansion progressive de la vésicule. Au début la masse endodermique est terminée du côté de la cavité blastodermique par une surface convexe (fig. 8 et 9). Le rayon de courbure de cette surface augmente au fur et à mesure que la vésicule se distend, et que d'autre part la masse endodermique s'étale peu à peu. Bientôt sa face profonde devient plane; plus tard elle deviendra concave (fig. 10). En même temps elle s'amincit; mais cette diminution d'épaisseur intéresse surtout les bords de la masse endodermique, qui n'est bientôt plus formée sur ses bords que par une seule rangée de cellules arrondies, juxtaposées entre elles, alors que vers son milieu elle est encore constituée de plusieurs assises cellulaires (fig. 10).

STADE IV.

94 HEURES.

(Pl. IV, fig. 11.)

L'embryon que je vais décrire a été recueilli dans l'utérus d'une Lapine sacrifiée le 17 avril 1876, 94 heures après le coït. J'ai trouvé trois œufs à peu près également développés dans le tube utérin du côté droit, cinq autres de volumes assez différents du côté gauche. Ces œufs étaient assez espacés; mais tous se trouvaient dans le tiers supérieur de l'utérus. La plus volumineuse des vésicules trouvées dans le tube utérin gauche se trouvait être la plus rapprochée de l'extrémité supérieure de l'utérus, tandis que les deux plus petites étaient plus éloignées de ce point.

J'ai trouvé des œufs de même volume et constitués comme celui que je vais décrire dans une autre Lapine sacrifiée 90 heures après la copulation, et aussi chez une autre qui fut ouverte 99 heures après le coït. Cette dernière renfermait en même temps des œufs beaucoup plus volumineux et malgré cela fort semblables à celui que je vais décrire. Le blastocyste de l'œuf représenté (pl. IV, fig. 11) mesurait 0.28 mm. Le diamètre a donc triplé dans les 24 heures qui se sont écoulées depuis l'entrée

de l'œuf dans l'utérus. La couche albuminoïde a notablement diminué d'épaisseur. On peut en dire autant, quoique à un moindre degré, de la zone pellucide.

L'œuf a l'apparence d'une petite perle sphérique transparente et hyaline. Examinée à la loupe, elle laisse apercevoir en un point de sa surface une petite tache blanche; si l'on examine l'œuf à la lumière incidente, elle tranche sur le fond transparent de la vésicule; à la lumière transmise, elle est opaque. Cette tache n'est autre que le gastrodisque : elle est la région dans les limites de laquelle la masse endodermique étendue, amincie et développée en surface, est accolée à la face interne de l'ectoderme. Le gastrodisque est à ce moment didermique; le reste du blastocyste est monodermique.

Si l'on examine le gastrodisque en se servant de l'objectif 4 de Hartnack, on remarque que la partie centrale de la tache est plus opaque; les cellules y sont accumulées en plus grand nombre qu'à la périphérie. Cette partie centrale différenciée est le premier indice de la tache embryonnaire, que l'on distingue de plus en plus nettement à partir de ce moment, soit vers la fin du quatrième jour. Si l'on amène au foyer la coupe optique du blastocyste ou si, après avoir pratiqué une déchirure dans la paroi, de façon à faire écouler le liquide qu'il renferme, on observe les plis qui se forment, on constate que la membrane du blastocyste est formée par une rangée unique de cellules aplaties fusiformes à la coupe, accolées à la zone pellucide et faisant légèrement saillie dans la cavité blastodermique. Dans les limites du gastrodisque on trouve, à la face interne de cette membrane, des cellules rondes, foncées, granuleuses, réunies en assez grand nombre et accolées les unes aux autres au centre du gastrodisque, au contraire isolées et légèrement écartées les unes des autres à sa périphérie (pl. IV, fig. 11). La tache blanche que l'on observe sur le frais et que l'on peut voir à la loupe est due à la présence de ces cellules.

L'œuf, après avoir été étudié vivant, a été traité par l'acide osmique, puis placé dans le liquide de Müller et enfin monté dans la glycérine.

L'ectoderme est formé par des cellules polygonales, dont les limites sont très-bien marquées sur la préparation conservée; elles étaient, au contraire, très-difficiles à voir sur le vivant. Comme on peut s'en assurer en examinant la coupe optique de la vésicule, ces cellules planes extérieurement et intimement accolées à la zone pellucide sont convexes du côté de leur face interne. A la coupe elles présentent une apparence fusiforme ou naviculaire. Ces cellules sont très-claires, finement granuleuses; elles sont pourvues de gros noyaux aplatis, dans lesquels on distingue plusieurs nucléoles très-réfringents.

Les noyaux présentent dans cette préparation un aspect tout particulier que je retrouve plus ou moins nettement marqué sur toutes les préparations à l'acide osmique soumises à l'action du liquide de Müller. Dans chaque noyau, il existe un corps clair, généralement sphérique, assez volumineux, occupant tantôt le centre du noyau, tantôt excentriquement placé. Ce corps est nettement délimité par une ligne continue et ponctuée. Sur cette ligne, ou immédiatement en dehors, s'observent, disposés en cercle, des corpuscules réfringents, de forme et de dimensions variables. La partie corticale du noyau est plus foncée et paraît finement ponctuée. On y trouve çà et là des corpuscules plus volumineux semblables à ceux qui forment le cercle autour du corps clair. Çà et là on voit aussi un ou quelquefois deux corpuscules réfringents, dans l'espace circulaire qui correspond au corps médullaire du noyau; mais il est difficile de dire avec certitude si ces corpuscules nucléoliformes se trouvent à son intérieur ou à sa surface. Souvent j'ai vu ces corpuscules réfringents se prolonger en filaments réfringents, soit dans la couche corticale, soit dans le corps médullaire. Dans ce dernier cas ils figurent quelquefois une étoile à trois ou à quatre rayons. Dans la couche périphérique du noyau, ces filaments m'ont paru plus souvent radiairement dirigés. Je n'ai jamais observé un reticulum nucléoplasmique continu; s'il existe, il doit être d'une extrême délicatesse.

Les noyaux des cellules ectodermiques ne présentent pas, tant s'en faut, de volume constant. Les plus petits sont sphériques,

plus fo
surface
ment
et que
Je tro
quée da
rations
colorée
par l'ac
mia so
très-ap
breux e
Müller,
à ces é
compliq
gent fo
jours dis
et là da
Je pe
ce que E
et que l
histolog
Çà et
compté
grande p
est cons
portion
trodisqu
points d
claires e
cellulaire
milieu,
vais déci
Les e
suivant l
l'acide o

plus foncés, et le cercle de granulations se trouve près de la surface nucléaire. Il semble que dans le cours du développement du noyau, la couche corticale surtout gagne en épaisseur et que le corps médullaire augmente beaucoup moins de volume.

Je trouve cette même constitution des noyaux clairement indiquée dans les stades ultérieurs du développement sur des préparations au chlorure d'or, sur des préparations à l'acide osmique, colorées par le picrocarmin (pl. VI, fig. 7) et sur d'autres traitées par l'acide picrique de Kleinenberg, et colorées soit par le carmin, soit par l'hématoxyline (pl. VI, fig. 8). Le corps clair est très-apparent; les corpuscules nucléoliformes sont moins nombreux et plus volumineux que sur les préparations, au liquide de Müller, de blastocystes plus jeunes. Ils paraissent être identiques à ces éléments nucléoliformes que j'ai désignés, pour ne pas compliquer les descriptions sous le nom de nucléoles. Ils se chargent fortement de matière colorante et ne se trouvent pas toujours disposés en cercle autour du corps clair, mais se voient çà et là dans toute l'épaisseur de la couche corticale.

Je pense que ces corps médullaires ne sont autre chose que ce que Eimer a décrit depuis longtemps sous le nom de *Hyaloïde*, et que le cercle de granulations correspond au *Körnerkreis* de cet histologiste.

Çà et là on trouve une cellule en voie de division. J'en ai compté une vingtaine dans l'étendue du blastocyste. Sur la plus grande partie de son pourtour, la paroi cellulaire du blastocyste est constituée par une seule rangée de cellules. Elles forment la portion monodermique de la vésicule. Dans les limites du gastrodisque, la zone pellucide est tapissée comme sur tous les autres points de la surface de l'œuf par la même couche de cellules claires et aplaties; mais cette couche est doublée de la masse cellulaire endodermique, étendue en une lame épaisse à son milieu, plus mince suivant ses bords. C'est cette lame que je vais décrire maintenant.

Les cellules de l'endoderme sont arrondies ou polyédriques suivant le point où on les observe; elles se colorent en brun par l'acide osmique; elles sont pourvues de gros noyaux sphériques

à plusieurs nucléoles; leur corps protoplasmique est relativement peu étendu; mais il est granuleux et assez opaque. Au centre du gastrodisque, ces cellules sont serrées les unes contre les autres; elles ne forment pas en ce point une rangée unique, mais un amas assez considérable, dans lequel les plus extérieures affectent, par pression réciproque, une apparence polyédrique, tandis que les plus profondes sont hémisphériques.

A la périphérie de la plaque endodermique, les cellules sont arrondies; elles sont isolées et ne se touchent pas; mais elles sont néanmoins peu écartées les unes des autres.

Des préparations au nitrate d'argent de vésicules de cet âge montrent beaucoup plus clairement encore l'uniformité de la constitution de l'ectoderme sur tout le pourtour de la vésicule blastodermique; on constate avec la dernière évidence l'existence d'une rangée unique de grandes cellules plates sous-jacentes à la zone pellucide, et ces cellules contrastent par leur forme, leurs dimensions, leur transparence et tous leurs caractères avec les cellules de la plaque endodermique.

Les changements qui se sont accomplis depuis le stade III sont donc :

1° L'extension progressive de la cavité blastodermique. Celle-ci se remplit au fur et à mesure d'un liquide clair, transparent, hyalin, tenant en dissolution, une matière albuminoïde qui se coagule par l'alcool en formant un grumeau granuleux;

2° Le changement de forme des cellules ectodermiques et l'augmentation de leur nombre;

3° L'étalement de la masse endodermique en une lame plus épaisse à son milieu, plus mince sur ses bords. L'épaississement médian est formé par un entassement de cellules adhérant fortement entre elles. La partie périphérique est constituée par quelques cellules rondes plus ou moins complètement isolées. Les cellules de l'endoderme sont plus petites que dans les stades précédents; leur nombre est plus considérable; elles se sont multipliées; cependant je n'en ai pas vu qui fussent en voie de division.

L'œuf
sacrifiée

La vé

Le blast

albumin

tocyste

est parf

paroi trè

cependan

mine à l

granuleu

si on exa

l'appareil

Elle occu

Cette tac

centrale

été traité

mement

du gastro

L'œuf,

par le pi

sur un po

dans la g

Un pr

nitrate d'

devient t

monoderm

à sa face

STADE V.

102 HEURES, SOIT 4 JOURS ET 6 HEURES.

(Pl. IV, fig. 12, et pl. V, fig. 1 à 5.)

L'œuf représenté pl. IV, fig. 12, a été retiré d'une Lapine sacrifiée 102 heures après l'accouplement.

La vésicule blastodermique entière a un diamètre de 1.25 mm. Le blastocyste mesure 0.75 mm. La zone pellucide et la couche albuminoïde réunies ont une épaisseur de 0.25 mm. Le blastocyste a donc notablement augmenté de volume. La vésicule est parfaitement sphérique et transparente; le blastocyste a une paroi très-mince et presque parfaitement diaphane; il présente cependant une région dans les limites de laquelle, si on l'examine à la lumière transmise, il paraît moins transparent et plus granuleux. Cette tache opalescente apparaît plus distinctement si on examine la vésicule à la lumière réfléchie; elle affecte alors l'apparence d'un nuage blanchâtre plus foncé à son centre. Elle occupe environ le sixième de la surface totale du blastocyste. Cette tache n'est autre que le gastrodisque étendu, et sa portion centrale plus foncée est la tache embryonnaire. Cette vésicule a été traitée par le nitrate d'argent; sans ce réactif, il serait extrêmement difficile de se rendre un compte exact de la constitution du gastrodisque à ce stade de son développement.

L'œuf, après avoir été traité par le nitrate d'argent, a été coloré par le picrocarminate. La vésicule a été incisée et développée sur un porte-objet comme il a été dit plus haut, puis montée dans la glycérine picrocarminatée.

Un premier fait à noter, c'est qu'après le traitement par le nitrate d'argent, surtout si l'action a été un peu prolongée, il devient très-facile de distinguer le gastrodisque de la partie monodermique du blastocyste. Partout où l'ectoderme est tapissé à sa face profonde par une seconde couche cellulaire, les cel-

lules ectodermiques, aussi bien que la substance qui les unit, réduisent beaucoup moins énergiquement le sel d'argent que là où la paroi du blastocyste est exclusivement constituée par l'ectoderme. Tandis que toute la partie monodermique du blastocyste prend une couleur brune, due à ce que les corps des cellules ectodermiques se colorent et que leurs limites se marquent par de fortes lignes noires, le gastrodisque reste clair et à peu près incolore; les cellules ectodermiques ne réduisent pas le nitrate d'argent et leurs limites se marquent par des lignes brunes beaucoup plus pâles (pl. V, fig. 1). Cette observation s'applique également aux stades subséquents, de sorte que le traitement par le sel d'argent constitue une excellente méthode pour faire apparaître le gastrodisque. Après que l'on a rabattu la vésicule dans un plan en l'incisant à partir du pôle inférieur, on reconnaît sans peine que le contour du gastrodisque n'est pas marqué par une ligne régulière, mais, au contraire, par un contour sinueux.

Les cellules de l'ectoderme affectent des formes polygonales très-variées et leurs dimensions sont aussi fort différentes. Leurs contours sont marqués par des lignes noires, tantôt droites, tantôt incurvées, d'autres fois par des lignes brisées ou ondulées. Dans chacun des champs polygonaux l'on trouve un beau noyau de forme généralement ovalaire, dont la dimension varie d'une cellule à l'autre. Ce noyau est coloré en rose; il renferme plusieurs nucléoles très-brillants qui se chargent fortement de matières colorantes; il y en a généralement de six à dix: j'en ai compté jusqu'à dix-huit et même vingt dans un même noyau. La forme des nucléoles est irrégulière; ces éléments paraissent disséminés sans ordre dans le corps du noyau; celui-ci est délimité par un contour très-net, mais pâle. Je ne pense pas qu'il existe une membrane nucléaire. Le corps de la cellule ne se teinte pas du tout par le carmin.

Dans la région monodermique, le corps des cellules prend, sous l'influence du nitrate d'argent, si l'action du réactif a été suffisamment prolongée, un aspect tout particulier. Toute la partie périphérique se colore en brun, de façon à former une zone colorée

autour de
incolore e
distingue
formé par
une zone
dernière es
à la présen
agi trop lo
tout le co
alors on d
phérique e

Comme
les limites
elles ne se c
de décrire.

Chaque
nant la cou
sur ses bor
sement mé
la cavité l
tout à fait
la cellule e
alors que la
parente. Co
forme, elle
par leurs l
par les part
autant de n
fondes.

Les cellu
gastrodisku
dans la régi

Endoderm
une partie c
périphériqu
la zone péri

autour de la partie centrale de la cellule, qui reste parfaitement incolore et transparente (pl. V, fig. 2). Dans chaque cellule, on distingue alors trois zones concentriques, un disque central rose formé par le noyau, une zone intermédiaire incolore et granulée, une zone périphérique brune et pour ainsi dire marbrée. Cette dernière est nettement délimitée par une grosse ligne noire, due à la présence de la substance unissante. Si la solution d'argent a agi trop longtemps, ou si l'on a employé une solution trop forte, tout le corps protoplasmique finit par se colorer. Mais même alors on distingue encore bien à chaque cellule une zone périphérique et une zone centrale.

Comme je l'ai dit plus haut, les cellules ectodermiques dans les limites du gastrodisque ne réduisent pas le nitrate d'argent; elles ne se colorent pas et ne présentent jamais l'aspect que je viens de décrire.

Chaque cellule de l'ectoderme, on peut s'en assurer en examinant la coupe optique, a la forme d'une petite plaque plus mince sur ses bords, assez fortement épaissie à son milieu. L'épaississement médian renferme le noyau de la cellule; il proémine dans la cavité blastodermique : la face externe de ces cellules est tout à fait plane. C'est la zone périphérique fortement amincie de la cellule ectodermique qui se colore par le nitrate d'argent, alors que la partie centrale plus épaisse reste incolore et transparente. Comme toutes les cellules de l'ectoderme ont la même forme, elles circonscrivent à leur face profonde, en se touchant par leurs bords, de petites gouttières délimitées latéralement par les parties saillantes des corps cellulaires. Celles-ci forment autant de monticules séparés entre eux par des vallées peu profondes.

Les cellules ectodermiques présentent dans les limites du gastrodisque la même forme et la même dimension moyenne que dans la région monodermique.

Endoderme. — Nous devons distinguer dans le gastrodisque une partie centrale, formant la tache embryonnaire, et une zone périphérique. La tache embryonnaire a un diamètre de 0.23 mm.; la zone périphérique une largeur moyenne de 0.12 mm. L'endo-

derme forme au milieu du gastrodisque une couche cellulaire continue. Cette couche est constituée par deux assises de petites cellules arrondies ou polyédriques, serrées les unes contre les autres (pl. V, fig. 3). Leurs contours ne se marquent pas par le nitrate d'argent; chaque cellule est pourvue d'un gros noyau sphérique, qui se colore en rouge vif par le picrocarminate; il renferme plusieurs nucléoles brillants. Le corps protoplasmique de la cellule, quelquefois réduit à une mince couche déposée autour du noyau, prend dans le picrocarmin une teinte brune. Dans la partie périphérique du gastrodisque, l'endoderme est formé par les mêmes cellules rondes à gros noyaux; mais ces cellules, au lieu de former une couche continue, se trouvent disséminées isolément à la face interne de l'ectoderme (pl. V, fig. 4 et 5). Quelques-unes ont des formes un peu irrégulières, mais je n'en ai pas vu qui fussent munies de prolongements. Ces cellules se trouvent toujours exclusivement dans les gouttières formées par les cellules ectodermiques. Ce qui prouve qu'il en est bien ainsi, c'est qu'elles sont invariablement coupées par les lignes noires qui marquent les limites des cellules ectodermiques (pl. V, fig. 4 et 5).

Si nous comparons cette vésicule à celle que nous avons décrite précédemment (stade IV), nous ne constatons entre elles que des différences peu importantes.

La portion centrale du gastrodisque (tache embryonnaire), caractérisée par la présence d'une couche endodermique continue et composée de plus d'une assise cellulaire, s'est étendue en surface; dans la partie périphérique du gastrodisque, les cellules endodermiques se sont écartées les unes des autres; elles forment maintenant une couche discontinue; le blastocyste tout entier a notablement augmenté de volume et les cellules ectodermiques ont changé de forme.

L'écartement des cellules endodermiques à la périphérie du gastrodisque peut être attribué à deux causes: il peut être le résultat de l'extension en surface de l'ectoderme, extension qui ne résulte pas seulement du changement de forme des cellules, mais aussi de l'accroissement de leur nombre. Si les cellules

endodermiques sont moins intimement unies entre elles qu'elles n'adhèrent à l'ectoderme, elles seront sollicitées par l'extension superficielle du feuillet externe à s'écarter les unes des autres. Mais il est possible aussi que cette dissémination soit le résultat de l'activité des cellules endodermiques elles-mêmes. Quoique je n'aie pas pu constater directement qu'elles changent de forme et de place, tout me porte à croire que ces cellules sont capables de mouvements amœboïdes. S'il en est ainsi, il est facile d'expliquer l'extension du gastrodisque et l'écartement des cellules endodermiques à sa périphérie : les cellules marginales de la masse endodermique primitive s'isolent les unes après les autres; elles s'éloignent du centre du gastrodisque et suivent une direction centrifuge; elles se meuvent en longeant les vallées que laissent entre eux les monticules ectodermiques. Peut-être les deux causes interviennent-elles simultanément et l'extension progressive du feuillet interne est-elle le résultat de leur action combinée.

STADE VI.

124 HEURES, SOIT 5 JOURS ET 4 HEURES.

Le mardi 2 novembre 1878, à 11 1/2 heures, j'ai sacrifié une Lapine fécondée le 28 octobre à 7 1/2 heures. Dans le tube utérin droit, j'ai trouvé cinq vésicules; dans celui du côté gauche, s'en trouvaient quatre. Toutes ces vésicules avaient à peu près le même volume; elles avaient l'apparence de petites perles transparentes comme du cristal. Toutes se trouvaient dans la moitié supérieure de l'utérus; à gauche elles étaient très-rapprochées les unes des autres près de l'embouchure de l'oviducte. A droite elles étaient espacées entre la terminaison de l'oviducte et le milieu de l'utérus. Je vais décrire une de ces vésicules qui mesurait 1.35 mm. de diamètre. Les membranes d'enveloppe de la vésicule blastodermique avaient une épaisseur de 0.12 mm. Le blastocyste avait donc un diamètre de 1.41 mm. environ.

Le gastrodisque est difficile à voir sur le frais ; il est beaucoup plus étendu que dans le stade précédent. A son centre se montre une tache embryonnaire assez irrégulière, mais facilement reconnaissable ; tandis que la portion périphérique qui forme comme un anneau très-peu apparent autour de la tache se distingue à peine de la région monodermique du blastocyste.

Dès que l'on a traité par le nitrate d'argent, les diverses parties constitutives du blastocyste apparaissent avec une grande netteté. Les cellules de la région monodermique réduisent le nitrate d'argent et *se colorent en brun*, tandis que dans les limites du gastrodisque les cellules ectodermiques n'exercent aucune action sur le sel d'argent ; elles restent incolores et leurs limites seules se marquent par des lignes brunes ou noires toujours bien nettes. Dans la région marginale du gastrodisque, il se montre cependant çà et là des îlots colorés, irréguliers et d'étendue variable, qui ont la même apparence que la portion monodermique du blastocyste. Quelques-uns de ces îlots sont entourés de toutes parts par des cellules, dont les corps protoplasmiques ne réduisent pas le nitrate d'argent et qui par conséquent restent incolores. D'autres ne sont que des presqu'îles, en continuité par un point de leur périphérie avec la région colorée du blastocyste. De là, une apparence toute particulière du bord du gastrodisque, dont l'ensemble se détache en clair sur le fond coloré de la vésicule blastodermique.

Le gastrodisque est très-irrégulier et sa zone périphérique paraît discontinue. Cette même apparence se reproduit sur des vésicules plus âgées : à la limite du gastrodisque se voit toujours une région tachetée ; les îlots monodermiques colorés en brun forment autant de taches plus fortement teintées sur le fond peu coloré de la région didermique. La limite du gastrodisque devient de plus en plus régulière.

Examinons maintenant les caractères que présentent les diverses régions du blastocyste quand, après avoir été traitée par le nitrate d'argent, la vésicule a été soumise à l'action du picrocarmin et développée sur un porte-objet (pl. V, fig. 7).

Tache embryonnaire. La tache embryonnaire plus claire et

frais ; il est beaucoup
son centre se montre
re, mais facilement
riphérique qui forme
ur de la tache se dis-
du blastocyste.

nt, les diverses parties
ec une grande netteté.
réduisent le nitrate
e dans les limites du
percent aucune action
et leurs limites seules
toujours bien nettes.
, il se montre cepen-
t d'étendue variable,
n monodermique du
t entourés de toutes
plasmiques ne rédui-
équent restent inco-
s, en continuité par
n colorée du blasto-
e du bord du gastro-
r sur le fond coloré

a zone périphérique
se reproduit sur des
odisque se voit tou-
ermiques colorés en
ment teintées sur le
La limite du gastro-

que présentent les
rès avoir été traitée
umise à l'action du
t (pl. V, fig. 7).
aire plus claire et

moins fortement colorée par le picocarmin que celle que nous avons précédemment décrite, laisse apercevoir, si on l'examine par transparence à de forts grossissements (obj. 8 de Hartnack), deux systèmes de lignes noires s'entre-croisant entre elles de façon à délimiter des espaces polygonaux de forme et de dimensions variables. Ces réseaux se trouvent dans deux plans différents, peu écartés l'un de l'autre. On peut les apercevoir simultanément ; mais on n'en voit bien distinctement qu'un seul à la fois, et il faut soulever ou descendre le tube pour voir distinctement l'autre. L'image que l'on obtient rappelle celle que présente un mésentère ou un feuillet d'épiploon, traité par l'argent et coloré par le carmin.

Si l'on y regarde avec attention, l'on voit que vers le centre de chaque espace polygonal se trouve un noyau coloré ; ces noyaux ont des caractères différents suivant qu'il s'agit des polygones du plan supérieur ou de ceux du plan inférieur ; les noyaux de la couche supérieure sont beaucoup plus pâles, plus grands et généralement ovalaires ; ils sont teintés en rose : ceux de la couche inférieure sont moins clairs, ils se colorent en rouge plus vif, ils sont plus petits que ceux de la couche supérieure, enfin ils sont à peu près sphériques (pl. V, fig. 8). Il est clair que nous avons affaire ici à deux couches de cellules plates, qui existent dans toute l'étendue de la tache embryonnaire.

Mais tous les noyaux colorés ne peuvent pas se rattacher aux cellules de ces deux couches. Il existe entre les deux epithelium pavimenteux simples une troisième couche de cellules, dont on aperçoit tout d'abord les noyaux. Chacun de ces noyaux est entouré d'une couche de protoplasme peu étendue. Ce protoplasme est assez granuleux et se colore légèrement en brun par le picocarminate. Ces cellules à noyaux proportionnellement très-volumineux sont serrées les unes contre les autres et forment une couche continue (pl. V, fig. 8). Les limites de ces cellules ne se marquent pas du tout par le nitrate d'argent. Il est facile de voir que cette couche de petites cellules est intermédiaire entre les deux couches de cellules plates et qu'il existe, par conséquent, dans la tache embryonnaire, trois plans de

cellules. L'externe, formé de cellules plates, est l'ectoderme du stade précédent. Le moyen constitué par des cellules plus petites, polyédriques et granuleuses est le mésoblaste; l'interne, formé lui aussi d'une rangée unique de cellules plates, est l'hypoblaste.

Région didermique. — La région didermique ne présente pas les mêmes caractères dans le voisinage de la tache embryonnaire et près du bord du gastrodisque.

1° Près de la tache embryonnaire, on distingue les deux mêmes réseaux de lignes noires que l'on observe dans la tache (pl. V, fig. 7 et 8). Là aussi il existe deux espèces de noyaux; les uns plus grands et plus faiblement colorés occupent les milieux des polygones du plan supérieur, les autres plus petits et plus fortement colorés se rapportent aux cellules plates du plan inférieur. Bref, il existe là aussi deux couches de cellules plates et l'on voit ces feuillettes se continuer, l'externe avec l'épiblaste de la tache, l'interne avec l'hypoblaste. La partie de la région didermique qui avoisine la tache ne diffère donc de cette dernière que par l'absence du mésoblaste.

2° Près du bord externe du gastrodisque, l'on ne distingue pas aussi facilement les contours des cellules de l'hypoblaste (pl. V, fig. 9). Le nitrate d'argent ne les fait pas apparaître; mais la présence de ces cellules est rendue manifeste par la facilité avec laquelle on distingue leurs noyaux fortement colorés et en tous points semblables à ceux de l'hypoblaste des régions précédemment décrites.

Région monodermique. — Toute la portion monodermique de la vésicule est constituée par l'épiblaste seul. Les cellules ont la même forme et les mêmes dimensions que dans les limites du gastrodisque. Elles présentent seulement de particulier leur coloration brune due à l'action du nitrate d'argent. Les îlots et les presque îles colorés du bord du gastrodisque sont également monodermiques.

Si nous comparons ce stade au précédent, nous constatons deux différences importantes :

1° Dans le stade V, il n'existait dans les limites du gastro-

disque que
embryonna

2° Dans
cellules ar
étaient isol
maient au c
naire. Dans
qu'une seu
polyédrique
fondeur, la
même de la
sont déterm
profondes d
en surface,
lées, et ont
mant l'hyp
tout en se r
blaste d'un
ment le mé

L'hypobl
ciation de
secondaires
désigner l'e

A la pé
des cellules
des stades
sition entre
J'ai obte
à celui que
volumineux

disque que deux feuillets cellulaires; dans le stade VI, la tache embryonnaire en présente trois.

2° Dans le stade V, les cellules endodermiques étaient des cellules arrondies ou polyédriques, toutes granuleuses; elles étaient isolées dans la région marginale du gastrodisque; elles formaient au contraire deux assises cellulaires dans la tache embryonnaire. Dans le stade VI, la tache embryonnaire ne montre plus qu'une seule rangée de petites cellules granuleuses arrondies ou polyédriques et caractérisées par leurs gros noyaux. Dans la profondeur, la tache est formée de cellules plates, et il en est de même de la portion didermique du gastrodisque. Ces différences sont déterminées par la transformation qu'ont subie les cellules profondes de l'endoderme: ces cellules se sont aplaties, étendues en surface, réunies par leurs bords là où elles se trouvaient isolées, et ont donné naissance à une couche de cellules plates formant l'hypoblaste. Dans la tache, les cellules endodermiques, tout en se multipliant, ont conservé leurs caractères entre l'hypoblaste d'une part, l'épiblaste de l'autre. Elles forment actuellement le mésoblaste.

L'hypoblaste et le mésoblaste résultent donc d'une différenciation de la plaque endodermique primitive en deux feuillets secondaires. J'ai employé dès à présent le nom d'épiblaste pour désigner l'ectoderme, afin de conserver la similitude des termes.

Stade V.

Stade VI.

Ectoderme = *Épiblaste*.

Endoderme = { *Mésoblaste*.
+ *Hypoblaste*.

A la périphérie du gastrodisque on trouve encore çà et là des cellules endodermiques isolées, à peu près semblables à celles des stades précédents, et en outre une série de formes de transition entre ces cellules et celles de l'hypoblaste (pl. V, fig. 9.)

J'ai obtenu de bonnes coupes de deux embryons semblables à celui que je viens de décrire, quoiqu'ils fussent un peu plus volumineux. L'un d'eux a été durci par l'acide chromique et

l'alcool, puis coupé sur le porte-objet d'après la méthode indiquée plus haut; l'autre avait été traité par l'acide picrique de Kleinenberg et enchâssé dans le mélange de blanc de Baleine et d'huile de ricin. J'ai représenté deux de ces coupes pl. VI, fig. 1 et 2.

L'épiblaste est une mince lamelle claire et très-peu granuleuse. Elle présente de distance en distance des épaissements dans lesquels on observe des noyaux colorés en violet pâle par l'hématoxyline. L'hypoblaste, lui aussi, est constitué par une rangée unique de cellules plates, fusiformes à la coupe. Chaque cellule est une petite lamelle renflée à son milieu, et le noyau sphérique paraît occuper parfois toute l'épaisseur de la cellule. Les noyaux de l'hypoblaste sont plus petits, foncés, et se colorent fortement en bleu par l'hématoxyline. Les corps cellulaires eux-mêmes ont des contours plus foncés et paraissent constitués par une substance plus réfringente. Entre les deux couches de cellules plates, dans toute l'étendue de la tache il existe une rangée unique de cellules granuleuses à formes variables, plus larges que hautes. Elles aussi ont des noyaux sphériques ou ovalaires, assez brillants, et semblables à ceux des cellules plates de l'hypoblaste.

J'ai obtenu aussi de bonnes coupes de la région didermique de la vésicule (pl. VI, fig. 1). A l'extérieur se voit la zone pellucide qui se colore fortement en violet par l'hématoxyline. Cette membrane est tapissée par une double couche cellulaire. Les cellules de la plus externe de ces couches présentent tous les caractères de l'épiblaste, celles de la couche interne sont identiques aux cellules hypoblastiques de la tache embryonnaire.

Rauber, professeur à Leipzig, est le seul auteur qui ait fait jusqu'ici des coupes à travers des embryons aussi jeunes. Il a étudié par ce procédé un blastocyste de Lapin de $1 \frac{1}{4}$ millimètre de diamètre (1).

(1) *Die erste Entwicklung des Kaninchens Sitzungsber. der Naturf. Gesellschaft zu Leipzig*, n° 10, 1875.

Rauber a trouvé la tache embryonnaire constituée par trois couches cellulaires : l'externe, formée de cellules plates, se continuait en dehors de la tache avec la couche superficielle de la vésicule; l'interne, constituée par des cellules de même forme, se continuait avec la couche profonde de la vésicule; la moyenne existait seulement dans la tache embryonnaire; elle était composée de grandes cellules cuboïdes.

Les résultats de Rauber concordent pleinement avec ceux que je viens de faire connaître. Je n'insiste pas sur des différences de détail qui peuvent être mises sur le compte des méthodes employées pour durcir et enchâsser l'embryon. Je trouve que les cellules des deux feuillets externes ont à la coupe des caractères fort différents de ceux que Rauber leur assigne.

Mais si cet observateur a trouvé dans l'embryon qu'il a décrit les trois feuillets que j'ai désignés sous les noms d'épiblaste, de mésoblaste et d'hypoblaste, sa manière de voir sur l'homologie et la valeur de ces couches est toute différente de la mienne. Rauber semble vouloir ressusciter les anciennes idées de Reichert. Pour lui la couche superficielle est destinée à disparaître; il l'appelle « *Deckschicht* »; Reichert aurait dit « *Umhüllungshaut*. » La couche moyenne serait l'ectoderme futur; la couche profonde est pour lui l'endoderme.

A l'étude d'une vésicule mesurant $1 \frac{1}{4}$ millimètre de diamètre et constituée comme celle que j'ai décrite sous la dénomination de stade VI, se réduisent les recherches de M. Rauber. L'insuffisance de ses observations est la cause de l'erreur dans laquelle il est tombé, quand il a considéré le feuillet externe de la tache embryonnaire comme étant destiné à disparaître. Il ne connaît aucunement les stades antérieurs et ses études sur les stades subséquents sont aussi fort incomplètes. L'opinion qu'il exprime quant à la destinée du feuillet externe n'est pas du reste le résultat de l'observation directe; elle est une conclusion fondée, d'une part, sur une connaissance inexacte des taches embryonnaires plus âgées, auxquelles il attribue à tort une constitution didermique, d'autre part, sur la ressemblance qui s'établit entre

les cellules du mésoblaste primitif et les cellules épiblastiques, après que celles-ci sont devenues prismatiques, de pavimenteuses qu'elles étaient d'abord.

STADE VII.

5 JOURS ET 20 HEURES.

Dans une Lapine couverte le mardi 7 novembre 1877 à midi et sacrifiée le 13 novembre à 8 heures du matin, j'ai trouvé dans l'utérus droit cinq vésicules. Elles avaient à peu près les mêmes dimensions et leur forme était approximativement celle d'une sphère. Cette Lapine avait un vice de conformation des organes sexuels. L'oviducte et la matrice du côté gauche faisaient complètement défaut; le tube utérin unique s'ouvrait directement dans le vagin et je n'ai trouvé à son extrémité vaginale ni diverticule, ni orifice, à la place où aurait dû s'insérer l'utérus gauche. Mais sous l'ovaire gauche se trouvaient quelques franges recouvertes d'un épithélium cylindrique vibratil simulant une trompe mal conformée, et se prolongeant en une traînée épithéliale étroite sur une longueur de 3 à 4 centimètres. Cette monstruosité fort intéressante trouve son explication dans le mode de formation du canal de Müller par invagination de l'épithélium pleuro-péritonéal primitif. Cet épithélium s'était conservé ici, quoique le canal de Müller ne se fût pas fermé.

Je vais décrire l'une des vésicules trouvées dans le tube utérin droit. La vésicule mesurait 1.7 mm. La tache embryonnaire et la zone didermique plus étendues que dans le stade précédent, étaient difficiles à voir sur le vivant; après le traitement par le nitrate d'argent et la coloration par le picrocarmin, les diverses parties du blastocyste se montraient avec une parfaite netteté. La tache embryonnaire à peu près circulaire, beaucoup plus nettement délimitée que dans le stade VI, mesurait en diamètre 0.7 mm. (pl. VI, fig. 3).

La région didermique s'est étendue notablement; l'ensemble du gastrodisque constitue près de la moitié du blastocyste. On

peut diviser celui-ci par une incision équatoriale en deux calottes hémisphériques, l'une constituée par le gastrodisque et montrant près de son centre la tache embryonnaire, l'autre constituée par la région monodermique. Celle-ci se colore en brun par le nitrate d'argent, alors que dans les limites du gastrodisque, seuls les contours des cellules se marquent par des lignes brunes ou noires, les cellules restant incolores et transparentes. A la limite du gastrodisque s'observe une zone tachetée; des îlots colorés à la façon de la région monodermique s'y détachent sur le fond clair et incolore du gastrodisque.

A part les différences dans le développement relatif des diverses parties du blastocyste, l'embryon du stade VII est entièrement constitué comme celui du stade précédent. La tache embryonnaire présente cependant quelques particularités que je dois signaler.

Si l'on examine par transparence les diverses régions de cette vésicule après coloration par le picrocarmin, on distingue immédiatement que dans la région monodermique il n'existe qu'une seule rangée de cellules; chaque noyau faiblement coloré occupe le milieu d'un polygone coloré et circonscrit par une ligne noire. Dans la région didermique, indépendamment des mêmes noyaux occupant chacun le milieu d'une figure polygonale semblable à celles que forment les cellules de la région monodermique, on trouve une seconde espèce de noyaux : ceux-ci sont plus petits, sphériques, fortement colorés en rouge vif. Ils sont plus profondément situés. Ils sont disséminés à des distances égales les uns des autres, sans affecter de rapports constants avec les cellules du feuillet externe. Les limites des cellules profondes ne sont pas marquées, sauf en quelques points dans le voisinage de la tache embryonnaire. Les corps des cellules profondes sont même difficiles à voir à travers l'épiblaste.

Sur le pourtour de la tache embryonnaire, on voit l'épiblaste de la région didermique se continuer avec l'épiblaste de la tache et l'hypoblaste de la tache se continuer sans interruption avec celui de la région didermique.

La tache embryonnaire se distingue immédiatement par la

coloration rouge qu'elle prend dans le picrocarmin. Cette coloration est due à la présence dans les limites de la tache d'un grand nombre de noyaux de cellules, et partant à l'existence d'un grand nombre de cellules (1). En baissant et en soulevant alternativement le tube du microscope, on remarque l'existence de deux réseaux de lignes noires, l'un superficiel beaucoup plus apparent, à mailles plus petites et à contours plus rectilignes; l'autre profond, moins marqué, à mailles plus larges et à contours plus irréguliers et plus sinueux. Le premier est le réticulum de l'épiblaste; le second celui de l'hypoblaste.

Entre les deux, existe une couche de petites cellules polygonaux, dont le corps est très-granuleux et dont les gros noyaux se colorent assez fortement par le carmin. Elles sont légèrement écartées les unes des autres et leurs contours sont très-faiblement indiqués. C'est là le mésoblaste, qui présente à peu près la même constitution qu'au stade précédent.

Mais l'épiblaste présente des particularités très-remarquables. On trouve çà et là, entre de grandes cellules plates semblables à celles qui constituent tout le reste de la vésicule blastodermique, des groupes de quelques cellules beaucoup plus petites, plus riches en protoplasme, pourvues de jeunes noyaux et présentant une certaine épaisseur. Il existe, en outre, des formes de transition entre ces petites cellules granuleuses et les grandes cellules plates et claires; beaucoup de cellules de l'épiblaste ont des noyaux en voie de division. Si l'on compare l'épiblaste du stade VII à celui du stade VI et des stades précédents d'une part, à celui du stade VIII et des stades subséquents d'autre part, il devient clair que le stade VII constitue une forme de transition. L'épiblaste, jusqu'ici formé de cellules plates est en voie de se transformer en un epithelium prismatique ou cylindroïde; à cet effet, les cellules primitives changent de forme et en même temps se multiplient rapidement.

(1) Afin de ne pas compliquer le dessin, je n'ai figuré ni les cellules de l'hypoblaste (pl. VII, fig. 5), ni les noyaux ectodermiques. Les noyaux des petites cellules du mésoblaste sont seules colorés.

Dans une
de la même r
était déjà c
délimitées pa

Le 27 déce
une Lapine q
portait six v
gauche. Deux
les autres. El
ne portait au
deux vésicul
forme ellipso
embryonnaire
rente et se té
une partie él
La ligne prin

Quatre vés
de Kleinenb
Il ne se prod
tion; seuleme
perd de sa t
régions devie
naire apparai
se marquent
n'altère ni la
blastodermiq

La vésicul
3.2 mm. de
se trouvait r
totale de la v
laire, mesura

Dans une autre vésicule trouvée en même temps et traitée de la même manière, tout l'épiblaste de la tache embryonnaire était déjà constitué par des cellules à petit diamètre, bien délimitées par le nitrate d'argent.

STADE IX.

EMBRYON DE 6 JOURS ET 1 1/2 HEURE.

Le 27 décembre 1878, à 10 h. 30 m. du matin, je fis couvrir une Lapine qui fut sacrifiée le 2 janvier 1879, à midi. L'animal portait six vésicules, trois du côté droit, trois autres du côté gauche. Deux d'entre elles étaient notablement plus petites que les autres. Elles étaient sphériques et leur tache embryonnaire ne portait aucune trace de ligne primitive. C'est l'une de ces deux vésicules que je vais décrire. Les quatre autres étaient de forme ellipsoïdale et beaucoup plus volumineuses. Leur tache embryonnaire était pyriforme; la ligne primitive était très-apparente et se terminait à l'extrémité postérieure de l'embryon par une partie élargie plus opaque que tout le reste de la vésicule. La ligne primitive se terminait en avant par le *nœud de Hensen*.

Quatre vésicules ont été placées directement dans le liquide de Kleinenberg et aussitôt examinées, mesurées et dessinées. Il ne se produit sous l'influence de ce réactif aucune contraction; seulement, au bout de quelques instants, toute la vésicule perd de sa transparence; elle devient blanchâtre, les diverses régions deviennent beaucoup plus distinctes; la tache embryonnaire apparaît comme une petite tache blanche et tous les détails se marquent admirablement. L'acide picrique de Kleinenberg n'altère ni la forme, ni les dimensions, ni l'aspect des cellules blastodermiques.

La vésicule que je vais décrire était sphérique et mesurait 3.2 mm. de diamètre. La région monodermique du blastocyste se trouvait réduite à n'être plus qu'un tiers environ de la surface totale de la vésicule. La tache embryonnaire, d'apparence circulaire, mesurait dans sa plus grande largeur 0,8 mm.; dans sa

plus grande longueur 0.9 mm. On distinguait nettement dans la tache deux régions: 1° une région circulaire inscrite excentriquement dans l'ensemble de la tache. L'étude des stades ultérieurs montre qu'elle correspond à l'extrémité antérieure de l'embryon. Elle est délimitée par un anneau plus sombre; celui-ci est surtout bien marqué en avant; là s'observe un arc du cercle plus foncé que tout le reste de la tache. Cette partie de l'aire embryonnaire, je l'appellerai *la région circulaire*, pour ne rien préjuger quant à sa signification; 2° une région postérieure, ayant la forme d'un croissant; elle est plus foncée que la partie médiane de la région circulaire et mal délimitée en arrière; elle est placée de façon à embrasser dans sa concavité la région circulaire. Cette partie postérieure de la tache embryonnaire, je l'appellerai *le croissant*.

L'examen le plus attentif ne permet pas de découvrir la moindre trace de la ligne primitive. Mais un peu en avant du centre de la région circulaire, se voit une petite tache plus claire, qui est le premier indice du *nœud de Hensen*. L'indice du nœud apparaît donc avant la ligne primitive.

J'ai trouvé à diverses époques des vésicules de même volume environ que celle dont je m'occupe, et chez lesquelles la tache embryonnaire avait la même apparence. Il arrive assez fréquemment que le bord postérieur du croissant, au lieu d'être délimité par une ligne assez régulière, comme c'est le cas dans l'embryon IX, est, au contraire, très-irrégulier, de sorte que la tache a presque une apparence lobulée à son extrémité postérieure.

Il n'est pas possible, quel que soit le réactif employé, d'analyser encore, en l'examinant par transparence, la constitution de la tache embryonnaire. Il faut recourir à l'étude de coupes transversales et longitudinales. L'embryon IX a été durci par l'alcool, après avoir été préparé par le liquide de Kleinenberg; puis coloré en totalité par le picrocarmine, enchâssé dans le blanc de Baleine et coupé au rasoir; les coupes ont été montées dans le baume.

Le liquide de Kleinenberg doit être préféré à tout autre liquide pour la préparation de ces jeunes taches. J'ai essayé,

mais avec
nitrique (m
d'ammoni
traitées pa
superficiell
grandes cel
cellules ser
sure à pein
En réalité,
l'embryon
prismatiqu
thelium pa

Les coup
lement. La
longueur d
seur moye
cinquantiè
mativemen
naire, j'ai
représenté
aux lignes
fig. 5). La
dans toute
constituée
coup plus
finement g
posés en u
les noyau
Ces noyau
colorent fi
toujours p
cellules so
plus ou m
plane. Ell
leur form
naire, cett

mais avec beaucoup moins de succès l'acide osmique, l'acide nitrique (méthode de His), l'acide chromique et le bichromate d'ammoniaque. Il est facile de s'assurer, en examinant des taches traitées par le nitrate d'argent, que les cellules de la couche superficielle de l'embryon ne sont plus comme précédemment de grandes cellules polygonales plates, mais au contraire de petites cellules serrées les unes contre les autres, dont le diamètre mesure à peine un huitième des cellules plates des stades antérieurs. En réalité, comme le montrent les coupes, le feuillet externe de l'embryon est formé maintenant par un epithelium cuboïde ou prismatique, et le stade VII nous a montré le passage de l'epithelium pavimenteux simple à l'epithelium prismatique.

Les coupes à travers l'embryon IX ont été faites transversalement. La tache embryonnaire a donné quarante-huit coupes. La longueur de l'embryon étant de 0.9 mm, il en résulte que l'épaisseur moyenne des coupes obtenues est de $\frac{0.9}{48}$, soit environ un cinquantième de millimètre. Pour pouvoir déterminer approximativement la place de chaque coupe dans la tache embryonnaire, j'ai supposé les coupes d'égale épaisseur. Les coupes représentées (pl. VI, fig. 11, 12 et 13), correspondent à peu près aux lignes pointillées *a*, *b* et *c* du dessin général de la tache (pl. VI, fig. 5). La coupe *a*, la 40^e de la série, intéresse exclusivement, dans toute sa largeur, la région circulaire de la tache. Elle est constituée de deux couches cellulaires (fig. 11) : l'externe, beaucoup plus épaisse, mesure environ à la coupe 0,01 mm. Elle est finement granulée, et très-riche en gros noyaux sphériques disposés en une rangée unique dans l'épaisseur de la couche ; mais les noyaux ne sont pas tous à la même distance de la surface. Ces noyaux bien délimités ont un volume un peu variable ; ils se colorent faiblement en rose par le picrocarmin ; on y distingue toujours plusieurs nucléoles assez réfringents. Les limites des cellules sont très-peu apparentes ; on les distingue cependant plus ou moins nettement ; leur surface externe est à peu près plane. Elles ne sont pas aussi larges que hautes, de sorte que leur forme est prismatique. Sur les bords de la tache embryonnaire, cette couche, qui n'est autre que l'épiblaste, se continue

assez brusquement avec les cellules plates qui forment l'épiblaste de la région didermique du blastoderme. Le passage de l'un à l'autre se fait par une ou deux cellules un peu moins hautes que les autres et qui affectent une forme cuboïde plutôt que prismatique. Les cellules épiblastiques de la région didermique sont fusiformes à la coupe. Elles sont en réalité des cellules polygonaux, plates, semblables à celles que j'ai décrites dans les stades précédents. Elles présentent donc à considérer une surface externe et une surface interne. Le bord externe du fuseau est moins incurvé et plus régulier que le bord interne. Il est marqué par une ligne beaucoup plus nette. Dans la partie la plus large du fuseau se trouve le noyau. Il a une forme ovalaire et se colore faiblement en rose par le picrocarmin.

Le feuillet interne ou hypoblaste est formé par une rangée unique de cellules plates, fusiformes à la coupe, dont les caractères sont les mêmes dans l'aire embryonnaire et en dehors de la tache. Ces cellules se caractérisent nettement et se distinguent des cellules plates de l'épiblaste par leurs noyaux. Ces noyaux sont petits, très-aplatis, à contours très-apparents, et ils se colorent fortement en rouge vif par le picrocarmin. Le bord interne du fuseau cellulaire est marqué par une ligne plus foncée que le bord externe. Dans toute l'étendue de la coupe, le feuillet interne est appliqué contre le feuillet externe; cependant on observe en plusieurs points un léger décollement qui s'est produit pendant les manipulations que l'on a dû faire subir à l'embryon avant de le réduire en coupes. Je n'ai trouvé entre les deux feuillets aucune trace d'une lamelle sans structure, ni de cellules intermédiaires.

La coupe *b* est la 20^e de la série (pl. VI, fig. 12). Elle intéresse vers son milieu la région circulaire de l'embryon, sur les côtés les cornes du croissant, en dehors de la tache la région didermique du blastocyste. A son milieu la coupe est constituée par deux feuillets cellulaires accolés l'un à l'autre. Les cellules de ces feuillets présentent les mêmes caractères que les deux couches qui constituent la coupe précédente. La région circulaire de l'embryon est constituée dans toute son étendue par deux

feuillet, l'épiblaste et l'hypoblaste. L'opacité de la région circulaire de l'embryon tient à l'épaisseur de l'épiblaste, et celle-ci est déterminée par la forme des cellules qui sont très-nombreuses et prismatiques.

Aux deux côtés, à quelque distance de la ligne médiane, la coupe se montre constituée de trois rangées de cellules. L'externe ou épiblaste est constituée de la même manière que l'épiblaste de la région circulaire. Les deux feuillets sous-jacents sont formés l'un et l'autre de cellules fusiformes à la coupe. La couche profonde se continue avec le feuillet profond de la portion médiane de la coupe; il est formé par les mêmes cellules à noyaux aplatis, se colorant fortement en rouge. Ce feuillet n'est autre que l'hypoblaste. Mais entre l'épiblaste et l'hypoblaste se trouve une couche intermédiaire, formée, elle aussi, par une rangée unique de cellules fusiformes à la coupe, mais cependant bien différentes des cellules hypoblastiques. Elles se distinguent surtout de ces dernières par leurs grands noyaux ovalaires, faiblement colorés; en outre, par leurs corps plus riches en protoplasme et par leurs contours très-pâles. Ces cellules se touchent par leurs bords et forment une couche continue. Si l'on examine les parties de la coupe qui correspondent à la limite latérale de la tache embryonnaire, on constate : 1° que l'épiblaste prismatique de la tache se constitue avec l'épiblaste pavimenteux de la région didermique; 2° que l'hypoblaste présente les mêmes caractères dans les limites de l'aire embryonnaire et en dehors de l'embryon; 3° que le feuillet moyen s'arrête au bord de la tache.

Coupe c (15° de la série). Cette coupe intéresse exclusivement le croissant. Elle est constituée dans toute la largeur de l'embryon par trois feuillets cellulaires adjacents, mais partout nettement séparés : 1° un épiblaste prismatique; 2° un mésoblaste à cellules fusiformes, pourvues de grands noyaux pâles; 3° un hypoblaste formé de cellules à section fusiforme, présentant de petits noyaux plats qui se colorent vivement. Les cellules de chacune de ces couches présentent les mêmes caractères que dans les coupes *a* et *b*. L'épiblaste est un peu moins épais que dans la coupe *a*.

En dehors de l'embryon, mais seulement dans son voisinage immédiat, on trouve entre l'épiblaste pavimenteux et l'hypoblaste quelques cellules mésoblastiques. Une coupe faite immédiatement au delà de l'extrémité postérieure de l'embryon, montre les mêmes cellules entre l'hypoblaste et l'épiblaste.

Il résulte de l'étude de ces coupes : 1° que l'embryon est constitué par l'accolement immédiat de l'épiblaste et de l'hypoblaste dans la région circulaire; 2° que dans les limites du croissant, un feuillet moyen bien différencié et nettement caractérisé s'étend entre l'épiblaste et l'hypoblaste; 3° que le mésoblaste n'existe pas seulement dans les limites du croissant; on le trouve aussi en dehors de l'embryon, tout autour de l'extrémité postérieure de la tache embryonnaire, mais seulement dans son voisinage immédiat. L'opacité relative de la tache dépend surtout de ce que l'épiblaste est constitué par des cellules prismatiques très-nombreuses et serrées les unes contre les autres.

Partout les trois feuillets sont nettement séparés l'un de l'autre. Je n'ai pas trouvé sur mes coupes l'indication du *nœud de Hensen*.

Si nous comparons le stade IX aux stades précédents, nous constatons : 1° que dans les limites de la tache, l'épiblaste pavimenteux s'est transformé en un epithelium prismatique; 2° que le mésoblaste, qui dans les stades précédents existait dans toute l'étendue de la tache, n'existe plus maintenant que dans les limites du croissant et sur le pourtour de cette partie de la tache; 3° que les cellules de ce feuillet ont changé de forme; 4° que l'hypoblaste n'a subi aucun changement important; 5° que le mésoblaste tend à envahir, autour de l'extrémité postérieure de l'embryon, la région didermique.

Comment expliquer que le mésoblaste, qui au début existait entre l'épiblaste et l'hypoblaste dans toute la tache, fait maintenant défaut dans une grande partie de son étendue?

Si, ce qui ne peut être douteux, la tache embryonnaire du stade IX s'est développée aux dépens de la tache des stades VI et VII, il faut admettre que, en même temps que l'épiblaste subit les modifications que l'on sait, le mésoblaste est refoulé dans la

partie postérieure et sur les côtés de la tache embryonnaire. Mais ce retrait est-il réel ou seulement apparent? se produit-il une véritable émigration des cellules du mésoblaste vers les bords et surtout vers l'extrémité postérieure de l'embryon; ou bien il s'opère-t-il une fusion entre le mésoblaste et l'hypoblaste dans la région circulaire, cette fusion s'opérant de telle manière que les cellules du feuillet moyen viendraient individuellement s'interposer entre celles du feuillet interne? Ce fait n'aurait rien d'étonnant, si l'on se rappelle l'identité d'origine de ces deux couches cellulaires. Ou bien encore les deux phénomènes se produisent-ils simultanément? Il m'est impossible pour le moment de trancher cette question. Mais ce que je puis affirmer, c'est que la différenciation de la région circulaire au milieu de la tache embryonnaire se fait progressivement, du centre vers la périphérie. J'ai observé une série de phases intermédiaires entre le stade VII et le stade IX. J'en ai figuré une pl. VI, fig. 4. La tache s'est éclaircie vers son milieu ou plutôt en un point excentriquement placé. Cette partie plus claire s'étend progressivement aux dépens de l'anneau marginal plus foncé, et la partie élargie de l'anneau correspond à l'extrémité postérieure de l'embryon.

J'ai décrit la tache embryonnaire de notre vésicule de 6 jours et 1 1/2 heure; il me reste à faire connaître la constitution de la région didermique et celle de la portion monodermique de cette vésicule. Une partie de la région didermique étalée après traitement par le liquide de Kleinenberg et coloration par l'hématoxyline, démontre immédiatement l'existence de deux couches cellulaires: les noyaux de la couche superficielle sont beaucoup plus grands; ils sont ovalaires, rarement circulaires, quelquefois irréguliers; ils se colorent faiblement en bleu violacé. Les noyaux de l'hypoblaste sont, au contraire, presque toujours circulaires; ils sont plus petits et se colorent beaucoup plus vite et beaucoup plus fortement par l'hématoxyline. J'ai dit plus haut comment se présentent à la coupe les cellules de ces deux feuillets.

Dans la région monodermique, l'épiblaste existe seul et affecte

la même apparence que dans les stades précédents. J'ai étudié avec soin les caractères des cellules de l'épiblaste et de l'hypoblaste sur un grand nombre de vésicules de même constitution que celle que je viens de décrire, de blastocystes plus jeunes et d'autres plus volumineux. Les caractères de ces cellules restent sensiblement les mêmes depuis la fin du cinquième jusqu'au huitième jour. Il me reste à faire connaître les résultats de cette étude.

Épiblaste. — Les cellules de l'épiblaste sont polygonales; mais les formes et les dimensions de ces polygones varient beaucoup. Sur le frais aussi bien qu'après le traitement par l'acide osmique les contours cellulaires sont difficiles à distinguer; les limites des polygones sont marquées par des lignes droites d'une extrême finesse. On juge beaucoup mieux de la forme et des dimensions de ces cellules par l'examen des préparations au nitrate d'argent.

Ces cellules sont aplaties; plus minces dans leur région marginale, elles sont épaissies au milieu, et c'est dans l'épaississement médian que se trouve logé le noyau. L'épaississement se remarque exclusivement à la face profonde de la cellule; par sa face externe, la cellule est intimement appliquée contre la zone pellucide.

Au contraire, au milieu de la face interne s'élève un monticule à pente douce qui fait saillie dans la cavité blastodermique. Examinée de face, la cellule paraît constituée de deux parties, d'une masse médullaire et d'une couche corticale; ceci n'est pas seulement une apparence due à la forme de la cellule; la partie du corps protoplasmique qui constitue le monticule médullaire n'a pas les mêmes caractères que celle qui constitue le plateau marginal.

Le protoplasme médullaire est plus foncé et plus granuleux que la couche corticale. Au voisinage immédiat du noyau il est généralement plus clair. A quelque distance du noyau, se voient des globules réfringents, plus ou moins volumineux, généralement sphériques et disséminés soit isolément, soit par petits groupes dans la substance finement granulée. Chaque noyau est

ainsi entouré d'un anneau très-apparent aperçu par von Baer et fort bien décrit par Bischoff chez le Lapin et surtout chez le Chien. Ces globules sont formés d'une matière grasse : ils sont solubles dans l'alcool et dans l'éther ; ils se colorent en noir par l'acide osmique. Ça et là on trouve un corps volumineux, formé d'une substance très-réfringente, à forme extrêmement irrégulière, et ressemblant quelquefois à un groupe de cristaux (pl. VI, fig. 6). Je ne sais ce que sont ces corps ; mais comme ils se colorent en noir par l'acide osmique, et que, d'autre part, l'on voit quelquefois de petits amas irréguliers de globules graisseux, plus ou moins confondus entre eux, former ensemble une petite masse bosselée à sa surface, je suis tenté de considérer ceux-ci comme une phase de l'évolution de ceux-là. Il y a en outre dans cette partie de la cellule un nombre variable de bâtonnets réfringents droits, à bords parallèles, d'épaisseur peu variable et dirigés en divers sens. Ces tigelles ressemblent beaucoup à des bactéries ; pour ce motif, je les appellerai *corps bacilliformes*. La première fois que je les ai vus, c'était sur une préparation à l'acide osmique qui datait de plusieurs jours. Je crus que j'avais affaire à des Schizomycètes qui avaient envahi les cellules. Depuis lors je les ai trouvés sur toutes mes préparations, quand je les ai cherchés ; je les ai vus sur le vivant, sur les préparations à l'argent, sur celles que l'on obtient en traitant par l'acide osmique et en colorant par le picrocarmin ou l'hématoxyline, sur les vésicules durcies par l'acide picrique de Kleinenberg. Il est certain que ces éléments se trouvent normalement dans les cellules ectodermiques. Ils existent quelquefois en nombre très-considérable dans une cellule, s'entre-croisant en tous sens et distribués sans aucun ordre. Quelquefois il y en a en telle quantité que le corps de la cellule en paraît presque exclusivement constitué. La plupart sont rectilignes et ont la même largeur partout ; ils sont généralement droits. D'autre part, leur diamètre et leur longueur diffèrent. On en voit aussi qui sont légèrement flexueux, quelques-uns moniliformes, comme s'ils étaient formés de granules alignés. J'en ai trouvé aussi qui étaient claviformes, étant un peu plus renflés à une extrémité qu'à l'autre. Parfois on n'en

trouve qu'un petit nombre. Ça et là se voit une cellule qui en est complètement dépourvue. Ces petits corps ne se colorent ni par le carmin, ni par le picrocarminate, ni par l'hématoxyline.

La couche corticale de la cellule ectodermique examinée sur le vivant montre avec une parfaite netteté une constitution réticulaire. De la surface de la masse médullaire, délimitée par une ligne très-nette, mais irrégulière, partent des filaments très-ténus, rappelant des pseudopodes, homogènes, au moins en apparence, qui se divisent dichotomiquement et s'anastomosent entre eux, de façon à former un réseau dont les mailles ont des dimensions variables. Ces mailles sont occupées par une substance hyaline et incolore. Ce réticulum s'étend sur toute la surface externe des cellules et intéresse toute l'épaisseur de leur portion marginale. Je ne sais s'il existe aussi à la face profonde de la masse médullaire.

J'ai représenté pl. VI, fig. 7 quelques cellules ectodermiques traitées par l'acide osmique et le picrocarmin. Dans ces cellules, il est encore possible de distinguer le réticulum cortical. Mais les filaments réticulés sont moins apparents que sur le vivant et ont pris un aspect ponctué. On distingue çà et là quelques corps bacilliformes. On voit en outre dans ces préparations à l'acide osmique les globules de graisse et enfin de petits espaces clairs, arrondis, qui ressemblent à des vacuoles. Je ne les ai jamais observés sur le vivant.

Le corps protoplasmique de la cellule ne se colore pas par le picrocarminate. Il faut faire une restriction cependant pour les cellules en voie de division. Celles-là prennent une coloration brunâtre, qui les fait distinguer immédiatement au milieu de toutes les autres cellules de l'ectoderme.

Le réticulum protoplasmique ne se voit plus sur les préparations au nitrate d'argent, pas plus du reste que sur les préparations faites à l'acide chromique, au liquide de Müller, aux chromates, à l'acide picrique ou au liquide de Kleinenberg. Par contre, les corps bacilliformes se montrent avec une parfaite évidence sur les préparations au nitrate d'argent; mais c'est dans les cellules traitées par le liquide de Kleinenberg qu'elles apparais-

cellule qui en se colorent ni l'hématoxyline. examinée sur la constitution, délimitée par des filaments très-fins, moins en apparence, composent entre elles des dimensions d'une substance qui recouvre toute la surface de leur portion profonde de la

sent dans toute leur netteté. J'ai des préparations dans lesquelles tout le corps de la cellule paraît constitué de bactéries juxtaposées et entre-croisées en tous sens. J'ai cherché à rendre cet aspect par la figure 8 de la planche VI. Les contours des cellules et du noyau ont été dessinés à la chambre claire (Immersion 10 de Hartnack).
L'existence normale et physiologique de semblables éléments dans le protoplasme cellulaire présente un certain intérêt. La ressemblance de ces bâtonnets avec des Bacilles est telle, qu'un pathologiste quelque peu disposé à voir dans les bactéries et les microcoques les causes des maladies épidémiques et infectieuses, trouvant de semblables éléments dans les cellules d'un tissu, n'hésiterait guère à voir en eux des Schizomycètes. J'ai appris dernièrement que le D^r Koch a trouvé dans le violet de méthyl un réactif excellent pour reconnaître les bactéries au milieu des tissus. Je n'ai pas pu essayer encore comment se comportent nos éléments bacilliformes vis-à-vis de cette matière colorante, mais je me propose de faire prochainement cette recherche.

Les noyaux des cellules ectodermiques sont aplatis; vus de face, ils ont généralement une apparence ovalaire, rarement circulaire, quelquefois irrégulière. Leur contour nettement indiqué par une ligne très-fine est bien rarement régulier. Ils se colorent en rose par le carmin et le picromicarminate, en bleu violacé pâle par l'hématoxyline. Il se charge beaucoup moins de matière colorante que les noyaux des autres feuilletts. Examinés sur le vivant, ils paraissent homogènes et brillants; sur des préparations à l'argent, aux chromates, à l'acide osmique et à l'acide picrique, ils sont très-finement ponctués. Ils ont toujours plusieurs nucléoles; ceux-ci sont éparpillés sans ordre dans le corps nucléaire; ils ont des dimensions et une forme variables; ils sont tantôt arrondis, plus souvent allongés ou irréguliers. Quelque fois ils sont reliés entre eux par des filaments bien visibles. Cependant je ne suis pas parvenu à voir avec netteté un réseau nucléoplasmique continu. Ils prennent énergiquement les matières colorantes. Dans les préparations traitées directement

par le liquide de Müller, les noyaux perdent complètement leurs nucléoles et deviennent parfaitement homogènes. Les dimensions de ces éléments nucléoliformes sont très-variables; généralement les plus grands s'observent dans les plus grandes cellules. De très-grands noyaux présentent souvent des bords échancrés. Ces échancrures sont plus ou moins profondes. J'en ai trouvé qui paraissent doubles, les deux moitiés n'étant plus réunies entre elles que par un mince pont de substance nucléaire (pl. V, fig. 10). Enfin on trouve des cellules à deux noyaux (pl. V, fig. 11). Ces noyaux ont alors tous les caractères des noyaux simples. Les cellules à deux noyaux ne manifestent aucune tendance à la division. Les cellules en voie de division ont des caractères tout particuliers, et leurs noyaux subissent une série de modifications successives que j'ai déjà en partie décrites. Je ferai de mes observations sur la division des cellules l'objet d'un travail spécial. Le nombre de ces cellules à deux noyaux augmente avec l'âge de la vésicule blastodermique. Me fondant sur la diversité des formes qu'affectent les grands noyaux, j'ai exprimé l'opinion qu'il s'agit ici non d'une multiplication cellulaire, mais d'une fragmentation nucléaire. Je discuterai cette manière de voir quand je traiterai de la division des cellules. Je me bornerai à dire, pour le moment, que je n'ai pas vu un noyau de cellule ectodermique se fragmenter sous mes yeux, pas plus que je n'ai observé la fusion de ce que j'appelle deux fragments nucléaires. Ma manière de voir n'est donc pas basée sur l'observation directe. Il en est de même du reste des phénomènes de la division cellulaire; je ne connais l'histoire de la multiplication cellulaire que par l'étude comparative des phases successives de ce phénomène observées dans des cellules différentes, et telles que je les ai rencontrées dans mes préparations, fixées par les réactifs.

Si l'on examine avec soin et en se servant de grossissements suffisants les noyaux de l'ectoderme dans des préparations à l'acide osmique, au liquide de Kleinenberg ou au chlorure d'or, on constate l'existence dans l'immense majorité de ces éléments d'un corps plus clair, généralement sphérique, bien délimité par une ligne ponctuée et autour duquel les nucléoles paraissent

plus nombreux que dans le reste du corps nucléaire. J'ai parlé plus haut de cette particularité des noyaux ectodermiques auxquels j'ai attribué une couche corticale et un corps médullaire.

Hypoblaste. — Les cellules de l'hypoblaste diffèrent beaucoup de celles du feuillet externe. Si l'on parvient à isoler des fragments de l'hypoblaste d'un blastocyste traité par l'acide osmique et l'alcool, ou par le nitrate d'argent, on reconnaît que cette couche est formée par un réseau de filaments circonscrivant des mailles de dimensions variables. Des noyaux de cellules, la plupart sphériques, se colorant fortement par le carmin et l'hématoxiline, notablement plus petits que les noyaux de l'ectoderme, se trouvent disséminés dans le réticulum à des distances à peu près égales les unes des autres (pl. VI, fig. 9). Les noyaux se trouvent au milieu d'une petite zone granuleuse, de forme variable, terminée par une ligne irrégulière, qui forme alternativement des angles sortants et des angles rentrants. Des sommets des angles saillants partent les filaments qui se divisent et s'anastomosent de façon à délimiter des mailles, dont les formes et les dimensions varient beaucoup. On croirait voir une colonie de rhizopodes réunis entre eux par leurs pseudopodes, tels que des Radiolaires sociaux, le *Collozoum inerme*, par exemple, ou le *Myxodictium sociale*.

Le noyau, petit, généralement circulaire, plus rarement ovulaire, est pourvu de plusieurs nucléoles. Il ressemble aux noyaux des cellules de l'ectoderme, à part sa forme, ses dimensions et son affinité pour les matières colorantes. Il se colore si vite et si fort, que souvent quand les noyaux des cellules de l'épiblaste commencent à peine à se teinter en rose ou en violet, les noyaux de l'hypoblaste sont déjà colorés à tel point qu'il n'est plus possible d'y reconnaître la présence des nucléoles. A la coupe, les noyaux ont une apparence ovulaire ou circulaire. Ils sont donc tantôt sphériques, tantôt ovoïdes. Lors de la division, ces noyaux présentent les mêmes phénomènes complexes que ceux que l'on constate dans les cellules de l'épiblaste.

Dans chaque cellule, nous pouvons distinguer une région granuleuse entourant immédiatement le noyau et une zone

réticulée qui se continue sans ligne de démarcation tranchée avec les réticulations périphériques des cellules voisines. La région périnucléaire est plus foncée au contact immédiat du noyau. Si on l'examine en se servant de forts grossissements, elle paraît formée d'une substance criblée de vacuoles, la plupart très-petites. La substance qui remplit les vacuoles est claire et homogène; celle qui les délimite est, au contraire, foncée et granuleuse par places. Bref, la partie médullaire de la cellule paraît avoir une structure réticulée aussi bien que la zone corticale; seulement dans celle-ci les mailles sont beaucoup plus grandes. Les filaments du réticulum cortical ont des contours très-nets; çà et là on voit de fines granulations. Aux points de convergence, on observe souvent une petite plaque plus ou moins étendue, homogène ou finement granulée. Ailleurs, au lieu d'une petite plaque, se voit un point plus apparent que les filaments qui s'y réunissent. Quant aux limites des cellules, il n'est pas possible de les distinguer. Existent-elles en réalité? Le réticulum est-il discontinu ou bien l'apparence est-elle l'expression de la réalité et les cellules forment-elles vraiment un syncytium? La solution de cette question se rattache intimement à une autre qui est relative à la constitution de la cellule hypoblastique. Qu'y a-t-il dans les mailles du réseau? L'hypoblaste est-il véritablement troué et les filaments sont-ils de véritables pseudopodes séparés les uns des autres par des lacunes qu'occupe le liquide de la cavité blastodermique? Ou bien chaque cellule hypoblastique est-elle une lamelle continue formée de deux substances, l'une réticulée, l'autre remplissant les mailles du réseau? En d'autres termes, les cellules sont-elles comparables à des rhizopodes pourvus de filaments pseudopodiques anastomosés entre eux et avec les pseudopodes des éléments voisins, ou bien l'apparence réticulée indique-t-elle une structure intracellulaire du protoplasme.

Je crois que les cellules hypoblastiques ne sont pas des cellules à pseudopodes, mais que leur réticulum est intracellulaire. Je me base sur les faits suivants : 1° sous l'influence du nitrate d'argent, les limites de ces cellules se marquent par des lignes noires continues ou discontinues, circonscrivant des polygones

de différentes formes, non-seulement dans dans la tache embryonnaire, mais aussi dans le voisinage immédiat de l'embryon proprement dit (pl. VI, fig. 10). L'existence de ces lignes démontre que l'hypoblaste est formé de cellules polygonales plates, se touchant par leurs bords. L'apparition de ces contours ne peut s'expliquer dans l'hypothèse de cellules à pseudopodes.

2° A la périphérie du gastrodisque, on trouve dans les stades VI et VII des cellules granuleuses aplaties, isolées ou réunies par leurs bords en petits groupes de deux, de trois ou de quatre cellules et formant de véritables lamelles protoplasmiques (pl. V, fig. 9). On trouve un grand nombre de formes de transition entre ces lamelles et les cellules endodermiques arrondies des stades IV et V. La structure réticulée paraît être une différenciation secondaire de la substance protoplasmique granuleuse.

3° A la coupe, les cellules de l'hypoblaste se présentent sous forme de fuseaux. Chacune d'elles est une lamelle épaissie à son milieu, amincie suivant ses bords.

4° Une structure réticulée semblable s'observe dans l'ectoderme, et bien certainement cette apparence n'est pas due à ce que les cellules de ce feuillet seraient percées à jour à la façon d'une dentelle. Elle résulte, au contraire, de l'existence de vacuoles remplies de substance homogène dans le corps protoplasmique de la cellule.

L'hypoblaste n'est donc pas un syncytium comparable à une colonie de rhizopodes; il est formé de cellules individualisées, se touchant par leurs bords, et ces cellules présentent une structure réticulée très-apparente.

Cette structure réticulée du protoplasme a été fréquemment signalée dans ces derniers temps, et quelques auteurs ont cru voir dans la découverte de ce réticulum un progrès considérable réalisé dans la connaissance du protoplasme.

Mais l'on sait depuis longtemps que le protoplasme affecte une apparence réticulée dans l'immense majorité des cellules végétales, chez beaucoup de Protozoaires (Infusoires, Noctiluques, Actinospherium, Radiolaires), dans les cellules endodermiques des Hydroïdes, et plus particulièrement dans les cellules

axiales des tentacules; je l'ai fait connaître dans la cellule axiale et aussi dans les cellules ectodermiques des Dicyémides. Les mailles du réticulum sont occupées tantôt par un liquide aqueux, tantôt par une substance gélatineuse.

Tout récemment, Heitzmann a signalé cette structure réticulée dans le corps protoplasmique d'une foule de cellules animales : il l'a trouvée chez les Amibes, dans les globules du sang de l'Écrevisse, dans les globules du Colostrum, dans les cellules du cartilage, de la moelle des os, du cordon ombilical, des tendons, du tissu périostique, du tissu osseux, des vaisseaux, des muscles, des nerfs et des epithelium. Kuppfer a trouvé que le corps des cellules biliaires est formé chez la Grenouille d'un réticulum de filaments très-ténus et finement granuleux, dont les mailles sont occupées par une substance hyaline qu'il appelle *paraplasma*. Sur des cellules fraîches, il a vu les filaments protoplasmiques se contracter et le réseau changer de forme. Il a constaté les mêmes faits dans les odontoblastes des vertébrés et dans les cellules salivaires de la *Periplaneta orientalis*. Il pense que les bâtonnets décrits par Haidenhain dans les cellules des canalicules urinaires témoignent d'une structure analogue. Fromman a confirmé la manière de voir de Heitzmann relativement au protoplasma des globules du sang de l'Écrevisse; Trinchese est arrivé à des résultats semblables par l'étude qu'il a faite de diverses espèces de cellules chez la *Caliphylla Mediterranea* de Costa; et tout récemment, Ray Lankester a observé un réseau protoplasmique dans le corps d'une Amibe.

Il est donc certain dès à présent que la structure réticulaire du protoplasme si répandue dans le règne végétal est bien plus commune dans les cellules animales qu'on ne l'avait supposé, et l'étude que j'ai faite des cellules qui constituent les feuilletts embryonnaires du Lapin m'a permis d'ajouter un exemple de plus à ceux que l'on pouvait citer à l'appui de cette manière de voir. Nulle part peut-être cette réticulation du protoplasme n'est aussi manifeste que dans l'hypoblaste d'un blastocyste de Lapin de 6 à 7 jours.

HISTORIQUE.

C'est à R. de Graaf que l'on doit la découverte de l'œuf utérin des mammifères; mais il identifia les vésicules transparentes que l'on trouve dans l'utérus, quelques jours après la copulation, aux vésicules ovariennes qui sont universellement connues aujourd'hui sous le nom de follicules de de Graaf.

Cruikshank paraît avoir été le premier qui remarqua l'existence d'une tache dans les œufs utérins, six jours pleins après le coït. Prévost et Dumas ont ensuite comparé cette tache à l'aire embryonnaire des oiseaux, et ils ont montré que chez les mammifères, comme chez les oiseaux, la première trace de l'embryon consiste dans l'apparition de la ligne primitive.

De Graaf, aussi bien que ses successeurs, reconnurent que l'œuf utérin est constitué de deux vésicules concentriques, accolées l'une à l'autre, et qui se séparent l'une de l'autre dès que l'on met dans l'eau l'œuf retiré de l'utérus. von Baër a identifié la vésicule externe à la membrane pellucide de l'œuf ovarien découvert par lui : il l'appela *membrana corticalis* ou *Chorion*. La vésicule interne, il la compara au blastoderme des oiseaux, et la tache foncée qui est d'abord arrondie et plus tard allongée fut reconnue pour être le lieu de formation de l'embryon. von Baër dit même que le germe (*Keim*) est formé, comme celui des oiseaux, de deux feuilletts adjacents, d'un feuillet animal et d'un feuillet végétatif; il fonde sur cette donnée tout son exposé du développement ultérieur de l'embryon. Mais nulle part von Baër ne dit catégoriquement si cette manière de voir est basée sur l'observation directe ou si elle résulte de l'analogie complète qui existe, à ses yeux, entre le développement des mammifères et celui des oiseaux.

Coste a ajouté peu de données nouvelles à ce que l'on connaissait déjà en Allemagne de la constitution de la vésicule blastodermique. Comme von Baër, il considère la membrane externe de l'œuf utérin comme identique à la membrane de l'œuf ovarien; mais il lui donne un autre nom, il l'appelle *membrane vitelline*.

La membrane interne, au contraire, est un produit du développement embryonnaire; il l'appelle *vésicule blastodermique*, *membrane blastodermique* ou *blastoderme*. La tache qu'il fait apparaître au 7^e jour est nommée *tache embryonnaire*. Coste paraît avoir eu connaissance de l'existence, au 7^e jour du développement, de deux feuilletts distincts, tant dans la tache embryonnaire qu'en dehors de la tache. « A cette époque aussi, dit-il (au 7^e jour), on peut, non sans beaucoup de difficultés toutefois, arriver à démontrer, ce qui tout à l'heure sera plus évident encore, que la tache embryonnaire peut se décomposer en deux feuilletts concentriques, qui peuvent se poursuivre jusque dans presque toute l'étendue du blastoderme, lequel est, par conséquent, comme nous l'avons établi, formé lui-même de deux couches, comme la tache embryonnaire avec laquelle il se continue. »

Martin Barry s'est occupé le premier de l'étude des modifications que subit l'ovule pendant son passage à travers l'oviducte. L'honneur d'avoir découvert la segmentation chez les mammifères, il le partage avec Bischoff. Il a vu et figuré un grand nombre de phases du développement; mais les quelques observations exactes qu'il a faites sont noyées au milieu d'une quantité de descriptions fantaisistes; l'exposé des phénomènes les plus simples paraît avoir été compliqué à plaisir; tout y est embrouillé et confus; Barry fait apparaître dans des œufs d'un millimètre des organes dont les premiers rudiments ne se montrent que quand les vésicules ont atteint plusieurs millimètres de diamètre; il annonce une foule de faits que personne n'a pu constater après lui. Mais malgré le peu de crédit que l'on doit accorder à ses observations et surtout à ses interprétations, l'on ne peut méconnaître que Barry a vu et figuré les modifications que subit l'œuf dans son passage à travers l'oviducte et au moment de son entrée dans l'utérus. Ses recherches, il les a faites sans avoir connaissance des études de Bischoff, dont les travaux classiques sur le développement du Lapin, du Chien, du Cochon d'Inde et du Chevreuil ont véritablement fondé l'embryologie des mammifères.

En ce
s'accompl
trième jou
découverte

1^o Il a
cellules et
de segmen

Cette ob
rable pour
elle avait u
universelle
lement car
cette notio
et quoique
modifiée au
biologistes

L'erreur da
cellulaire d
saire de l'e
de la valeur
à la membr

Si Bisch
vations l'œu
2^o à la déca
division. E
fractionnem
globes de s

Il est vra
titude de ce
le Cochon d
les mammi
masse gran
tion des ce
une énigme

Bischoff
Chevreuil q

En ce qui concerne la connaissance des phénomènes qui s'accomplissent dans l'ovule depuis le commencement du quatrième jour jusqu'au début du septième, Bischoff a fait deux découvertes importantes :

1° Il a reconnu que la vésicule blastodermique est formée de cellules et que ces cellules se développent aux dépens des globes de segmentation.

Cette observation n'avait pas seulement une valeur considérable pour la connaissance de l'embryologie des mammifères; elle avait une portée bien plus générale. La cellule était encore universellement considérée à cette époque comme étant essentiellement caractérisée par une *membrane*. Schwann avait professé cette notion erronée dans toute la partie descriptive de son livre, et quoique sa conception de la cellule se soit profondément modifiée au moment où il écrivit sa théorie des cellules, tous les biologistes continuèrent à définir la cellule par la membrane. L'erreur dans laquelle tombait Bischoff quand il niait le caractère cellulaire des globes de segmentation, était la conséquence nécessaire de l'exactitude de ses observations d'une part, d'autre part de la valeur qu'il accordait, avec tous les hommes de son époque, à la membrane cellulaire.

Si Bischoff avait pu se dégager des idées courantes, ses observations l'eussent conduit : 1° à la conception exacte de la cellule ; 2° à la découverte de la multiplication des cellules par voie de division. En tous cas, elles laissaient entrevoir l'explication du fractionnement du vitellus : Bischoff a montré, en effet, que les globes de segmentation deviennent les cellules du blastoderme.

Il est vrai que plus tard il se prit à douter lui-même de l'exactitude de cette manière de voir. A la suite de ses observations sur le Cochon d'Inde et le Chevreuil, il émit l'opinion que, chez tous les mammifères, une fusion des globes de segmentation en une masse granuleuse indivise précéderait immédiatement la formation des cellules blastodermiques. La segmentation redevenait une énigme.

Bischoff raconte dans son travail sur le développement du Chevreuil que pendant la période de quatre mois qui s'écoule entre

le moment où s'accomplissent les premiers phénomènes du développement embryonnaire (segmentation) et le moment où la vésicule blastodermique commence à se former, il a trouvé deux fois les œufs dans l'utérus. Le vitellus n'était formé ni de globes ni de cellules, mais toute la cavité circonscrite par la zone pelucide était remplie par une masse granuleuse sans structure. « Alle Mühe im Innern irgend Etwas zu entdecken war vergebens, auch als ich eines derselben sorgfältig zerdrückte. Offenbar traten hier wie ich es auch bei dem Ei der Meerschweinchen gefunden habe, und *wahrscheinlich überall bei Säugethiereiern zu einer gewissen Zeit sich findet, nach Vorübergehen der Dottertheilung die Dotterelemente jetzt wieder in eine Masse zusammengetreten, und in diesem Zustande verharrte nun das Ei, ohne sich irgend wie weiter zu verändern.* »

Cette fusion des globes n'est qu'apparente, comme Bischoff l'avait très-bien reconnu dans ses premières recherches.

2° Bischoff a le grand mérite d'avoir démontré définitivement que dans des vésicules de $1 \frac{3}{4}''$ (3,85 mm.) et au-dessus non-seulement la tache embryonnaire, mais aussi la zone avoisinant la tache, sont constituées de deux feuillets cellulaires, et que le feuillet interne s'étend au fur et à mesure que le volume de la vésicule augmente.

Mais là se réduisent les titres de Bischoff en ce qui concerne la connaissance des phénomènes qui se passent chez le Lapin, du quatrième au septième jour. Pour toutes les questions relatives au développement de la tache embryonnaire, à sa constitution et à l'origine des feuillets, les recherches de l'éminent embryologiste de Munich ont été insuffisantes. Nous sommes bien loin de lui reprocher ces lacunes : si l'on tient compte de l'état de la science à l'époque où Bischoff entreprit ses mémorables travaux, si l'on se rappelle que l'embryologie des mammifères était pour ainsi dire à fonder, que les questions qui se posaient alors étaient bien différentes de celles dont nous nous préoccupons aujourd'hui, que les méthodes que l'on employait étaient fort primitives en comparaison de celles dont nous disposons, l'on ne peut que s'étonner de l'importance des résultats qu'il a obtenus,

du nombre des questions qu'il a résolues, de la quantité d'observations exactes qu'il a faites et consignées dans ses mémoires.

Je puis ajouter que, de tous ceux qui se sont occupés après Bischoff de l'embryologie des mammifères, jusques et y compris M. Kölliker, il n'en est qu'un qui ait fait faire un progrès réel à nos connaissances sur cette période du développement; ce seul observateur c'est Hensen. Je vais énumérer ici la série des questions dont Bischoff n'a pas donné la solution.

Quelle est la constitution de l'embryon immédiatement avant l'apparition de la cavité blastodermique et quelle est la signification du *reste vitellin* ?

Bischoff n'a pas remarqué, et l'on peut en dire autant de tous ceux qui se sont occupés après lui du développement du Lapin, qu'à la fin de la segmentation et avant l'apparition de la cavité blastodermique, les cellules qui sont à la surface de l'embryon diffèrent de celles qui constituent son noyau.

J'ai montré que la cause de la constitution de l'embryon au stade que j'ai appelé *metagastrula* se trouve dans la *segmentation inégale* du vitellus, et d'autre part dans l'épibolie progressive de l'ectoderme autour de la masse endodermique pendant le fractionnement. La différenciation des deux feuilletts primordiaux se fait pendant la segmentation, et dès le moment où l'œuf pénètre dans l'utérus, avant même l'apparition de la cavité blastodermique, l'embryon est constitué par un feuillet superficiel formé par une seule rangée de cellules et une masse médullaire constituée de cellules essentiellement différentes des premières. Ce sont ces cellules centrales qui deviennent le *reste vitellin*, le *Dotterrest* ou *Dotterhaufen* des Allemands. Bischoff le considérait comme étant formé de globes de segmentation *identiques dans leur essence* à ceux qui ont subi antérieurement la transformation en cellules plates; il les croyait destinés à subir, eux aussi, cette métamorphose. Il affirme, ce qui est inexact, que le reste vitellin diminue peu à peu et qu'il finit par disparaître complètement. Cette manière de voir a été adoptée par Remak; l'un et l'autre ont cru à l'existence d'un stade monodermique de la vésicule

blastodermique, postérieurement à la disparition du reste vitellin et antérieurement à l'apparition de la tache embryonnaire.

Voici les paroles mêmes de Bischoff :

« Es umgeben sich aber offenbar nicht sogleich alle Dotterkugeln mit Zellmembranen, sondern nach und nach, und wie es scheint, diyenigen zuerst, die mit der inneren Oberfläche der Zona unmittelbar in Berührung stehen. Die übrigen bilden jenen noch einige Zeit bemerkbaren Haufen, werden aber nach und nach, während das Ei wächst, alle zur Zellenbildung verwendet, und kleiden endlich am Ende dieses Stadiums die ganze innere Fläche des Eies in einer membranartigen Schichte aus. Es entsteht auf dieser Weise ein zweites inneres Bläschen in dem Eie und es ist dasselbe also das erste Entwicklungsprodukt, zu welchem das dem Eichen mitgegebene Material verwendet wurde und hinreichte. » (Page 90 du Mémoire sur le Lapin.)

Ce dernier stade est atteint quand l'œuf mesure $\frac{1}{8}$ ''' , soit 0.44 mm.

Position du reste vitellin relativement à la vésicule ectodermique. Bischoff admet que le « Dotterrest » est intercalé dans la membrane cellulaire qui constitue au début le blastoderme. Il n'a pas vu que les globes qui forment le reste vitellin se trouvent accolés à la face interne d'une couche de cellules plates en tout semblables à celles qui constituent tout le reste de la vésicule ectodermique.

Reichert, se basant sur les observations qu'il avait faites chez les Grenouilles, venait d'exprimer l'opinion que la couche de cellules qui se développe chez le Lapin aux dépens des globes de segmentation, et que Bischoff avait appelée *Keimhaut*, était analogue à la membrane enveloppante (*Umhüllungshaut*) des Batraciens. Bischoff combat cette appréciation et la manière dont il s'exprime montre clairement qu'il n'a pas vu que l'ectoderme formé de cellules plates existe dans les limites du gastrodisque. Je cite textuellement : « Es müsste und würde hier leicht sein, sich davon zu überzeugen, ob der Fruchthof eine unter der von

mir Keimblase genannten Zellenlage auftretende Bildung ist, also von derselben bedeckt wird, oder ob derselbe in der Ebene derselben liegend, nur der Centraltheil derselben ist. Nun aber kann man sich leicht überzeugen, dass der Fruchthof weder jetzt noch später von einer solchen Lage polyedrischer Zellen bedeckt ist, sondern dass dieselben unmittelbar in seine Peripherie übergehen, und die Elemente des Fruchthofes (Zellen, Zellenkerne und Elementarkörnchen) nach Entfernung der Zona oder äusseren Eihaut ganz unbedeckt zu Tage liegen (1). »

Impossible d'être plus catégorique, et cependant en cela Bischoff se trompait, si du moins l'on peut conclure du Lapin, où la couche dont il nie l'existence est facile à démontrer à tous les stades du développement du gastrodisque, au Chien chez lequel je n'ai pas fait d'observations.

Origine du feuillet interne. — Bischoff n'a fait, ni chez le Lapin, ni chez le Chien, ni chez aucun autre Mammifère, aucune observation qui permette de trancher cette question. C'est sur des œufs mesurant $1 \frac{3}{4}$ ''' (3.85 mm.) qu'il reconnaît pour la première fois l'existence des deux feuillets, non-seulement dans la tache embryonnaire, mais aussi en dehors de cette dernière. Il n'a pas constaté sa présence dans des vésicules plus jeunes. Dans des œufs de $\frac{3}{4}$ ''' (1.05 mm.), il trouve la tache embryonnaire constituée par une accumulation de cellules et de noyaux et consistant en un épaissement de la membrane blastodermique.

Dans l'opinion de Bischoff, le feuillet végétatif se développerait par *dédoublement d'un épaissement cellulaire du blastoderme d'abord dépourvu* de toute stratification qui constituerait au début la tache embryonnaire. Pas plus dans son Mémoire sur le développement du Chien que dans ses recherches sur le Lapin, il n'a considéré le reste vitellin comme étant plutôt l'origine du feuillet végétatif que celle du feuillet animal : chez le Lapin il croit avoir constaté la disparition complète du *Dotterrest*; chez le Chien il fait dériver de cet amas de globes la tache

(1) BISCHOFF, *Entwicklungsgeschichte des Hundes*, p. 68.

embryonnaire tout entière, et non pas seulement le feuillet végétatif.

A ses yeux, la tache embryonnaire est d'abord monodermique; elle devient secondairement didermique. Mais tandis que chez le Lapin il croit avoir observé la disparition totale du *Dotterrest*, d'où il résulterait que la tache serait primitivement un épaissement du blastoderme (*Keimhaut*), il croit avoir constaté que chez le Chien les globes de segmentation qui constituent le *Dotterhaufen* ne se transforment jamais en cellules plates et qu'ils donnent directement naissance aux éléments de la tache embryonnaire. Coste avait émis la même manière de voir quant aux liens qui unissent, chez le Chien, le reste vitellin à l'embryon proprement dit.

Moment de l'apparition de la tache embryonnaire. — Bischoff voit apparaître la tache embryonnaire dans le courant du cinquième jour sur des œufs de $\frac{5}{4}$ ''' (1.65 mm.). Elle est très-peu apparente à son début et résulte d'un épaissement en un point de la vésicule blastodermique. Cruikshank la constata pour la première fois dans des vésicules ayant 6 jours d'âge, et Coste la fait naître au septième jour. J'ai démontré qu'elle se montre dès le moment où la masse endodermique s'est étendue en une plaque épaissie à son milieu, amincie suivant ses bords. Cette transformation s'accomplit à la fin du quatrième jour ou au plus tard au commencement du cinquième.

Bischoff a admis, et tous ses successeurs ont appuyé cette manière de voir, que le feuillet végétatif qui s'étend progressivement vers le pôle inférieur de l'œuf procède des bords de la tache embryonnaire. Cette manière de voir est inexacte.

Je n'ai pas pu non plus confirmer l'observation de Bischoff, qui a cru constater une fusion des cellules de l'ectoderme du Lapin dans des œufs variant entre $1\frac{5}{4}$ ''' et 3'''. Cette même fusion, il la signale chez le Chien, non-seulement dans le feuillet animal, mais aussi dans le feuillet végétatif. Chez le Lapin, ce phénomène ne s'accomplit à aucune phase du développement.

Constitutio

la tache se dis-
rait, si l'on en
Au début, ell
la membrane
se montre dan
se constitue d
plus tard en
limites de la t

Bischoff n'
moyen.

L'éminent
le Chien, une
parente et une
zones connues
combien pour
tions de Bischo
considérable à
n'existe chez
sens que Bischo
naire du Lapi
arrivé aux mèn
que dans les s
plus claire que
autour d'une
ce que Bischo
nement bien ob
à Hensen. Mais
que lui a attril
plique ni les li
figures 32, 33

La ligne pr
jour se montre

Constitution de la tache embryonnaire.— La cause pour laquelle la tache se distingue du reste de la vésicule blastodermique varierait, si l'on en croit Bischoff, aux divers stades du développement. Au début, elle aurait sa raison d'être dans un épaissement de la membrane blastodermique; plus tard, dans la stratification qui se montre dans la tache, quand elle devient didermique et qu'elle se constitue d'un feuillet animal épais et d'un feuillet végétatif; plus tard encore, les deux feuillets seraient épaissis dans les limites de la tache embryonnaire.

Bischoff n'a pas étudié le mode de formation du feuillet moyen.

L'éminent embryologiste admet, tant chez le Lapin que chez le Chien, une division de la tache embryonnaire en une aire transparente et une aire opaque. Ces deux régions sont comparées aux zones connues sous ces noms chez le Poulet. Hensen a montré combien pour toute cette période du développement les observations de Bischoff sont insuffisantes et il a fait faire un progrès considérable à l'embryologie des mammifères en montrant qu'il n'existe chez le Lapin ni *area pellucida*, ni *area opaca*, dans le sens que Bischoff attribue à ces termes. Toute la tache embryonnaire du Lapin se transforme en embryon. Sur ce point je suis arrivé aux mêmes conclusions que Hensen. Cependant, j'ai montré que dans les stades VIII et IX la partie médiane de la tache est plus claire que sa portion corticale. Celle-ci forme un anneau foncé autour d'une région plus transparente. C'est là probablement ce que Bischoff avait constaté chez le Lapin et ce qu'il a certainement bien observé chez le Chien. Cette particularité a échappé à Hensen. Mais, je le répète, ce fait n'a pas du tout la portée que lui a attribuée Bischoff, et pas plus que Hensen, je ne m'explique ni les figures 48 à 52 de l'embryologie du Lapin, ni les figures 32, 33 et 34 du Mémoire sur le Chien.

La ligne primitive que Bischoff fait apparaître au neuvième jour se montre très-nettement au commencement du septième.

Hensen est le seul embryologiste qui depuis Bischoff ait fait des recherches suivies sur le développement du Lapin. L'éminent professeur de Kiel est l'un de ceux qui ont le plus largement contribué à faire progresser nos connaissances embryologiques durant ces vingt dernières années. C'est Hensen qui le premier a fait des coupes microscopiques à travers de jeunes embryons de Poulet ; c'est encore lui qui a introduit dans l'étude de l'embryogénie du Lapin cette méthode précieuse à l'emploi de laquelle se rattachent les principales découvertes récentes qui ont été faites en matière d'embryologie.

Les recherches de Hensen ont été faites plusieurs années avant leur publication ; son mémoire a paru en même temps que ma communication préliminaire. Confirmant en cela les observations de Bischoff chez le Chien et celles de Coste, Hensen a reconnu que chez le Lapin la tache embryonnaire se développe en un lieu de la vésicule blastodermique qui correspond au point où le reste vitellin se maintient pendant quelque temps sous forme d'un amas de globes de segmentation faisant saillie dans la cavité blastodermique. Il donne à cet amas le nom d'éminence germinative (*Keimhügel*). Il a vu, en outre, que ces globes du reste vitellin donnent naissance au feuillet interne de l'embryon, et qu'ils sont accolés à la face interne d'une couche de cellules plates. Il décrit un œuf d'un demi-millimètre de diamètre, auquel il a reconnu une constitution identique à celle du blastocyste que j'ai fait connaître sous la désignation de Stade V. Hensen ajoute : Les cellules de l'éminence germinative d'abord disséminées se réunissent dans des phases plus avancées, de façon à donner naissance à une couche continue, qui est le feuillet interne de la tache embryonnaire. C'est là une erreur : dans le stade qui succède immédiatement à celui qui est caractérisé par « *eine diffuse Verbreitung des Keimhügels*, » les cellules isolées de la périphérie du gastrodisque changent simplement de forme, elles s'aplatissent en même temps qu'elles deviennent plus transparentes, et elles donnent naissance *in situ* à l'hypoblaste de la région didermique. Hensen n'a pas vu davantage que les cellules profondes de la tache embryonnaire subissent en même temps

la même transformation. Cette lacune dans ses observations doit être attribuée à la difficulté sinon à l'impossibilité de reconnaître ces faits par l'examen exclusif de vésicules fraîches.

L'ignorance dans laquelle l'éminent physiologiste est resté à cet égard a entraîné comme conséquences d'autres erreurs :

1° Hensen, confirmant en cela la manière de voir de Bischoff, considère la tache embryonnaire comme le lieu d'origine de l'hypoblaste. Il admet une extension progressive de ce feuillet à partir des bords de la tache embryonnaire (*Keimscheibe*). Il existerait donc un moment où l'hypoblaste ne se trouverait que dans les limites de la tache. Ce stade n'existe pas. La tache embryonnaire et la région didermique de la vésicule ne sont que des parties du gastrodisque qui a été confondu par tous les embryologistes avec la tache embryonnaire. L'un et l'autre sont appelés indifféremment *Fruchthof* ou *Keimscheibe*. La *Keimscheibe* n'est, au contraire, que la partie centrale de l'éminence germinative diffuse de Hensen si bien défini par ces mots : « die Zellen des Keimhügels liegen so vertheilt dass sie im Centrum dicht und z. Th. mehrschichtig lagern, nach der Peripherie zu dagegen mehr und mehr verstreut auftreten. »

2° Hensen n'a pas vu que les jeunes taches embryonnaires ont dès le début, quand elles sont encore irrégulières et à plus forte raison quand elles sont devenues circulaires, trois couches de cellules. Il fait apparaître le mésoderme simultanément avec la ligne primitive ; il a constaté l'impossibilité de délimiter ces deux feuillets dans la ligne primitive et il admet suivant cette direction une fusion du feuillet interne avec les deux autres. Il conclut à la formation du mésoderme aux dépens des deux feuillets primordiaux, le long de la ligne primitive et autour de son extrémité antérieure, que Hensen a appelée le *nœud*. Toute cette manière de voir est en opposition avec mes propres observations. Il est incontestable qu'à certain moment de l'évolution de la ligne primitive le mésoblaste se continue le long de cet organe, avec le feuillet externe de l'embryon, et qu'il est alors impossible de les séparer. Mais quel est le caractère de cette continuité ? Il résulte du fait de la préexistence du mésoblaste établie par toutes mes

recherches, que cette continuité n'a pas sa cause dans l'origine épiblastique du feuillet moyen le long de la ligne primitive. *La fusion du feuillet externe et du feuillet moyen suivant la ligne primitive est secondaire.* Pour savoir comment elle s'opère, il ne suffit pas de constater qu'à certain moment elle existe; il faut étudier les stades successifs de la ligne primitive depuis le moment de son apparition.

C'est ce qui n'a été fait ni par Hensen ni par aucun des embryologistes qui se sont occupés jusqu'à présent du développement des mammifères.

Je publierai prochainement le résultat de l'étude approfondie que j'ai faite de cette question chez le Lapin.

Quant à la fusion de l'hypoblaste avec le feuillet moyen le long de la ligne primitive, fusion admise par Hensen, je ne l'ai observée à aucune phase du développement; en cela je ne puis que confirmer les observations de M. Kölliker.

Le seul point où le feuillet hypoblastique ne peut être décollé du tissu de la ligne primitive, c'est l'extrémité antérieure de cette ligne. Au niveau du nœud découvert par Hensen, les trois feuillets sont réellement en continuité l'un avec l'autre. *Le feuillet interne se continue directement en ce point avec l'épiblaste. Aux deux côtés de la ligne médiane, et en arrière du point où se fait l'inflexion de l'hypoblaste pour se mettre en continuité avec l'épiblaste, il est impossible de marquer la limite entre le feuillet moyen et les deux autres feuillets.*

Sur la ligne médiane, en avant du nœud, l'hypoblaste forme une gouttière, dont la voûte épaissie et formée par des cellules cylindriques constitue l'origine de la corde dorsale. Au niveau du nœud, la gouttière se ferme en un canal qui se relève aussitôt pour se mettre en continuité avec l'épiblaste. La notocorde vient se terminer en arrière dans la courbe que décrit ce tube, et à la paroi postérieure de ce tube vient se terminer la ligne primitive. Il n'y a donc pas de doute que chez les mammifères la notocorde ne soit au début un épaississement de l'hypoblaste, comme Hensen l'a découvert, et ici encore une fois M. Kölliker s'est complètement trompé, quand il soutient que cet organe se conti-

nue à son
tive. M. Kö
il eût rema
tube que
s'établit en
une cloison
du tissu de
sujet que j
ajouter enc
que ce fai
table, Hens
la ligne pri
encore circ
début de la
gane qui m
celle-ci n'a

Quelque
todermique
Weil, Sch

D'après
merait ché
de cellules
reste vitel

Weil a
mique de
jours neu
vitellin, p
naire. Il f
jour.

Schäfer
même ten
de cette c
mammali

(1) SCHAEFER
of Develop

nue à son extrémité postérieure avec le tissu de la ligne primitive. M. Kölliker n'a pas vu cette extrémité de la notocorde, sinon il eût remarqué l'invagination en gouttière et plus en arrière en tube que forme là l'hypoblaste; il eût constaté la continuité qui s'établit en ce point entre l'hypoblaste et l'épiblaste et qui forme une cloison transversale séparant complètement la corde dorsale du tissu de la ligne primitive. Mais je ne veux pas insister sur ce sujet que je traiterai *in extenso* dans un prochain travail. Je veux ajouter encore cependant que, sans y attacher toute l'importance que ce fait mérite, sans l'avoir interprété dans son sens véritable, Hensen a reconnu le premier que *le nœud apparaît avant la ligne primitive, et cela au moment où la tache embryonnaire est encore circulaire*. Seulement Hensen a pensé que c'était là le début de la ligne primitive, ce qui est inexact : *le nœud est l'organe qui marque la limite antérieure de la ligne primitive, et celle-ci n'apparaît que plus tard en arrière du nœud*.

Quelques observations sur la constitution de la vésicule blastodermique et sur son développement ont été faites par Reichert, Weil, Schäfer, Lieberkühn et Kölliker.

D'après Reichert, aussitôt la segmentation terminée, il se formerait chez le Lapin une vésicule formée par une rangée unique de cellules. A la face interne de cette vésicule s'appliquerait le reste vitellin et celui-ci serait l'origine de la tache embryonnaire.

Weil admet avec Bischoff et Remak un stade monodermique de la vésicule blastodermique. Dans des œufs de cinq jours neuf heures, il ne put retrouver aucune trace du reste vitellin, pas plus qu'il ne put y découvrir de tache embryonnaire. Il fait apparaître la tache embryonnaire à la fin du sixième jour.

Schäfer (1) a fait l'étude de quelques œufs utérins trouvés en même temps dans l'utérus d'une Chatte. Il a publié le résultat de cette observation dans une note intitulée : « Description of a mammalian Ovum in an early condition of Development. »

(1) SCHAEFER, E. A. *Description of a mammalian Ovum in an early condition of Development*. PROC. ROYAL SOC. 1876.

Cette note contient deux faits intéressants : le premier c'est que dans ces œufs, quoique tout jeunes, puisqu'il n'existait encore aucune trace de la ligne primitive, l'hypoblaste formait une vésicule complète inscrite dans la vésicule épiblastique. Chez le Lapin, l'hypoblaste ne gagne le pôle inférieur que très-tard, si même il s'étend jamais sur toute la surface de l'épiblaste. Au neuvième jour, une partie du blastocyste est encore monodermique.

La seconde observation digne d'être signalée est relative à l'existence d'une lamelle sans structure entre l'épiblaste et l'hypoblaste. Schäfer la considère comme étant une production cuticulaire du feuillet interne et l'appelle « *Membrana limitans hypoblastica*. » Hensen a trouvé une membrane semblable (pl. IX, fig. 19) dans une coupe longitudinale de la tache embryonnaire d'un blastocyste de Lapin de 7 jours et 7 heures; il l'appelle dans l'explication des planches « *membrana prima* ». J'ai trouvé au début de mes recherches, sur des coupes assez épaisses d'un embryon mal conservé, une lamelle semblable; mais les nombreuses séries de coupes bien réussies que je possède d'aires embryonnaires, à partir de cinq jours, faites sur des embryons préparés au moyen du liquide de Kleinenberg, ne montrent rien de pareil. Je pense donc qu'il s'agit d'un produit artificiel et que la « *membrana limitans hypoblastica* » de Schäfer est le résultat d'une coagulation se produisant dans certaines conditions accidentelles.

Pour ce qui concerne la constitution des feuillets et de l'aire embryonnaire, les observations de Schäfer sont très-défectueuses : ses œufs ont été traités par le bichromate de potasse et ses coupes ont été faites après inclusion dans la gomme. Cette méthode est mauvaise : j'ai constaté que les solutions de bichromate de potasse et d'ammoniaque altèrent profondément les cellules; par contre, elles ont l'avantage de faciliter beaucoup le décollement des feuillets : si l'on veut isoler les feuillets, le traitement par ces réactifs est la meilleure méthode que l'on puisse employer. C'est à l'action du bichromate qu'est due, sans aucun doute, la formation de la cavité que M. Schäfer a observée entre l'épiblaste et l'hypoblaste. Mais quand il s'agit d'étudier la constitution des feuillets, de préparer les œufs pour en faire des

coupes, bichromate montre altérés. des préparées par coupes externe aucune des cellules Lieberkuhn dermique embryonnaire formé d'une r aux bord eyste. D mesurati tingué moyen moyen externe toutes r

M. Hensen apparaît de 1.63 deux fe embryon décrit mm. s constitu embry

(1) L

coupes, ce procédé doit être rejeté à cause des altérations que les bichromates font subir aux cellules. Les figures de M. Schäfer montrent clairement qu'il a eu à faire à des tissus profondément altérés. Je sais par expérience ce que vaut cette méthode et j'ai des préparations très-semblables à celles qui ont été représentées par M. Schäfer, fig. 2, fig. 3 et fig. 4; jamais dans des coupes faites à travers des embryons bien préparés, le feuillet externe pas plus que le feuillet interne ne montrent à cet âge aucune trace de stratification; jamais ils ne sont constitués par des cellules arrondies.

Lieberkühn (1) a étudié la constitution de la vésicule blastodermique de la Taupe. Dans un œuf de 2 millimètres, la tache embryonnaire serait constituée de deux feuillets, l'un externe formé de plusieurs assises de cellules arrondies, l'autre interne, d'une rangée unique de cellules plates. Celui-ci se continuerait aux bords de la tache avec la portion monodermique du blastocyste. Dans un œuf un peu plus âgé, dont l'aire embryonnaire mesurait environ un millimètre de longueur, Lieberkühn distingue en avant trois feuillets, tandis qu'en arrière le feuillet moyen se trouve confondu avec le feuillet externe. Le feuillet moyen se formerait donc par délamination aux dépens du feuillet externe primitif. Ces résultats sont en opposition formelle avec toutes mes observations.

M. Kölliker n'a rien ajouté aux données de Bischof et de Hensen, sur la formation de la vésicule blastodermique. Il fait apparaître la tache embryonnaire dans des vésicules mesurant de 1.65 à 2 mm. de diamètre. Il la trouve constituée alors de deux feuillets et comme ses prédécesseurs il considère la tache embryonnaire comme le lieu d'origine du feuillet interne. Il décrit ensuite une vésicule âgée de sept jours, mesurant 3.47 mm. sur 2.85 mm., La tache embryonnaire de cet œuf, il la trouve constituée de deux feuillets. Tout cela est inexact : la tache embryonnaire est déjà parfaitement reconnaissable au milieu du

(1) LIEBERKÜHN, *Marburger Sitzungsberichte*, n° 5 und 6. 1875.

gastrodisque, dans des blastocystes de 0.75 mm.; le feuillet interne ne procède pas de la tache embryonnaire, et dans les vésicules de 1.65 à 2 mm., aussi bien que dans celles de 7 jours, il existe dans l'aire embryonnaire non pas deux, mais trois feuillets. La plus jeune vésicule dont M. Kölliker ait obtenu des coupes avait 7 jours d'âge; elle mesurait 3.47 sur 2.85 mm. Elle correspond à peu près à mon stade IX. M. Kölliker n'a pas remarqué que si l'on examine avec quelque attention, en se servant d'un grossissement faible, l'aire embryonnaire d'une semblable vésicule, on y distingue deux régions d'opacités différentes, que j'ai désignées sous les noms de région circulaire et de croissant. La coupe que figure M. Kölliker a été faite à travers la région circulaire, et l'éminent auteur du « *Traité complet du développement de l'Homme et des Animaux supérieurs* » n'a pas pris la peine de vérifier si la constitution de la tache reste la même dans toute son étendue.

M. Kölliker n'a pas fait de coupes de vésicules mesurant moins de 3.47 sur 2.85 mm.

Il n'a fait aucune observation personnelle pour élucider la question de l'origine de l'endoderme. Il se fonde sur les données de Bischoff, de Coste, de Reichert et de Hensen pour exprimer l'opinion formulée, du reste bien avant lui, d'après laquelle le feuillet végétatif dériverait du reste vitellin.

« *Alles zusammengenommen scheint mir doch auch die Mehrzahl der vorliegenden anderen Beobachtungen dafür zu sprechen dass der Rest der Furchungskugeln zur Anlage des Entoderma wird.* » A mon avis les observations de Hensen ne laissent aucun doute sur ce point.

Quant à la tache embryonnaire, elle puiserait son origine dans un épaissement local de l'ectoderme, résultant de l'accroissement et de la transformation des cellules de ce feuillet. En cela encore, M. Kölliker se trompe; la transformation des cellules ectodermiques plates en cellules prismatiques s'opère vers la fin du sixième jour et la tache est déjà bien apparente au début du cinquième. Cette transformation a pour résultat, en effet, de rendre la tache plus visible; mais pour être moins distincte,

elle n'en
les stade

Une
toute pe
chez le l

proliféra
n'est pas

J'ai dém

tement r

cède de

J'exposer

faites sur

résulte q

épaississe

rapide d

primitive

avec lui,

elle n'en existe pas moins dès le début du cinquième jour. (Voir les stades V, VI et VII.)

Une autre question sur laquelle M. Kölliker a une opinion toute personnelle, c'est l'origine du feuillet moyen. D'après lui chez le Lapin, comme chez le Poulet, la ligne primitive consiste dans un épaissement de l'ectoderme; elle est le résultat d'une prolifération des cellules de ce feuillet. Et cet épaissement n'est pas autre chose que la première trace du feuillet moyen. J'ai démontré par le présent travail que M. Kölliker a complètement méconnu l'origine du mésoblaste et que ce feuillet précède de deux jours au moins l'apparition de la ligne primitive. J'exposerai dans un prochain mémoire les observations que j'ai faites sur l'origine de la ligne primitive chez le Lapin. Il en résulte que l'apparition de cet organe n'a pas sa cause dans un épaissement de l'ectoderme, mais bien dans une prolifération rapide des cellules du feuillet moyen. Le mésoblaste épaissi, primitivement distinct de l'épiblaste, se soude secondairement avec lui, suivant la ligne primitive.

CONCLUSIONS.

1° A la fin de la segmentation, au moment où l'œuf pénètre dans l'utérus, l'embryon est constitué de deux couches cellulaires distinctes : l'une forme à sa surface le feuillet ectodermique, l'autre constitue la masse endodermique ;

2° Il existe encore à ce moment une solution de continuité dans l'ectoderme. C'est le blastopore. L'embryon est une gastrula qui se forme par épibolie dans le cours du fractionnement. Cette forme embryonnaire, je l'ai appelée *Metagastrula* ;

3° La fermeture du blastopore se fait généralement peu de temps après la pénétration de l'œuf dans l'utérus, avant l'apparition de la fente blastodermique. Exceptionnellement, on trouve encore le blastopore quand la cavité blastodermique présente déjà un certain développement. La position de cet orifice paraît être excentrique relativement au futur gastrodisque. Après son occlusion, le blastopore ne laisse aucune trace dans l'ectoderme ;

4° L'ectoderme constitue dès lors une vésicule close. Le reste vitellin qui n'est autre chose que la masse endodermique, n'est pas intercalé dans la vésicule, mais accolé à sa face interne. Les modifications successives que subissent les cellules du feuillet externe s'accomplissent simultanément sur tous les points de l'étendue de la vésicule ;

5° La masse endodermique s'étale à la face interne de l'ectoderme en une plaque épaissie à son milieu, plus mince suivant ses bords. La partie de la vésicule ectodermique, à

la face interne de laquelle s'applique la lame endodermique, forme avec elle le *gastrodisque*. L'épaississement médian du gastrodisque est le début de la tache embryonnaire. Elle apparaît nettement au milieu du gastrodisque dès le début du cinquième jour ;

6° Les cellules marginales de la plaque endodermique s'éparpillent isolément à la face interne de l'ectoderme dans la zone périphérique du gastrodisque, tandis qu'à son centre, ces cellules adhèrent les unes aux autres et forment plusieurs assises cellulaires ;

7° Au commencement du sixième jour, les cellules de la zone périphérique du gastrodisque et les cellules profondes de la tache centrale se sont transformées en cellules plates, de façon à constituer ensemble un feuillet cellulaire continu, qui est l'hypoblaste. Les cellules de la tache centrale qui n'ont pas subi cette transformation constituent une couche intermédiaire entre l'ectoderme et l'hypoblaste ; cette couche est le mésoblaste. L'hypoblaste et le mésoblaste dérivent donc de l'endoderme primitif. La tache embryonnaire est alors tridermique ; la zone périphérique du gastrodisque est didermique ; le reste du blastocyste est monodermique. A ce moment, l'ectoderme de la tache que nous appellerons dès à présent l'épiblaste est encore formé de grandes cellules pavimenteuses ;

8° A la fin du sixième jour, l'épiblaste de la tache change de caractère ; de pavimenteux qu'il était, il devient un epithelium prismatique ou cylindroïde par transformation et prolifération de ses cellules. C'est à partir de ce moment que la tache embryonnaire devient très-apparente ;

9° Les cellules ectodermiques plates, et surtout les cellules de l'hypoblaste, présentent une structure réticulée des plus manifestes. Le protoplasme des cellules de l'épiblaste

est toujours constitué en partie de bâtonnets bacilliformes qui ressemblent étonnamment à des Bactéries ;

10° La tache embryonnaire, d'abord circulaire, devient ensuite ovalaire, puis pyriforme. Alors que la tache est encore circulaire, mais surtout au moment où elle prend la forme d'un ovale, la partie centrale de la tache est plus claire que sa périphérie. C'est probablement cette circonstance qui a donné lieu à la méprise de Bischoff, qui a admis chez les mammifères une *Area pellucida*, et une *Area opaca* ;

11° Le changement de forme de la tache est dû au développement de son extrémité postérieure. Le bord postérieur de la tache s'élargit et s'étend d'avant en arrière pour donner naissance au croissant. L'aire embryonnaire se constitue dès lors de deux parties distinctes ;

12° Primitivement, le mésoblaste s'étend dans toute la tache embryonnaire. Au début du septième jour, il ne se trouve plus que dans les limites du croissant, c'est-à-dire à l'extrémité postérieure et sur les côtés de l'embryon. La région circulaire est devenue didermique. Ce retrait du mésoderme coïncide avec l'éclaircissement de la partie médiane de l'aire embryonnaire et avec la naissance du croissant ;

13° La théorie de M. Kölliker sur l'origine du mésoblaste est, en ce qui concerne le Lapin, en contradiction formelle avec les faits. Le feuillet moyen existe deux jours au moins avec la première trace de la ligne primitive.

14° Le nœud de Hensen apparaît avant la ligne primitive, au centre de la région circulaire.

EXPLICATION DES PLANCHES.

Les figures 1, 2, 3, 4, 6, 7 et 11 de la planche IV, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 et 11 de la planche V, 1, 2, 6, 11, 12 et 13 de la planche VI, sont faites au même grossissement (objectif 8 de Hartnack) et à l'aide de la chambre claire de Hartnack.

Les figures 5, 8, 9 et 10 de la planche IV, 1 et 7 de la planche V, 5 de la planche VI, présentent le même agrandissement. Elles ont été dessinées à la chambre claire et grossies par l'objectif 4 de Hartnack.

Les figures 4 et 5 de la planche VI ont été dessinées à la chambre claire de Hartnack, appliquée au microscope simple.

Les figures 7, 8, 9 et 10 de la planche VI ont été faites à l'aide de la chambre claire au 10 à immersion de Hartnack.

PLANCHE IV.

- Fig. 1. Stade I. La métagastrula dessinée d'après le vivant.
- Fig. 2. Idem, d'après une préparation au nitrate d'argent. Le dessin représente l'aspect de la surface, le blastopore étant tourné vers l'observateur.
- Fig. 3. Le même embryon vu à la coupe optique, le blastopore ayant été amené dans cette coupe.
- Fig. 4. Stade II. La masse cellulaire de l'embryon remplit complètement la cavité circonscrite par la zone pellucide. Le blastopore n'existe plus. Préparation à l'acide osmique et au liquide de Müller.
- Fig. 5 et 6. Stade III. Montrant le commencement de la cavité blastodermique. La figure 5 représente l'œuf entouré de son épaisse couche albuminoïde vu à un faible grossissement (obj. 4 de Hartnack). La figure 6 représente le même embryon au 8 de Hartnack. Préparation au liquide de Müller après l'action de l'acide osmique.
- Fig. 7. Portion d'une vésicule un peu plus volumineuse que celle qui a été représentée fig. 6. On voit une cellule endodermique engagée entre les cellules ectodermiques. Cette disposition exceptionnelle je ne l'ai rencontrée que deux fois. Elle s'explique par une persistance anormale du blastopore. Préparation à l'acide osmique et au liquide de Müller.
- Fig. 8, 9 et 10. Vésicules de plus en plus volumineuses, montrant l'extension progressive de la cavité blastodermique et la transformation de la masse cellulaire endodermique en une plaque plus épaisse à son milieu, plus mince suivant ses bords. (Obj. 4.)
- Fig. 11. Stade IV. L'hémisphère inférieur est représenté vu à sa surface; l'hémisphère supérieur à la coupe optique. Préparation à l'acide osmique et au liquide de Müller.
- Fig. 12. Vésicule du stade V telle qu'elle se présentait vue à la loupe avant l'action d'aucun réactif.

PLANCHE V.

- Fig. 1. Stade V. Vésicule blastodermique traitée par le nitrate d'argent et colorée par le picocarminate; incisée à partir du pôle inférieur suivant des lignes plus ou moins exactement méridiennes. La portion monodermique du blastocyste est teinte en brun; les cellules ectodermiques de cette région réduisent le nitrate d'argent. Les cellules ectodermiques du gastrodisque n'exercent pas la même action sur le sel d'argent. Les noyaux des cellules ectodermiques, partout colorés en rose, n'ont pas été dessinés pour rendre la figure plus claire. Les cellules endodermiques sont représentées par un oval, rose. Leurs grands noyaux qui se colorent fortement en rouge par le picocarmin, ne se distinguent pas, au 4 de Hartnack du corps cellulaire, réduit à une mince couche de protoplasme qui se teinte légèrement en rouge brun. Ces cellules sont serrées les unes contre les autres et forment plusieurs assises au centre du gastrodisque, où se marque nettement, grâce à cette circonstance, la tache embryonnaire. A la périphérie du gastrodisque, les cellules endodermiques sont isolées. (Portion didermique du blastocyste.) La forme et les dimensions de la tache embryonnaire, celles du gastrodisque et les dimensions des cellules ectodermiques sont exactes, ayant été dessinées à la chambre claire. (Obj. 4 de Hartnack.)
- Fig. 2. Cellules de l'ectoderme dans la région monodermique après l'action du nitrate d'argent. (Obj. 8 de Hartnack; chambre claire de Hartnack.)
- Fig. 3. Petite partie de la tache embryonnaire de la préparation représentée fig. 1. La substance unissante de l'ectoderme forme des bandes étroites, colorées en brun sur la préparation et limitées par des contours irréguliers. Les noyaux des cellules ectodermiques ont une teinte d'un rose tirant un peu sur le jaune. Les noyaux des cellules endodermiques sont sphériques et colorés en rose. Ces cellules forment manifestement deux assises superposées. (Obj. 8 avec ch. cl. de Hartnack.)
- Fig. 4. Portion de la région périphérique du gastrodisque. (Obj. 8 et ch. cl. de Hartnack.)
- Fig. 5. Idem, d'un autre vésicule. Les cellules endodermiques, assez nombreuses, sont pour la plupart coupées par les lignes noires qui marquent les limites des cellules ectodermiques. Le cercle représente la limite du champ du microscope. (Dessiné exactement. Obj. 8 et ch. cl. de Hartnack.)
- Fig. 6. Quelques cellules amœboïdes de l'endoderme d'un autre blastocyste du même âge, d'après une préparation au nitrate d'argent colorée par le picocarmin.
- Fig. 7. Stade VI. Portion d'un blastocyste incisé suivant des lignes méridiennes. Dessiné à la chambre claire, au même grossissement que fig. 1. La région monodermique et les presqu'îles et îlots monodermiques sont indiqués par une teinte brune, pour les motifs indiqués plus haut. Les cellules de cette région étaient parfaitement semblables à celles que j'ai représentées fig. 2.

Dans le gastrodisque très-irrégulier, on distingue au centre la tache embryonnaire qui est elle-même irrégulière. Les *noyaux* des cellules de l'hypoblaste et du mésoblaste sont colorés en rose. C'est l'abondance des noyaux colorés dans la tache embryonnaire qui la rend si distincte au milieu du gastrodisque. Dans l'aire embryonnaire et dans la portion avoisinante de la région didermique du gastrodisque, les contours des cellules de l'hypoblaste sont faiblement marqués par le nitrate d'argent. A la périphérie du gastrodisque ces contours n'étaient pas visibles. (Obj. 4 et ch. cl. de Hartnack.)

- Fig. 8. Portion de la tache embryonnaire et de la région didermique du même blastocyste plus fortement grossie. La tache se distingue par l'existence d'une couche de petites cellules granuleuses, non délimitées par le nitrate d'argent, entre l'épiblaste et l'hypoblaste. Ces cellules manquent dans la région didermique.
- Fig. 9. Portion de la périphérie du gastrodisque. A la face interne de l'ectoderme se voient quelques cellules endodermiques aplaties et en partie isolées.
- Fig. 10 et 11. Cellules ectodermiques montrant dans la figure 10 un noyau étranglé, dans la figure 11 un noyau fragmenté.

PLANCHE VI.

- Fig. 1. Coupe à travers la région didermique d'un blastocyste du stade VI. (Obj. 8 et ch. cl.)
- Fig. 2. Coupe de l'aire embryonnaire du même blastocyste, semblable à celui que j'ai figuré pl. V, fig. 7. Préparation à l'acide chromique, coloré par l'hématoxyline. A l'extérieur se voit la zone pellucide tapissée à sa face interne par trois rangées de cellules. (Obj. 8 et ch. cl.)
- Fig. 3. Aire embryonnaire du stade VII. L'hypoblaste n'a pas été du tout figuré. Seuls les contours des cellules ectodermiques ont été indiqués; leurs noyaux colorés en rose sur la préparation ont été négligés pour ne pas compliquer la figure. Dans l'épiblaste de l'aire embryonnaire on ne trouve plus seulement de grandes cellules plates, mais aussi de petites cellules disposées par groupes. Les unes et les autres sont délimitées par le nitrate d'argent. C'est là l'indication de la transformation des cellules pavimenteuses en cellules prismatiques, le passage de l'épithélium plat des stades précédents à l'épithélium prismatique des stades subséquents. Le mésoblaste a été entièrement représenté. Les noyaux des cellules de ce feuillet sont colorés en rose sur le dessin. (Obj. 4 et ch. cl. de Hartnack.)
- Fig. 4. Stade VIII. L'aire embryonnaire est encore circulaire; on distingue au milieu une partie éclaircie, à la périphérie un anneau obscur, plus large en arrière, plus rétréci, mais plus foncé en avant. Autour de la tache j'ai représenté la région didermique. Les extrémités des lambeaux de l'étoile membraneuse sont des portions de la région monodermique du blastocyste. (Dessiné au microscope simple avec deux lentilles d'un triplet de Brücke et la chambre claire de Hartnack.)

- Fig. 5. Stade IX. La tache embryonnaire un peu plus longue que large se constitue de deux parties : d'une région circulaire et d'un croissant. Le bord de la région circulaire est beaucoup plus foncé que son milieu, surtout à l'extrémité antérieure de l'embryon. (Dessiné à la chambre claire, au même grossissement que la figure 4.)
- Fig. 6. Cellules ectodermiques d'un embryon de même âge, dessinées d'après le vivant, pour montrer le réticulum protoplasmique : a) vu à la surface externe, b) à la coupe optique des cellules. Dans le protoplasme se voient quelques corps bacilliformes.
- Fig. 7. Idem, d'après une préparation à l'acide osmique colorée par le picocarmin. Dans les noyaux on distingue une couche corticale plus foncée et plus colorée et un corps médullaire plus clair (Hyaloïde de Eimer). Dans le protoplasme se voient des corps bacilliformes. (Immersion 10 de Hartnack et ch. cl.)
- Fig. 8. Idem, d'après une préparation faite au moyen d'un blastocyste traité par le liquide de Kleinenberg et coloré par l'hématoxyline. Dans le noyau on distingue le corps médullaire clair. La couche corticale est très-finement granulée et renferme des éléments nucléoliformes, dont quelques-uns se prolongent en filaments. Dans le protoplasme un nombre énorme de corps bacilliformes. Les contours des cellules sont très-faiblement indiqués. (Immersion 10 et ch. cl. de Hartnack.)
- Fig. 9. Cellules de l'endoderme de la région didermique. Les contours des cellules ne sont pas visibles. Le réticulum protoplasmique d'une cellule paraît se continuer directement avec celui des cellules voisines. Préparation au nitrate d'argent, colorée par l'hématoxyline. (Immersion 10 de Hartnack et ch. cl.)
- Fig. 10. Idem, dans le voisinage de la tache embryonnaire. Les contours des cellules sont marqués par le nitrate d'argent. (Immersion 10 et ch. cl.)
- Fig. 11. Coupe transversale de l'aire embryonnaire représentée fig. 5, faite à peu près au niveau de la ligne pointillée a. Elle intéresse seulement la région circulaire et est constituée de deux couches cellulaires : d'un épiblaste prismatique et d'un hypoblaste pavimenteux. (Obj. 8 et ch. cl.) L'embryon a été durci par le liquide de Kleinenberg, coloré par le picocarmin, enchâssé dans le blanc de Baleine et les coupes sont montées dans le baume.
- Fig. 12. Idem. Coupe faite environ au niveau de la ligne b. Elle intéresse sur les côtés les cornes du croissant, au milieu la partie postérieure de la région circulaire. Les parties latérales de la coupe sont formées de trois feuillets cellulaires ; au milieu il n'en existe que deux.
- Fig. 13. Idem. Coupe faite à peu près au niveau de la ligne c. Elle intéresse exclusivement le croissant ; elle est tridermique dans toute sa largeur.