



ANNALES
DE LA
FACULTÉ DES SCIENCES
DE
L'UNIVERSITÉ
DE CLERMONT

SOMMAIRE

LIVRE JUBILAIRE
POUR LE 70^e ANNIVERSAIRE
DU PROFESSEUR RAYMOND HOVASSE

SOMMAIRE

	Pages
Le professeur Raymond HOVASSE	5
<i>Liste chronologique des publications du professeur Raymond HOVASSE</i>	9
Etienne WOLFF. — Problèmes généraux et problème spécial de la différenciation sexuelle	17
Jean ANDRÉ. — A propos d'une leçon sur la Limule.....	27
Jean DIDIER. — Protection de la nature en Auvergne : point de vue d'un ornithologue	39
Lucien GOMOT et Alain PROPPER. — Localisation de la phosphatase alcaline et des acides nucléiques dans la glande mammaire de l'embryon de Lapin.....	47
Louis JOYON. — Compléments à la connaissance ultrastructurale des genres <i>Hematococcus Flotow</i> et <i>Stephanosphaera pluviialis</i> Cohn.....	57
Hubert LUTZ. — Symétrisation de l'œuf d'Oiseau.....	71
Pierre DE PUYTORAC et Jacques SCHREVEL. — Nouvelles espèces de Ciliés astomes endoparasites d'Annélides Polychètes.....	85
Emile VIVIER. — Sexualité et conjugaison chez la Paramécie.....	101
Marguerite et Pierre CHAMPAGNAT. — Vers une étude expérimentale des problèmes de morphogenèse posés par <i>Neottia Nidus-Ans</i> Rich.....	115
Jean-Edmé LOISEAU. — Sur l'organisation du gynécée chez les Tropéolacées.	125
Pierre MARSAUD, Yvette COURTOT, et Lucien BAILLAUD. — La croissance et les mouvements révolutifs du haricot d'Espagne, <i>Phaseolus multiflorus</i>	149
LAPADU-HARGUES. — La symétrie dans les phénomènes physiques et biologiques.	175
PETERLONGO. — La température des sources dans les départements du Puy-de-Dôme et de la Creuse.....	183
Maurice ROQUES. — La notion de modèle en géochronologie.....	193

A PROPOS D'UNE LEÇON SUR LA LIMULE (1)

par

Jean ANDRÉ

*Institut de Recherches sur le Cancer,
Villejuif*

*et Collège Scientifique Universitaire,
Amiens (France)*

Du temps que j'étais assistant, il m'arrivait souvent d'aller par plaisir m'asseoir dans l'amphi pour écouter la parole de notre Maître, Raymond HOVASSE. Ses leçons, chaudes et simples débordaient de savoir, et tant pour la manière que pour la substance, j'ai, comme beaucoup d'autres, tiré grand profit de leur fréquentation. C'est ainsi qu'il y a six ou sept ans j'ai suivi le cours sur les Arthropodes. Le jour où les Xiphosures vinrent au programme, la voix de notre patron se fit plus convaincue encore qu'à l'ordinaire. Limule en main, il dessinait, décrivait, comparait, négligeant ses notes. Puis il revenait à la chaire, reprenait ses papiers pour un détail de distribution géographique ou d'anatomie interne, et retournait au tableau dessiner, d'après nature, l'aspect des chilaria, la gnathobase d'une coxa ou quelque autre trait de morphologie. Je crois que ce jour là, les zoologistes néophytes de l'assistance ont senti l'extraordinaire de l'animal en question. Cet oublié de l'Evolution, après avoir trompé des générations de Zoologistes, médusait les étudiants qui s'entendaient dire que ce qui leur paraissait un Crustacé un peu bizarre, était, somme toute, un proche parent des Araignées. Ce fut une très brillante leçon.

Lorsque les hasards de la vie scientifique m'amènèrent, voici trois ans, à proximité de la côte atlantique des États-Unis, sur laquelle *Xiphosura polyphemus* pullule au printemps, le souvenir de cette leçon me poussa à entreprendre un travail sur ces animaux. M'intéressant aux mitochondries, j'ai désiré savoir comment celles de ce réfractaire aux millénaires pouvaient bien être faites. Je fus très vite renseigné, et, dois-je l'avouer, déçu. Dès les premières coupes d'hépatopancréas, je vis des mitochondries fort ordinaires, ridiculement semblables à celles du foie de la Souris. Il y a un demi-milliard d'années, les mitochondries étaient, sans doute, déjà semblables à ce qu'elles sont maintenant, machines satisfaisantes que l'Evolution n'a pas eu besoin de remanier depuis.

Mais je fus servi de façon inattendue par une curiosité anatomique de la Limule. La fantaisie de la Création a, chez cet animal, mélangé intimement l'hépatopancréas et le

(1) Ce travail a été rendu possible par la subvention du Service de la Santé Publique des États-Unis, n° CRT-5007. Il a été fait lors d'un séjour au Département de Biologie, à Brown University, Providence, Rhode Island (U.S.A.) sous la direction des Professeurs J. WALTER WILSON et Elizabeth H. LEDUC que je tiens à remercier ici de leur accueil, de leur aide et de leurs conseils.

testicule. Mes coupes contenaient en abondance des champs de tubes testiculaires, et c'est dans le spermatozoïde que j'ai trouvé matière à observation nouvelle.

La tête du spermatozoïde est sphérique, coiffée d'un acrosome en forme de calotte (fig. 1, 3 et 12). A son pôle postérieur est appendu un sac cytoplasmique contenant quelques mitochondries assez banales, homologue très fruste d'une pièce intermédiaire. Le flagelle enfin n'a rien de remarquable ; son corpuscule basal est fiché dans le pôle postérieur du noyau (fig. 12). C'est, au total, un spermatozoïde peu évolué, et cela n'a rien de surprenant. Mais il possède un trait remarquable : le noyau est traversé de part en part, d'un pôle à l'autre, par un canal dans lequel se trouve une baguette qui dépasse aux deux pôles (fig. 1, 2 et 12). Au pôle antérieur, elle ne dépasse que faiblement et se termine au contact de l'acrosome, dans lequel il semble qu'elle ne pénètre pas (fig. 17) ; au point contact, l'acrosome possède un globule d'aspect légèrement différent de la substance avoisinante. Au pôle postérieur, elle dépasse très longuement : après avoir longé le centriole, elle s'enroule autour de la base du noyau en une couronne hélicoïdale de six à huit tours de spire, logée, et ceci est très

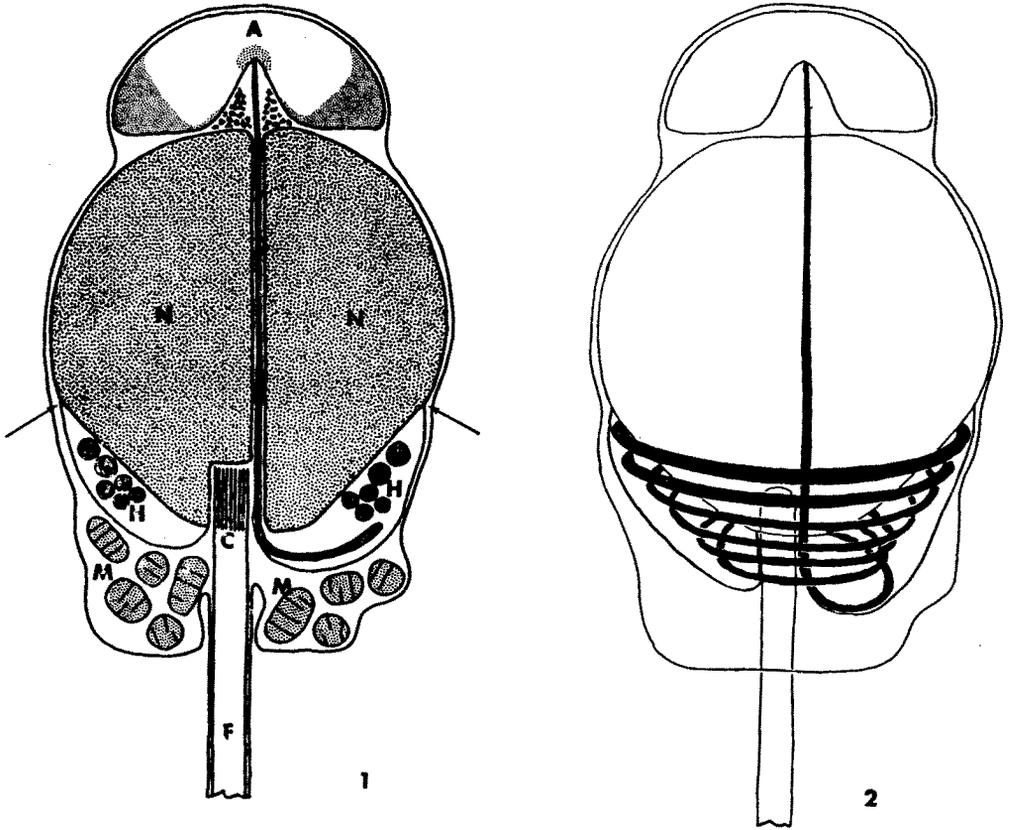


FIG. 1. — Coupe sagittale de la partie antérieure d'un spermatozoïde de *Limule*. Le noyau *N* est à peu près sphérique. A son pôle antérieur il est coiffé de l'acrosome *A* formé de deux parties principales d'opacité différente (voir aussi fig. 16), et d'un globule de faible volume au point de contact avec la baguette intranucléaire (voir aussi fig. 17). A son pôle postérieur est fiché le centriole *C*. A l'arrière du noyau se trouve la pièce intermédiaire qui contient des mitochondries *M*. *F* : flagelle. Le noyau est traversé d'un canal axial parcouru par une baguette rectiligne qui se termine à l'avant sous l'acrosome, et qui, à l'arrière, s'enroule dans l'espace périnucléaire dilaté, en une couronne hélicoïdale à six tours de spire *H*. Les flèches indiquent les points où les deux feuillettes de l'enveloppe nucléaire s'écartent l'un de l'autre (voir aussi fig. 18).

FIG. 2. — Schéma tridimensionnel montrant la baguette intranucléaire et la couronne hélicoïdale sous-nucléaire logée dans l'espace périnucléaire.

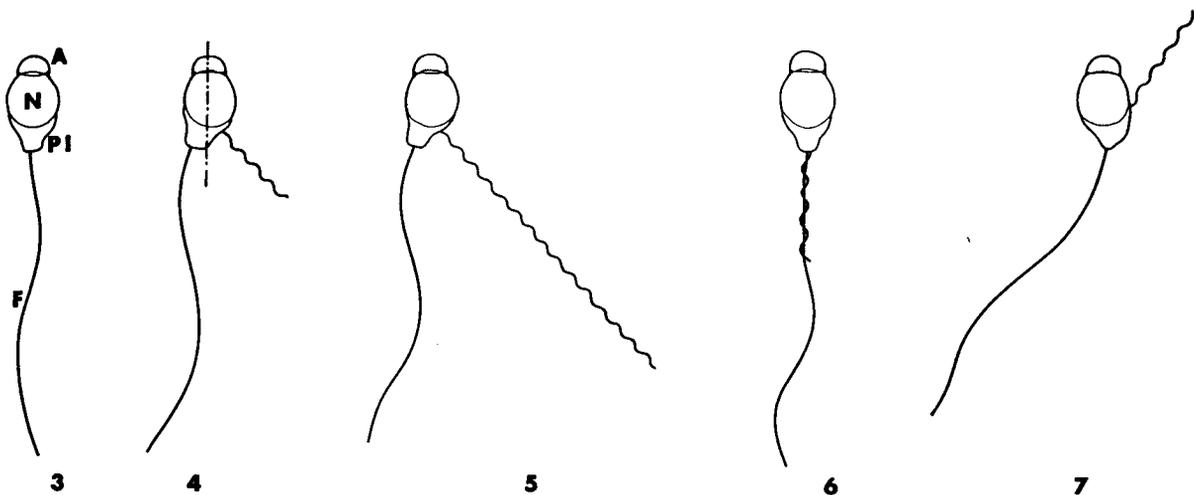


FIG. 3. — Spermatozoïde intact (contraste de phase). *A* : acrosome ; *N* : noyau ; *PI* : pièce intermédiaire ; *F* : flagelle.

FIG. 4. — Début de la fausse réaction acrosomienne. Un filament ondulé (en réalité hélicoïdal) sort de la partie supérieure de la pièce intermédiaire. Celle-ci n'occupe plus une position axiale ; elle est déplacée latéralement.

FIG. 5. — Fin de la fausse réaction acrosomienne. Le filament hélicoïdal atteint une longueur supérieure à celle du flagelle. Sa portion distale est un peu plus grosse que sa portion proximale.

FIG. 6. — Fausse réaction acrosomienne à son début, dans laquelle le filament hélicoïdal emprisonne le flagelle dans ses spires. La portion emprisonnée est immobile.

FIG. 7. — Fausse réaction acrosomienne à son début, dans laquelle le filament hélicoïdal est orienté vers l'avant.

étonnant, dans l'espace périnucléaire, dilaté à cet endroit (fig. 1, 2 et 18). La longueur totale de l'organite est d'environ 50μ . Son diamètre augmente progressivement depuis sa pointe antérieure (500 à 600 Å) jusqu'à sa terminaison (1 500 à 1 700 Å) ; au centre du noyau, il est d'environ 1000 Å. Du point de vue structural, c'est un faisceau de fibrilles de 80 Å entouré d'une membrane simple (fig. 18). Les fibrilles, très tassées, sont disposées de façon répétitive, le motif de l'arrangement étant l'hexagone centré. Elles ne sont pas exactement parallèles entre elles : chacune d'elles est inclinée légèrement par rapport à ses voisines, l'inclinaison se répétant régulièrement de proche en proche. Il y a tout lieu de croire qu'elles décrivent une hélice à pas très long.

Par sa forme, sa structure et sa position dans la cellule, l'organite en question n'a, à l'heure actuelle, aucun homologue connu. C'est donc un trait anatomique étrange de plus, celui-là d'échelle ultrastructurale, à mettre au compte de la Limule.

Sans être finaliste — les élèves de Raymond HOVASSE s'en gardent bien — la question me vint immédiatement de savoir quelle est la fonction de cet organite inhabituel. Je diluai alors du sperme dans de l'eau de mer et l'observai entre lame et lamelle. Ainsi traités, les spermatozoïdes les plus proches du bord de la lamelle présentent deux sortes de modifications. La plus fréquente, qui concerne environ 95 % des cellules, est l'émission d'un filament hélicoïdal dirigé le plus souvent vers l'arrière (fig. 4-6). Ce filament croît lentement : si le sperme est fraîchement dilué, il met une heure environ à acquérir sa longueur maximum, qui est voisine de 50μ , si bien que sa croissance est facile à observer. Elle procède par à-coups et le filament progresse par un mouvement de rotation et non par un simple mouvement de translation. En d'autres termes, l'allongement de l'hélice ressemble à la pénétration dans un bouchon, d'un tire-bouchon que l'on enfonce de manière saccadée. La croissance est plus rapide si le sperme a été dilué, puis abandonné quelque temps avant d'être examiné : après une heure de repos en bécher, la croissance du filament se fait en moins de dix minutes. Il faut

souligner que dans aucun cas je n'ai vu la poussée du filament amorcée dans le bécber. Dans les conditions que j'ai employées, c'est le montage entre lame et lamelle qui déclenche le phénomène. De plus, il existe un gradient entre les bords et le centre de la lamelle. Après une heure d'observation, le nombre des spermatozoïdes ayant réagi est encore presque nul au centre de la lamelle, alors que sur les bords ils ont pratiquement tous réagi, soit par la poussée du filament hélicoïdal postérieur décrit ci-dessus, soit par la poussée du filament antérieur décrit ci-dessous. Le plus souvent, le filament hélicoïdal est dirigé vers l'arrière, faisant avec le flagelle un angle variable, inférieur à 90° (fig. 4 et 5). Plus rarement, il occupe d'autres positions. Parfois, il est dirigé vers l'avant, mais jamais dans l'axe antéro-postérieur du noyau

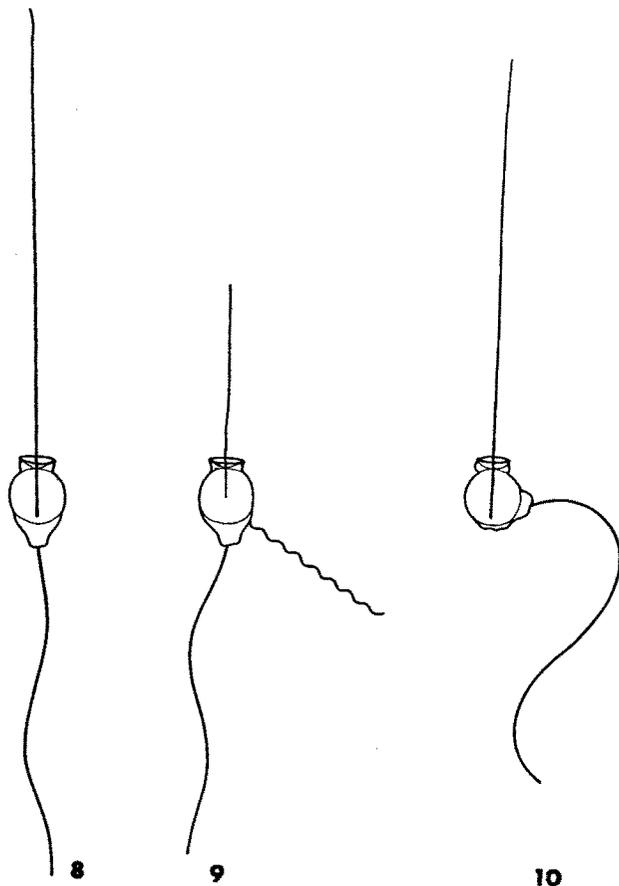
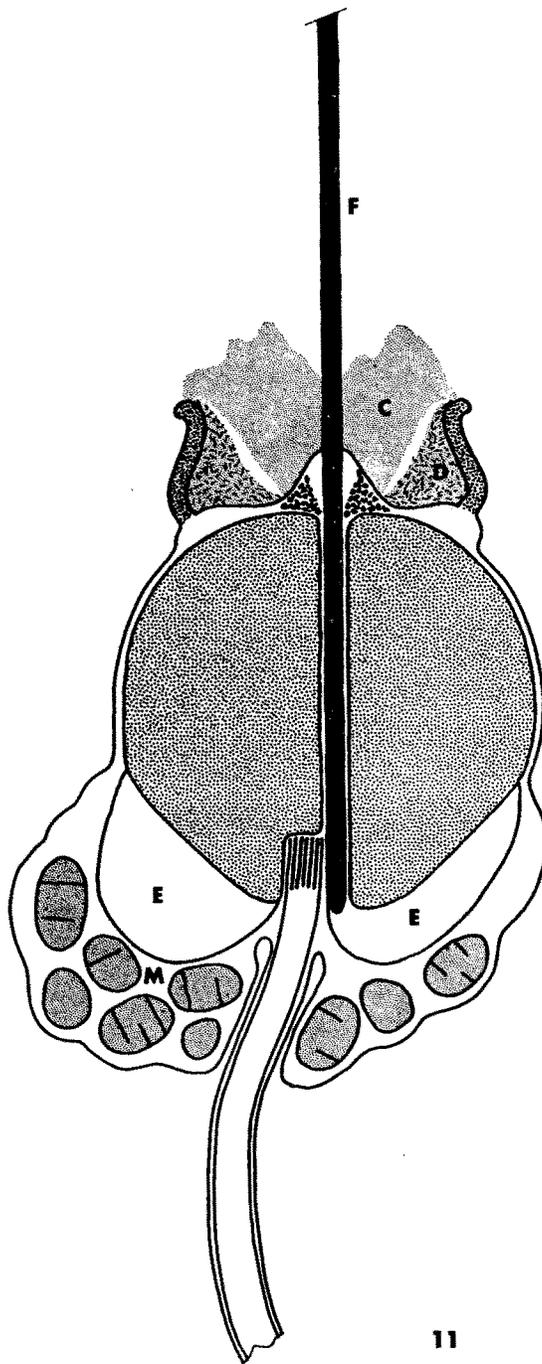


FIG. 8. — Réaction acrosomienne vraie. L'acrosome a la forme d'une coupe dont l'ouverture est dirigée vers l'avant, et il en sort un très long filament rectiligne. La base du filament, un peu plus grosse que la portion distale, est implantée dans le noyau.

FIG. 9. — Réaction acrosomienne double dans laquelle on voit à la fois le filament rectiligne antérieur et le filament hélicoïdal postérieur, l'un et l'autre beaucoup plus courts que dans les cas précédents (voir fig. 5 et 8).

FIG. 10. — Réaction acrosomienne vraie dans laquelle la pièce intermédiaire et le départ du flagelle ont été rejetés sur le côté.

(fig. 7). Parfois encore, il s'enroule autour du flagelle qu'il emprisonne de ses spires (fig. 6). Dans presque tous les cas, le sac cytoplasmique contenant les mitochondries, c'est-à-dire la pièce intermédiaire, est dilaté, déformé, et, de même que le flagelle, dévié de sa position axiale ; il est assez souvent rejeté sur le côté, à angle droit par rapport à sa position initiale ; parfois même, il est déplacé jusqu'au voisinage de l'acrosome.



11

FIG. 11. — Réaction acrosomienne vraie. Seule, la portion proximale du filament acrosomien *F* est représentée. La couronne hélicoïdale a disparu; l'espace périnucléaire *E* dans lequel elle était logée est encore plus dilaté qu'avant, et moins régulier de forme. La pièce intermédiaire (avec les mitochondries *M*) est déplacée sur le côté. L'acrosome est largement ouvert vers l'avant. Sa substance claire *C* se répand dans le milieu, et tend à se détacher de la substance originellement foncée *D*, qui est devenue moins foncée.

La deuxième modification est beaucoup plus rare : moins de 5 % des cellules la présentent. Elle consiste principalement en l'émission d'un filament rectiligne, très raide, dirigé vers l'avant, dans l'axe antéro-postérieur du noyau (fig. 8, 11, 13 et 14). Ce filament peut atteindre 60 μ de long. Je n'ai jamais pu observer sa croissance, qui est très rapide, probablement explosive. Il m'est donc impossible de dire si c'est simplement le contact avec l'eau de mer ou le montage entre lame et lamelle qui provoque sa poussée. Elle s'accompagne d'une modification importante de l'acrosome : au lieu d'être en forme de calotte, il est en forme de calice, l'ouverture étant dirigée vers l'avant (fig. 8-11 et 13-15). Les bords du calice, épaissis, forment un cercle nettement visible en contraste de phase. Là encore, la pièce intermédiaire et le flagelle sont souvent déviés de leur position initiale (fig. 10, 11 et 15), mais généralement moins fortement que dans le cas précédent. Il arrive, très rarement, que certains spermatozoïdes présentent les deux sortes de modifications à la fois (fig. 9). Dans ce cas, les deux filaments sont courts, et le filament antérieur est plus fin que le filament postérieur.

Qu'il soit antérieur et rectiligne ou postérieur et hélicoïdal, le filament se comporte pour la cellule comme un fardeau. L'une et l'autre formes sont très rigides, dépourvues de tout mouvement propre, une fois leur croissance terminée. Les spermatozoïdes les traînent, est-on tenté de dire, péniblement. Lorsqu'il arrive que le filament hélicoïdal enserre une certaine longueur du flagelle dans ses spires (fig. 6), cette partie est immobile, même si la partie libre fouette vigoureusement.

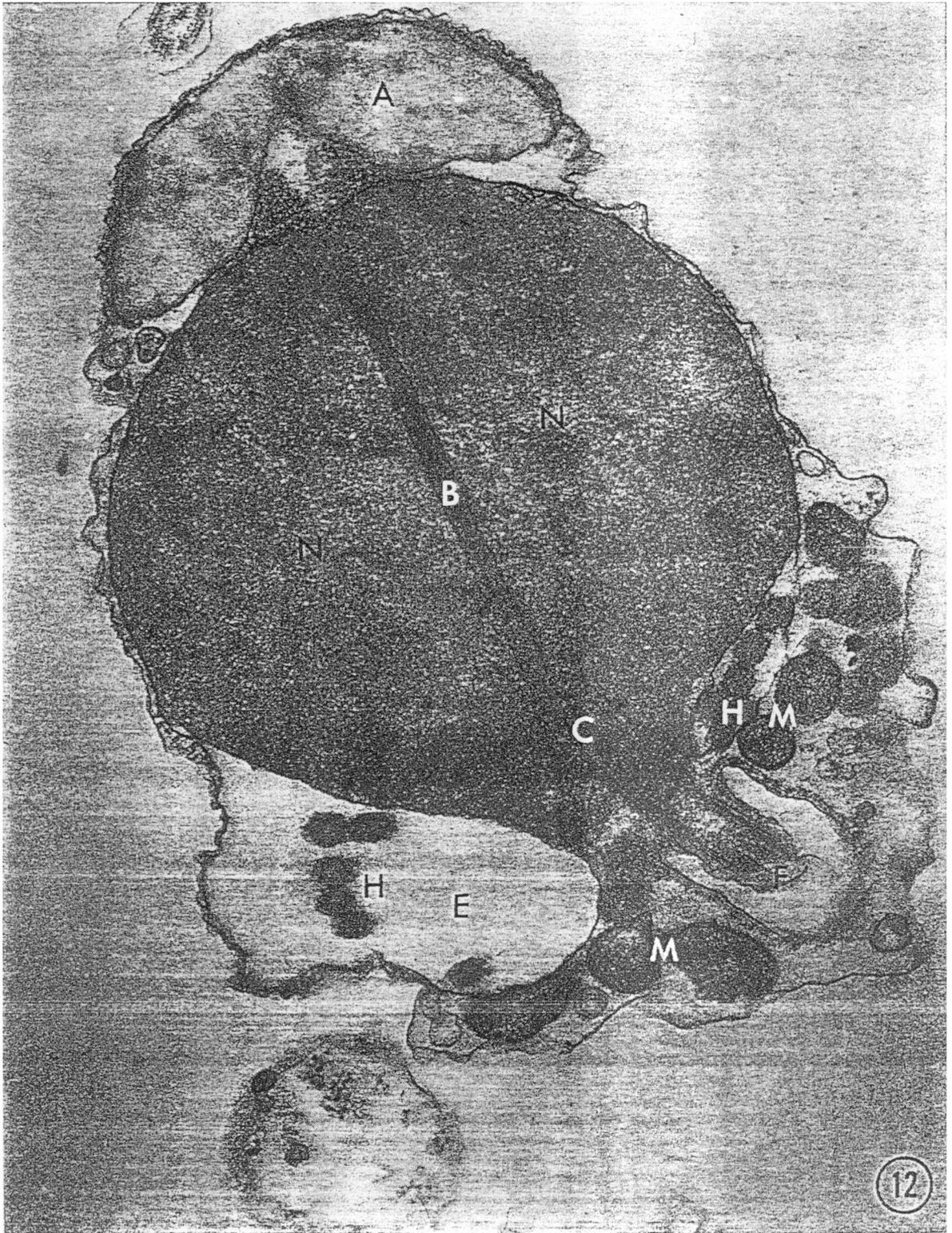
La longueur maximum des deux formes de filament est à peu près la même, avec un léger avantage toutefois pour le filament rectiligne antérieur. Ce fait, ajouté à celui que généralement ils s'excluent l'un l'autre, tend à faire admettre qu'ils représentent le même organite sous deux aspects différents. Les rares cas où ils existent simultanément pour la même cellule renforcent cette conclusion puisqu'alors leur longueur est plus faible qu'à l'ordinaire, la somme des deux ne dépassant pas 50 μ . Leur diamètre est impossible à mesurer car il est inférieur au pouvoir théorique de résolution du microscope à contraste de phase. Toutefois, l'on peut percevoir une différence de diamètre entre les deux extrémités d'un même filament. Dans le cas du filament rectiligne antérieur, la base est plus grosse que l'apex (fig. 8). C'est l'inverse pour le filament hélicoïdal postérieur (fig. 5). Ceci suggère que la polarité est inversée d'une forme à l'autre.

La longueur maximum des filaments extrudés par la cellule est du même ordre de grandeur que celle calculée sur les clichés de microscopie électronique de spermatozoïdes intacts, pour l'organite qui traverse le noyau et s'enroule à sa base, que j'ai décrit au début de ce travail. Il en est de même des diamètres : quoique non mesurable en contraste de phase, l'épaisseur des filaments est perçue comme inférieure à celle des flagelles, que l'on sait voisine de 0,25 μ . Ces deux faits laissent présumer que le filament observé en contraste de phase est le résultat de l'extrusion, hors de la cellule, de la baguette intranucléaire et ses prolongements. Il fallait toutefois le vérifier, d'autant que c'était contraire à l'opinion de Björn AFZELIUS qui, plusieurs années auparavant, avait déjà fait quelques observations sur ce matériel, observations non publiées et non poursuivies, dont il me fit part à Philadelphie. Jean DAN me fit l'honneur de s'intéresser à ce projet et m'encouragea à persévérer.

Le microscope électronique me donna aisément une réponse non ambiguë. Les coupes de spermatozoïdes ayant émis leur filament ne montrent généralement plus la couronne hélicoïdale infranucléaire. Si elle existe encore, cette couronne ne comprend plus qu'un tour de spire ou deux, au lieu des 6 à 8 qu'elle avait auparavant (fig. 11 et 15). D'un autre côté, les coupes favorablement orientées dans les spermatozoïdes qui ont émis leur filament par l'avant montrent que le filament extracellulaire et l'axe intranucléaire sont continus (fig. 13

→

FIG. 12. — Coupe presque sagittale de la partie antérieure d'un spermatozoïde intact. *A* : acrosome ; *N* : noyau ; *B* : baguette axiale intranucléaire ; *C* : centriole ; *F* : début du flagelle ; *H* : couronne hélicoïdale sous nucléaire, logée dans l'espace périnucléaire dilaté ; *E* ; *M* : mitochondries, dans la pièce intermédiaire ($\times 35\ 000$).



et 14). Enfin, la structure du filament extracellulaire est celle d'un faisceau de fibrilles, identique à ce qui a été décrit ci-dessus à propos du spermatozoïde intact. Il ne fait donc aucun doute que le filament rectiligne antérieur, le filament hélicoïdal postérieur, ainsi que la baguette intranucléaire et ses prolongements représentent trois états différents du même organite.

De toute évidence, les transformations décrites ci-dessus s'apparentent aux réactions acrosomiennes (AFZELIUS et coll., 1957, BERNSTEIN, 1962. COLWIN et COLWIN, 1955, 1957; COLWIN et coll., 1957; DAN, 1952, 1954, 1956, 1960; DAN et WADA, 1955; DAN et coll., 1964; FRANZÉN, 1958; ROTHSCILD et TYLER, 1955; WADA et coll., 1956; etc.). Mais tout porte à croire que seule l'émission du filament vers l'avant, qui s'accompagne de modifications de l'acrosome, correspond à une réaction acrosomienne vraie, douée de signification physiologique. Avant la réaction, l'acrosome se compose de deux substances d'opacité différente (fig. 16) et du globule qui surmonte l'extrémité du filament. Après l'émission du filament vers l'avant, la paroi antérieure de l'acrosome est ouverte et bée largement. La substance claire, qui n'est plus retenue par aucune membrane, se répand dans le milieu; elle tend à se détacher de la substance foncée (fig. 11, 13 et 14); toutes deux ont perdu beaucoup d'opacité.

L'émission du filament vers l'arrière doit sans doute être interprétée comme une réaction artificielle, provoquée par les conditions d'observation entre lame et lamelle.

Il est intéressant de comparer le mécanisme des deux réactions. Dans le cas de la réaction acrosomienne vraie, le filament est éjecté brusquement. Sa pointe antérieure, qui, au repos, est logée dans la voussure de l'acrosome, reste antérieure après la réaction, tandis que sa partie postérieure, plus grosse, se trouve fichée dans le canal axial du noyau. Son mouvement est donc un coulisage dans le canal nucléaire pendant que la couronne hélicoïdale sous-nucléaire tourne sur elle-même en se dévidant par son axe. Au cours de ce déroulement, le filament perd son caractère hélicoïdal et acquiert une grande rigidité. Il est hautement probable que des modifications moléculaires se produisent dans les fibrilles dont il est constitué, par exemple que ces fibrilles contractent entre elles des liaisons nouvelles qui donnent à l'ensemble une cohésion plus grande et assurent sa rigidité. Dans le cas de la fausse réaction

→

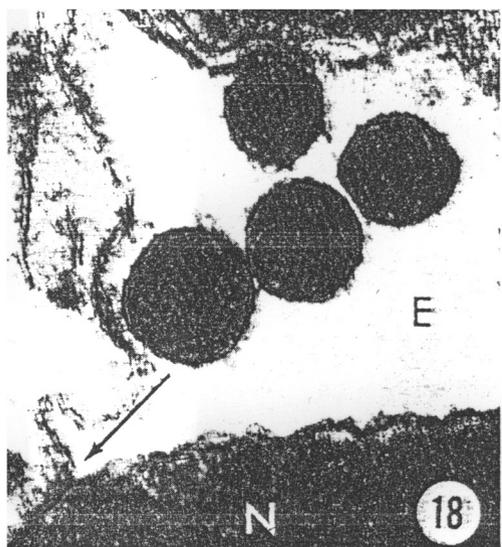
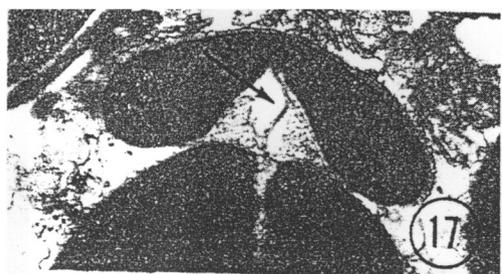
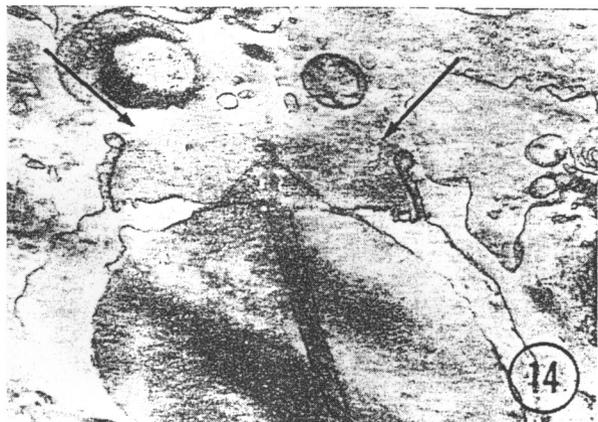
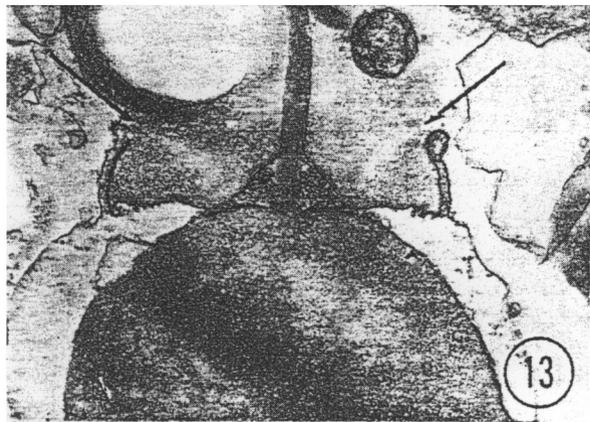
FIG. 13 et 14. — Coupes consécutives presque sagittales dans un spermatozoïde après réaction acrosomienne vraie. La fig. 14 s'est trouvée déformée par une déchirure de la membrane porte-objet. Le filament acrosomien émerge de l'acrosome modifié (fig. 13); sa base est implantée dans le noyau (fig. 14). L'acrosome est profondément modifié: sa membrane antérieure et la membrane plasmique de la cellule se sont ouvertes et l'ouverture s'est dilatée en un large cercle du même diamètre que l'acrosome à sa base; la substance acrosomienne est plus diffuse, la substance claire (voir fig. 16) tendant à se répandre dans le milieu et à se détacher de la substance foncée, de laquelle elle est séparée par un espace clair (flèche). (× 18 000).

FIG. 15. — Coupe parasagittale dans un spermatozoïde après réaction acrosomienne vraie. Cette coupe ne passe ni par le filament acrosomien antérieur, ni par sa base intranucléaire. La couronne hélicoïdale ne compte plus qu'un nombre de spires compris entre 1 et 2 (flèches). Le centriole C et les mitochondries M sont rejetés sur le côté. L'acrosome est ouvert vers l'avant. La pièce intermédiaire est ici fortement endommagée, mais c'est une modification accidentelle. (× 27 000).

FIG. 16. — Coupe parasagittale de l'acrosome montrant qu'il est formé de deux substances d'opacité différente: une substance claire centrale et une substance foncée périphérique. La base de l'acrosome est déprimée en une voussure dans laquelle se trouve une substance de structure granulaire. (× 21 000).

FIG. 17. — Coupe sagittale de l'acrosome montrant la portion terminale de la baguette intranucléaire (flèche). Au point de contact avec la baguette, l'acrosome présente une zone un peu plus claire que la substance avoisinante. (× 22 000).

FIG. 18. — Coupe transversale de 4 tours de spire de la couronne hélicoïdale sous-nucléaire. Flèche: point où les deux feuillettes de l'enveloppe nucléaire (fortement accolés comme dans tous les spermatozoïdes) se détachent l'un de l'autre: la couronne hélicoïdale est logée dans une portion dilatée de l'espace périnucléaire, E. N: noyau. Le filament spiral est fait d'un faisceau de fibrilles de 80 Å entouré d'une membrane simple (dont on voit ici les trois feuillettes constitutifs). Les fibrilles sont disposées périodiquement, selon le motif de l'hexagone centré. D'après leur perpendicularité au plan de coupe, on voit qu'elles ne sont pas exactement parallèles entre elles, chacune d'elles étant inclinée légèrement par rapport à ses voisines, et l'inclinaison se répétant régulièrement de proche en proche. (× 120 000)



acrosomienne, la sortie du filament est lente et saccadée. Elle se fait en un point quelconque du pourtour cellulaire et elle débute par l'extrémité la plus grosse du filament. Celui-ci sort donc, en quelque sorte, par le « mauvais bout », en déchirant la membrane externe de la chambre périnucléaire et la membrane plasmatique de la cellule. Cette sortie par effraction s'accompagne de modifications importantes de la position et de la forme de la pièce intermédiaire. On peut donc déduire que de fortes tensions sont exercées par le filament qui, sans doute, se bande comme un ressort. Le fait que l'on trouve quelquefois le centriole loin de sa position initiale montre que le noyau tout entier peut pivoter ou basculer. Mais il est difficile d'expliquer que le filament garde, dans ce cas, son caractère hélicoïdal. Si l'on tire sur les extrémités d'un ressort à boudin en les empêchant de pivoter, on obtient un solide hélicoïdal qui compte autant de tours de spire que le ressort original. C'est peut-être ce qui se passe ici, mais cette explication n'est pas suffisante : le filament extrudé compte de 15 à 20 tours de spire, alors qu'avant la réaction, la couronne sous-nucléaire n'en compte que 6 à 8, c'est-à-dire environ dix de moins. Là encore, on est amené à déduire que des modifications moléculaires se produisent dans les fibrilles dont le filament est constitué.

La vitesse de croissance du filament, dans le cas de la fausse réaction acrosomienne, est influencée par la durée préalable d'incubation dans l'eau de mer. Ceci est vraisemblablement dû à ce que l'eau de mer, ou l'un de ses constituants, pénètre dans la cellule et détermine une mise en tension de la couronne hélicoïdale, qui prépare l'éjection du filament. Ce sont peut-être ensuite les légers écrasements mécaniques qui se produisent inévitablement entre lame et lamelle, ou simplement le contact avec le verre, qui facilitent l'effraction du gros bout du filament au travers des membranes cellulaires et déclenchent la fausse réaction acrosomienne. Cette explication toutefois ne tient pas compte du fait que la réaction est plus rapide sur les bords de la lamelle qu'au centre. D'autres facteurs entrent donc en jeu. Pour tenter de les préciser, j'ai étudié l'effet de divers agents connus pour influencer la réaction acrosomienne dans d'autres espèces animales (DAN, 1952, 1956 ; METZ, 1945 ; POPA, 1927) : chlorure de calcium 0,36 M, acétate de sodium 0,25 M, albumine 0,5 %, divers pH acides ou basiques obtenus par addition d'acide chlorhydrique 0,1 N ou d'ammoniaque 0,1 N, températures plus élevées ou plus basses que la température du laboratoire, enfin eau dans laquelle ont incubé des ovules ou des fragments d'ovaire. Aucun de ces agents ne paraît changer de façon significative les modifications obtenues par addition d'eau de mer simple. Dans tous les cas, la distance entre le lieu d'observation et le bord de la lamelle reste le facteur prépondérant pour le pourcentage de cellules ayant réagi en un temps donné et la vitesse de croissance du filament, dans le cas de la fausse réaction acrosomienne. Il eut été souhaitable de faire varier la concentration en oxygène, mais je n'ai pu le faire. Il faut noter aussi que ces expériences ont été faites en novembre et décembre, époque éloignée de la ponte, qui a lieu en mai-juin sur les côtes de la Nouvelle-Angleterre. Dès lors, je n'ai eu que des ovules immatures pour préparer l'eau d'incubation d'ovules, et il est probable que cette eau n'a pas les mêmes propriétés que celle préparée à l'époque de la copulation. Pour être concluante, cette expérience doit donc être refaite à un moment plus favorable.

Même si j'ai échoué à en élucider le déterminisme, la réaction acrosomienne vraie du spermatozoïde de la *Limule* présente des caractères qui méritent d'être soulignés. On connaît d'autres organites filiformes qui fusent hors de la cellule qui les contient à la suite d'un phénomène explosif. Les plus caractéristiques sont les trichocystes et les nématocystes. Les trichocystes éclatent à la suite de la transformation d'un corps ovalaire à structure périodique tridimensionnelle en un corps très allongé, à structure périodique unidimensionnelle. La transformation, qui ne dure que quelques millisecondes, s'apparente aux transformations de phase fréquentes dans les solides, au cours desquelles une configuration moléculaire instable se transforme brutalement en une configuration moléculaire plus stable sous l'action d'un faible apport d'énergie qui déclenche la réaction. Le filament urticant des cnidoblastes fonctionne selon un mode tout différent. Il est préformé dans la cellule. Son extrusion se fait par une dévagination avec retournement en doigt de gant, qu'on explique le plus souvent par une brusque augmentation de pression à l'intérieur du nématocyste. Il

ne paraît pas subir de transformation physico-chimique. Le filament acrosomien de la *Limule* fonctionne selon un mode différent des deux précédents, mais qui présente toutefois une certaine parenté avec chacun d'eux. Comme le filament urticant, il est préformé dans la cellule, et comme les trichocystes, son extrusion s'accompagne d'une modification de structure à l'échelle macromoléculaire. Mais cette modification est ici beaucoup moins importante que pour les trichocystes. La forme très allongée était déjà réalisée ; la réaction augmente la rigidité sans changer la structure nématique originelle. Quelques clichés, malheureusement trop rares, semblent indiquer qu'à l'état extrudé, les fibrilles du filament acrosomien sont parallèles entre elles, alors qu'auparavant elles ne le sont pas exactement, car elles décrivent, fort probablement, une hélice à pas très long. La transformation la plus plausible est donc une parallélisation des fibrilles. En d'autres termes, c'est une transformation qui tend vers l'état cristallin, probablement plus stable, et mécaniquement plus résistant aux déformations. Cette parallélisation amène évidemment l'ensemble du filament à se tordre sur lui-même, et c'est peut-être l'une des raisons pour lesquelles le filament hélicoïdal postérieur possède un nombre de spires supérieur à celui de la couronne sous-nucléaire au repos.

Ces observations ayant été faites à une saison défavorable, il m'a été impossible d'observer la réaction en présence d'œufs mûrs, et de comprendre sa signification physiologique. Je n'ai toutefois pas hésité à la considérer comme une réaction acrosomienne : l'une des deux formes de réaction s'accompagne de transformations et d'une lyse partielle de l'acrosome (comparer les fig. 13 et 16), toutes deux s'accompagnent de gonflement et de déplacement de la pièce intermédiaire, comme les réactions acrosomiennes décrites par les autres auteurs (en particulier BERNSTEIN, 1962, ROTHSCHILD, 1951, DAN, 1956). Cependant l'épithète « acrosomienne » n'est peut-être ici que partiellement justifiée car le filament en question est situé, à l'état natif, hors de l'acrosome. Ce fait est peut-être de nature à modifier les données classiques sur la réaction acrosomienne, et en particulier à faire accorder une importance plus grande aux modifications subies par la pièce intermédiaire.

Au moment de l'explosion, l'extrémité antérieure du filament, qui au repos est en contact avec l'acrosome, transperce cet organite, déchire la membrane plasmatique de la cellule, et le filament coulisse dans le canal axial du noyau et dans l'acrosome modifié. Ces modalités sont uniques dans le règne animal, et ajoutent encore au caractère extraordinaire des Xiphosures. Et si j'ai aujourd'hui la satisfaction d'avoir contribué à la connaissance de ces animaux, c'est parce que l'enseignement de notre Maître, Raymond HOVASSE, avait éveillé ma curiosité à leur sujet. Je lui en exprime ici ma fidèle reconnaissance.

BIBLIOGRAPHIE

- AFZELIUS B.A. et MURRAY A. (1957). — The acrosomal reaction of spermatozoa during fertilization or treatment with egg water. *Exp. Cell. Res.*, **12**, 325-337.
- BERNSTEIN M.H. (1962). — Normal and reactive morphology of sea urchin spermatozoa. *Exp. Cell. Res.*, **27**, 197-209.
- COLWIN A.L. et COLWIN L.H. (1955). — Sperm entry and the acrosome filament (*Holothuria atra* and *Asterias amurensis*). *J. Morphol.*, **97**, 543-568.
- COLWIN A.L., et COLWIN L.H. (1957). — Morphology of fertilization: acrosome filament formation and sperm entry. The Beginnings of Embryonic development, Symposium volume of the A.A.A.S., Washington, 135.
- COLWIN A.L., COLWIN L.H. et PHILPOTT D.E. (1957). — Electron microscope studies of early stages of sperm penetration in *Hydroides hexanogus* (Annelida) and *Saccoglossus kowalevskii* (Enteropneusta). *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, 489-502.
- DAN J.C. (1952). — Studies on the acrosome. I. Reaction to egg-water and other stimuli. *Biol. Bull.*, **103**, 54-66.
- DAN J.C. (1954). — Studies on the Acrosome. II. Acrosome reaction in Starfish spermatozoa. *Biol. Bull.*, **107**, 203-218.
- DAN J.C. (1956). — The acrosome reaction. *Intern. Rev. Cytol.*, **5**, 365-393.
- DAN J.C. (1960). — Studies on the acrosome. VI. Fine structure of the Starfish acrosome. *Exp. Cell. Res.*, **19**, 13-28.
- DAN J.C., et WADA S.K. (1955). — Studies on the acrosome. IV. The acrosome reaction in some bivalve spermatozoa. *Biol. Bull.*, **109**, 40-55.
- DAN J., OHORI Y., et KUSHIDA H. (1964). — Studies on the acrosome. VII. Formation of the acrosomal process in sea urchin spermatozoa. *J. Ultrastructure Res.*, **11**, 508-524.
- FRANZEN Å. (1958). — On sperm morphology and acrosome filament formation in some *Annelida*, *Echiuriodea* and *Tunicata*. *Zoologiska Bidrag Från Uppsala*, **33**, 1-28.
- METZ C.B. (1945). — The agglutination of Starfish sperm by fertilizin. *Biol. Bull.*, **89**, 84.
- POPA G.T. (1927). — The distribution of substances in the spermatozoon (*Arbacia* and *Nereis*). *Biol. Bull.*, **52**, 238.
- ROTHSCHILD, Lord et TYLER A. (1955). — Acrosomal filaments in spermatozoa. *Exp. Cell. Res.*, Suppl. **3**, 304-311.
- WADA S.K., COLLIER J.R. et DAN J.C. (1956). — Studies on the acrosome. V. An egg-membrane lysin from the acrosomes of *Mytilus edulis* spermatozoa. *Exp. Cell. Res.*, **10**, 168-180.
-