

DESCRIPTION DU TROPHOZOITE ADULTE

C'est un grand flagellé (FIG. 1) qui peut atteindre 160 μ de long sur 80 μ de large. Il est de forme oblongue, plus effilé en avant qu'en arrière. Pour la commodité des descriptions, nous distinguerons deux régions : le *rostre* (FIG. 1 et 2), et le *corps cellulaire* (FIG. 1).

LE ROSTRE (FIG. 2)

Il forme un cône obtus, rigide, qui s'étend vers l'arrière en s'élargissant. Il représente, tout à fait développé, au maximum le quart de la longueur de l'animal étalé.

Il est recouvert, en presque totalité, de très longs flagelles qui forment une « perruque » toujours en mouvement. Du côté baptisé « ventral » par convention, l'aire flagellaire est creusée d'une large échancrure nue (FIG. 2 : e.v.), d'ailleurs assez difficile à reconnaître.

Les flagelles antérieurs sont très actifs, les postérieurs plus lents ; mais tous s'insèrent sur des *grains basaux* ou *blépharoplastes* très régulièrement disposés à la fois en files méridiennes et latitudinales (FIG. 2 et 1). Ces grains basaux sont plus exactement des bâtonnets, très visibles sur le vivant au microscope à contraste de phase. Ils sont insérés dans une cuticule très épaisse que les flagelles perforent. Cette cuticule a la forme d'un dé à coudre ou mieux d'une sorte de guérite dont la porte serait l'échancrure ventrale que nous avons signalée (FIG. 1, 2 et 9 : e.v.).

A la pointe du rostre, sur la face interne de la cuticule, on peut mettre en évidence deux granules accolés, fortement chromatiques, qui représentent le *centrosome*. (FIG. 2 : CE). Sur l'un d'eux s'insère un petit organite en battant de cloche, c'est le *battachio* de GRASSI (FIG. 1 : b ; FIG. 4 : B), accompagné d'un court filament grêle : le *battachio accessoire* (b.a.), parfois lui aussi en forme de masse.

Du centrosome part vers l'arrière un filament rigide appelé : *régolo* ou *réglet* (FIGS 1 : rg. 4 : R₁ R₂). Un autre réglet, parallèle et voisin, se fixe sur la cuticule de l'aire flagellaire, au-dessus du centrosome. Ces deux filaments sont pourvus sur un côté d'une large bordure moins colorable (FIGS 1 et 4).

Une *lamelle axostylaire* (L.A. FIGS 1, 2, 3 : 1) en forme de triangle s'attache par un sommet sur le centrosome et, par sa base, sur le bord supérieur dorsal du capitulum.

Enfin, on a signalé, partant du centrosome et vers l'arrière dans le rostre, une sorte de ruban : le *nastrino* de GRASSI (NA : FIGS 1 et 4) qui est interprété comme un reste du fuseau de division.

L'aire flagellaire varie dans sa forme, son extension et la taille des organes locomoteurs dont elle est garnie. A son maximum de développement, elle présente l'échancrure ventrale que nous avons signalée. Cette échancrure est invisible d'ailleurs dans les stades de pré ou de post-division et l'aire flagellaire s'aplatit jusqu'à devenir droite ; mais la cuticule reste toujours très épaisse.

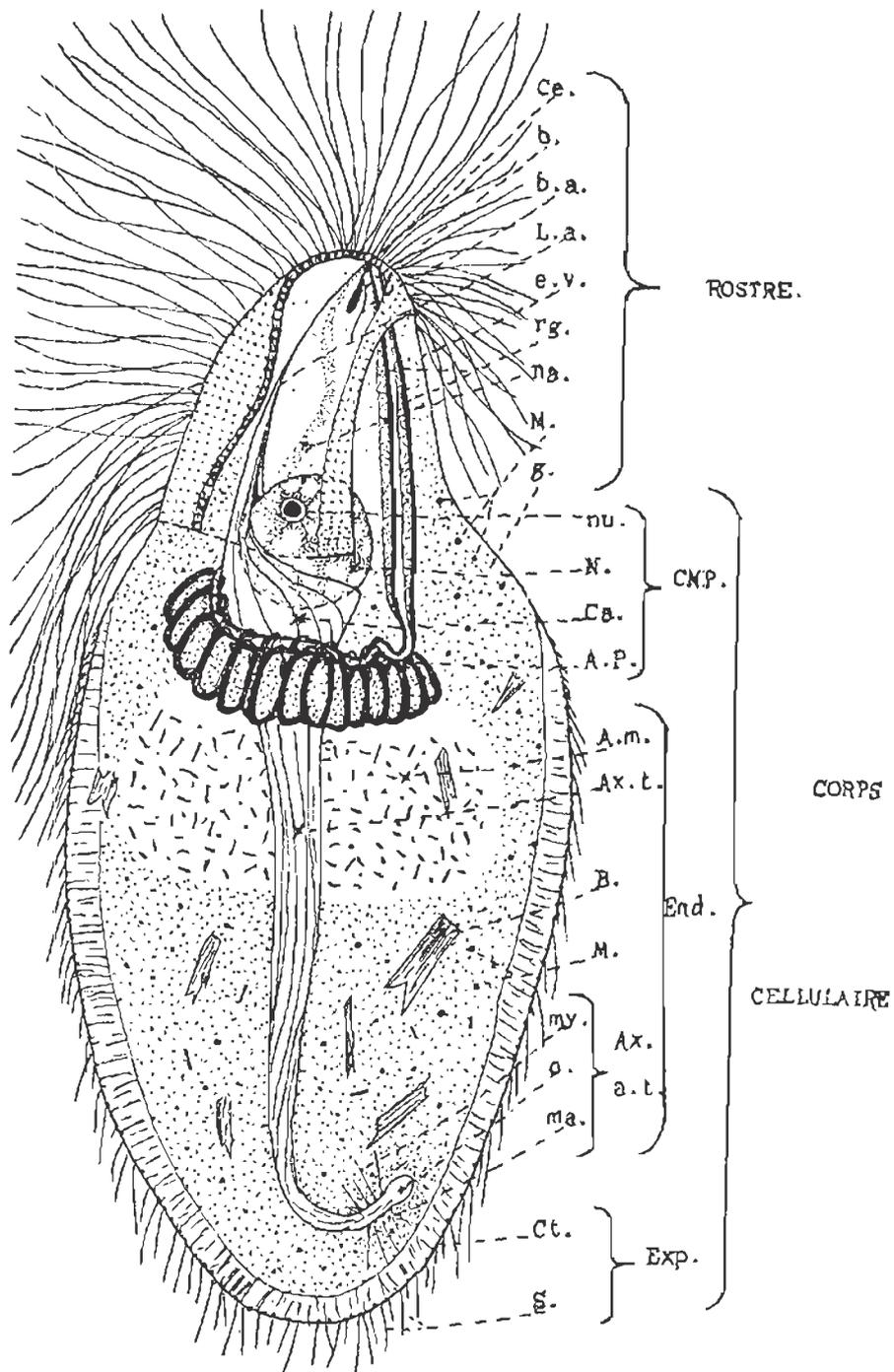


FIGURE 1. — Vue d'ensemble du trophozoïte adulte de *Joenia annectens*. Ce=centrosome; b=battachio; b.a.=battachio accessoire; rg=réglets; na=nastrino (?); M=mitochondries; g=granules; nu=nucléole; N=noyau; Ca=capitulum; A.P.=appareil parabasal; CNP=complexe nucléoparasitellar; A.m.=aire mitochondriale; Ax.t.=tige axostylaire; B=bois; my=myophanes; o=olive; A.x.t.=appareil terminal de l'axostyle; End=endoplasme; Ct=cuticule; S=schizopyles; Exp.=ectoplasme.

Dans le trophozoïte adulte, les flagelles sont immenses, très actifs, surtout les antérieurs. Ils coiffent tout le rostre à la façon d'une chevelure plus ou moins ébouriffée. Dans les formes moyennes ou petites, ils sont parallèles et dirigés en avant.

De très nombreux grains réfringents de tailles variables se voient sur le vivant entre la cuticule et le complexe axial du rostre. (g. FIG. 1 et G. FIG. 2). Ils sont particulièrement faciles à observer au microscope à contraste de phase.

Les réactions histologiques et biochimiques spécifiques ont donné pour le rostre les renseignements suivants :

Flagelles, cuticule, grains basaux ou blépharoplastes se colorent vivement en jaune par le LUGOL fort après fixation au BOUIN-ALLEN. Ces organites contiennent des protéines sulfhydrilées, des lipides, surtout des *phospholipides*.

Les granules intra-rostraux sont les uns des mitochondries, d'autres sont chargés de glycogène. Ils sont souvent très fins et très nombreux, parfois nettement plus gros et alignés le long des réglés. Beaucoup de grains sont imprégnés de lipides : phospholipides, acétal phosphatides, ou contiennent des ribonucléïnes. Il est vraisemblable que le même granule possède à la fois plusieurs de ces substances, mais leur proportion relative varie dans les divers grains qui ne sont pas strictement localisés. La plupart de ces grains est imprégnable par l'acide osmique, certains le sont même très fort après 13 jours de MANN-KOPSCH.

Ils réduisent aussi fortement le nitrate d'argent, par la méthode de FONTANA, surtout les plus externes. Souvent on observe des bandes sinueuses effilées en avant (FIG. 2) qui viennent se perdre dans la région du centrosome. Elles sont en général au nombre de deux, mais il peut y en avoir davantage, et souvent entre elles, on retrouve des traces de bandes presque complètement disparues.

Vers l'arrière du rostre, ces bandes sinueuses glissent sur le noyau, contournent les protubérances du capitulum (FIG. 2) pour venir s'insinuer entre ce dernier et le parabasal, glissent le long de l'axostyle et enfin se perdent dans l'aire mitochondriale et ses granules.

Les grains rostraux les plus petits peuvent aussi se raccorder sans interruption à ceux de l'endoplasme.

Parfois les granules intra-rostraux riches en glycogène, sont coupés net au niveau du noyau, à son contact avec le capitulum.

C'est lorsqu'ils passent sur les protubérances que les granules sont le plus nombreux. Leur taille diminue peu à peu vers le sommet du rostre, en même temps que leur nature biochimique change : en particulier, leur teneur en lipides s'abaisse fortement. Entre le parabasal et l'axostyle les grains sont plus gros, peut-être par fusion, et moins nombreux.

Le nombre des granules dans le rostre ou la région du complexe nucléo-parabasal est très variable ; il y a certainement des à-coups sérieux dans leur production et leur évolution biochimique.

Il semble que leur origine, au moins dans ses grandes lignes, soit facile à imaginer. Ils résultent de la recombinaison d'éléments fournis les uns par le noyau, d'autres par le capitulum, d'autres enfin par le parabasal.

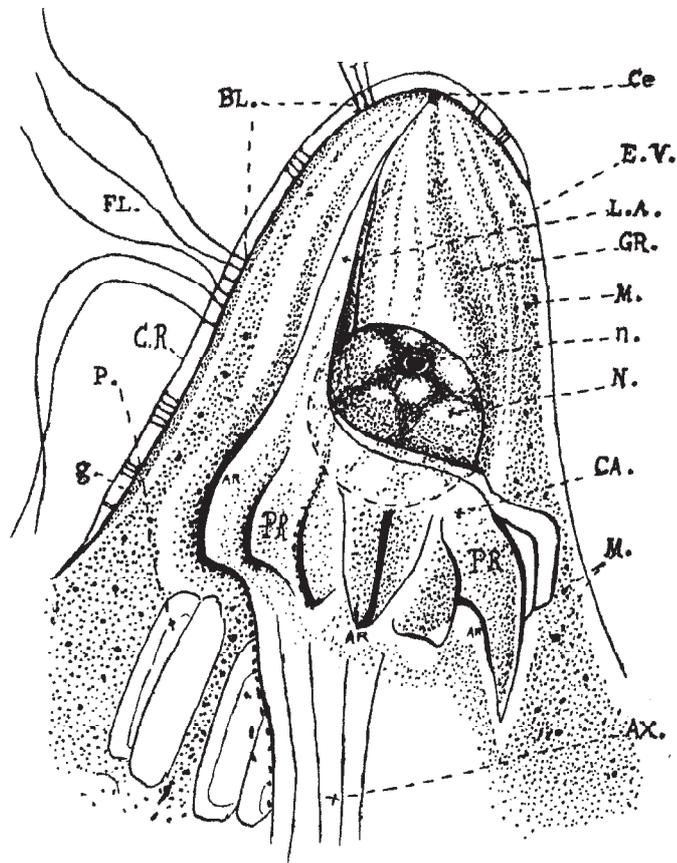


FIGURE 2. — Structure du rostre et ses granules. Ce=centrosome ; E.V.=échancrure ventrale ; L.A.=lamelle axostyloïde ; GR.=gros grains rostraux ; M.=mitochondries ; n.=nucléole ; N.=noyau ; CA.=capitulum avec ses protubérances PR ; Ar.=arête des protubérances ; AX.=axostyle ; g.=fins granules sous-cuticulaires ; P.=parabasal ; C.R.=cuticule rostrale ; FL.=flagelles ; BL.=blépharoplastes.

Grosso modo, on peut avancer que le noyau donne entre autres, les ribonucléïnes ; le capitulum, les substances glucidiques ou leurs dérivés ; le parabasal, des éléments lipidiques plus ou moins complexes.

Les réglés, outre les granules de glycogène, sont chargés de lipides dont la nature n'a pas pu être déterminée. Tout ce que nous pouvons dire, c'est que ce ne sont ni des phospholipines, ni des acétalphosphatides et que les stérides sont absents.

A la base du rostre, dans le cytoplasme et le corps cellulaire, on trouve ce que nous baptiserons le *complexe nucléo-parabasal*, en abrégé CNP., dont nous ferons une étude minutieuse.

LE CORPS CELLULAIRE (FIG. 1)

Il constitue la plus grande partie de l'animal. Sa forme et sa taille varient quelque peu avec les individus. Il est en général allongé, oblong et se termine par un arrondi régulier. La paroi est rigide, indéformable et dépourvue de tout mouvement de type amiboïde.

Nous pouvons distinguer dans le corps cellulaire divers organites ou régions qui sont :

- 1 - Le *complexe nucléo-parabasal* (CNP : FIG. 1)
- 2 - Le *système axostyloïde* (Ax.)
- 3 - L'*endoplasme* (End.)
- 4 - L'*ectoplasme* (Exp.)
- 5 - La *cuticule* (Ct) et sa garniture externe de *schizophytes* (S).

1. - LE COMPLEXE NUCLEO-PARABASAL (CNP. FIG. 1)

Juste à la base du rostre et de l'aire flagellaire, on trouve une formation compliquée dans laquelle interviennent :

- a - Le *noyau* (N)
- b - Le *capitulum* (CA), sommet élargi de l'*axostyle* (Ax)
- c - L'*appareil parabasal* (A.P.).

Il nous paraît commode de désigner cet ensemble sous le nom de *complexe nucléo-parabasal*, en abrégé CNP. Mais il ne faut pas oublier que l'*axostyle*, au moins en partie, en est aussi un des éléments.

Les rapports généraux des trois constituants du complexe sont toujours les suivants dans la cellule au repos.

Le noyau en occupe la partie centrale. Il est enfoncé, serti en quelque sorte dans un pavillon terminal de l'*axostyle* : le *capitulum*. Enfin, l'*appareil parabasal* s'enroule en dehors et en arrière de cet ensemble. La figure 3:1, à demi-diagrammatique, donne un aspect de cet ensemble, une des branches de l'*appareil parabasal* étant supposée déroulée.

Nous devons étudier en détail chacun des éléments du complexe et nous le ferons du dedans au dehors.

a) LE NOYAU (N)

Pendant la période trophique, il se présente comme une grosse vésicule sphérique, turgescente, logée dans la cupule axostyloïde et l'*appareil parabasal* enroulé.

La membrane nucléaire est toujours précise. La caryolymphe, fluide, paraît sous pression. Elle contient des nuages légers plus denses, transparents et mal individualisés. Ils se colorent assez peu, sauf dans certains états où ils s'agglomèrent en plaquettes de chromatine, plus ou moins grandes et nombreuses. Cette condensation devient beaucoup plus nette dans les stades qui annoncent le début de la prophase.

Le contenu du noyau est très aqueux et très rétractile. La fixation le décolle souvent de la membrane et l'agglomère en un amas irrégulier central. Il est assez rare, de ce fait, d'obtenir de belles images nucléaires avec beaucoup de fixateurs usuels.

Souvent, contre la membrane et en dehors, on colore vivement des écailles lipidiques aplaties, simulant en coupe optique, un liseré verruqueux, sans doute variable d'ailleurs.

Le noyau contient un ou deux nucléoles.

Selon GRASSÉ, les chromosomes en V demeurent reconnaissables pendant l'interphase et s'insèrent sur la membrane nucléaire par leur centromère.

Au point de vue biochimique, nous avons reconnu dans le noyau la présence de groupements sulfhydrylés libres. Ils sont localisés dans le nucléole, parfois seulement à la périphérie. On en trouve de plus fortement liés dans la chromatine et les ribonucléines surtout dans les gros noyaux, tandis que les chromosomes sont plus riches dans les petits. Ces groupements sulfhydrylés sont liés d'une manière plus ou moins forte aux protéines. Ils apparaissent seulement après élimination des graisses réductrices présentes (Technique de CHEVREMONTE et FREDERICQ). Il y a même sans doute des groupements disulfures S-S, difficiles à démasquer.

IDELMANN a d'ailleurs reconnu l'existence de ces groupements sulfhydrylés dans le noyau de *Joenia*.

Après fixation au BOUIN-ALLEN, ou au CARNOY, ou à l'alcool-formol acétique, on traite certaines préparations délipidées, par l'acide trichloracétique à 10 %, afin d'éliminer toutes les substances glucidiques acido-solubles dont le glycogène. On colore ensuite par le vert de méthyle-pyronine. Dans ces conditions, seules les ribonucléines prennent les teintures et se révèlent dans le ou les nucléoles dont les gros se montrent granuleux. Les chromosomes ont pris une teinte bleu-vert due au vert de méthyle. Entre eux on voit des grains ou des plages rouges d'importance variable selon les noyaux, rares chez les Flagellés jeunes.

Quand la chromatine est contractée au centre du noyau par les fixateurs, on aperçoit de fins granules rouges contre la membrane nucléaire et des traînées reliant la masse centrale à la paroi du noyau. Tous ces granules et traînées sont le plus souvent localisés dans la moitié postérieure de la vésicule nucléaire.

Des préparations fixées, mais traitées avant coloration par la ribonucléase pendant 18 à 30 minutes, ne montrent plus aucune de ces granulations rouges.

Les granulations ou écailles extérieures de la membrane nucléaire, sont chargées de substances lipidiques parmi lesquelles on a reconnu la présence de lipines et phospholipines en quantités d'ailleurs fort variables. Jamais nous n'avons rencontré de cholestérol ou de cholestérides dans le noyau ou sa membrane.

Les noyaux traités par la pepsine, puis oxydés et colorés par le noir au gras, montrent une teinte bistre de leur chromatine et quelques granules épars très colorés. Il y a donc des lipides fortement masqués dans la chromatine nucléaire. Leur abondance est variable mais ils sont toujours présents. Le nucléole contient une phospholipine en quantité fluctuante.

Nous n'avons pu mettre en évidence de glucides à l'intérieur du noyau. Mais, par contre, sa membrane au contact du capitulum apparaît épaissie, nettement imbibée de glycogène, ainsi que les lamelles du capitulum au contact. Celui-ci forme une sorte de coussinet riche en glycogène, sur lequel est assis le noyau à membrane épaissie et souvent fort colorable au carmin de BEST.

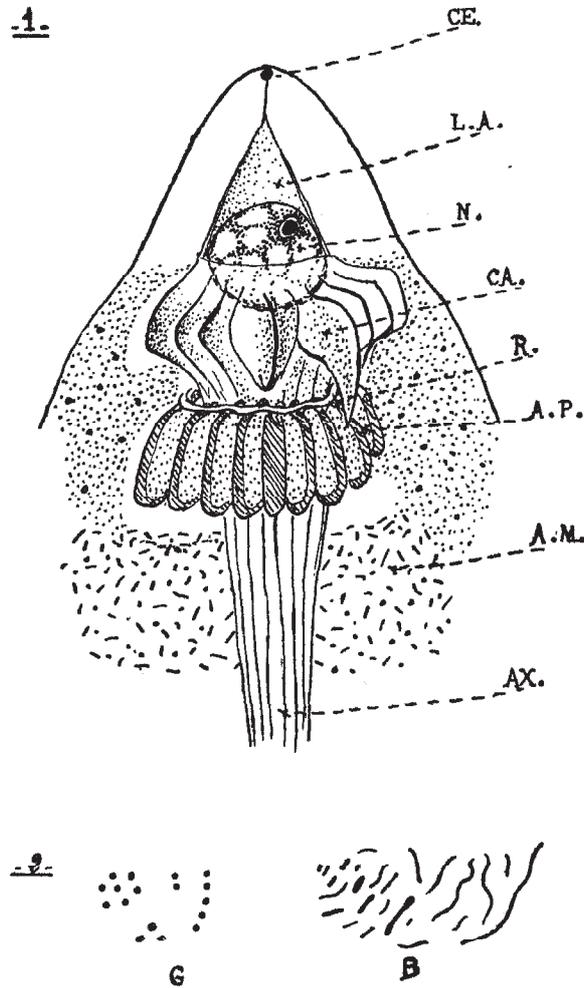


FIGURE 3. — (1) Complexe nucléo-parasasal. Ce.=centrosme ; L.A. lamelle axostylaire ; N.=noyau ; C.A.=capitulum avec ses protubérances à divers stades de sécrétion ; R=rachis ; A.P.=appareil parasasal ; A.M.=aire mitochondriale ; AX.=axostyle.
(2) Organites de l'aire mitochondriale. G.=Granules isolés, en plaques ou en chaînettes. Les plus gros avec grain chromatique central. B=Bâtonnets courts, allongés, en haltères ou filamenteux. On les voit dériver de granules alignés et plus ou moins fusionnés.

Tout se passe comme si le noyau libérait, au travers de sa membrane, des produits sans doute de nature enzymatique, qui vont dégager le desmoglycogène fixé dans les feuillettes du capitulum. (FIG. 8 : 5).

c) LE CAPITULUM (C - FIGS 1, 2 et 3 ; 1)

C'est la partie supérieure de la tige axostyloïde qui s'est élargie en cornet, dans lequel s'est inséré le noyau. Sur la face dorsale, ce cornet se prolonge par la lamelle axostyloïde que nous connaissons et qui va se fixer sur le centrosome au sommet du rostre. Le capitulum est parcouru de stries longitudinales qui se raccordent à celles de l'axostyle. Il est entouré par l'appareil parabasal qui s'enroule à la base du capitulum dont nous ferons une étude précise et détaillée quand nous nous occuperons du système axostyloïde (voir page 15).

c) L'APPAREIL PARABASAL (A.P. FIGS 1, 3 (1) et 4)

Il est constitué en réalité de deux formations parallèles et identiques. Chacune d'elles comprend une longue tige ou *rachis* enroulée autour de l'axostyle (RA, FIG. 4). Sur ce rachis sont rattachées de nombreuses lamelles latérales, les *parabasalies* (P), disposées en deux rangées longitudinales opposées, simulant des folioles.

Les tiges remontent au-dessus du noyau et se prolongent obliquement pour donner deux bâtonnets nus : les *réglés* que nous connaissons déjà. L'un d'eux va se fixer sur un centrosome, tandis que le second se soude à la cuticule au voisinage du premier.

Réglés, rachis, parabasalies sont formés de deux substances différentes : chromophile et chromophobe.

Pendant la période trophique, le parabasal est enroulé de droite à gauche autour de la base du capitulum, d'une manière plus ou moins serrée. Les parabasalies sont parfois étalées en certains endroits. Elles varient aussi bien dans leur forme qu'en épaisseur et en longueur dans le même organite et au même moment. On observe aussi des variations du même ordre dans les affinités tinctoriales.

L'accroissement du parabasal se fait par multiplication des parabasalies selon un processus qui n'a pas été exactement déterminé. On suppose sans en avoir de preuves directes, que les lamelles se dédoublent et que cette autoduplication, qui n'a jamais été observée, est accompagnée d'un allongement du rachis.

Pendant la mitose, le parabasal se déroule. A la prophase, les parabasalies se détachent, se disséminent dans la cellule en prenant l'aspect de *dictyosomes* avec leurs deux substances : chromophile et chromophobe bien reconnaissables. On observe plusieurs étapes dans la dispersion et la dissolution des fragments dans le cytoplasme.

L'appareil parabasal se reconstruit à la fin de la mitose par un procédé qui n'a pas été nettement mis en évidence.

Structure histologique fine

Les colorants vitaux : vert Janus B au 1/4.000^e et 1/5.000^e, rouge neutre au 1/5.000^e ne colorent pas l'appareil parabasal, même assez longtemps après la mort, tandis que le violet dahlia lui donne une teinte violacée pâle.

Les fixateurs acétiés ou alcooliques altèrent le parabasal qui peut même être complètement détruit.

D'autres fixateurs le gonflent et le déforment : formol dans l'eau physiologique, formol-calcium, REGAUD.

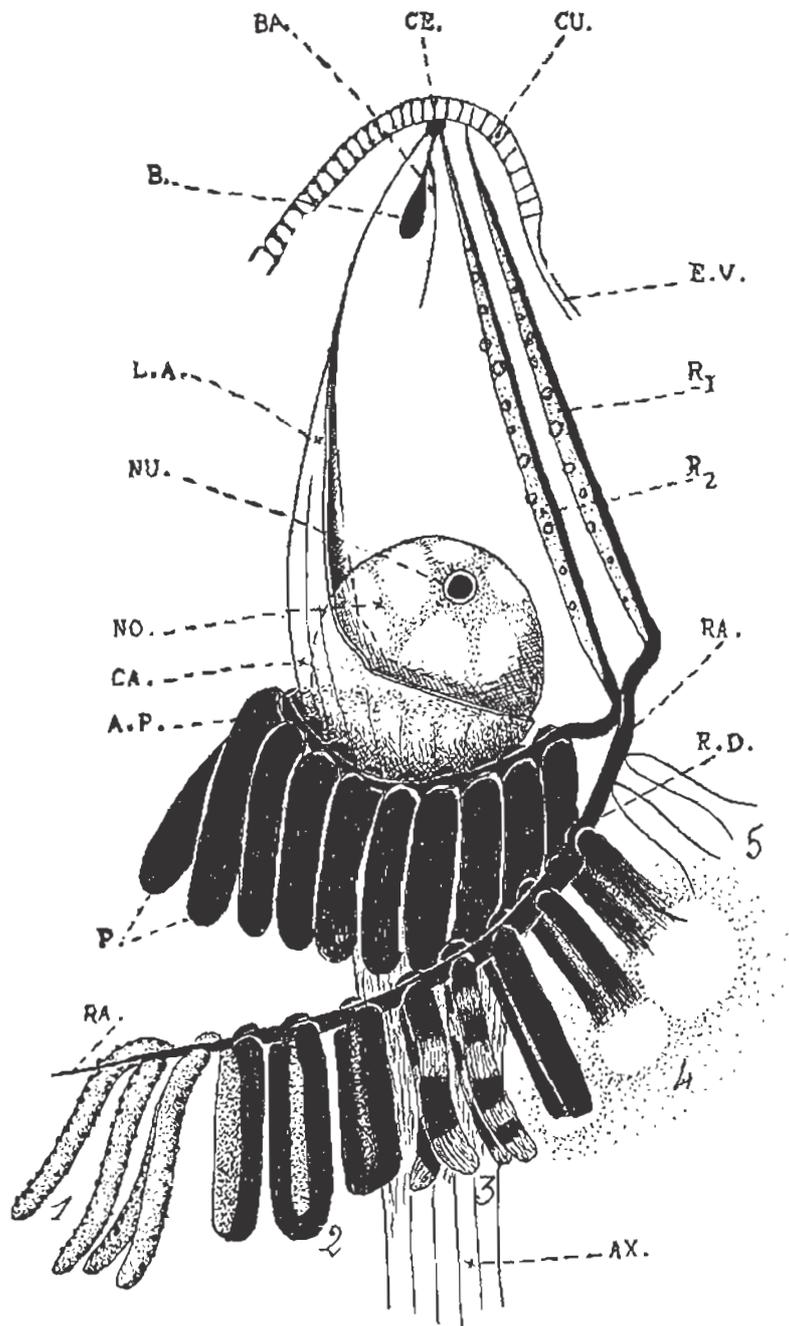


FIGURE 4. — Appareil parabasal (oom-schématique). Un des deux éléments constitutifs est représenté *in situ*, l'autre est supposé déroulé avec les parabasalies à divers stades de leur évolution — C.E. = centrosome; CU. = curcule rostrale; E.V. = échancrure ventrale; R₁ = un des réglats en sécrétion; R₂ = l'autre réglat; R.A. = rachis; P.D. = parabasal déroulé; P. = parabasalies; A.F. = appareil parabasal en place; C.A. = cristallin; A.X. = axostyle; NO. = noyau; NU. = nucléole; L.A. = lamelle axostyloire; B. = battachio; BA. = battachio accessoire. — 1 = parabasalies longues (9 μ), en boudins, sécrétant des granules lipidiques sur un ou deux bords; 2 = parabasalies plates et raccourcies (6 à 7 μ 5) sécrétant des lipides diffus sur un ou deux bords (cas très fréquent); 3 = parabasalies sécrétant par secteurs; 4 = parabasalies se liquéfiant par l'extrémité distale, tandis que les corps lipidiques disparaissent et produisent apparemment la gelée de l'aire mitochondriale; 5 = filaments appariés, derniers vestiges des parabasalies disparues.



FIGURE 5. — Coupe longitudinale d'une parabasalie vue au microscope électronique (grossissement direct x 20.000 ; photo x 50.000).
Inspiré d'une microphotographie de P.P. Grasse. S= sacs ; V=vésicules : reliée et libre ; SM=sac monoliforme.

Il est bien fixé par les *sels de métaux lourds* : cobalt, uranium, mercure, par le fixateur de **BENOIT**.

Il est nettement réducteur et s'imprègne par l'osmium, l'argent. Les vapeurs osmiques sont un excellent fixateur de l'appareil parabasal.

Après une bonne fixation, l'hématoxyline colore le parabasal et met parfois en relief l'axe longitudinal des parabasalies sous forme d'une bandelette plus pâle, entourée par une marge plus foncée. Dans les parabasaux très compacts et serrés, il est difficile de reconnaître les deux régions, peut-être à cause de la superposition des parabasalies ou d'une différenciation insuffisante et plus difficile.

Le rachis et les réglets sont colorés par l'hématoxyline, ils apparaissent en violet vif par l'hématoxyline phosphotungstique de **MALLORY**.

Les réglets sont des bandelettes formées de deux substances accolées : une fibre longitudinale éosinophile et chromophobe, soudée à un ruban sidérophile et chromophile. Parfois les parabasalies montrent une structure en apparence striée par le travers, irrégulièrement, comme si elles étaient formées de disques empilés.

Les parabasalies ont souvent la forme de boudins allongés, atteignant ou dépassant 9μ de long. Ils sont fixés par paires sur le rachis et sécrètent des granules lipidiques sur un ou deux bords longitudinaux opposés (FIG. 4 - 1). Fréquemment les parabasalies se raccourcissent en plaquettes ovales ou quadrangulaires (FIG. 4 - 2) plus colorables sur un ou deux bords. A ce stade, elles mesurent de 4 à 7μ de long. Parfois, elles sont tronçonnées par des espaces plus clairs (FIG. 4 - 3). Dans d'autres cas (FIG. 4 - 4), leur extrémité distale semble se liquéfier peu à peu en une grosse goutte hyaline qui se fusionne avec les voisines. Il semble que l'on saisisse alors le mode de formation d'une gelée annulaire, post parabasale, qui glissera le long de l'axostyle pour donner l'aire mitochondriale et ses inclusions. Enfin, les parabasalies peuvent se liquéfier totalement et se réduire à 2 filaments fixés au même endroit du rachis (FIG. 4 - 5). On ne sait pas comment les parabasalies se régénèrent.

Toutes ces variations de taille, de forme et d'activité se comprennent fort bien si l'on se reporte à la structure des parabasalies, comme elle a été mise en évidence par P.P. GRASSÉ à l'aide du microscope électronique (FIG. 5).

En définitive il faut interpréter l'appareil parbasal de *Joenia* de la façon suivante (FIG. 4).

Deux *régllets* (R_1 et R_2), plus ou moins parallèles, partent de la pointe du rostre qu'ils vont traverser dans toute sa longueur jusqu'au-dessous du noyau. L'un d'eux (R_2) a pour origine un centrosome sous cuticulaire (CE), l'autre est fixé au voisinage sur la cuticule. Chaque régllet est une bande assez large formée d'une fibre éosinophile chromophile, accolée à un ruban chromophile qui prend fortement l'hématoxyline.

Un filament plus étroit, homogène et chromophile, prolonge les régllets; c'est le *rachis* (RA) qui s'enroule en donnant la *collerette* portant les *parabasallies* (P) disposées par paires comme les folioles des feuilles de Mimosées.

Chaque parabasalie est constituée par de très nombreux sacs plats, empilés les uns sur les autres (FIG. 5 : S). Leur bord libre peut se résoudre en vésicules (V) qui se détachent et se dissolvent dans le cytoplasme. Les sacs peuvent aussi sonder leur paroi interne en divers points séparés, ce qui leur donne une section moniliforme ou vésiculeuse. La pile de sacs élémentaires se fixe sur le rachis qu'elle entoure plus ou moins par ses éléments les plus jeunes et les plus petits. Elle s'effeuille à l'opposé où les saccules agrandis se détachent et se liquéfient.

L'appareil parbasal de *Joenia* adulte, se voit très bien sur le vivant, même à un grossissement relativement faible (X 300). Il devient plus précis au contraste de phase qui rend les parabasalies et le rachis facilement reconnaissables.

Il a une biréfringence très faible en des points mal définis. La rotation de la platine du microscope polarisant détermine 4 extinctions non modifiées par un chauffage modéré. Ceci plaide en faveur de la présence de lipide cristallisé, mais il n'a pas été observé de croix de polarisation.

Le LUGOL appliqué sur un frottis vivant, rapidement lavé ensuite, augmente quelque peu la biréfringence.

Histochimie

Nous avons essayé de très nombreuses réactions caractéristiques de la présence (ou de l'absence) de composés biochimiques bien définis. Nous classerons les corps recherchés en 3 grandes catégories : **protides simples ou complexes**, lipides, glucides. Voici les résultats essentiels fournis par l'étude détaillée de l'appareil parabasal.

a) *Protides*. Dans toutes ses parties, le parabasal contient des protéines faciles à révéler. La réaction de MILLON est positive, ainsi que la réaction de RAS-PAIL caractéristique du tryptophane. La réaction d'ADAMKIEWICZ modifiée par HOPKINS et COLE, celle au sulfure de plomb donnent également des résultats positifs. Par la réaction au flavianate de soude et celle de SAKAGUSHI, on peut mettre en évidence la présence d'arginine.

A l'aide du nitroprussiate de soude ou par la méthode de CHEVREMONT et FREDERICQ, on révèle la présence de protéines à groupements sulfhydrilés plus ou moins faciles à démasquer. Mais ils ne paraissent pas plus abondants dans le parabasal que dans le reste de la cellule. Au surplus, toutes les réactions positives que nous avons signalées ne sont pas plus intenses dans l'appareil parabasal que dans le corps cellulaire.

Enfin, le parabasal ne contient pas de ribonucléines. Il ne nous a paru posséder aucune originalité biochimique visible du côté de sa composition protidique.

La recherche des enzymes donnerait probablement des résultats plus intéressants.

b) *Lipides*. Le rouge soudan, le noir soudan, le bleu BZL et surtout le noir au gras colorent le parabasal, mais la coloration n'est pas toujours homogène et varie avec les individus.

Après fixation aux vapeurs osmiques-formol-calcium, le rachis paraît parfois plus coloré. Le noir soudan B après vapeurs osmiques-CAJAL montre dans certains individus des granules plus colorés sur les parabasalies, tandis que le rachis ne l'est pas plus que le reste de l'appareil.

Les réglés ne sont pas nettement colorés par les réactifs des lipides, mais un peu teintés par le noir au gras.

La réaction plasmale (recoloration de la fuschine de SCHIFF après action du sublimé) dénote la présence de plasmalogène ou *acétal-phosphatides*. Elle est fortement positive sur les parabasalies.

La réaction pseudo-plasmale (recoloration après oxydation par l'oxygène de l'air, la préparation étant laissée dans l'eau aérée) est également positive, sauf sur les réglés. On sait qu'elle est donnée par des corps gras non saturés, oxydés au niveau des doubles liaisons éthyléniques $-C=C-$. Parmi eux, les *phospholipines* sont particulièrement faciles à oxyder. Chez *Joenia*, l'oxydation est rapide, ce qui semble montrer leur abondance relative.

La réaction de BAKER (oxydation des corps gras non saturés par le bichromate de K, avec fixation d'ions Cr et production d'une laque chromique par l'hématéine) révèle la présence de *lipines*. Elle est faiblement positive ou nulle sur le parabasal, toujours négative sur les réglés.

La réaction de LORRAIN-SMITH au sulfate de bleu de Nil, confirme en bleu la présence de lipines dans l'appareil parabasal, mais ne révèle pas en rose ou rouge la présence de graisses neutres.

Nous avons recherché la présence des *lécithines* dans le parabasal par la réaction iodophile de ROMIEU en opérant de la façon suivante. Un frottis est fixé à l'alcool-formol, puis traité par le LUGOL. La préparation est soumise à l'hydrolyse par SO^+H^2 à 33 % entre lame et lamelle. Dans ces conditions, le glyco-gène qui avait donné la coloration rouge acajou classique est détruit au bout de 20 heures environ à la température ordinaire. Or, cette coloration persiste 2 à 3 jours dans notre milieu acide et teinte le parabasal. Elle serait due, selon ROMIEU, à la formation d'une iodo-choline instable. Nous devons donc conclure que parmi les phospholipides du parabasal se trouve une *lécithine*.

La réaction de LIEBERMANN, selon le procédé de SCHULTZE, n'a révélé aucune trace de cholestérol ou de stérides chez *Joenia*.

La richesse en lipides variés de l'appareil parabasal explique aisément ses propriétés réductrices marquées. Il réduit l'acide osmique, le nitrate d'argent, qui démontrent sans peine de nombreux granules sur un fond plus ou moins assombri.

En résumé, le parabasal contient des acétal-phosphatides, des lipines, au moins une *lécithine* et des corps gras plus simples saturés ou non. Il émet des lipides bien colorables par le noir au gras, le noir soudan, mais ce ne sont pas des lipines. Les réglets, légèrement teintés par le noir au gras contiennent un lipide dont la nature n'a pas été précisée.

A noter aussi l'abondance relative des lipides phosphorés.

L'intensité de la coloration du parabasal par les réactifs des corps lipidiques semble varier dans le temps comme dans les individus, ce qui démontrerait que leur production n'est pas constante mais présente des à-coups peut-être en rapport avec l'activité du noyau. Les colorations ne sont pas uniformes dans un appareil donné dont les parabasalies ne sont pas toujours toutes de la même teinte au même moment.

c) *Glucides*. Aucun réactif des glucides (LUGOL, carmin de BEST, réaction de BAUER) ne nous a donné des résultats positifs sur le parabasal qui ne contient du glyco-gène à aucun moment de la vie du Flagellé.

2. - LE SYSTEME AXOSTYLAIRE (Ax. FIG. 6)

On peut y distinguer : la *lamelle axostyulaire* (L. a. FIGS 1, 2, 3 (1) et 4) ; le *capitulum* (Ca. FIGS 1, 2, 3 (1) et 4) ; la *tige* (t) et l'*appareil terminal* (Ax. a. t. FIGS 1-6).

a) *Lamelle axostyulaire*. Elle est logée en entier dans le rostre qu'elle parcourt dans toute sa longueur. Elle se détache du bord dorsal supérieur du capitulum sous forme d'une lame triangulaire, courbée en cuiller qui va se fixer par son sommet sur le centrosome.

En fait, la lamelle axostyulaire présente l'aspect d'une spathe d'Aroïdée, d'un cornet largement ouvert, tourné vers la face ventrale du Flagellé, et dans lequel

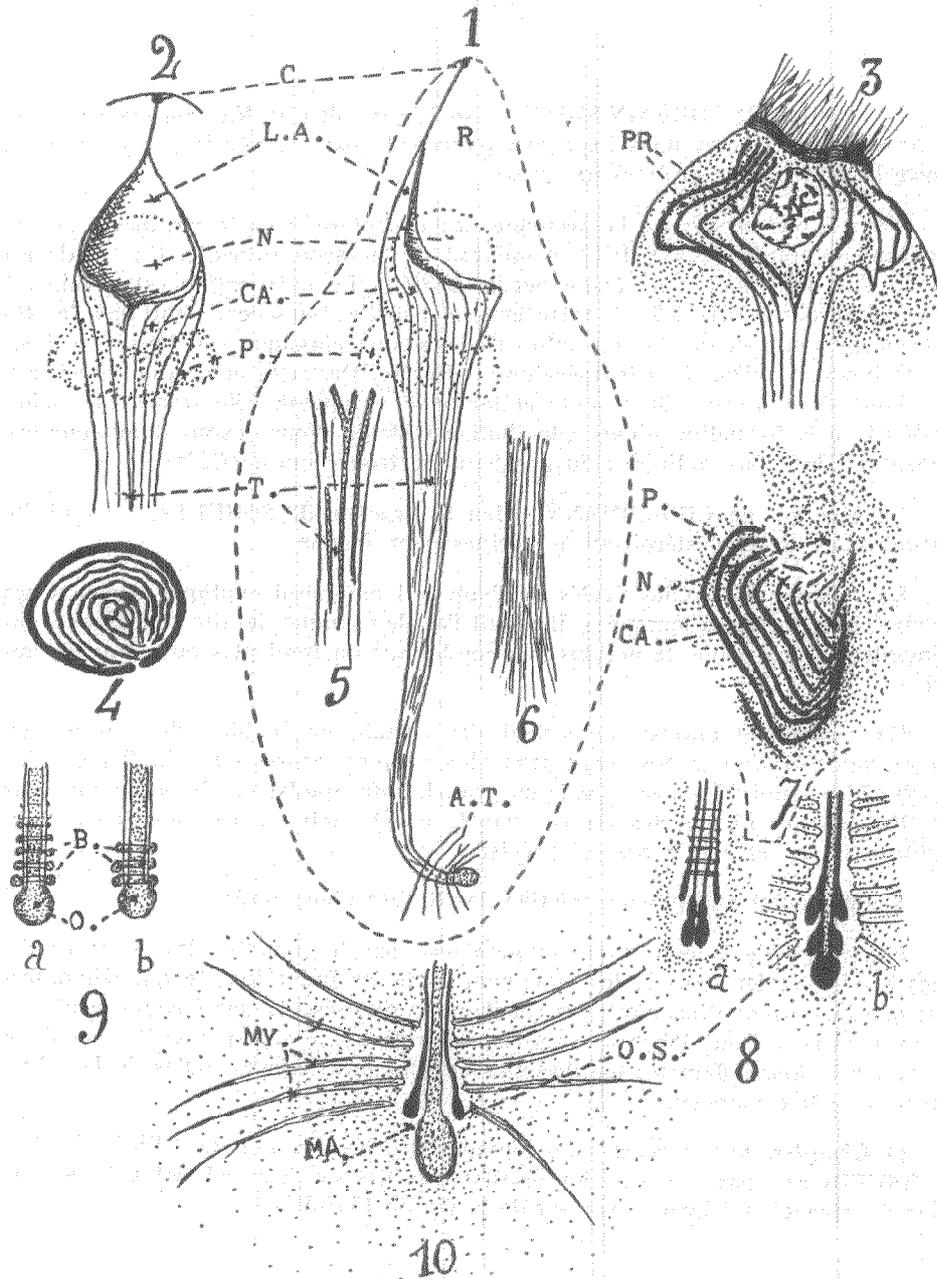


FIGURE 6. — Appareil axostyle. 1. Vue d'ensemble et de profil de l'appareil axostyle. En tirets=contour de *Joenia*; en pointillé: noyau (N) et appareil parabasal. — 2. Région antérieure, vue de face. — 3. Capitulum d'une forme jeune, avec ses protubérances latérales (PR). — 4. Coupe transversale de la tige axostyle, montrant ses lamelles enroulées, la plus externe épaissie et modifiée, en voie de sécrétion. — 5. Fragment de la tige axostyle avec ses bandes longitudinales, de glycogène. — 6. Fibres de la tige axostyle dissociées en pinceau par le mordant de Weigert. — 7. Coupe oblique du capitulum, colorée au carmin de Best montrant ses lamelles diffusant une large plage de glycogène (GY). — 8. Appareil terminal, manchon hyalin et olives. — 9. Appareil terminal, bracelets ou bagues péri-axostyle. — 10. Appareil terminal avec ses myophanes (MY). C=centrosome; L.A.=lamelle axostyle; N=noyau; Ca.=capitulum; P=appareil parabasal; T.=tige de l'axostyle; A.T.=appareil terminal; MY=myophanes; MA=manchon hyalin; B.=bagues péri-axostyle; O=olive terminale; O.S. olives secondaires; GY=plage de diffusion du glycogène; R.=rostrum.

est logé le noyau (No. FIGS 1, 3 (1), 4). Dans ce cornet à fond oblique se trouve enchâssé partiellement le noyau, à la façon d'un gland de chêne dans sa cupule.

La lamelle axostylaire semble être formée d'une membrane unique, non dissociable en feuillettes élémentaires soudées.

b) *Capitulum*. On peut le considérer comme la partie supérieure dilatée de la tige axostylaire. C'est lui qui forme la cupule du noyau et fournit la lamelle que nous venons de décrire.

Le pavillon du capitulum est parcouru par de fines stries longitudinales qui prolongent celles de la tige et montrent que les structures sont identiques. Elles seraient, selon DUBOSCQ et GRASSÉ, formées de fibrilles longitudinales, plus ou moins comparables à des *myonèmes* et noyées dans une substance homogène. En réalité, le capitulum est formé de *membranes* empilées comme un paquet de feuilles de papier tordues en un rouleau ou mieux en un cornet. Cette structure lamellaire du capitulum est facile à voir sur des coupes transversales qui montrent, en outre, de fort intéressants détails.

Tout d'abord, on constate que l'épaisseur des membranes empilées varie beaucoup avec les individus. Tantôt elle est faible et les lames sont presque contiguës, tantôt elle est grosse et les membranes sont plus ou moins écartées par un liquide colorable par le carmin de BEST et les réactifs du glycogène. Les lames distendues du capitulum arrivent à faire des protubérances, des pointes mousses ou aiguës disposées en couronne régulière (FIG. 2 : PR ; FIG. 8 : 1, 2, 3, 4 ; FIG. 6 : 3). Leur contenu est d'abord homogène, hyalin, sans granules visibles.

Dans les formes jeunes sortant de division, ces excroissances du capitulum sont très visibles et se présentent à des stades variés (FIGS 2, 6, 8). Elles laissent diffuser un liquide clair qui refoule le cytoplasme autour d'elles. En même temps, à leur intérieur, le fluide épaisi floccule en grains réguliers très nombreux, colorables au carmin de BEST. Un tel précipité apparaît parfois aussi à la face interne de la lamelle axostylaire.

Chaque protubérance renforce son arête (ar : FIGS 2 et 8) qui se percera bientôt libérant une solution riche en glycogène (FIG. 8 : 2). Elle provient de la liquéfaction des granules internes des protubérances.

Enfin, la boursoufflure vidée (FIG. 8 : 4) forme une saillie très forte, qui deviendra bientôt quadrangulaire et parfaitement transparente. (FIGS 2 et 3 (1)).

La réaction de BAUER, le carmin de BEST colorent les lamelles en rose vif, l'iode en rouge acajou. Ces réactifs du glycogène montrent de plus une ligne ou une bande rouge intense et très précise au contact du noyau et de la cupule axostylaire où il est enchâssé. On voit aussi des granulations alignées le long des « stries » de la paroi. On observe également des variations notables dans l'intensité de ces colorations selon les individus ; mais elles sont cependant toujours positives.

Elles disparaissent s'il y a eu traitement préliminaire par la salive (30') ; ou, pendant le même temps, par l'action de l'acide trichloracétique à 10 % et à la température ordinaire.

L'action de l'eau chaude est particulièrement intéressante. Des frottis sont fixés au CARNOY-chloroforme froid (au freezer) pendant une demi-heure environ, puis lavés, traités au LUGOL fort. On obtient la forte coloration habituelle.

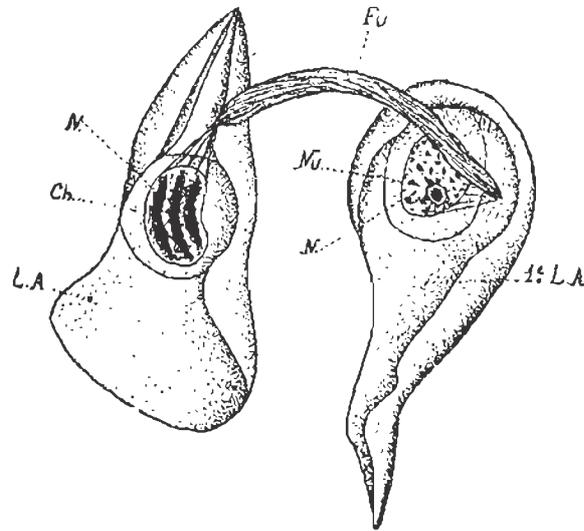


FIGURE 7. — Axostyle (suite) Apparition de la première lamelle axostyloïre autour de chacun des deux noyaux-fils avant la fin de la mitose. N.=noyau; Nu.=nucléole; ch.=chromatine; Fu.=fuseau; L.A.=lamelle axostyloïre.

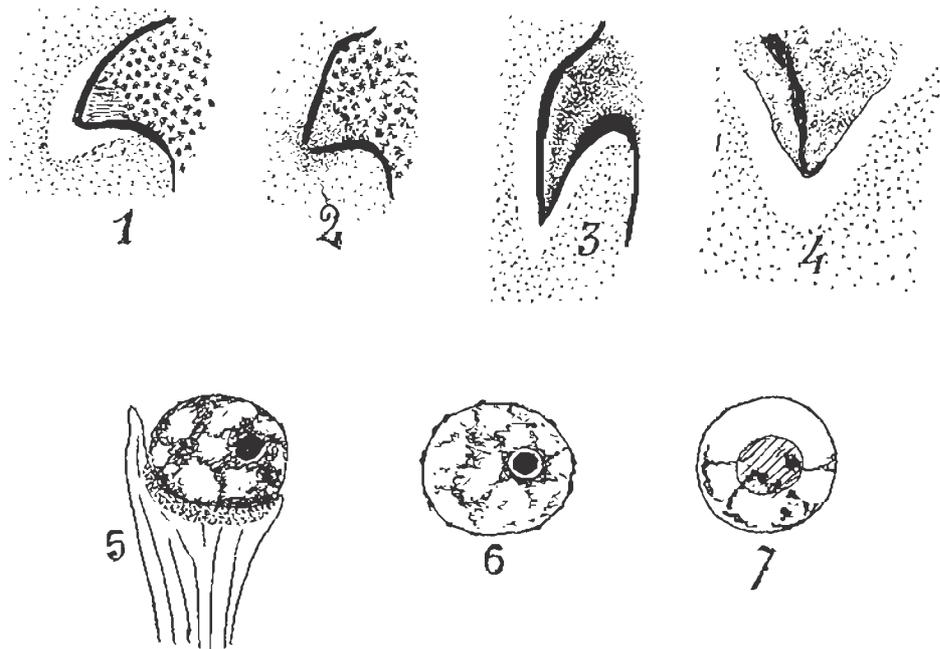


FIGURE 6. — Capitulum et noyau. 1. Protubérance avec son arête épaissie, ses granulations internes liquéfiées en glycogène vers la pointe de l'exsudation de liquide à l'extérieur. — 2. Stade un peu plus avancé. La pointe de la protubérance est percée et laisse sortir la solution glycogénique. — 3. Pointe rebattue vers le bas. Exsudation de liquide clair (ou gelée?) liquéfaction des granulations internes. — 4. Protubérance à peu près vidée, montrant son arête épaissie et le rejet de liquide (?) résiduel. — 5. Contact du capitulum et du noyau. Carmin de Best. Membrane nucléaire épaissie chargée de glycogène, comme le capitulum au contact. — 6. Ecailles lipidiques sur la membrane nucléaire en dehors. — 7. Distribution des ribonucléïnes dans le noyau contracté (vert de méthyle-pyronine).

On fait alors agir l'eau chaude à 62° pendant 30 minutes. L'endoplasme, l'aire mitochondriale, les grains rostraux sont décolorés, leur glycogène étant libre et facilement soluble.

Les axostyles et les capitulum restent colorés, mais leur teinte a quelque peu diminué.

Sur la même préparation on reprend l'action de l'eau chaude, mais à 70° pendant 35 minutes. On diminue encore la teneur en glycogène de l'appareil axostylaire, sans en enlever la totalité.

Cette action ménagée de l'eau chaude démontre :

1° qu'il se trouve un peu partout dans la cellule du Flagellé, du glycogène facilement soluble et mobilisable ou *lyoglycogène*.

2° Qu'en outre, l'appareil axostylaire contient du *desmoglycogène* plus stable et lié plus ou moins solidement à une protéine pour former un complexe de résistance variable.

Il est détruit par la salive, l'acide trichloracétique et, sans aucun doute, par des produits de type enzymatique émanés du noyau comme le démontre la coloration de la cupule axostylaire. Ainsi l'axostyle tout entier fait figure d'un organe de réserve pour les glucides, franchement caractérisé.

Toutes les réactions microchimiques des lipides se sont montrées négatives dans le capitulum.

Les protides sont présents. Des groupements sulfhydrylés fortement liés à des protéines sont localisés le long des « stries » du capitulum. On peut les détecter par la méthode de CHEVREMENT et FREDERICQ.

Au contraste de phase, sur le vivant, les stries du capitulum sont peu visibles, tandis que son bord en lumière polarisée, présente une faible biréfringence en avant du noyau.

c) *Tige* (t. FIG. 6). La tige du système axostylaire part en arrière du capitulum, traverse toute la cellule. Dans les formes jeunes, elle se termine en pointe qui peut même sortir au dehors comme chez les *Trichomonadines*. Dans les *Joenia* adultes son extrémité postérieure se recourbe dans le cytoplasme et se termine par un appareil assez complexe.

La tige axostylaire traverse l'aire mitochondriale qui forme autour d'elle un manchon plus ou moins épais. Cet anneau, après avoir pris naissance en arrière du complexe nucléo-parabasal, glisse vers l'extrémité postérieure du Flagellé, guidé et maintenu par l'axostyle. Dans son voyage, il modifie sa forme, son contenu et sa nature comme nous le décrirons plus tard.

La tige axostylaire n'a pas de membrane propre individualisée et le cytoplasme à son contact ne s'est pas différencié en une limitante. Sur frottis et en coupes longitudinales ou obliques, la tige présente des « stries » fines et nettes souvent quelque peu tordues en spire très allongée. Elles se raccordent à celles du capitulum. Ce ne sont pas des stries vraies correspondant à des fibrilles, mais le bord libre de feuillet lamellaires empilés et enroulés.

Sur des coupes transversales, la tige se montre, en effet, constituée par des feuillet plus ou moins ondulés, superposés, tordus en rouleau. Ces feuilles sont séparées les unes des autres, peut-être par un liquide incolore. Souvent, elles

se soudent localement par le sommet de leurs ondulations arrivées au contact, et l'on obtient en coupe des sortes de tubes. Parfois tout l'axostyle, par ce procédé, prend une structure spongieuse ou tubulaire.

Les lames axostylaires peuvent se dissocier et se résoudre en rubans, puis en fibrilles sous l'action de divers réactifs. Il en résulte que, parfois, dans les frottis, la tige de l'axostyle prend l'aspect d'un pinceau (FIG. 6 : 6).

Dans certains axostyles jeunes, la substance fondamentale paraît optiquement homogène, mais elle a ses macromolécules orientées comme on le voit en lumière polarisée. Elles donneront des rubans souvent bifurqués au niveau du capitulum, rubans qui se souderont à leur tour pour fournir les membranes enroulées que nous avons décrites. Celles-ci prennent vivement le carmin de BEST et sont riches en glycogène. Elles ne contiennent pas de lipides, mais des protéines sulphydrilées ou non, dont certaines semblent contenir des traces d'arginine.

Le glycogène est surtout abondant dans le capitulum et le début de la tige axostylaire. Il diminue peu à peu vers l'arrière du Flagellé pour disparaître en général (mais pas toujours) avant la fin de l'axostyle (aux 3/4, 4/5 ou 5/6 de sa longueur).

Parfois tout l'appareil, capitulum compris, est à peine teinté par les réactifs du glycogène. La présence et la quantité de ce glucide sont donc variables. En règle très générale, c'est la cupule axostylaire qui est de beaucoup la plus colorée au contact du noyau, où elle est coupée net. On voit souvent des granules vivement colorés alignés sur la paroi.

L'axostyle en lumière polarisée s'illumine selon un axe du réseau ; certaines de ses molécules sont donc orientées.

Au contraste de phase, les stries sont peu visibles sur le vivant, mais l'intérieur de la tige n'est pas homogène.

A la mitose, l'axostyle se dissout et disparaît pour se reconstituer après les noyaux-fils. On ne sait absolument rien sur les conditions *physico-chimiques* qui provoquent la dissolution et la reconstruction de l'appareil axostylaire.

On peut colorer l'axostyle sur le frais par le bleu de bromothymol qui indique *post mortem* un pH de 6,0 à 6,1. Le pourpre de bromocrésol dans les mêmes conditions, donne 5,8-6,1, comme le cytoplasme qui devient plus alcalin après la mort (6,2).

Les colorants vitaux ou post-vitaux ne prennent pas sur l'appareil axostylaire, et la plupart des colorations histologiques classiques le laissent indifférent.

L'hématoxyline ferrique montre bien les stries longitudinales. L'hématoxyline phosphotungstique teinte en violet vif l'extrémité postérieure et précise bien la structure de l'appareil terminal.

d) *Appareil terminal* (A. t. FIGS 1, 6). Nous y distinguerons : l'*olive* (O. FIGS 1, 6) ; le *manchon hyalin supra-olivaire* (MA) ; les *myophanes* (MY) de GRASSI.

a) *Olive*. Elle termine le système axostylaire et se trouve plongée dans l'endoplasme. Elle est très souvent sphérique et se colore en général assez facilement sur les frottis. Tantôt la coloration est homogène et totale, tantôt on ne teinte qu'un large croissant interne appliqué contre la paroi soit au contact de l'axostyle, soit à l'opposé.

Il semblerait que le contenu de l'olive ne soit pas toujours homogène et puisse varier dans le temps et selon les individus. Il prend le noir au gras après fixation aux vapeurs osmiques, puis formol-calcium ; mais ce n'est pas constant. Les Flagellés jeunes, en particulier, ne se colorent pas.

L'olive axostylaire contient parfois une phospholipine voisine de celle du nucléole.

Origine. L'olive terminale n'est pas un organite creux, au moins à l'origine. Elle prend naissance par fusion sur la ligne médiane, de deux ébauches symétriques. Celles-ci, facilement colorables par les techniques histologiques contenant de l'acide phosphotungstique, présentent l'aspect de deux canaux courant le long de l'axostyle terminal. Ces canaux se renflent en ampoules fondues plus tard en une seule. (Planche 6 : FIGS 8 et 10).

En réalité, il semble bien que ce soient les bords libres des lamelles axostylaires au contact des bracelets, et non pas des canaux, qui se renfleraient, évolueraient chimiquement pour donner l'olive unique normale.

Parfois (FIG. 6, 8 : b), on voit plusieurs paires de renflements superposés, que nous appellerons *olives secondaires* (O.S. : 8, 10). Selon toutes apparences, l'olive terminale évoluée, se dissout peu à peu pour être remplacée par une olive néoformée au-dessus d'elle et dérivant des olives secondaires. Au début, les deux ébauches de remplacement sont réunies entre elles par des bracelets transversaux et parallèles (9 : a, b ; 8 : a).

Le nombre de ces anneaux est fort variable (3 à 15). Les plus proches de l'olive terminale sont toujours plus gros, plus épais et plus colorables. Ils deviennent de plus en plus minces et de moins en moins visibles à mesure qu'on remonte la tige axostylaire. C'est à leur contact avec cette dernière que naissent les olives secondaires. La tige de l'axostyle présente une sorte de moelle axiale partant de l'olive terminale.

b) *Manchon hyalin* (MA : 10). C'est un fourreau transparent qui entoure en la moulant, la partie de l'appareil terminal que nous venons de décrire. Il ne prend pas les colorants, et donne l'impression d'un liquide ou d'une gelée exsudée qui refoule les granulations cytoplasmiques.

c) *Myophanes* (MY : 10). Ce sont de fins canalicules sans paroi propre, rayonnant dans le cytoplasme. Ils sont fugaces, d'orientation et de longueur variables, présentant parfois l'aspect d'une queue de cheval. La fixation peut les surprendre gonflés de liquide dans lequel s'est produit un coagulum rétracté.

Il est incontestable que l'appareil axostylaire pris dans son ensemble, n'est pas un organite figé dans sa forme, sa composition chimique et ses fonctions. Il évolue et probablement d'une manière cyclique, non synchrone dans toutes ses régions. Peut-être même se commandent-elles d'avant en arrière, selon un gradient longitudinal plus ou moins rigide.

Le capitulum est spécialisé dans le métabolisme du glycogène. Associé au noyau et à l'appareil parabasal, il forme un complexe sécréteur dont les produits réagissent les uns sur les autres, comme nous le verrons plus loin. L'appareil terminal semble doué de fonctions excrétrices et sert aussi de régulateur osmotique. Les myophanes sont des canaux temporaires creusés dans le cytoplasme et non pas des fibres contractiles.

Origine de l'appareil axostylaire

Cet appareil disparaît au moment de la mitose. On ne sait pratiquement rien des modalités de sa disparition, ni des conditions *physico-chimiques* intra-cellulaires qui la provoquent.

Par contre, on peut observer des stades très jeunes de sa reconstitution. C'est ainsi que nous avons pu voir apparaître la première lame axostylaire (FIG. 7).

Avant même que la télophase ne soit achevée, quand le fuseau est encore bien développé, les chromosomes très nets dans les noyaux-fils, il apparaît à une certaine distance de chacun d'eux une membrane fort mince, peu colorable, dont les bords se recroquevillent sur eux-mêmes. Il se produit ainsi, autour de chaque vésicule nucléaire, une sorte de vaste cornet effilé vers l'arrière. C'est la première feuille de l'appareil axostylaire, avec l'ébauche du capitulum, de la tige et même de l'appareil terminal plus ou moins indiqué. Les deux cornets axostylaires primitifs sont disposés tête-bêche autour des deux jeunes noyaux.

Les autres lames de l'axostyle se feront en dehors de la première, par un processus du même ordre et viendront la recouvrir peu à peu.

3. - L'ENDOPLASME (End. FIG. 1)

Il représente la partie centrale du corps cellulaire. C'est une grosse masse cytoplasmique granuleuse, riche en inclusions diverses dont les principales sont :

- a/- L'appareil axostylaire dont nous venons de parler ;
- b/- l'aire mitochondriale (AM FIG. 1) ;
- c/- les mitochondries (M) ;
- d/- des granules variés (G) ;
- e/- des fragments de bois (b) ;
- f/- des boules de digestion (Bd) ;
- g/- des bactéries ou formations bactéroïdes.

Nous allons passer en revue toutes ces inclusions ou différenciations endoplasmiques, sans revenir sur l'appareil axostylaire.

b) AIRE MITOCHONDRIALE (AM).

Nous appelons ainsi une région bien nettement individualisée qui se trouve juste en arrière du complexe nucléo-parabasal et s'étend plus ou moins loin vers la partie postérieure de la cellule.

Dans certains individus, elle est étroite, appliquée contre le parabasal, poussant parfois deux petites cornes latérales plus ou moins individualisées qui remontent dans la base du rostre.

Origine

L'aire mitochondriale est constituée dès l'origine par une gelée ferme qui en est la substance fondamentale. Elle est sécrétée par les parabasalies, mais s'enrichit de certains éléments qui proviennent : les uns du capitulum et sont surtout des glucides, les autres du noyau, en particulier des ribonucléines.

Nous avons vu que l'appareil parabasal, surtout au niveau de ses folioles, est le siège de sécrétions intenses qui présentent diverses modalités (voir page 11 et fig. 4). C'est surtout en gélifiant leur extrémité libre que les parabasales produisent la gelée fondamentale, à l'origine ferme, limpide et d'apparence homogène. Etant donné l'enroulement du parabasal autour du capitulum, cette gelée prend nécessairement la forme d'un anneau traversé par la tige de l'axostyle. Très vite, elle se peuple de granules puis de bâtonnets qui, par leurs formes et certaines de leurs propriétés tinctoriales rappellent les mitochondries. C'est pourquoi nous avons appelé cette région l'*aire mitochondriale* (A.M. figs 1 et 3 (1)). Elle est très souvent séparée du complexe nucléo-parabasal par un espace clair libre de corps figurés. Les organites intérieurs de la gelée présentent également des caractères morphologiques et des réactions colorantes de certaines bactéries. Ce sont des corpuscules de nature ambiguë sur laquelle nous reviendrons.

Sur les jeunes *Joenia* sortant de division et chez lesquelles la croissance est rapide, la sécrétion de la gelée et le début de son évolution sont relativement faciles à suivre. Mais en règle générale, les phénomènes ralentissent et peuvent finir par s'arrêter, au moins en apparence. C'est pourquoi on ne trouve presque toujours qu'une seule aire mitochondriale dans les flagellés adultes. Parfois, pour une cause inconnue, la sécrétion bloquée reprend tout à coup, une seconde aire mitochondriale très distincte et séparée par une bande de cytoplasme plus ou moins épaisse, apparaît alors dans le Protiste.

En bref, la sécrétion de la gelée n'est pas régulière. Elle présente des paroxysmes séparés par des ralentissements et même des arrêts. En règle générale, il n'y aurait qu'une crise très précoce ; parfois on observe deux crises successives à intervalles éloignés, produisant deux aires distinctes évoluant d'ailleurs d'une manière identique.

Evolution

La gelée donne l'impression de se gonfler peu à peu par imbibition en s'étendant vers l'arrière du Flagellé où elle se fluidifie progressivement. Mais elle garde fort longtemps la consistance d'une gelée ferme et une individualité précise. On doit pouvoir l'isoler facilement par microdissection sur le frais.

La gelée initiale constitue un anneau autour de la tige axostylole. Il se dilate et s'épaissit à mesure que la gelée se gonfle, glisse vers l'arrière en se liquéfiant peu à peu selon un gradient longitudinal intra-cellulaire antéro-postérieur. Le bois ingéré par le Protiste peut pénétrer en partie et en petite quantité dans l'aire mitochondriale. Celle-ci, dans les animaux mutilés pendant la confection des frottis, se sépare très nettement avec des bords précis simulant une membrane. Il arrive même que l'AM persiste seule et en bloc autour de l'axostyle et du CNP, parfaitement isolés.

Histochimie

La nature chimique de la gelée fondamentale est fort mal connue et ses affinités tinctoriales sont très faibles.

On réussit à la colorer d'une façon diffuse et faible en brun rouge pâle ou en jaunâtre par le LUGOL après fixation au BOUIN-ALLEN. Dans le premier cas, une coloration du glycogène se superpose à celle de la substance fondamentale qui prend mal l'ALTMANN-BENSLEY après fixation au BENOIT.

La gelée n'est pas réductrice et contient des protides relativement peu abondants, parmi ceux-ci on peut caractériser des ribonucléines à l'aide du vert de méthyle-pyronine.

Les lipides sont en général absents. Parfois cette gelée semble légèrement imprégnée de corps gras soudanophiles ou se teinte à peine par le noir au gras.

Le glycogène est présent au moins d'une manière sporadique et surtout autour des corpuscules figurés.

La gelée ne prend ni l'hématoxyline, ni les colorants basiques, ni les réactifs des lipides.

Son pH n'est pas très différent de celui du reste du cytoplasme (5,5 à 5,8).

Elle est invisible ou peu reconnaissable sur le vivant, aussi bien au microscope optique ordinaire qu'au contraste de phase. Elle ne présente aucune biréfringence en lumière polarisée.

Différenciations internes

De très bonne heure apparaissent dans la gelée des corpuscules figurés de taille et de forme variables dont on pourra suivre l'évolution. On peut les ranger en deux grandes catégories : les *granules* et les *bâtonnets*.

a) *Granules*. Nous avons vu qu'ils apparaissent brusquement et de très bonne heure. Nous les avons interprétés comme le résultat d'une sorte de floculation du gel initial. Cette hypothèse repose sur un certain nombre de faits précis et incontestables. Les voici :

Dans *toutes les cellules* ils apparaissent au même moment d'un seul coup et en très grand nombre occupant toute la gelée. Ils ont tous la même taille et les mêmes affinités tinctoriales et biochimiques. Ils sont assez gros (4 à 7 μ), visibles sur le vivant, et ne présentent aucune biréfringence.

On a cru distinguer dans certaines granules des aspects de division. On les voit souvent associés en diplocoques ou même en chaînettes courtes de type streptococcique. Ces apparences ne dérivent pas de bipartitions simples ou répétées comme on pourrait le supposer, mais au contraire de fusions comme nous le verrons plus tard.

Histochimie

Après fixation au BENOIT, ils se colorent en rougeâtre par l'ALTMANN-BENSLEY, mais non plus par le LUGOL. Ils prennent le violet dahlia au 1/10.000^e, un peu les colorants lipidiques surtout le noir au gras, et vivement l'hématoxyline ferrique. Le carmin de BEST les colore bien, ce qui indique une bonne proportion de glycogène. Par contre, il n'y a que des traces de phospholipines et de groupements sulfhydrilés liés aux protides. La proportion des ribonucléines qui sont présentes, est un peu plus grande.

b) *Bâtonnets*. Dans les jeunes Flagellés, ils sont souvent mélangés aux granules et se présentent sous forme de gros bâtonnets courts à bouts arrondis. Ils vont s'allonger, s'amincir et devenir de plus en plus grêles tandis que leurs affinités tinctoriales s'affirment. Ils prennent des aspects de bactéries diverses jamais disposées en chaînettes. Assez souvent et dans les stades avancés leurs

bouts se renflent et l'organite prend une forme en *haltère* caractéristique. Elle a été interprétée parfois comme un stade de division, ce qui ne nous paraît pas démontré.

La taille des bâtonnets, haltères et formations voisines, grandit à mesure que la gelée prend de l'âge, glisse vers la partie postérieure de la cellule et se fluidifie en s'imbibant. Il semble bien que la densité des bâtonnets à l'unité de volume diminue nettement par rapport à celle des granules.

Histochimie

Ces organites sont constitués surtout par des lipides et des glucides, en particulier du glycogène. Ils contiennent des phospholipines en petite quantité, des groupements sulfhydrilés liés à des protides. Après fixation au BOUIN-ALLEN, au CARNOY ou à l'alcool-formol-acétique, ils se colorent en rouge violacé par le vert de méthyle-pyronine beaucoup plus nettement que la gelée fondamentale. La ribonucléase empêche cette coloration. On peut donc affirmer la présence de ribonucléines dans les granules et bâtonnets, la gelée étant beaucoup moins riche.

La réaction de FEULGEN est positive sur beaucoup de granules et tous les bâtonnets. Ces derniers ont des grains colorés alignés dans l'axe, non fusionnés. Les granules n'ont qu'un noyau central.

Les bâtonnets, haltères et formations apparentées se colorent faiblement par le MAY-GRUNWALD, fortement, par l'hématoxyline ferrique-éosine après fixation au DA FANO qui les démontre souvent formés de granules élémentaires alignés. Il en est de même avec l'ALTMANN BENSLEY.

Origine et rapports des granules, bâtonnets et haltères.

On a mis en avant l'hypothèse que les granules pourraient être des microcoques venant du cytoplasme, ayant envahi la gelée et s'y étant multipliés. Cette théorie nous paraît insoutenable pour les raisons suivantes :

Même dans les gelées très jeunes, les granules apparaissent très nombreux, sensiblement de même taille et remplissent toute la masse. Au début, ils ressemblent à des microcoques ou des staphylocoques, tous au même stade et sans images de division, uniformément répartis. D'où viendraient-ils ? Du cytoplasme extérieur ? Dans ce cas, la périphérie devrait être plus riche que la région centrale, au moins au début de l'infection, et ce n'est jamais observé.

Il faudrait aussi que l'invasion soit toujours monospécifique. Dans cette hypothèse, on devrait considérer la gelée comme un milieu de culture extraordinaire n'admettant qu'un germe venant du cytoplasme. Comment comprendre que dans tous les *Flagellés sans exception*, il n'y ait jamais que le même microcoque qui puisse cultiver ? Et toujours il apparaît dans les stades les plus jeunes.

De nombreux arguments très sérieux s'opposent à la théorie de l'origine bactérienne cytoplasmique et de l'infection de la gelée.

Peut-on considérer celle-ci comme formée de zooglées élémentaires confluentes ? Nous avons essayé de la colorer par les techniques spécifiques de certaines zooglées et capsules bactériennes, sans aucun résultat positif bien net.

On pourrait aussi penser à une inoculation de « germes » pris au sens physico-chimique (germes cristallins, de polymérisation) et d'origine nucléaire par

exemple. Il serait séduisant d'imaginer que le noyau puisse envoyer dans la gelée secrétée par le capitulum et le complexe nucléo-parabasal, des germes autocatalytiques de molécules nucléoprotéiques qui pulluleraient très vite. On aurait ainsi une variante originale de la fabrication et de l'évolution des granules ribonucléiques et des microsomes de CLAUDE. L'apparition soudaine et presque instantanée de nos grains semble s'opposer à cette idée.

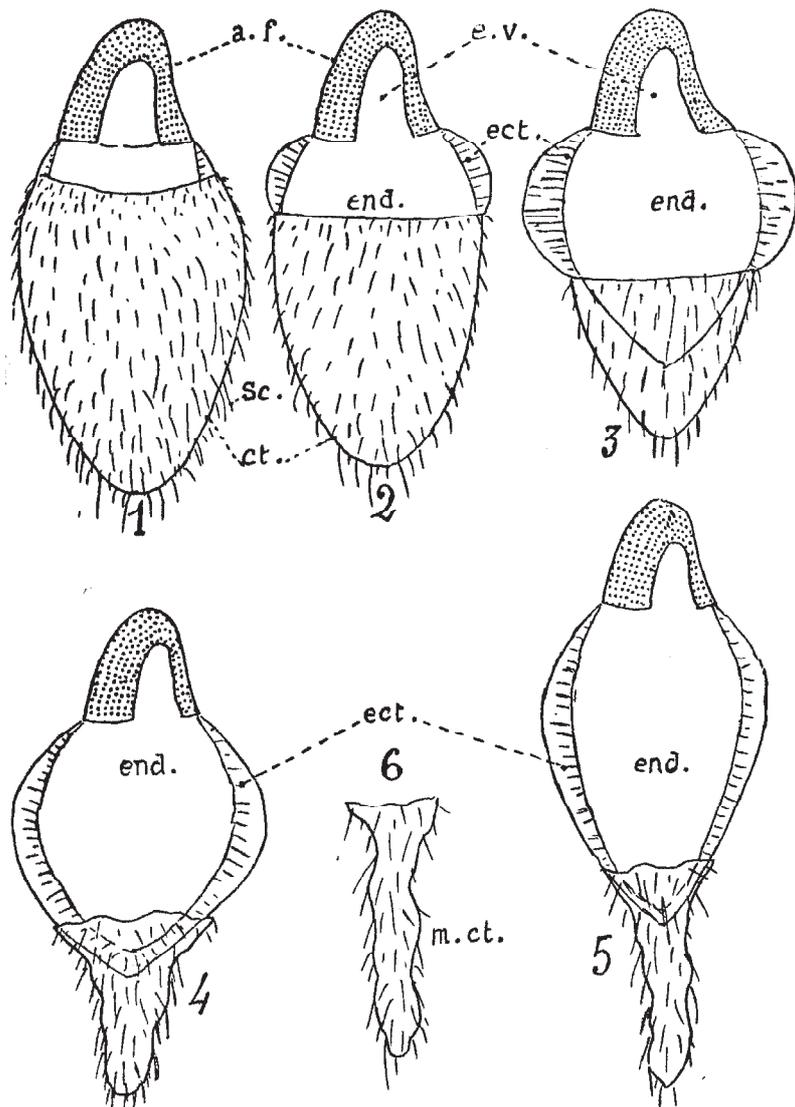


FIGURE 9. — Cuticule et aire flagellaire.

1. Vue générale.

2, 3, 4, 5. Rejet progressif de la cuticule et de ses schizophytes.

6. membrane cuticulaire vide rejetée.

a.f.=cuticule épaisse de l'aire flagellaire; e.v.= échancre ventrale; end.=endoplasme; ect.=ectoplasme; Sc.=schizophytes; m.Ct.=membrane cuticulaire; Ct.=cuticule.

Quoi qu'il en soit, il nous semble que la recherche et la détermination des vitamines et des enzymes dans l'aire mitochondriale, si elles sont possibles, seraient d'un grand intérêt.

Quels sont maintenant les rapports entre les granules et les bâtonnets ? Ici, notre réponse est formelle. Les bâtonnets dérivent toujours par fusion des granules. La *densité* des grains est plus grande par unité de volume que celle des bâtonnets. Ceux-ci se développent quand les granules disparaissent. Plus les bâtonnets sont grands moins ils sont relativement nombreux.

Enfin et surtout, de nombreuses techniques histologiques (laque ferrique après DA FANO, ALTMANN-BENSLEY, etc...) montrent que les bâtonnets normaux ou en haltères, sont formés de granules plus ou moins nombreux, alignés à la façon des streptocoques. Le nombre des éléments détermine la longueur des bâtonnets. La fusion des granules est progressive et peut aboutir à un bâton presque homogène.

Il y a des préparations où, dans la gelée, on trouve des secteurs à granules purs, d'autres à bâtonnets et haltères purs ou presque. Tout se passe comme si l'on était en présence d'évolutions sectoriales non synchrones.

Nous avons envisagé parfois la possibilité de l'existence de phénomènes et d'images de sexualité. Mais nous avons très vite abandonné toute hypothèse de cette nature.

Les corps en haltères ont été considérés par les auteurs comme des bâtonnets en division. Cela ne nous paraît guère soutenable. Nous n'avons jamais vu dans toutes ces formations de bipartitions incontestables.

Les propriétés tinctoriales, à l'intensité près, sont du même ordre dans tous ces corps figurés.

Rapports avec les mitochondries

Les organites différenciés de l'aire mitochondriale rappellent par leur forme des mitochondries sphériques ou des chondriocotes. C'est cette apparence qui nous a fait baptiser du nom d'aire mitochondriale la région bien limitée où on les observe. Certaines de leurs propriétés tinctoriales (coloration à l'ALTMANN, au violet dahlia post-vital, au BENDA) sont celles du chondriome. Mais elles ne prennent pas le colorant spécifique qu'est le vert Janus B.

Notons, en outre, que l'on trouve des mitochondries typiques entremêlées à ces organites et disséminées dans la gelée. Celle-ci représente donc un milieu où s'élaborent, évoluent d'avant en arrière des corpuscules particuliers présentant des affinités plus ou moins profondes avec des mitochondries et des bactéries parasites ou symbiotes.

DUBOSCQ et GRASSE avaient déjà attiré l'attention sur ces affinités, mais ils n'avaient pas reconnu la gelée fondamentale où on les trouve, ni l'évolution de celle-ci. Mais ils ont insisté sur leur nature ambiguë et doutaient de leur valeur mitochondriale. Ils ont fini par tendre à les assimiler à des symbiotes.

Que deviennent ces organites par la suite ? Au moment de la mitose, la gelée et ses inclusions disparaissent complètement, ce qui n'est pas, en général, le cas du chondriome.

Il est facile de suivre l'évolution des inclusions en même temps que celle de la gelée fondamentale. Il semble que toujours dès l'origine, elles apparaissent comme nous l'avons vu, sous forme de granules très nombreux et de taille très homogène. Nous avons interprété cette production comme un précipité floconneux, colloïdal séparant une phase solide et figurée : les granules d'un sol précurseur de la gelée fondamentale. Les granules grossissent peut-être quelque peu par une sorte d'imbibition et des absorptions diverses, mais nous n'avons jamais reconnu de bipartitions incontestables. Au contraire, on les voit s'associer en lignes et en chaînettes qui donnent d'abord des bâtonnets courts et gros à bouts arrondis ; puis s'allongent en éléments de plus en plus longs par addition de granules aux extrémités, ce qui aboutit souvent à l'apparence en haltère bien connue. Les granules élémentaires sont reconnaissables pendant longtemps, ils s'entourent d'une gaine commune et finissent par se fusionner complètement. Pendant cette évolution, la gelée glisse vers l'arrière à la façon d'un anneau coulissant le long de l'axostyle et se fluidifie en se gonflant. Lorsqu'elle est en apparence presque liquéfiée, les organites internes sont devenus de très longs filaments grêles, mais leurs affinités tinctoriales essentielles sont respectées. On a cependant l'impression qu'ils sont plus visqueux, étirés, et marchent vers une sorte de désintégration plus ou moins poussée. Nous donnons quelques figures représentant les grandes lignes des modifications observées (FIG. 3 (2) : G.B.).

c) MITOCHONDRIES DE L'ENDOPLASME (M)

Des mitochondries vraies, sphériques, colorables à l'ALTMANN-BENSLEY après BENOIT, au vert Janus B, au BENDA, etc. sont disséminées un peu partout et remontent dans le rostre. Toutes sont chargées de lipides, de corps gras non saturés, de phospholipines. Ces dernières sont absentes dans les mitochondries de l'ectoplasme.

Des bâtonnets plus ou moins longs, visibles parfois dans le cytoplasme, semblent bien être des mitochondries vraies bacilliformes.

d) GRANULES ENDOPLASMIQUES (G)

En dehors des mitochondries, l'endoplasme contient de nombreuses granulations de taille variable, disséminées un peu partout en particulier dans le rostre. Leur interprétation est souvent fort délicate. Les unes sont positives en rouge ou rose à la réaction plasmale de FEULGEN et VOIT et contiennent par conséquent des acétal-phosphatides. Le noir au gras colore des granules lipidiques.

Les granules endoplasmiques, mitochondries comprises, renferment pour la plupart des phospholipines, tous sont lipidiques, mais aucun ne répond aux réactifs des glucides.

e) FRAGMENTS DE BOIS (b) et BOULES DE DIGESTION (Bd)

L'endoplasme est toujours plus ou moins chargé de minuscules fragments du bois dont le Termité se nourrit. Leur taille est assez variable, mais toujours très petite et leur ingestion par le Flagellé se fait par un procédé mal connu. Il n'y a pas de « zone trophique » postérieure douée de mouvements amiboïdes par laquelle le bois serait phagocyté. Mais il l'est par moments lorsque la cuticule se décolle dans la région antérieure et glisse vers l'arrière en mettant l'ectoplasme à nu. Nous avons observé à plusieurs reprises l'entrée du bois dans cette région, où l'on reconnaît parfois de courts pseudopodes.

Les fragments de bois ne sont jamais entourés d'une vacuole digestive générale. Ils sont à même dans le cytoplasme qui les attaque par des enzymes successifs. Parmi ceux-ci, HUNGATE (1939) chez *Zootermopsis* a pu reconnaître la présence d'une cellulase.

Autour du bois, on peut observer parfois dans le cytoplasme, de petites vacuoles colorées vivement par le rouge neutre. Les fragments se lysent rapidement et disparaissent sans laisser de traces. On a interprété comme des étapes de la digestion, des boules jaunâtres dites *boules de digestion*.

Le bois ingéré par le protozoaire n'est pas du bois brut. Il a été en quelque sorte « élaboré » pendant sa traversée du tube digestif du termite.

Beaucoup de fragments de bois, ingérés ou non par les Flagellés, ne donnent plus les réactions micro-chimiques de la lignine : coloration par le GRAM, la fuchsine acide différenciée par l'alcool picrique, réaction de NETIEN et NEVORET négative (pas de coloration jaune par une solution chlorhydrique d'une sulfamide) la réaction de MAULE est faible (coloration rose par le permanganate à 1 %, puis lavage à HCl étendu, rinçage et enfin action de l'ammoniaque).

De même les réactions de la cellulose sont très atténuées et ne s'observent que sur quelques fragments intra-cytoplasmiques.

« On ignore ce qu'il advient de la lignine. Il est vraisemblable que cette substance n'est pas utilisée, mais nous ne savons pas sous quelle forme le Flagellé l'excrète ». (P.P. GRASSE. Traité de zoologie. T. IX, p. 500).

La digestion du bois, surtout de la cellulose, a fait l'objet de recherches nombreuses et d'hypothèses plus ou moins fondées.

PIERANTONI (1934-1935) a pensé que les Flagellés sont incapables de digérer la cellulose, mais qu'elle le serait par les bactéries intra-cytoplasmiques.

HUNGATE (1938) a échoué dans ses tentatives de culture de ces prétendues bactéries symbiotiques.

La flore bactérienne intestinale de beaucoup de termites ne semble pas contenir d'espèces cellulolytiques, tandis que les Flagellés de *Zootermopsis* posséderaient une cellulase (HUNGATE 1939).

Des termites (*Zootermopsis*) artificiellement défaunés (chauffage à 35° pendant quelques heures, séjour dans O pur comprimé à 3-5 atmosphères) meurent au bout de 3-4 semaines par épuisement de leurs réserves.

Pour HUNGATE, les Flagellés de *Zootermopsis* digèrent la cellulose. On aboutit à du glucose qui demeure dans leur cytoplasme et devient une source d'énergie. Ils peuvent oxyder le sucre en donnant CO₂ et H₂O sans profit pour l'insecte, ou bien, le glucose n'est brûlé qu'en partie, l'excédent étant rejeté en solution dans le liquide intestinal.

CLEVELAND en 1934 avait déjà trouvé que les Flagellés de l'intestin d'une Blatte xylophage (*Cryptocercus punctulatus*) excrètent du glucose dans le fluide rectal de l'insecte qui l'utilise comme aliment.

Cette théorie est insoutenable chez les termites, car le glucose n'a jamais été reconnu dans leur fluide rectal, non plus que la trace des produits des fermentations de toutes sortes, aérobies et anaérobies, qu'il pourrait subir.

Enfin, HUNGATE admet que les Flagellés feraient fermenter dans leur propre cytoplasme, le glucose qu'ils ont produit par hydrolyse de la cellulose du bois ingéré. De cette fermentation anaérobie sortiraient des composés organiques assimilables par le Terme-hôte qui les brûlerait.

Les Flagellés termiticoles sont anaérobies. Isolés et conservés dans un milieu qui ne les altère pas, ils rejettent du CO_2 , de l' PH et de l'acide acétique que l'on peut reconnaître et doser, accompagnés d'autres produits indéterminables.

En s'appuyant sur toutes ces données, HUNGATE, en 1943, arrive à conclure que chez les Flagellés de *Zootermopsis*, se déroulent deux types de fermentations. Dans le premier, CO_2 et H_2 sont libérés en quantités équimoléculaires et l'acide acétique est beaucoup plus abondant ; dans le second, CO_2 et cet acide sont équimoléculaires et l' PH surabonde.

La quantité d' H_2 rejetée permet de calculer la quantité de cellulose fermentée dans la panse rectale et de voir que la respiration du termite peut donner assez d' O_2 pour brûler les produits organiques fermentaires. Mais dans toutes ces recherches et hypothèses, les auteurs n'ont pas tenu compte du glycogène accumulé en masse dans les Protozoaires.

Pour nous, la digestion du bois par les termites et leurs habitants intestinaux, se ferait *grosso modo* de la façon suivante. Les protéines du bois sont attaquées et digérées par une protéase connue dans l'intestin moyen du termite. Une amylase de l'intestin antérieur, vraisemblablement d'origine salivaire, attaque l'amidon et les polysides, mais non pas la cellulose. Les gommes, composés pectiques sont lysés par des enzymes du tube digestif antérieur et moyen. Un tiers de la masse du bois ingéré est ainsi transformé et utilisé par le termite. Les 2/3 restants sont ingérés par les Flagellés. Ils sont constitués surtout par de la cellulose et de la lignine. Une cellulase du cytoplasme des Protozoaires transforme la cellulose en glucose dont une partie sert d'aliment énergétique et l'autre est précipitée sous forme de glycogène. Celui-ci se voit partout dans la cellule, mais s'accumule et se fixe sur les lamelles de l'axostyle et du capitulum sous forme de desmoglycogène de réserve. Le système axostylaire apparaît ainsi comme une sorte d'organe remplissant une véritable fonction glycogénique comparable à celle du foie des vertébrés supérieurs. Il maintient la concentration du glycogène dans les fluides cytoplasmiques autour d'une valeur moyenne réglée par la consommation du glucide. Celui-ci est détruit finalement par deux types de fermentations : aérobie et anaérobie. Il y a sans doute une fermentation alcoolique suivie d'une fermentation acétique puis d'une destruction plus complète. CO_2 , H_2 et l'acide acétique sont des produits intermédiaires ou terminaux abondants et leurs rapports pondéraux indiquent le type fermentaire prépondérant à un moment déterminé.

Pour ce qui est de la lignine, nous sommes réduits à des hypothèses pures. La plus plausible, à notre avis, est la suivante. La lignine est décomposée en molécules incombustibles dans les conditions physiologiques internes du Flagellé. On sait que la lignine résiste à la plupart des putréfactions d'où la pratique du rouissage pour isoler les fibres textiles végétales. Ces molécules seraient recombinaées en une matière solide, flexible et transparente sous forme d'une cuticule plus ou moins épaisse, rigide et d'une certaine imperméabilité aux gaz et aux solides. Elle sera rejetée d'une manière périodique, produisant ainsi des à-coups dans les échanges entre *Joenia* et le milieu, une sorte de pulsation rythmique dans le métabolisme. On peut en voir ou en soupçonner les répercussions dans

la cellule sous forme de cycles métaboliques (capture du bois, à-coups dans la sécrétion du C.N.P., de l'A.M., etc.)

On comprend aussi pourquoi la cuticule, produit original dérivant de la lignine, est si peu colorable et si pauvre en protides, à l'exception de celle du rostre.

f) BACTERIES ENDOPLASMIQUES

Souvent dans les grandes *Joenia*, on distingue des bactéries ou des corps bactéroïdes. Certains, nous l'avons vu, ne sont que des mitochondries bacilliformes. D'autres sont de vraies bactéries parasites, commensales ou symbiotes. Mais leur signification précise et leur rôle n'ont pas été définis, non plus que leur position systématique exacte ni leurs propriétés physiologiques. En effet, les tentatives d'isolement et de culture pure ont échoué.

4. - L'ECTOPLASME (Exp. FIG. 1)

Il entoure l'endoplasme d'une couche assez mince et hyaline recouverte à son tour par la cuticule portant les schizophytes.

L'ectoplasme apparaît souvent comme parcouru par des sortes de canalicules qui le traversent tout entier perpendiculairement à la cuticule et à l'endoplasme. Leur orifice sous-cuticulaire donne parfois l'impression de s'évaser en entonnoir.

Il se colore vivement et d'une manière homogène qui tranche sur le reste de la cellule, par le carmin de BEST, ce qui indique la présence de glycogène dissout. L'intensité de la coloration est variable, révélant ainsi des à-coups notables dans la quantité de glucide dissout.

L'hématoxyline après délipidation par la pyridine et action de la ribonucléase sur fixation au DA FANO, lui donne une teinte homogène de même que le GIEMSA utilisé dans les mêmes conditions.

Dans la couche ectoplasmique, on voit peu d'inclusions. Ce sont des grains plus ou moins plaqués contre la cuticule. Ils sont de taille et d'affinités variables, accompagnés de formations plus ou moins allongées qu'il est difficile de ne pas rapprocher des schizophytes. Nous les appellerons provisoirement des *préshizophytes*, pour des raisons que nous indiquons plus loin.

On trouve encore dans l'ectoplasme quelques mitochondries typiques, mais dépourvues de phospholipines et de polysides, la réaction de BAUER et le carmin de BEST étant négatifs.

Enfin, l'ectoplasme renferme des bactéries vraies, surtout au voisinage de la cuticule.

5. - CUTICULE (Ct. FIGS 1, 9)

Le corps tout entier du Protiste est recouvert d'une *cuticule* transparente et rigide qui lui donne sa forme générale et la maintient. Elle est bien visible sur le vivant et les préparations fixées et colorées.

Nous avons vu que sur le rostre, elle est beaucoup plus épaisse, jusqu'au $1 \mu 5$, et pourvue d'une *échancrure ventrale* (FIGS 1, 9). Elle porte les flagelles, strictement localisés, et leurs blépharoplastes alignés la traversent (FIGS 1, 4 et 10).

Il n'est pas rare d'observer sur le vivant, le rejet de la cuticule chez les adultes. Au contact du rostre, la cuticule du corps cellulaire est très mince, si même elle existe réellement. Elle s'épaissit peu à peu vers l'arrière et devient plus rigide. C'est à l'extrémité du Flagellé qu'elle est la plus épaisse et la plus résistante. L'animal se débarrasse de sa cuticule de la façon suivante (FIG. 9). Un sillon transversal très étroit se fait au contact de l'aire flagellaire, dans lequel s'insinue l'ectoplasme sous forme d'un bourrelet hyalin et saillant qui grandit très vite (FIG. 9 : 1). Ceci démontre à la fois la rigidité du sac cuticulaire et l'hypertonie du cytoplasme. Les phénomènes vont s'accélérer et la cuticule chargée de ses schizophytes forme un sac qui glisse peu à peu vers l'arrière en se décollant de la cellule

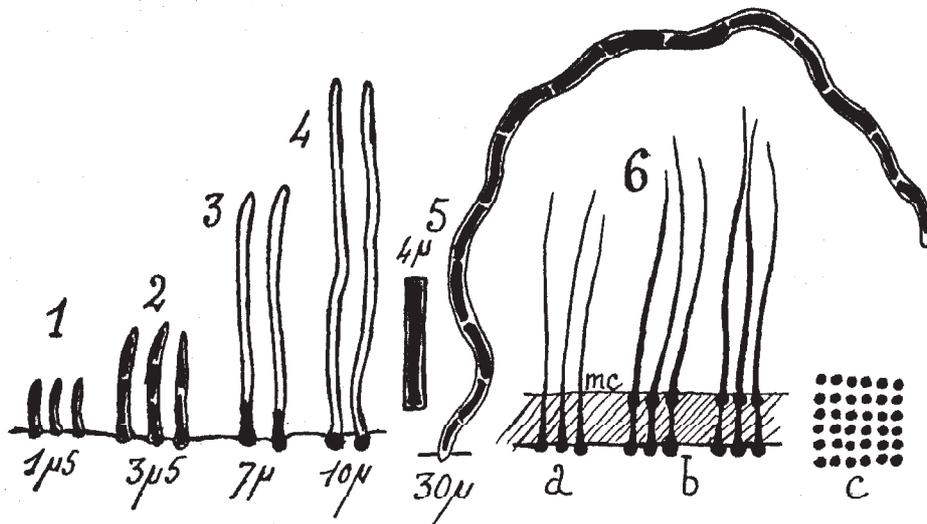


FIGURE 10. — Schizophytes et blépharoplastes.

1, 2=Schizophytes courts ; 3=passage à la forme longue ; 4, 5=formes mobiles : bactérienne et spiralée. (En noir les noyaux) ; 6=Flagelles et blépharoplastes. mc=membrane cuticulaire ; a = grains basaux ; b = grains basaux et distaux ; c=cuticule perforée par les blépharoplastes, vue de face.

dont l'ectoplasme devient de plus en plus saillant (FIG. 9. 2. 3). Bientôt le sac cuticulaire décollé et contracté produit une sorte de queue très étroite qui finit par se détacher abandonnée par le protozoaire (FIG. 9. 4. 5. 6). On voit souvent dans les frottis vivants des lambeaux du sac cuticulaire et la queue terminale totalement libérée. Mais tous ces débris se lysent très vite et disparaissent sans laisser de trace. Il semble même que cette sorte de digestion commence dès que l'ectoplasme fait hernie par le bord antérieur de la cuticulé encore sur l'animal.

On a aussi l'impression très nette que les schizophytes diminuent de nombre par une sorte de lyse et qu'ils sont réduits à leur membrane peu colorable quand ils persistent.

La cuticule rostrale ne semble pas subir une telle exfoliation. Elle disparaît seulement au moment de la mitose et pendant l'enkystement. Elle se colore en jaune vif par le LUGOL après fixation au BOUIN-ALLEN.

La membrane cuticulaire porte toujours des éléments qui la recouvrent comme une toison ou une chevelure. On peut distinguer : a) les *Flagelles* ; b) les *corpuscules sous-cuticulaires* et c) les *schizophytes*.

a) *Flagelles*. Ils sont strictement localisés sur le rostre en une aire flagellaire qui, chez l'adulte constitue une sorte de capuchon ou mieux de guérite. Elle présente une échancrure ventrale nue (Ev. FIGS 1, 9), les flagelles sont alignés régulièrement sur des files horizontales et verticales. Ils trouent la cuticule épaissie par des sortes de fins canicules où sont logés les *blépharoplastes*. Ces derniers ont une forme variable selon les stades évolutifs des individus. Ils ont parfois l'aspect de bâtonnets réguliers ou élargis en dehors. Le plus souvent ils sont pourvus d'un granule interne, d'un granule externe ou d'un grain distal et d'un grain basal (FIG. 10 : 6). Ils présentent une biréfringence nette au microscope polarisant.

Les blépharoplastes se colorent faiblement par le noir au gras. Ils contiennent des phospholipines qui ne sont pas toutes éliminées par la pyridine, et des acétal-phosphatides. Les flagelles proprement dits, légèrement teintés par le noir au gras, sont plus riches en phospholipines. Flagelles et grains basaux renferment des groupements sulfhydrilés mis en évidence par la méthode de CHEVREMONTE et FREDERICQ. Ils contiennent ainsi que les blépharoplastes, un peu de glycogène.

b) *Les corpuscules sous-cuticulaires* (FIG. 11).

Ils sont représentés par des grains sphériques de taille variable mais assez homogène, qui émigrent de l'aire mitochondriale, pour venir s'accumuler presque côte à côte sous la cuticule. Ils sont accompagnés de petits bâtonnets qui proviennent de la fusion de deux ou trois granules élémentaires. C'est dans les hernies claires de l'ectoplasme, lorsque la cuticule s'élimine, que ces corpuscules sont le plus visibles. Il semble bien que certains bâtonnets, qui sont peut-être des bactéries, soient éliminés en dehors de la cellule.

Grosso modo, ces corpuscules présentent les mêmes affinités tinctoriales et les mêmes réactions biochimiques que les grains basaux des flagelles, mais de plus ils s'imprègnent par l'argent dans la technique de FONTANA.

Ces granules vont s'aligner et se fusionner pour donner des schizophytes courts et arqués, qui semblent piqués sur la cuticule. C'est pourquoi nous les appelons « *préschizophytes* ».

Leur origine et leur évolution sont faciles à reconnaître dans des frottis réalisés à partir de termites nourris exclusivement avec de la gélose nutritive, depuis trois semaines environ. Dans ces conditions, le bois a disparu depuis longtemps du régime alimentaire de l'insecte qui reste malgré tout en bon état. Mais les Flagellés présentent des modifications morphologiques et physiologiques progressives, que nous étudierons en détail dans un travail subséquent. En particulier, la cuticule s'amincit et disparaît, ce qui vient confirmer ce que nous avons dit sur son origine partielle à partir du bois et de la lignine (voir page 29). L'aire mitochondriale se gonfle et se fluidifie plus ou moins, ce qui permet de suivre sans peine l'évolution complexe de ses organites internes. Ils sont représentés par des granules de tailles variables qui s'associent en chapelets, puis donnent des bâtonnets de formes diverses : courts et gros, longs et minces, droits ou flexueux, à bouts arrondis ou en haltères, voire groupés en paquets de gros filaments, très longs et enroulés qui font penser à des spirilles ou spirochètes amassés dans une sorte de « poche » sans paroi.

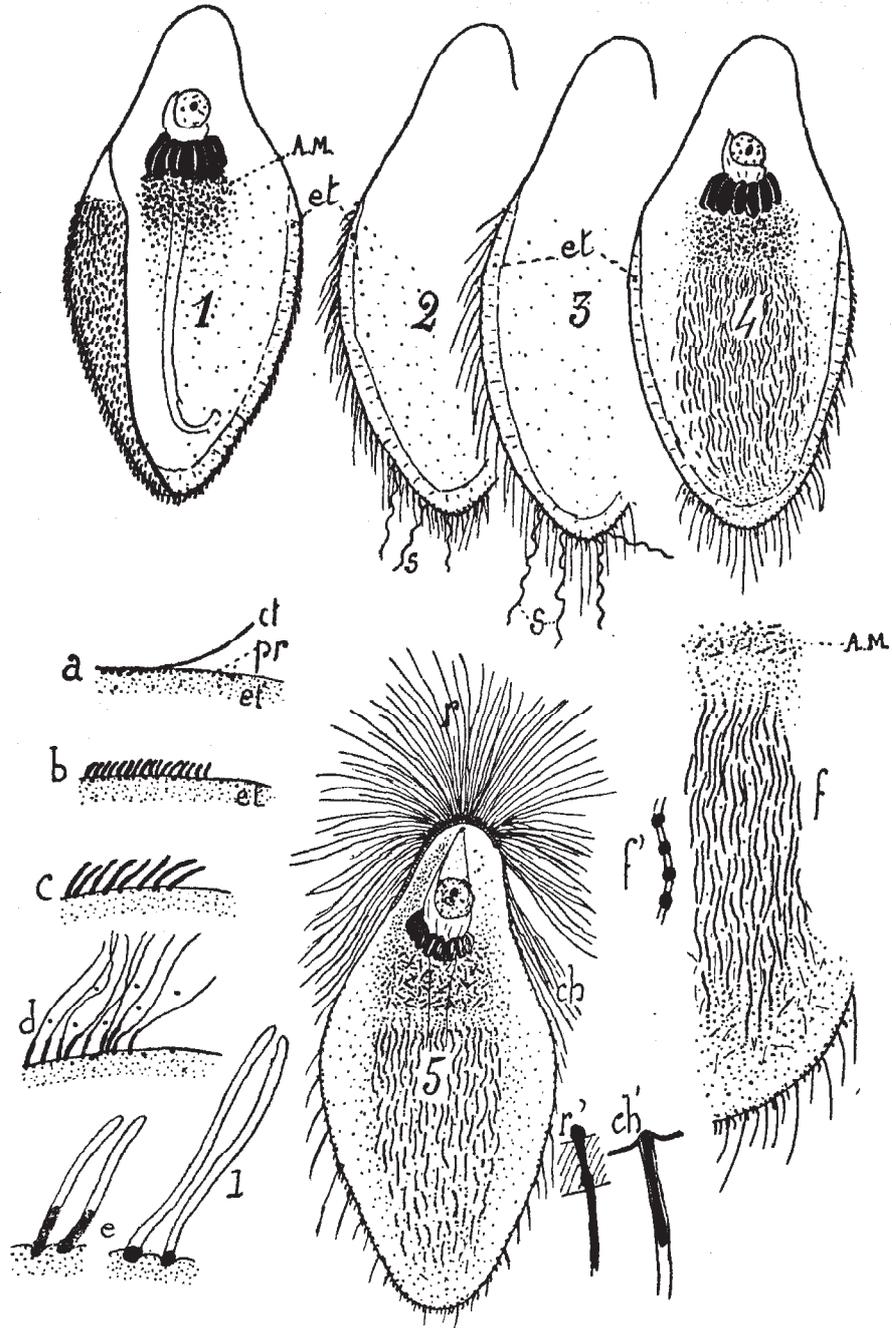


FIGURE 11. — Schizophytes et flagelles. 1 = Vêtue courte; 2 = passage aux schizophytes longs; 3 = vêtue longue; s = formes spirillaires; A.M. = aire mitochondriale. — a = cuticule décollée et montrant les préschizophytes (pr) dans l'ectoplasme et b = schizophytes courts; c = leur allongement; d et e = passage à la forme longue 1. — 4 = coulée de schizophytes longs sous-cuticulaires (?) — f = origine et évolution de ses éléments; f' = un de ceux-ci imprégné à l'argent (Fontana) très grossi. — 5 = Flagelles: r = rostraux; ch = queue de cheval; r' = flagelle vrai très grossi; ch' = élément de la queue de cheval très grossi.

A la périphérie de l'aire mitochondriale sans cuticule, on voit très nettement se former une brosse dense de schizophytes courts et arqués, entremêlés parfois de quelques formes longues, à base seule colorable. Toute l'évolution des organites de l'aire mitochondriale est reconnaissable sans aucune ambiguïté.

On peut même voir apparaître un ectoplasme, *mais sans cuticule*, avec les préschizophytes alignés à l'extérieur comme dans les frottis d'origine normale.

Dans les *Joenia* de termites nourris de bois de mûrier ou de micocoulier, les préschizophytes apparaissent avec ensemble à la surface de l'ectoplasme lorsque la cuticule se détache, comme s'ils étaient du même âge. Le résultat est la production d'une vêtture dense de schizophytes ayant la même forme, les mêmes affinités tinctoriales et le même avenir. Leur production semble se faire par à-coups et en rapport avec le trajet de la cuticule vieillie ; elle est spasmodique.

c) *Les Schizophytes* (FIGS 10 et 11) : ce sont des organites d'aspect bactérien qui forment une toison plus ou moins développée, complexe, dont la localisation est variable en étendue. Toujours la partie postérieure de la cellule en est recouverte. Cette vêtture tantôt s'arrête très vite, tantôt remonte vers l'avant, laissant un espace libre en arrière des flagelles. Elle atteint parfois l'aire flagellaire dont elle se distingue difficilement. Souvent la partie postérieure du corps chez les Flagellés de 110-140 μ , se rétrécit progressivement et la cuticule forme une sorte de queue rigide, cylindrique, chargée de schizophytes. Elle est coupée net sur le corps cellulaire. Nous avons vu (FIG. 9) le mécanisme de l'élimination de la cuticule qui fait comprendre tous ces aspects. Les lambeaux cuticulaires couverts de schizophytes morts seront digérés totalement dans le fluide rectal du termite.

Les schizophytes sont de taille et de forme variables.

Pour la commodité de la description, nous en distinguerons deux types : les courts et les longs réunis par toute une série d'intermédiaires et dérivant en partie les uns des autres.

Les schizophytes courts (FIG. 11 : 1 et b) donnent l'illusion d'être les plus fréquents et les plus nombreux. Ils ont la forme de bâtonnets brefs, épais, immobiles, rigides et plus ou moins arqués. Ils mesurent de 1 μ 5 à 4 μ et sont fixés à l'extérieur de la cuticule par un bout un peu renflé et plus colorable. Ils forment parfois à eux seuls, une brosse courte et régulière qui recouvre la *Joenia*. On les voit sur les flagellés de tout âge, mais chez les plus grands, ils sont souvent localisés dans la région antérieure de la vêtture, zone où ils semblent prendre naissance.

En règle générale, ils se colorent d'une façon massive, à la manière des bactéries dans les colorations habituelles. Cependant ils ont une structure interne mise en évidence par des techniques plus délicates.

Parmi les schizophytes longs, certains sont d'aspect plus grêle, et mesurent de 6 à 15 μ . Ils sont moins nombreux et moins serrés dans la plupart des cas ; les plus longs sont même parfois très espacés. Ils forment une vêtture beaucoup moins dense et les colorations ne prennent en général que sur leur partie inférieure, souvent même sur un gros granule au point de fixation cuticulaire. Ils dérivent manifestement des formes courtes, comme le montrent de nombreux intermédiaires. (FIG. 10 : 1, 2, 3 et 4 et FIG. 11 : 1, 2, 3 et b, c, d).

Parfois, dans la même vêtture, on trouve un mélange de ces formes de toute taille, ou au contraire la transformation générale de la toison courte à la toison longue.

Il arrive aussi que l'une des faces des *Joenia* encore jeunes soit couverte de schizophytes onduleux, serrés à plat, côte à côte, et formant une très large coulée d'avant en arrière. Cette coulée prend naissance au niveau de l'aire mitochondriale. A la partie postérieure du flagellé, on voit nettement les schizophytes se dissocier et libérer de nombreux granules. En effet, chaque élément est formé de grains bien colorables, alignés et noyés dans une gaine commune homogène. Tous les schizophytes de la coulée sont à peu près de même taille (FIG. 11 : f, f' et 4).

Enfin, d'autres schizophytes sont très longs, très souples, souvent disposés en queue de cheval toujours appliquée contre les flagelles. Ils battent comme ceux-ci, mais on peut se demander si ce n'est pas par entraînement passif. En tous cas, la question de leurs rapports avec les flagelles se trouve posée.

Certains organites schizophytiques sont doués de mouvements propres. Ce sont d'une part des bactéries courtes (4μ), larges, qui se déplacent dans la vèture comme les puces dans le pelage des mammifères, et d'autre part des organismes spiralés bien mobiles. On les voit piqués sur la région postérieure des *Joenia* de taille moyenne, au milieu des autres schizophytes. Dans certains cas, ils sont très nombreux et serrés en une chevelure frétilante à peu près pure. Ces spirilles et spirochètes atteignent une longueur considérable (jusqu'à 100μ). Ils se détachent facilement et circulent activement dans le fluide rectal du termite.

Affinités tinctoriales - Biochimie

Elles sont de même nature chez les schizophytes immobiles, longs ou courts, mais plus intenses et plus générales chez ces derniers. Ceci indique qu'ils possèdent une teneur plus grande en substances basophiles.

Les schizophytes contiennent des éléments lipidiques très faiblement colorables par le noir au gras et répartis dans tout le corps, plus abondants au point d'insertion sur la cuticule. Ce sont des phospholipines donnant légèrement la réaction pseudoplasmale ; parfois aussi la réaction plasmale et le test de BAKER sont positifs (acétalphosphatides).

La basophilie est importante chez les formes courtes, moins forte à mesure de l'allongement. Les schizophytes se colorent par l'hématoxyline, le carmin, le MAY-GRUNWALD, le GIEMSA, le violet de gentiane, fortement par le ZIEHL. La basophilie persiste après l'élimination des substances lipidiques par la pyridine ou la fixation au CARNOY. Elle est alors due à la présence de ribonucléo-protéines que l'on peut enlever à l'aide de la ribonucléase. Ce fait est mis en évidence par la coloration au vert de méthyle-pyronine.

Les formes courtes et les préschizophytes réduisent fortement l'acide osmique (MANN-KOPSCH) et l'argent (FONTANA) ; les formes longues ne s'imprègnent bien que vers leur base de fixation.

Dans le substrat protéique, on trouve un amino-acide sulfhydrilé décelable par la réaction de CHEVREMONTE et FREDERICQ. La teneur en est très faible, de même que celle des groupements phénoliques révélés par la réaction de MILLON.

Le carmin de BEST donne des résultats variables. Tantôt il n'y a aucune trace de glycogène, tantôt il y en a beaucoup dans les organismes courts et la base des longs. Ces fluctuations peuvent s'accompagner d'émission de gros granules, et semblent en rapport avec la teneur très variable en glycogène de la zone ectoplasmique.

LE NOYAU (FIGS 10 et 11)

Les schizophytes possèdent tous un noyau ou des grains nucléaires identifiables par la réaction de Feulgen d'une part, et par la coloration au vert de méthyle-pyronine après action de la ribonucléase (test de BRACHET) d'autre part.

Dans les schizophytes courts, le noyau constitue la plus grande partie de l'organisme. C'est un bâtonnet souvent en forme de virgule, légèrement épaissi du bout fixé sur la cuticule du flagellé. Dans les schizophytes de 3 μ environ, le noyau est souvent formé de 3 segments alignés.

Les longs schizophytes ont un noyau granulaire dans la région piquée sur le protiste et moins colorable que dans les précédents. Il n'est donc pas très visible.

Les organismes mobiles ont un noyau facilement colorable. Dans les formes spiralées il est formé de segments alignés dans toute la longueur de l'individu. Dans les bactéries courtes, c'est un bâton épais très fortement FEULGEN-positif (FIG. 10 : 1, 2, 3, 4, 5).

Dans certaines vêtures, on peut suivre aisément la rétraction progressive et la diminution de la colorabilité du noyau au fur et à mesure que les schizophytes courts s'allongent. Lorsqu'ils sont devenus très grands, certains vidés sont rejetés avec la cuticule. Ils ne contiennent plus trace de chromatine.

Origine, évolution des schizophytes

On ne voit jamais les schizophytes se diviser et se multiplier. Leur reproduction doit avoir lieu à un stade très petit, sous forme de granules apparus dans l'aire mitochondriale. Ces granules traversent l'ectoplasme ; ils s'accumulent et s'alignent sous la cuticule néoformée pour donner les grains sous-cuticulaires ou préschizophytes (voir page 31).

Ces derniers s'allongent en bâtonnets d'aspect bactérien dont un petit nombre s'échappe au dehors, lorsque la cuticule est tombée. Le reste fournit les schizophytes courts et arqués qui restent accrochés à la cuticule encore très mince. On obtient alors la vêtiture courte, homogène, dense et serrée très fréquente. Ses éléments s'allongent ensuite et fournissent des schizophytes plus longs, plus grêles. Les uns tombent alors successivement, tandis que les autres persistent pour aboutir à une vêtiture plus hétérogène et plus ou moins clairsemée. Certains individus restent fixés sur la cuticule vieillie, ils se vident, meurent et seront expulsés avec elle.

En résumé, le passage de la forme courte au schizophyte long peut être divisé en deux étapes. Pendant la première, le bâtonnet court, massif et arqué grandit et passe en moyenne de 1 μ 5 à 4 . En même temps, la partie chromatique (noyau) se condense au centre du bâtonnet qui semble ainsi décoller une membrane. La condensation chromatique s'accélère et conduit à des formes de 7 à 16 μ dont le filament est pâle, peu colorable, sauf sur le granule basal : FIG. 10 : 1, 2, 3, 4.

Les images observées aussi bien sur le vivant que sur les frottis fixés et colorés ne laissent aucun doute sur une telle évolution. Elle concerne la plupart des schizophytes de la vêtiture qui doivent appartenir à la même espèce. En ce

qui concerne les formes mobiles, spiralées ou non, qui sont différentes, leur évolution est totalement inconnue. Nous avons des raisons de penser que l'émission en dehors de formes bactériennes libres ou de grains par les corpuscules sous-cuticulaires, n'a lieu que pendant un temps relativement court. Il se place au moment où l'ectoplasme est libéré par le glissement en arrière de la cuticule vieillie, juste avant que la nouvelle n'ait pris une résistance suffisante.

Nous ignorons ce que deviennent : 1° les granules expulsés ; 2° les bactéries éliminées ; 3° les schizophytes libérés.

Tous ces organites attaquent sans doute les liquides rectaux et doivent fournir des métabolites aux flagellés comme au termite. Nous ne pouvons dire avec certitude si la culture pure des schizophytes et des autres éléments est possible dans les milieux habituels de la bactériologie.

Bien que l'étude minutieuse ultra-microscopique de tous ces corpuscules puisse fournir des renseignements très précieux, il nous semble que les problèmes posés par leur évolution ne pourront être résolus en toute certitude que par l'emploi des techniques les plus modernes et les plus précises de la science bactériologique.

Les imprégnations métalliques, osmium et argent, donnent des images fort suggestives, mais d'interprétation exacte très difficile. C'est avec l'argent (méthode de FONTANA) que nous avons eu les résultats les meilleurs.

Dans l'endoplasme de certains individus, on voit une grosse coulée de granules argentophiles très petits, qui prend naissance dans une aire mitochondriale riche en gros grains et bâtonnets bien imprégnés. Les schizophytes postérieurs sont longs et flexueux formés de grains axiaux alignés. Ils se dissocient libérant ces granules qu'on retrouve libres et très nombreux dans les hernies de l'ectoplasme. Préschizophytes et schizophytes courts sont très fortement imprégnés ; blépharoplastes et flagelles ne le sont pas du tout. On retrouve ici des faits déjà donnés par le ZIEHL et qu'on pourrait interpréter de la façon suivante.

Dans l'aire mitochondriale, il se forme des granules dont l'évolution peut se faire dans diverses directions. Les uns restent dans la gelée, grossissent puis se soudent en s'alignant pour produire des organismes qui évoluent avec elle dans l'aire mitochondriale.

D'autres émigrent dans l'endoplasme en restant très petits, ils s'alignent et donnent des schizophytes flexueux qui glissent vers l'arrière du protozoaire à plat sous la cuticule (?) Aux environs du pôle postérieur de la cellule, ils se dissocient en leurs granules élémentaires dont certains passés sous la membrane cuticulaire deviendront des préschizophytes particuliers. Ils fournissent une toison postérieure de formes longues et raides, expulsées pour la plupart avec la cuticule vieillie.

D'autres granules isolés coulent vers l'arrière et les côtés de la *Joenia*. Ils vont traverser l'ectoplasme et donner les préschizophytes alignés, origine des vêtures courtes homogènes. Leurs éléments grandiront pour produire les formes longues les plus communes.

A tous les stades de ces évolutions, il y a rejet au dehors soit de granules élémentaires très petits, soit de granules grossis, de bâtonnets, de préschizophytes, de schizophytes courts ou longs.

CONSIDERATIONS GENERALES

Ces recherches ont exigé un nombre considérable de préparations et ont duré trois années consécutives. Elles ont été entreprises surtout dans le but d'appuyer ou d'infirmer des théories plus ou moins inédites sur l'origine possible des bactéries et des virus exposées par deux d'entre nous (1).

Les résultats que nous venons d'exposer sont nettement favorables à nos hypothèses ; mais ils ne donnent pas (et ne peuvent donner) la démonstration indiscutable que nous avons raison. Cette preuve ne peut être fournie par des études cytologiques, même en utilisant des microscopes électroniques puissants et perfectionnés. C'est par l'étude biochimique et spectrophotographique *in vivo*, par l'emploi des techniques bactériologiques les plus précises et les plus modernes qu'on atteindra la vérité.

Mais il est très encourageant de constater que rien dans nos travaux ne vient ruiner ce que nous avons écrit dans notre livre.

Nos recherches ont permis, en outre, de redresser un certain nombre d'erreurs classiques et d'apporter aussi quelques faits nouveaux intéressants sur la structure et la physiologie de *Joenia annectens* *.

(Travail du Laboratoire de Zootechnie de l'Ecole Nationale d'Agriculture d'Alger).

* Nous tenons à remercier M^{lle} Maryvonne HAMON, alors chef de travaux à la Faculté des Sciences d'Alger, qui a bien voulu contrôler nos résultats histo-chimiques, nous indiquer les préparations les plus caractéristiques à effectuer, voire réaliser elle-même les plus délicates.

(1) Evolution et Nutrition, par Maurice Rose et Pierre Jore d'Arces. Editions Vigot Frères, Paris. 1957 (p. 133 à 140).

BIBLIOGRAPHIE

- 1929 - BECKWITH (T.D. et ROSE (E.L.) : Cellulose digestion by organisms from the Termite gut. *Proced. Soc. Exp. Biol. Med.*, vol. 27, p. 4-5.
- 1925 - DUBOSCQ (O.) et GRASSE (P.) : L'appareil parabasal des Flagellés et sa signification. *C.R. Académie des Sciences*, Paris, vol. 180, p. 477-479.
- 1928 - b. VI - L'appareil parabasal de *Joenia Annectens* Grassi. *C.R. Soc. Biol.* Paris, vol. 99, p. 1.118-1.121.
- 1952 - FAURE-FREMIET (E.) : Action antibiotique (pénicilline) sur les bactéries symbiotiques du chondriome des Euplotes. *C.R. Acad. Sci. Fr.*, 235, n° 5, 402-3.
- 1937 - GRASSE (P.P.) : Appareil parabasal et mitose chez les flagellés parasités. *C.R. Soc. Biol.*, vol. 125, p. 918-919.
- 1938 - La vêtture schizophylique des flagellés termiticoles. *Bull. Soc. Zool. France*, vol. 63, p. 110-122.
- 1929 - Etude de mécanique cellulaire : centromères et centrosomes dans la mitose de certains flagellés. *C.R. Soc. Biol.*, vol. 131, p. 1.015-1.018.
- 1956 - L'ultra-structure de *Pyronympha vertens* (Zooflagellata Pyronymphia). *Arch. de Biol. Fr.*, 67, n° 3-4, p. 595-611.
- 1956 - L'appareil parabasal et l'appareil de Golgi sont un même organite. Leur ultra-structure, leurs modes de sécrétion. *C.R. Acad. Sci. Fr.*, 242, n° 7, p. 858-61.
- 1946 - GRASSE (P.P.) et NOÏROT (Ch.) : La transmission des Flagellés symbiotiques et les aliments des Termites. *Bull. Biol. France et Belgique*, vol. 79, p. 273-292.
- 1936 - HUNGATE (R.E.) : Studies on the nutrition of *Zootermopsis* : I. The rôle of Bacteria and molds in cellulose decomposition. *Zentralbl. Bakt.* II, vol. 94, p. 240-249.
- 1938 - Studies of the nutrition of *Zootermopsis* : II. The relative importance of the Termite and the Protozoa in wood digestion. *Ecology*, vol. 19, p. 1-25.
- 1939 - III. The anaerobic carbohydrate dissimilation by the intestinal Protozoa. *Ecology*, vol. 20, p. 230-245.
- 1943 - Quantitative analyses on the cellulose fermentation by Termite Protozoa. *Am. ent. Soc. Amer.*, vol. 36, p. 730-739.
- 1934 - PIERANTONI (U.) : La digestione della cellulose e del legno negli animali e la simbiosi delle Termiti. *Rivista di fis., mat. e Sc. nat.* Anno 9.
- 1935 - La simbiosi fisiologica nei Termitidi xilofagi e nei loro Flagellati intestinali. *Arch. Zool. Italiano*, vol. 22, p. 135-173.
- 1936 - b. Gli studi sulla endosimbiosi ereditaria nelle origini e nei recente sviluppi. *Ibidem*, vol. 23, suppl. p. 137-195.
- 1937 - Osservazioni sulla simbiosi nei Termitidi xilofagi e nei loro Flagellati intestinali. II. Defaunazione per digiuno. *Ibidem*, vol. 24, p. 193-207.

- 1958 - PITELKA (D.R.), SCHOLLEY (C.N.) : The fine structure of the flagellas apparatus in *Trichonympha*. *J. Morpho. U.S.A.* 102, n° 2, p. 199-245.
- 1932 - TRAGER (W.) : A cellulase from the symbiotic intestinal flagellates of Termites and of the Roach *Cryptocercus punctulatus*. *Bioch. Journ.*, vol. 26, p. 1.763-1.777.
- 1956 - SCHMIDT (H.) : Studien and darmbewohnenden flagellaten der Termiten. II. Holzteichen als Zellein-schlusse und Nahrung bei *Trichonympha* und *Joenia*. *Z. Parasitkde. Dtsch.* 17, n° 4, 269-275.
- 1937 - YAMASAKI (M.) : The distribution of glycogen in the bodies of intestinal flagellates of termites, *Leucotermes* (*Reticulitermes*) *speratus* and *Coptotermes formosanus*. *Ibidem*, vol. 12 (B), p. 211-224.
- 1937 - Glycogen in the body *Trichonympha agilis* var. *japonica* under experimental conditions. *Ibidem* (B), vol. 12, p. 225-235.