

Sur la coloration vitale de *Didymium nigripes* (Fr.).

Note préliminaire.

Par

F. X. SKUPIEŃSKI.

(Planche IX).

Didymium nigripes est un Myxomycète qui fait l'objet de mes études bio-cytologiques, commencées il y a quinze ans. C'est une espèce qui se laisse très facilement cultiver sur les milieux artificiels.

Dans les travaux précédents (11) j'ai présenté les résultats partiels de mes recherches concernant la biologie, l'histoire du développement ainsi que la cytologie de ce Myxomycète.

La solution de certaines questions touchant à l'onthogénèse d'un Myxomycète donné exige l'application d'une méthode cytologique très précise. Mais vu la petitesse des éléments successifs du développement des Myxomycètes, leur mobilité ainsi que leur grande sensibilité aux agents physico-chimiques, l'étude de ces êtres, au point de vue cytologique, est extrêmement difficile.

Il est inutile de dire que pour que l'on arrive à une bonne solution d'un problème cytologique quelconque il est indispensable d'appliquer une double méthode d'observation: très minutieuse observation vitale, faite dans les meilleures conditions possibles, et une observation poste-vitale (après fixation et coloration) qui constitue une sorte de contrôle de la première. La seconde sans la première n'a qu'une valeur relative.

L'étude vitale des Myxomycètes est rendue possible par la qualité du matériel que je possède. Etant donné que les principaux stades du développement peuvent être obtenus directement sur des lames, leur observation est tout à fait commode; dans ces conditions, on peut étudier facilement l'influence des différents facteurs

physico-chimiques et biologiques ainsi que l'action des colorants vitaux sur le comportement des stades succesifs du développement.

J'ai choisi pour mes expériences *Didymium nigripes*, le Myxomycète qui est, comme je l'ai déjà dit plus haut, très facile à manier. La durée de son cycle évolutif étant relativement courte, il donne par conséquent plusieurs générations par an, ce qui présente pour ce genre d'études une importance capitale.

Je fais deux genres de cultures: les unes sont montées directement sur les lames, ce sont des microcultures, dont le dispositif est décrit dans mes travaux précédents. C'est ce genre de cultures qui se prête uniquement pour l'observation directe des organismes colorés vitalement. Les autres cultures, montées dans les tubes à essai sur la gélose avec décoction de carotte et de pomme de terre ou de foin à 50⁰/₀₀, constituent des macrocultures.

Comme colorants vitaux j'ai employé en première ligne le rouge neutre et le bleu de méthylène, ensuite c'étaient les colorants tels que le vert Janus, violet de Dahlia, brun Bismarck, violet de méthyle et autres...

Dans la présente note je donne seulement les résultats partiels, obtenus avec le rouge neutre, le bleu de méthylène et le vert Janus B.

Avant de commencer l'étude détaillée des stades successifs du développement: zoospores, myxamibes et plasmodes et leur comportement dans les milieux colorés, j'ai voulu tout d'abord me rendre compte de ce qui se passe dans une macroculture sous l'influence d'un tel ou autre colorant vital. Car, dans ce genre d'études, il faut tenir compte de deux phases successives d'observation: dans la première, on doit se rendre compte du comportement général de l'organisme soumis à l'action du colorant vital, sans entrer dans les détails, comme si l'on s'occupait de l'action d'un agent physico-chimique quelconque sur le même organisme, p. ex. de l'action des narcotiques, de celle de la compression, des rayons X etc. Et quand on constate que l'organisme se comporte normalement dans le milieu additionné d'un colorant à une concentration donnée, c'est à dire qu'il se nourrit, grandit, et qu'il est capable de se reproduire, on passe alors à la deuxième phase d'étude détaillée d'éléments constitutifs de la cellule. Pour dire qu'un organisme, une cellule se colorent „vitalement“, il faut d'abord nous rendre compte, si cet organisme, ou enfin cette cellule, traités par un colorant vitale, ne perdent pas de leur propriété vitale, c'est à dire qu'ils continuent à grandir, à échanger les matériaux nutritifs, à se reproduire, et enfin

ils ne subissent pas de notables changements térathologiques. Une concentration du colorant vital, température, lumière, caractère de l'organisme lui-même, constitueront autant de conditions permettant à aboutir à un résultat espéré.

Enfin une coloration vitale ne doit pas constituer le but de nos recherches, mais le moyen par lequel nous espérons résoudre un problème d'ordre bio-morphologique.

C'est dans le cadre de ces considérations que j'ai commencé mes expériences avec les colorants vitaux et leur application aux recherches cytologiques de la cellule vivante.

Les spores de *Didymium nigripes* furent semées sur l'agar au bouillon de carotte et de pomme de terre, dans des tubes à essai ou dans les verres d'Erlenmayer. Le milieu était additionné d'avance d'une solution du rouge neutre ou du bleu de méthylène ou enfin du vert Janus B, préparés d'avance à une concentration 1 : 1000.

Influence du rouge neutre.

Avant que la gélose (dont le $P_H = 7$), répartie dans les tubes à essai, refroidisse complètement, après sa stérilisation, je lui ajoute une certaine quantité de solution du rouge neutre à 1 : 1000; le milieu est ainsi coloré en rose, surtout l'eau de condensation qui se dépose au fond du tube, après le refroidissement complet.

J'ajoute bien entendu une quantité définie de la solution du rouge neutre à 1 : 1000 pour la ramener dans la gélose à une concentration approximative de 1 : 5000.

Je monte également des cultures-témoins sur le même substratum, dépourvu de colorant. Les deux catégories de cultures avec et sans rouge neutre sont placées à la même température (+ 15 C) et dans l'obscurité complète.

Dans ces deux catégories de cultures, les spores germent au bout de quelques heures après leur ensemencement. Les bactéries, associées au Myxomycète, se développent avec la même intensité. A mesure que leur développement augmente, la couleur rose de l'eau de condensation et des parties superficielles de la gélose change: elle devient très pâle, presque incolore. Au bout de quelques jours apparaissent sur toute la surface de la gélose de petits plasmodes légèrement colorés en rose, qui se fusionnent finalement en un grand et unique plasmode de la même couleur.

Les mêmes phénomènes et avec la même périodicité se passent dans les cultures-témoins, dépourvues de colorant.

Après quelques jours, le plasmode s'amasse progressivement à la partie supérieure du substratum et c'est alors qu'il devient plus rose que dans le stade précédent, plus rose que l'eau de condensation avant l'ensemencement des spores. La masse plasmodique se divise en un certain nombre de fragments plus ou moins réguliers et réunis entre eux par de fins filaments plasmodiques. A mesure que ces fragments s'individualisent, l'intensité de leur couleur rose augmente. Chacun, on le sait, donnera naissance à un seul, plus rarement à deux sporanges. Et quand on suit attentivement la formation d'un sporange, on voit le changement de ses formes, la différenciation progressive du pied et de la tête. La masse plasmodique prend d'abord la forme sphérique. La sphère s'allonge petit à petit en une massue dont la partie inférieure deviendra le pied et la partie supérieure, très large, deviendra la tête.

Les changements de formes sont accompagnés de changements de couleurs de deux parties de sporange en formation (Pl. IX, fig. 1—4). La sphère plasmodique est toute d'un rose intense. A mesure qu'elle s'allonge pour prendre la forme d'une massue, la couleur rose disparaît progressivement de la partie inférieure pour devenir plus intense encore à sa partie supérieure. Ce changement progresse continuellement à mesure que progresse la formation du sporange. Quand le sporange prend sa forme définitive, son pied est d'un blanc lait et sa tête d'un rouge sang. Mais cette dernière change assez vite de couleur. Ce changement va de paire avec la constitution de la croute calcaire à sa périphérie; la couleur rouge est plutôt masquée par cette croute grise de carbonate de Ca. Et quand on compare finalement les sporanges de deux cultures (de celle qui avait dans son substratum le colorant vital avec celle qui n'en avait pas) on ne trouve entre eux aucune différence ni au point de vue de la morphologie externe, ni au point de vue de la structure interne.

Les spores provenant de sporanges d'une culture colorée de rouge neutre à la concentration mentionnée plus haut ne diffèrent pas du tout de spores d'une culture sans colorant. Mises en milieu frais, elles germent très bien et à la suite de cette germination apparaissent, en temps normal, des plasmodes. Ceux-ci se fusionnent en un seul plasmode qui ne tarde pas à fructifier. On voit que dans la culture additionnée d'une solution de rouge neutre 1 : 5000 tout se passe comme dans les cultures dépourvues de ce colorant. Il y a donc lieu de parler ici de la vraie coloration vitale.

En montant des microcultures en milieu liquide et coloré, on peut, par un examen direct, suivre tous les stades du développe-

ment du Myxomycète depuis la germination des spores jusqu'au stade des plasmodes inclusivement. Bouillon de carotte et de pommes de terre, additionné de rouge neutre à 1:5000, constitue le milieu des microcultures.

Ce sont surtout les vacuoles qui attirent notre attention, car ce sont elles qui se colorent les premières. Je distingue trois catégories de vacuoles dans les cellules des Myxomycètes:

a) Vacuoles *élémentaires*, celles qui existent déjà dans les spores et qui continuent leur existence à travers les stades zoospores, myxamibes et plasmodes. Elles se comportent comme les vacuoles dans les cellules des végétaux supérieurs. Ces vacuoles se colorent par le rouge neutre en rose pâle. J'ai pu discerner dans leur intérieur des corpuscules colorables en rouge intense, comme chez les végétaux supérieurs et les Champignons.

b) Vacuoles pulsatiles, qui apparaissent et disparaissent rapidement à la partie périphérique du corps cellulaire. Ces vacuoles ne prennent pas du tout de colorant vital.

c) Vacuoles digestives. Cette catégorie de vacuoles se colore le mieux. Leur fond prend une teinte rose, tandis que les particules en voie de digestion (bactéries) se colorent en rouge intense.

Parmi les vacuoles élémentaires, il y en a qui ne se colorent pas du tout par le rouge neutre, à l'instar des vacuoles pulsatiles. Quel est donc le caractère de ces vacuoles? Je n'ai, pour le moment, aucune preuve suffisante pour pouvoir me prononcer sur leur nature. Mangenot dans un récent travail (7), parle de l'existence de deux catégories de vacuoles dans les cellules de certains Phanérogames: les vacuoles „phénoliques“ qui réduisent l'acide osmique, prennent le colorant vital et se colorent avec le bichromate de K. et les vacuoles qui ne se colorent pas vitalement et ne contiennent pas de tannins. Je vois une certaine ressemblance entre les vacuoles du Myxomycète en question et celles dont parle Mangenot. Car les vacuoles de *Didymium nigripes* qui prennent le colorant vital réduisent également (légèrement c'est vrai) l'acide osmique.

À part les vacuoles il y a de nombreux corpuscules, reposant directement dans le cytoplasme, qui se colorent également en rouge intense. Ces corpuscules (éléments ergastoplasmiques) sont toujours groupés en un amas au centre de la masse plasmatique. Je ne peux pas me prononcer pour le moment sur leur caractère mais je crois que ce sont des corpuscules métachromatiques décrits par P. A. Dangeard (4), et à la nature chimique desquels Guillermond a consacré plusieurs de ses précieux travaux (6).

A côté de ces éléments ergastoplasmiques qui se colorent avec le rouge neutre, il y a un grand nombre qui ne prennent pas ce colorant vital.

Le noyau des zoospores et des myxamibes ne se colore pas du tout par ce colorant vital.

Quand une zoospore ou une myxamibe se divisent, elles perdent tout d'abord leur mobilité et s'arrondissent. Les vacuoles digestives et les vacuoles pulsatiles ne s'y forment pas, il y reste uniquement des vacuoles élémentaires dont le pouvoir colorable augmente.

Dans les plasmodes, il y a également les trois catégories de vacuoles comme dans les myxamibes et elles se colorent de la même façon. Ici également prennent la coloration rouge intense les corpuscules de différentes dimensions situés au milieu de la masse plasmodique.

La coloration des vacuoles digestives est très instructive. On voit presque toujours au sein du plasmode d'énormes vacuoles renfermant chacune une spore non germée ou une myxamibe arrondie (cyste) ou enfin une grande quantité de bactéries. Le corps tout entier d'une myxamibe, enfermée dans la vacuole, se colore fortement en rouge, son noyau inclus. On peut suivre les stades successifs de la digestion d'une myxamibe au sein d'une vacuole dès le moment de son emprisonnement jusqu'à sa complète désagrégation en nombreux fragments floconneux. A l'aide du rouge neutre on peut constater la rapidité avec laquelle une myxamibe captée est tuée au sein d'une vacuole. Les particules non digérées sont finalement rejetées au dehors; on le voit en grand nombre, colorées en rouge foncé, disséminées dans le milieu nutritif.

L'étude des stades proches de la période de fructification exige l'application d'une autre méthode que celle des microcultures. Quand le plasmode s'apprête à fructifier, il choisit un endroit relativement pauvre en eau. On a alors recours aux macrocultures additionnées d'une solution de rouge neutre à 1:5000. A l'aide d'une spatule on transporte rapidement des fragments de plasmode coloré et s'appêtant à fructifier, dans une goutte d'eau distillée sur une lame. On couvre avec une lamelle et on examine la préparation au microscope. On procède ainsi progressivement à partir du stade du plasmode jusqu'au stade de sporanges complètement constitués.

Quand on examine ainsi un fragment plasmodique, on constate que la masse protoplasmique est très condensée et elle contient un nombre considérable de corpuscules sphériques, colorés en rouge très foncé. Ces corpuscules au bout de quelques minutes gonflent,

sous l'influence de l'eau distillée et se transforment en vacuoles, colorées en rose. Il est difficile pour le moment de me prononcer sur leur caractère histo-chimique. Seraient-ce également des métachromes dont parle Dangeard dans ses travaux? Je n'en sais rien. Mais ce fait est un fait constant au stade de la fragmentation de la masse plasmodique.

Quand on examine ensuite une tête des sporanges, colorées par le rouge neutre en rouge, dans une goutte d'eau distillée sur un verre porte objet, on peut constater divers faits, suivant le degré d'évolution du dit sporange. Au premier abord, avant la formation des spores, dans la masse plasmodique très condensée, il y a un nombre considérable de corpuscules sphériques, colorés en rouge foncé. Ces corpuscules, après un court séjour dans l'eau, gonflent et prennent l'aspect de vacuoles colorées en rose, comme dans le cas précédent. Il y a à part cela un petit nombre de petites vacuoles uniformes. On constate, en passant, un grand nombre de cristaux qui commencent à se former à ce stade à la périphérie du sporange. La majorité des noyaux est incolore. Un petit pourcentage seulement prend la coloration nettement rouge, cela prouve que ces noyaux seraient en voie de dégénérescence.

A un stade un peu plus avancé, on voit l'apparition de spores qui tranchent bien sur le reste de la masse protoplasmique. Chaque spore fraîchement constituée est une cellule de grande dimension, sphérique et entourée d'une membrane très fine. A travers cette membrane on voit suffisamment ce qui se passe à l'intérieur de la spore. Ce qui m'a frappé surtout, c'est la présence, dans chaque spore nouvellement formée, d'une grande vacuole sphérique, rarement deux, à l'intérieur de laquelle se trouve un grand corps d'allure cristalline, qui se colore par le rouge neutre en rouge foncé et qui occupe presque la totalité de la vacuole, tandis que le fond de la vacuole est coloré en rose. Je ne suis pas non plus fixé, pour le moment, sur la nature chimique de ces cristaux vacuolaires. Je constate seulement qu'ils diminuent progressivement, à mesure que la spore mûrit, et qu'ils continuent leur existence dans les spores complètement mûres. Quand on ensemence des spores, provenant des sporanges d'une culture colorée avec le rouge neutre, celles-ci germent comme d'habitude, mais les corps plasmatiques (zoospores) qui sortent de l'enveloppe sporale possèdent chacun une, rarement deux, vacuoles complètement incolores. Le corps cristallin y est absent.

On pourrait admettre que ce corps cristallin, visible à l'intérieur de la vacuole d'une jeune spore, constitue la réserve qui sera utilisée plus tard dans le métabolisme cellulaire.

On voit donc que le rouge neutre est un colorant parfait. Il permet de décélérer, au cours des stades successifs du développement différents phénomènes d'ordre morphologiques, sans faire atteinte à la marche normale de l'ontogénie. Il est entendu que la concentration de ce colorant doit être appropriée. Un fait remarquable c'est qu'une assez forte concentration 1 : 5000 du rouge neutre qui est nuisible pour bien d'autres organismes, laisse *Didymium nigripes* insensible à ses effets. Et je ne m'explique pas pourquoi M. Cuylem, mentionné dans le travail de Von willer (12), considère les zoospores des Myxomycètes comme des éléments (organismes) ne supportant pas du tout de rouge neutre en forte concentration.

Le bleu de méthylène, employé à la même concentration 1 : 5000, n'a aucune influence visible non plus sur la marche normale du développement du même Myxomycète.

Les plasmodes qui apparaissent à la surface de la gélose sont colorés en vert pâle. Et à mesure que le cycle évolutif arrive à sa fin, surtout au stade de la fragmentation de la masse plasmodique, ces fragments prennent alors une coloration plus intense en passant au bleu. C'est à partir de ce moment que l'on est en présence d'un phénomène très curieux: quand le fragment plasmodique se transforme en sporange, on voit à son sommet l'apparition d'un point blanc qui grandit progressivement. C'est la tête du sporange qui émerge de la masse plasmodique colorée en bleu. Finalement, quand le sporange prend sa forme définitive, sa tête est d'un blanc lait et son pied d'un bleu rubis. Cela prouve que le bleu de méthylène colore dans les derniers stades du développement du Myxomycète uniquement la partie externe de la masse plasmodique.

On constate (ou on vérifie plutôt le fait constaté) que le pied d'un sporange tire son origine de la partie extérieure de la masse plasmodique.

Les observations en microcultures permettent de constater que le bleu de méthylène en solution à 1 : 5000 colore, chez les zoospores, myxamibes et plasmodes la membrane plasmatique en vert très pâle. J'ai constaté également que la partie achromatique du noyau, surtout la membrane de ce dernier, prend la coloration verdâtre.

Le mélange en parties égales de ces deux colorants, chacun à une concentration à 1 : 5000, m'a également donné un résultat positif. Ce mélange a une couleur violacée et le milieu de culture se colore de la même manière. Mais les jeunes plasmodes qui apparaissent à la surface de la gélose, prennent plutôt la coloration verdâtre. Ce sont surtout les derniers moments de l'évolution du Myxomycète qui sont

démonstratifs. Les fragments plasmodiques sont colorés en violet. Cette couleur passe au bleu, quand les fragments plasmodiques commencent à évoluer en sporanges. A ce moment-là, au sommet de chaque masse plasmodique, émerge un point rouge qui grandit: c'est la tête sporangiale qui émerge de l'écorce bleu. Et finalement, quand le sporange acquiert sa forme définitive, sa tête est colorée en rouge-sang et son pied en bleu-rubis. Les deux couleurs disparaissent petit à petit, à mesure que le sporange achève son évolution: la tête devient grise à cause de la croûte formée de cristaux de carbonate de Ca et le pied devient brunâtre. Un tel sporange ne diffère en rien des sporanges constitués en milieu non coloré. Ses spores, disséminées sur un milieu de cultures frais, germent normalement et au bout de quelques jours apparaît un plasmode qui ne tarde pas à fructifier d'une façon normale.

Le vert Janus B. employé par moi en solution à 1:5000 m'a également donné des résultats satisfaisants. Les plasmodes d'une macroculture, additionnée de ce colorant vital changent à peine de couleur: ils deviennent légèrement verdâtres, mais cette couleur disparaît complètement à la fin du cycle évolutif du Myxomycète.

Sur les microcultures j'ai pu constater que dans les zoospores, myxamibes et les plasmodes rien ne se colore, à l'exception de la partie achromatique du noyau qui prend une légère coloration verdâtre. Ce qui se colore surtout, ce sont des bactéries en voie de digestion dans les vacuoles.

Vert Janus B est considéré généralement comme un colorant spécifique des chondriosomes. Mais malgré mes efforts je n'ai pu, à aucun stade du développement, mettre en évidence du chondriome à l'aide de ce colorant vital chez le Myxomycète en question.

Institut de Botanique Générale de l'Université de Varsovie.

Bibliographie.

1. Ball Gordon, H. Studies on Paramecium. III The effects of vital dyes on Paramecium caudatum. — Biol. Bull. of the Marine Biol. Labor. Woods Hole, Mass. Vol. LII, N 1, 1927.
2. Becker Elery, R. Vital staining and reduction of vital stains by Protozoa. — Biol. Bull. of the Marine Biol. Lab., Woods Hole, Mass., Vol L, N 3, 1926.
3. Bohn G. et Drzewina, A. Action toxique du rouge neutre en présence de la lumière. — C. R. Soc. Biol. 89, 1923.
4. Dangeard, P. A. Sur les corpuscules métachromatiques des Levure Bull. Soc. Mycol. de France, 1916.

5. Dangeard, P. Recherches sur l'appareil vacuolaire dans les végétaux. — Le Botaniste, Serie XV, 1923.
6. Guillermond, A. Sur la métachromatine et les composés phénoliques. — C. R. Ac. Sc. Paris 1918.
— Nouvelles recherches sur le système vacuolaire des végétaux. C. R. Ac. Sc. Paris 1920.
7. Mangenot, G. Sur la présence des vacuoles spécialisées dans les cellules de certains végétaux. — C. R. Soc. Biol., 47, 1917.
8. Möllendorf, W. v. Vitale Färbungen der Tierzellen. Handbuch der biolog. Arbeitsmet., Lieferung 21, 1921, Abt. V.
9. Przesmycki, A. M. Sur la coloration vitale du noyau. — C. R. Soc. Biol. LXXVIII, 1915.
10. Ruhland, W. Vitalfärbung bei Pflanzen. — Handb. der biol. Arbeitsmethoden, Abt. XI, 1924.
11. Skupieński, F. X. Recherches sur le cycle évolutif de certains Myxomycètes — Thèse. Paris 1920.
12. Vonwiller, P. Intravitale Färbung von Protozoen. Handb. der biolog. Arbeitsmeth., Lief. 21. Abt. V, 1921.

Explication de la planche. IX.

Fig. 1—4. Phases successives de la formation d'un sporange sur le substratum additionné de solution du rouge neutre à 1:5000. 1) Fragments de plasmodium dont chacun deviendra un sporange; 2) Première phase de la formation d'un sporange; 3) deuxième phase de la formation du même sporange: on voit la différenciation du pied et de la tête, cette dernière se dégage de l'intérieur de la masse plasmodique, tandis que le pied tire son origine de la couche externe de la même masse et ne se colore pas par le rouge neutre; 4) Le sporange complètement formé, mais pas complètement mûr. Grossissement 10 fois.

Fig. 5—8. Les phases successives de la formation d'un sporange sur le substratum additionné de solution du bleu de méthylène à 1:5000. Le pied est coloré en bleu et la tête du sporange est incolore. Grossissement 10 fois.

Fig. 9—12. Les phases successives de la formation d'un sporange sur le substratum additionné d'un mélange à parties égales de la solution du rouge neutre et du bleu de méthylène à 1:5000 chacune. Le pied est coloré en bleu et la tête du sporange en rouge. Grossissement 10 fois.

Fig. 13. Germination d'une spore dans le bouillon de carotte et de pomme de terre, additionné de rouge neutre à 1:5000. *e* — vacuole élémentaire colorée en rose. Grossissement 780 fois.

Fig. 14. Zoospore dans laquelle on voit: *e* — deux vacuoles élémentaires dont une seulement est colorée par le rouge n.; celle-ci contient un corpuscule coloré en rouge foncé; *d* — vacuole digestive. A part ces vacuoles, on remarque dans le protoplasme la présence de fins corpuscules colorés en rouge foncé. $\times 780$ fois.

Fig. 15. Zoospore contenant une vacuole pulsatile (*p*) et plusieurs vacuoles élémentaires, colorées en rouge et contenant chacune un corpuscule coloré en rouge foncé. Vacuole digestive fait défaut. $\times 780$ fois.

Fig. 16. Myxamibe. *d* — vacuoles digestives; *e* — vacuoles élémentaires dont deux colorées et deux incolores; *m* — corpuscules reposant directement dans le protoplasme et colorés en rouge foncé (corpuscules métachromatiques?); *p* — va-

cuole pulsatile, *x* — vacuole contenant un grand corpuscule sphérique et brillant dont la nature chimique est inconnue; ni le fond de la vacuole, ni le corpuscule ne se colorent jamais avec le rouge neutre; *n* — noyau. Grossissement 1715 fois.

Fig. 17. Spore nouvellement constituée. *v* — grande vacuole colorée en rose, contenant un grand corps cristallin prenant une couleur rouge vive; *n* — noyau. Ces deux éléments sont bien visibles à travers la membrane qui est encore très délicate à ce stade-là. Grossissement 1715 fois.

Fig. 18. Une spore complètement mûre, provenant d'un sporange d'une culture additionnée de rouge neutre. A travers sa membrane on remarque un corps contenu dans une vacuole. Ce corps, primitivement coloré en rouge foncé, est à présent dépourvu de colorant vital. Grossissement 1313 fois.

