

# Les objectifs ultramicroscopique à réflecteur interne et leurs applications à la biologie et aux autres sciences

Autor(en): **Spieler, Ch.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences physiques et naturelles**

Band (Jahr): **22 (1940)**

PDF erstellt am: **25.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-741659>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# LES OBJECTIFS ULTRAMICROSCOPIQUES A RÉFLECTEUR INTERNE

et leurs applications à la biologie  
et aux autres sciences

PAR

**Ch. SPIERER**

(avec 2 figures et 12 planches).

---

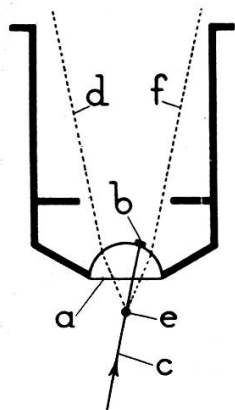
En 1926 nous avons publié dans ce périodique un article intitulé « Un nouvel ultramicroscope à éclairage bilatéral » où nous décrivions un objectif ultra-microscopique à immersion dont la lentille frontale était munie en son centre d'un minuscule réflecteur métallique.

Dans son livre intitulé « Protoplasm », paru en 1936, comme aussi dans quelques publications antérieures, Wm. Seifriz<sup>1</sup> (Philadelphie) a donné une description détaillée de cet objectif, en le désignant par le nom de « Spierer lens », et il y a également décrit certaines structures typiques qu'il a observées dans les membranes celluloses et dans le protoplasme vivant, à l'aide de ce même objectif. Quand on emploie pour l'observation l'objectif à réflecteur central, l'objet se trouve éclairé parallèlement à l'axe optique, ou à peu près, et perpendiculairement aux surfaces principales de la préparation. Cet éclairage perpendiculaire donne de bons résultats dans de très nombreux cas; mais avec certains objets à structures linéaires excessivement fines il y a intérêt, pour améliorer le

<sup>1</sup> Cf. index bibliographique à la fin de cette note.

pouvoir de résolution de l'objectif, à rendre l'éclairage plus ou moins oblique; ceci peut être obtenu facilement en déplaçant excentriquement la pupille du diaphragme-iris placé sous le condensateur Abbe; mais alors une partie au moins du faisceau éclairant passe à côté du réflecteur central et le champ visuel, de noir qu'il était, devient gris foncé, puis gris clair et finalement tout-à-fait clair, suivant que l'obliquité de l'éclairage va en augmentant. L'effet obtenu en pareil cas est une résolution parfois meilleure, mais aussi une diminution très notable des contrastes entre clair et sombre, donc un affaiblissement de la visibilité, par suite de l'éclairement du champ où les détails de l'image sont submergés sous un flot de lumière.

Afin de pouvoir réaliser un éclairage oblique avec des objectifs du type décrit, tout en conservant le fond noir ou gris foncé si favorable aux contrastes d'ombre et de lumière, nous avons construit un objectif à immersion dont la lentille frontale porte un minuscule réflecteur métallique situé excentriquement,



**FIG. 1.**

comme le montre schématiquement la figure 1, dans laquelle *a* représente la lentille frontale, *b* le réflecteur, *c* le rayon éclairant qui frappe le réflecteur, lequel le renvoie sur l'objet, *d* et *f* les rayons diffractés qui poursuivent leur chemin dans l'objectif, *e* l'objet microscopique sous examen.

Les rayons éclairants, tels que *c*, étant interceptés par le réflecteur excentrique qui les renvoie sur l'objet, le champ visuel reste obscur; tandis que les rayons diffractés ou diffusés par l'objet, faisant un certain angle avec le rayon éclairant, passent à côté du réflecteur ou autour de lui, pénètrent dans le microscope et donnent lieu à la formation de l'image microscopique qui est vivement lumineuse sur un fond noir ou gris.

Un moyen plus simple, quoique moins efficace, de réaliser l'éclairage oblique en fond noir tel que nous le recherchons consiste à placer dans la pupille du porte-objectif, juste au-dessus du système de lentilles, un disque de verre plan, portant

assez loin de son centre une tache noire et ronde formée par une goutte de vernis noir.

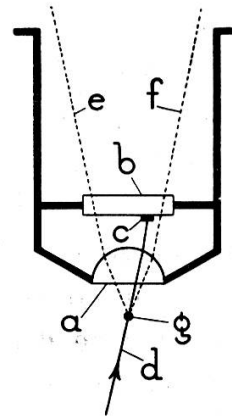
La figure 2 illustre schématiquement ce dernier dispositif: *a* y représente la lentille frontale, *b* le disque de verre plan, *c* la tache noire, *d* le rayon éclairant qui est intercepté par la tache noire, *e* et *f* des rayons diffractés dans l'objet, qui traversent l'objectif, *g* l'objet microscopique.

Avec chacune des méthodes illustrées par les figures 1 et 2 on peut obtenir des résultats intéressants sur certains objets sub-microscopiques avec lesquels les procédés usuels d'éclairage sont inefficaces au point de vue de la visibilité des structures et de la netteté des images.

Les planches ci-jointes sont des reproductions de microphotographies destinées à illustrer les résultats qu'on peut obtenir avec les différentes sortes d'objectifs microscopiques que nous venons de décrire.

Le haut de la planche I représente la valve de la diatomée *Nitzschia Curvula*, à un agrandissement de 3240 diamètres, photographiée en fond noir avec un objectif à réflecteur excentrique construit selon la figure 1. L'objectif à réflecteur central ne donne pas une résolution convenable de cette diatomée en fond parfaitement noir, mais il la donne en fond gris-clair, c'est-à-dire avec un faisceau d'éclairage plus ouvert.

Le haut de la planche II représente une portion de la même diatomée à un agrandissement supérieur (6.000 ×) toujours en fond noir. Au bas de la même planche on revoit la même diatomée, même agrandissement, mais prise en fond clair avec un objectif à immersion normal. Comme il a été affirmé dans un sens beaucoup trop général que les objectifs à réflecteur interne donnent une fausse résolution, consistant à doubler dans l'image le nombre de stries existant réellement dans un objet microscopique, cette planche est destinée à prouver que le dédoublement des stries n'est en tout cas pas un phénomène général; le nombre des rangées de perles (stries) est en effet



**FIG.2.**

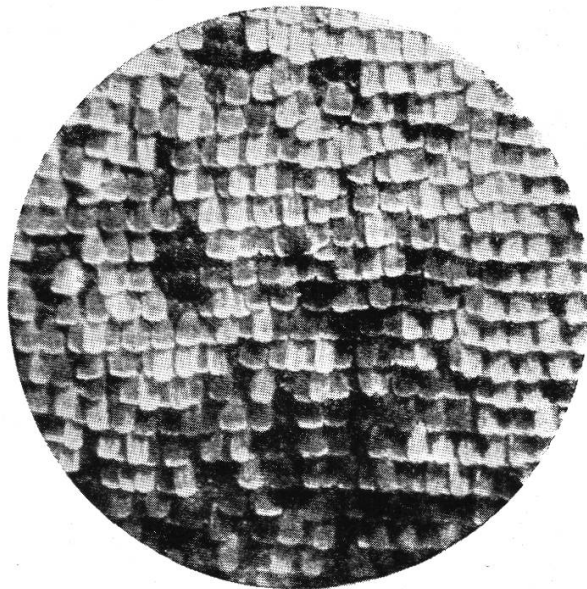
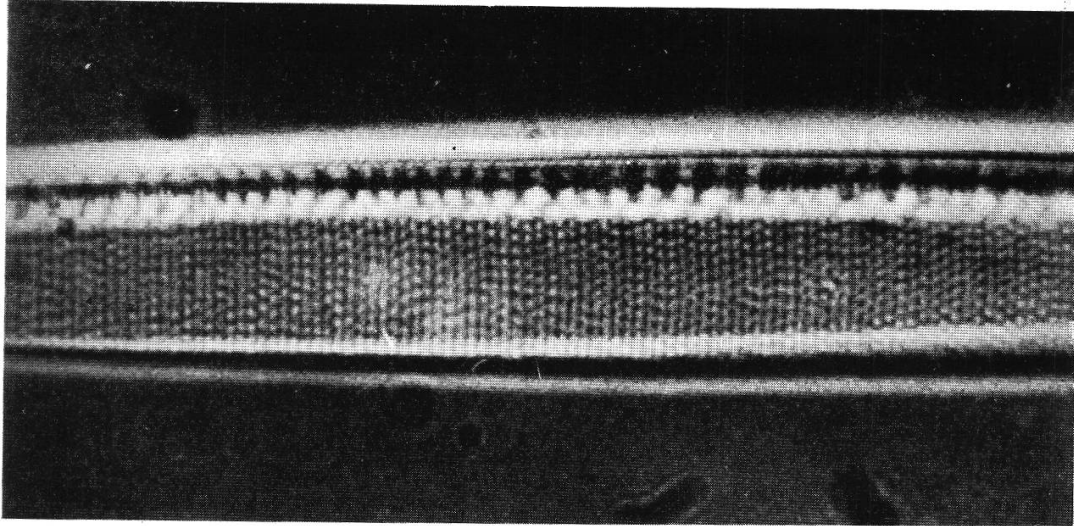
le même dans les deux photos de la planche II. Nous n'avons pu constater un dédoublement des stries dans l'image microscopique que dans le cas de certains réseaux artificiels, constitués par des lames de verre rayées très finement par une pointe d'acier. Nous n'avons pas eu l'occasion d'observer ce dédoublement avec des réseaux naturels, comme ceux qui existent dans la structure des valves de diatomées (*Pleurosigma*, *Surirella*, *Nitzschia*, *Amphipleura*) ou dans les membranes cellulosesiques.

Le bas de la planche I montre à un grossissement de 50 diamètres une partie de l'aile du papillon *Hipparchia Janira*; on voit que l'aile est recouverte de minuscules écailles qui se chevauchent comme les tuiles sur un toit. La planche III représente deux de ces écailles à un grossissement de 1500 diamètres. La figure du haut a été prise avec un objectif normal à immersion, en fond clair; celle du bas avec un objectif à immersion à réflecteur excentrique et en fond noir. On remarquera que la résolution est correcte dans le cas du fond noir et qu'il n'y a pas de multiplication du nombre des petites stries transversales par rapport à l'image en fond clair.

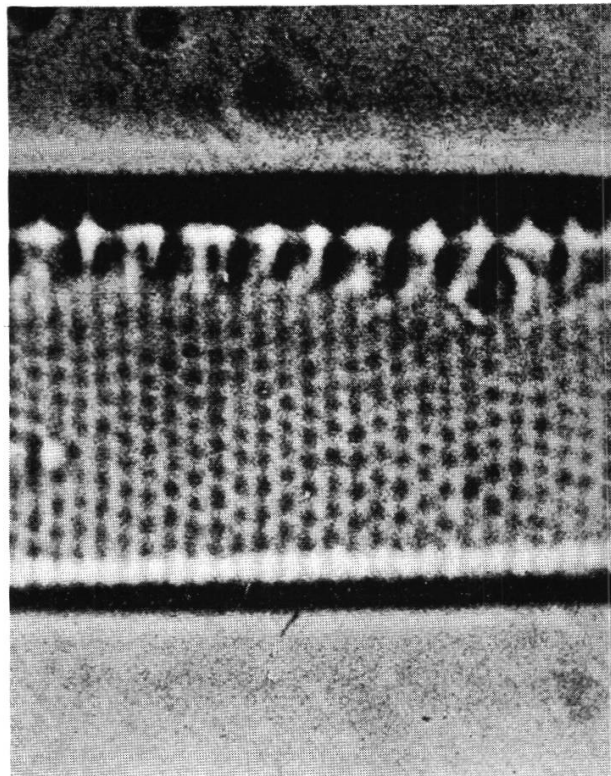
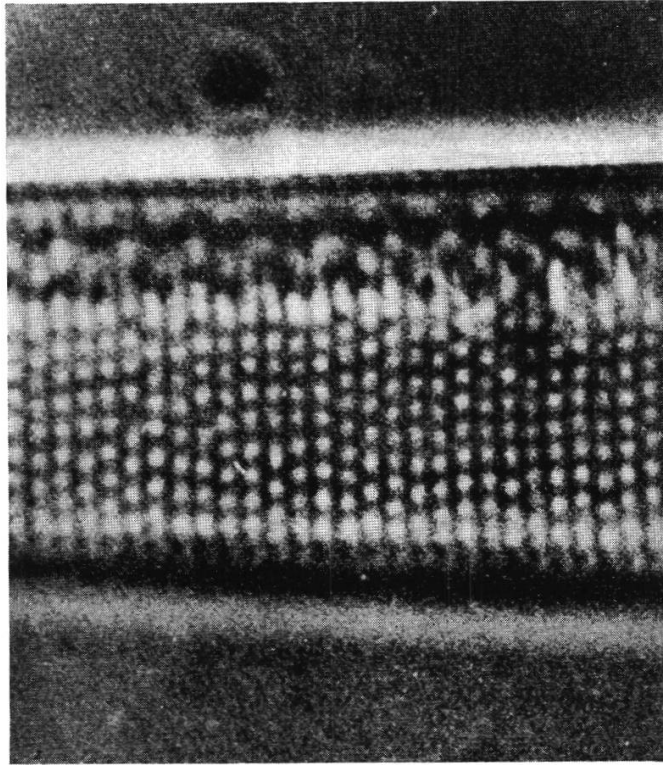
La planche IV représente deux cellules épithéliales de la bouche dont l'une seulement, la plus grande, était dans le plan focal de l'objectif au moment où la microphotographie a été prise. Ces cellules ont été photographiées en fond noir avec un objectif à réflecteur central, à un grossissement de 2700.

Sur la planche V on voit une autre cellule épithéliale, également agrandie 2700 fois, et photographiée en fond noir avec un objectif à réflecteur excentrique, donc en éclairage légèrement oblique. Le milieu d'inclusion est une goutte de salive.

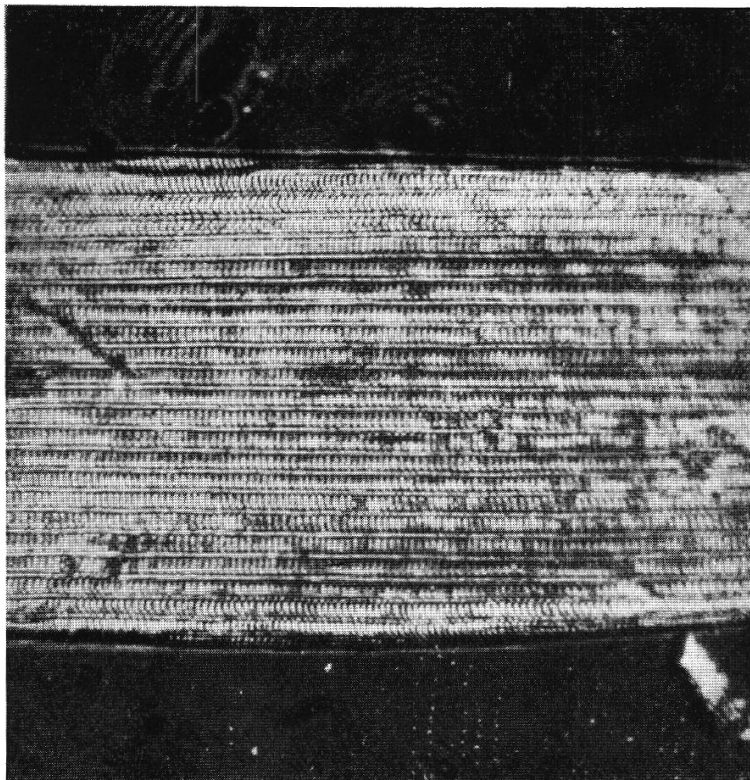
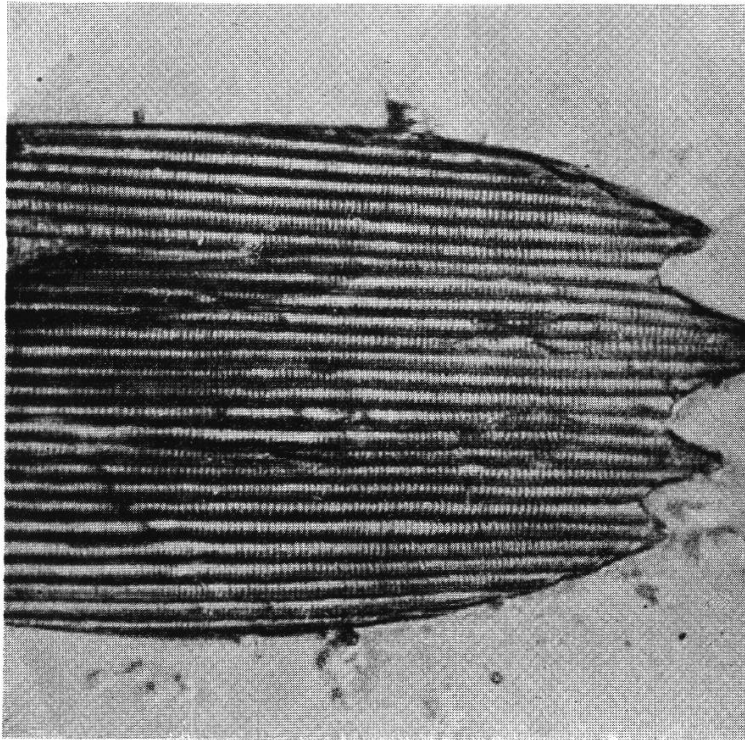
Ces deux photographies montrent dans le cytoplasme une structure filamenteuse qui a été observée dans une variété de cellules animales et végétales à l'état naturel, c'est-à-dire non fixées; le nom de nématoplasme a été proposé pour cette partie plus dense, plus élastique et filamenteuse du protoplasme qui est un colloïde micellaire; et le nom d'hygroplasma pour la partie moins dense et plus fluide qui est un colloïde moléculaire optiquement vide, retenu entre les mailles du



*Nitzschia curvula* et aile de papillon.

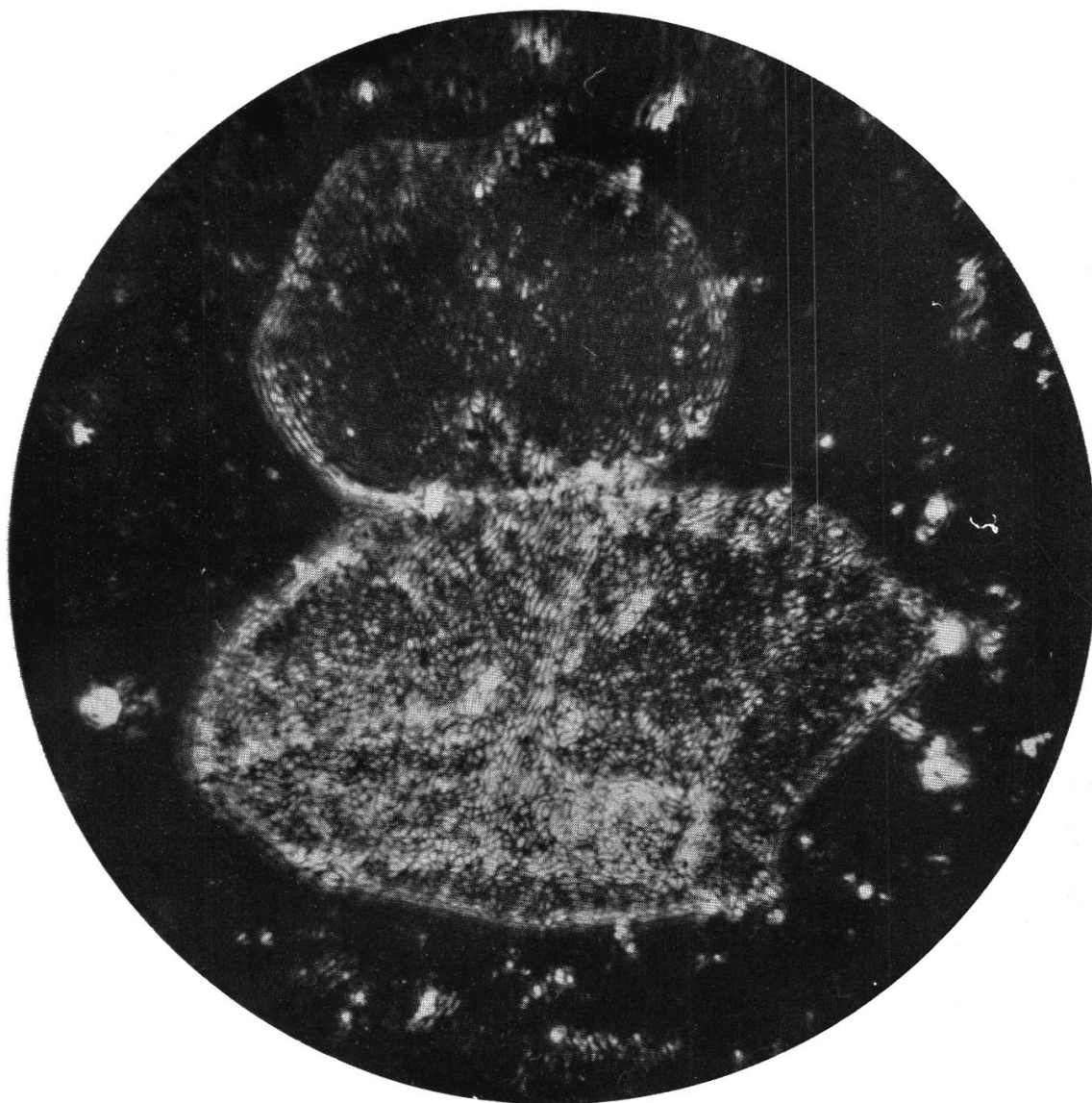


*Nitzschia curvula.*



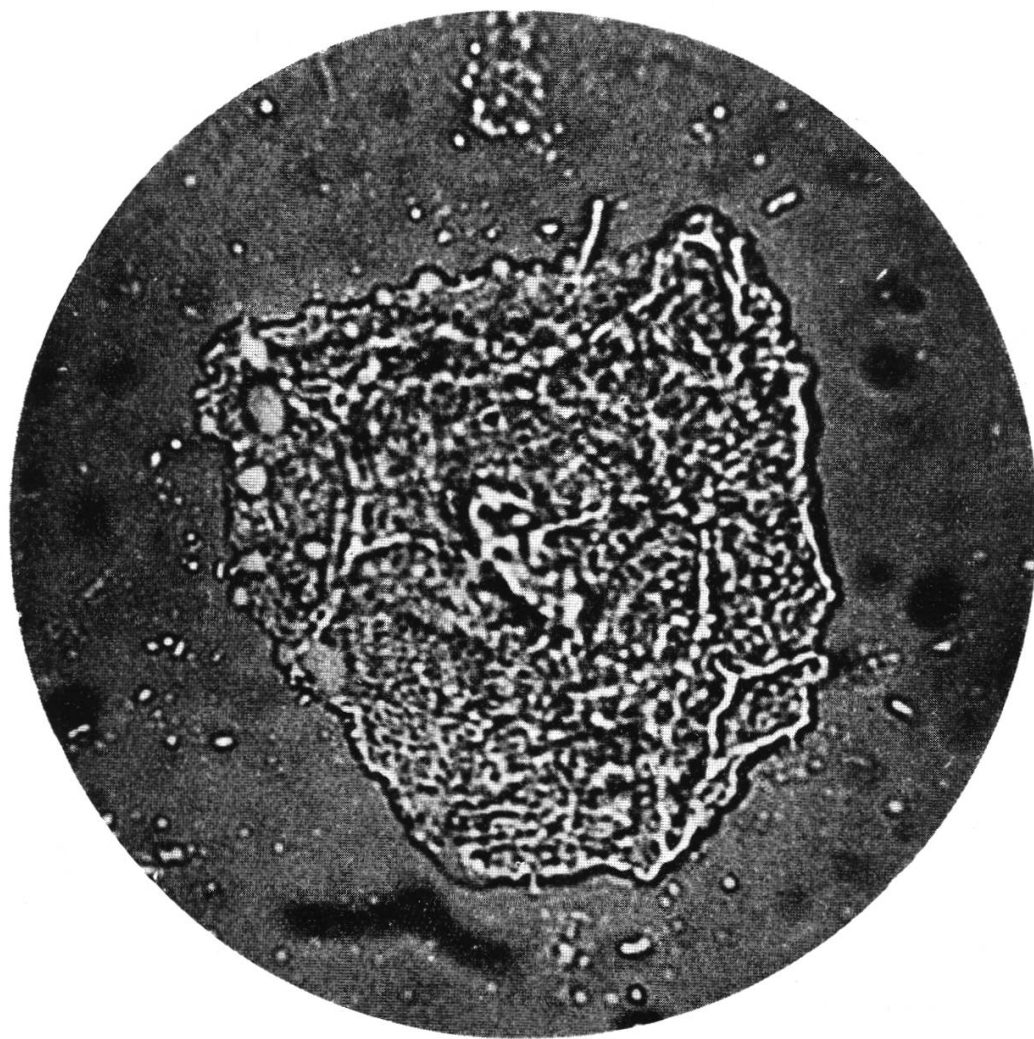
Ecailles de l'aile de papillon.



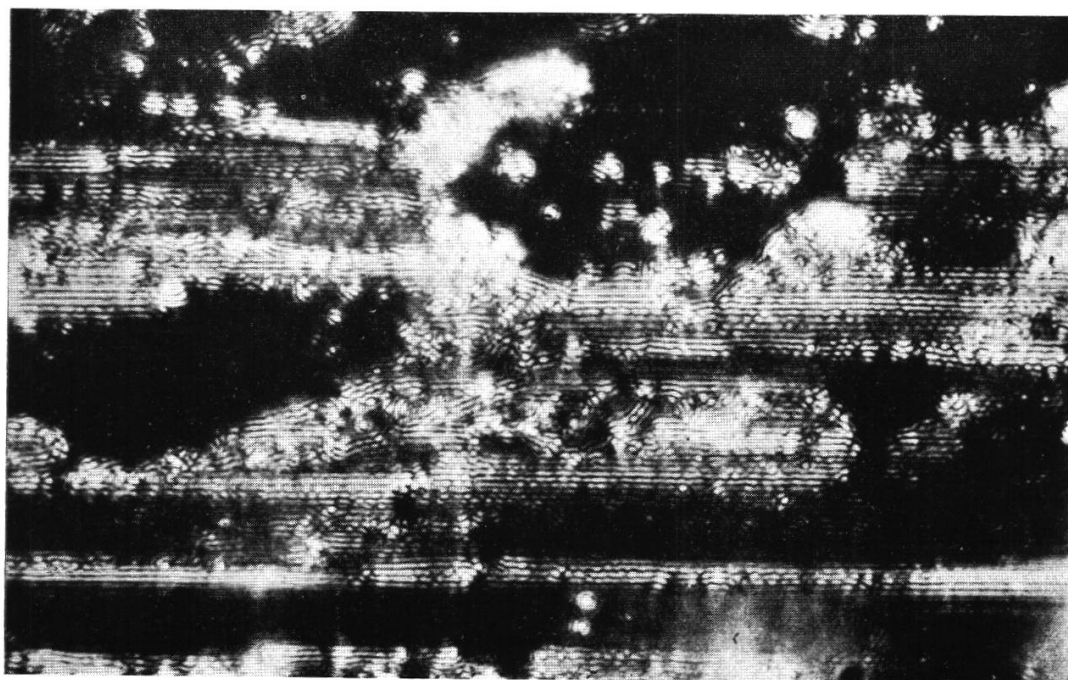
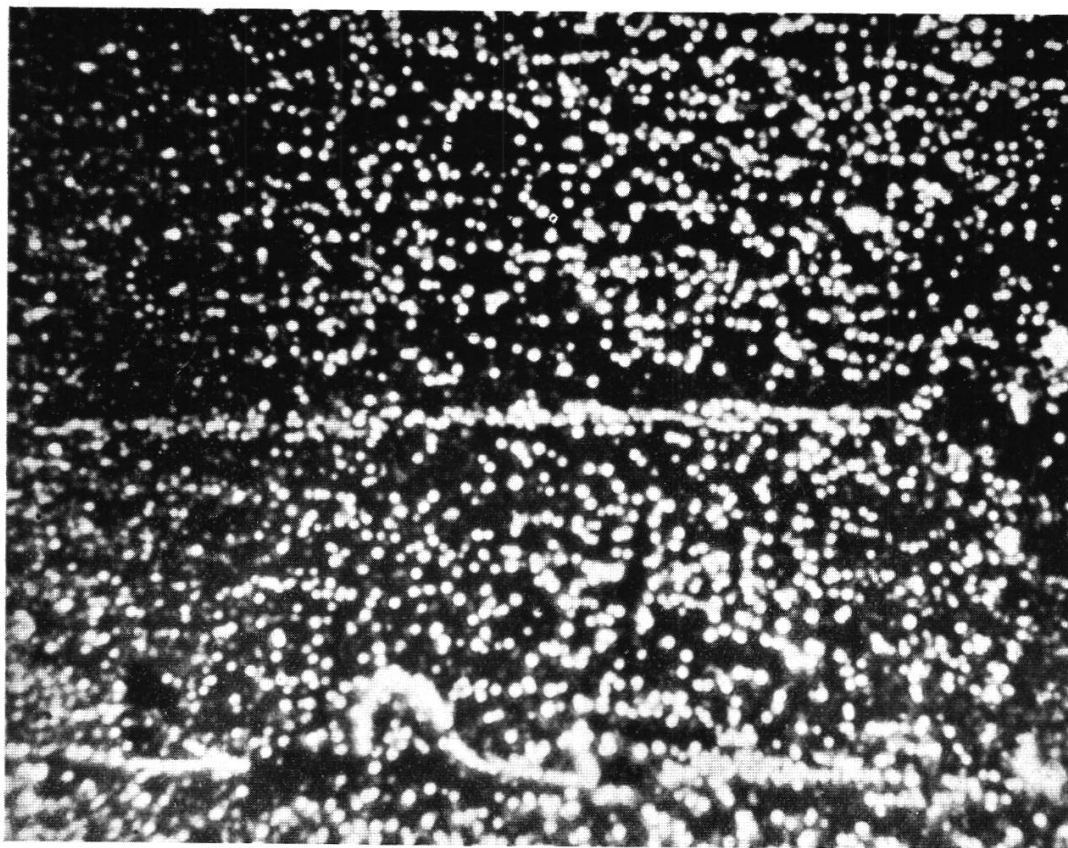


Cellules épithéliales de la bouche.

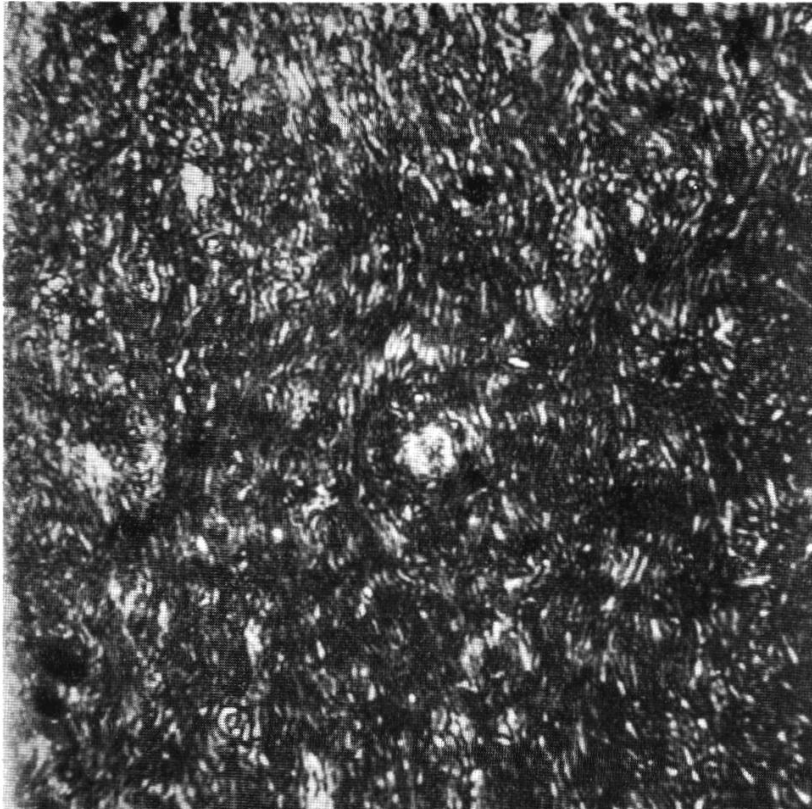




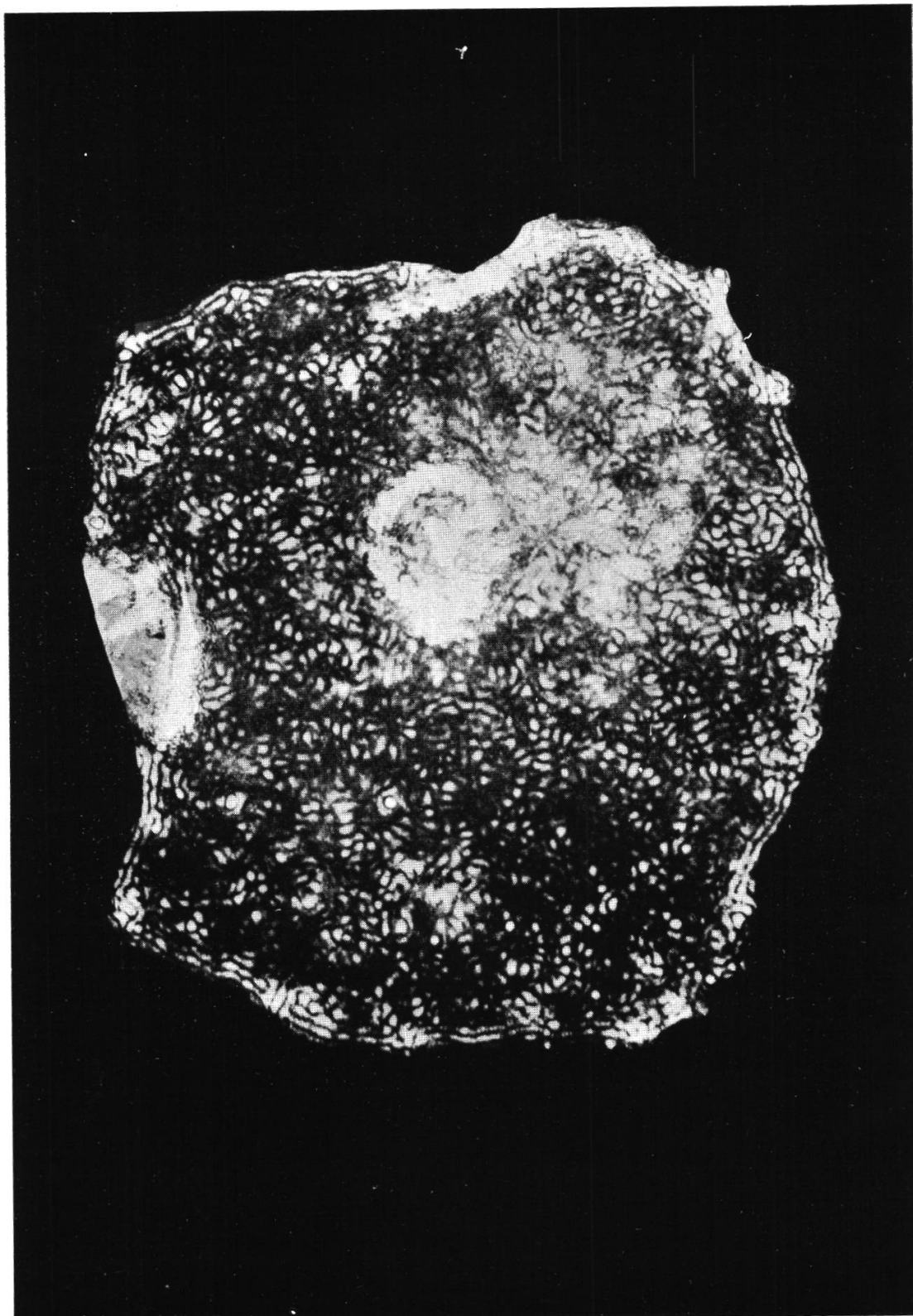
Cellule épithéliale de la bouche.



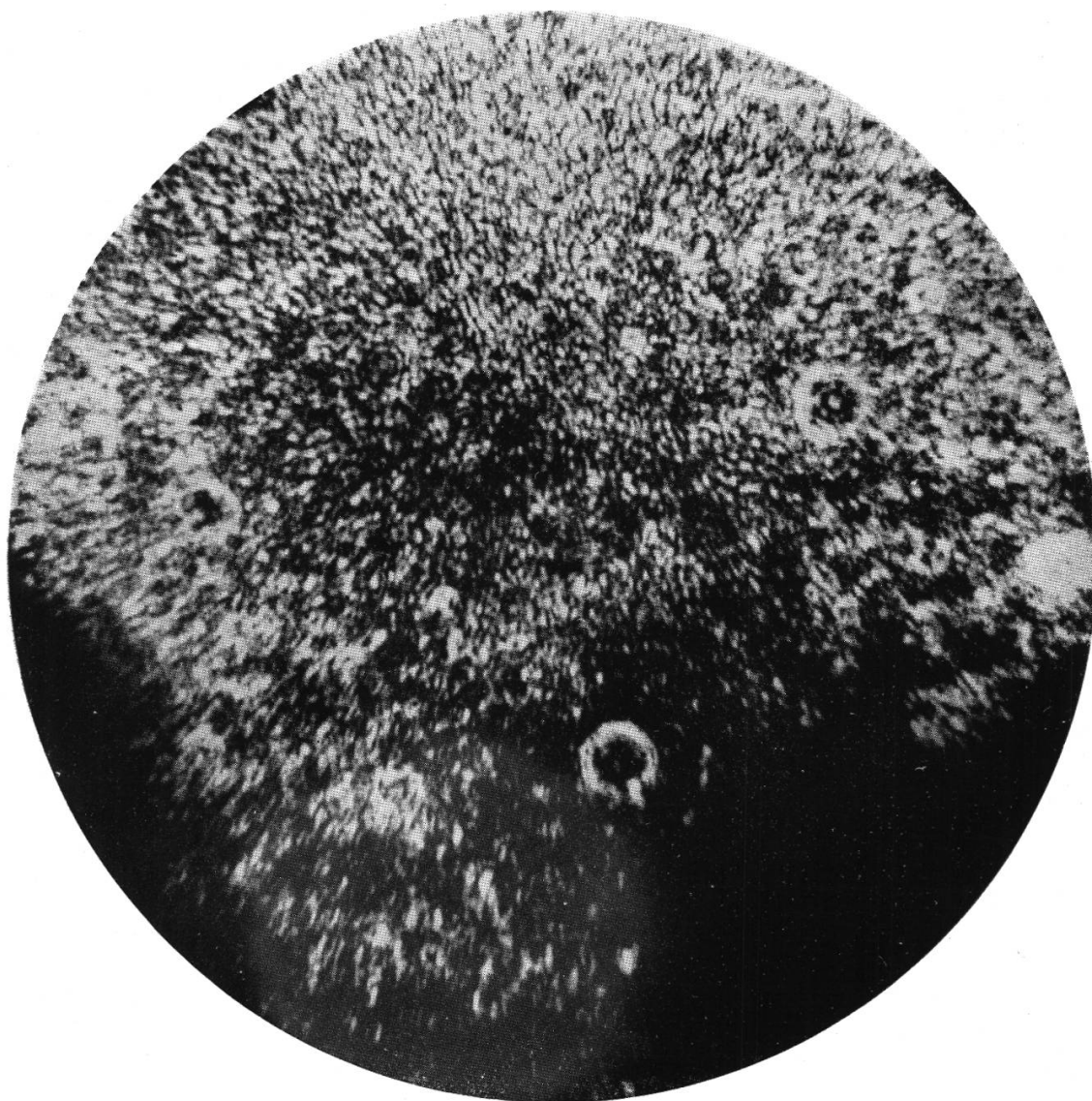
Gélification de la gélatine.



Pellicule de bulle de savon.

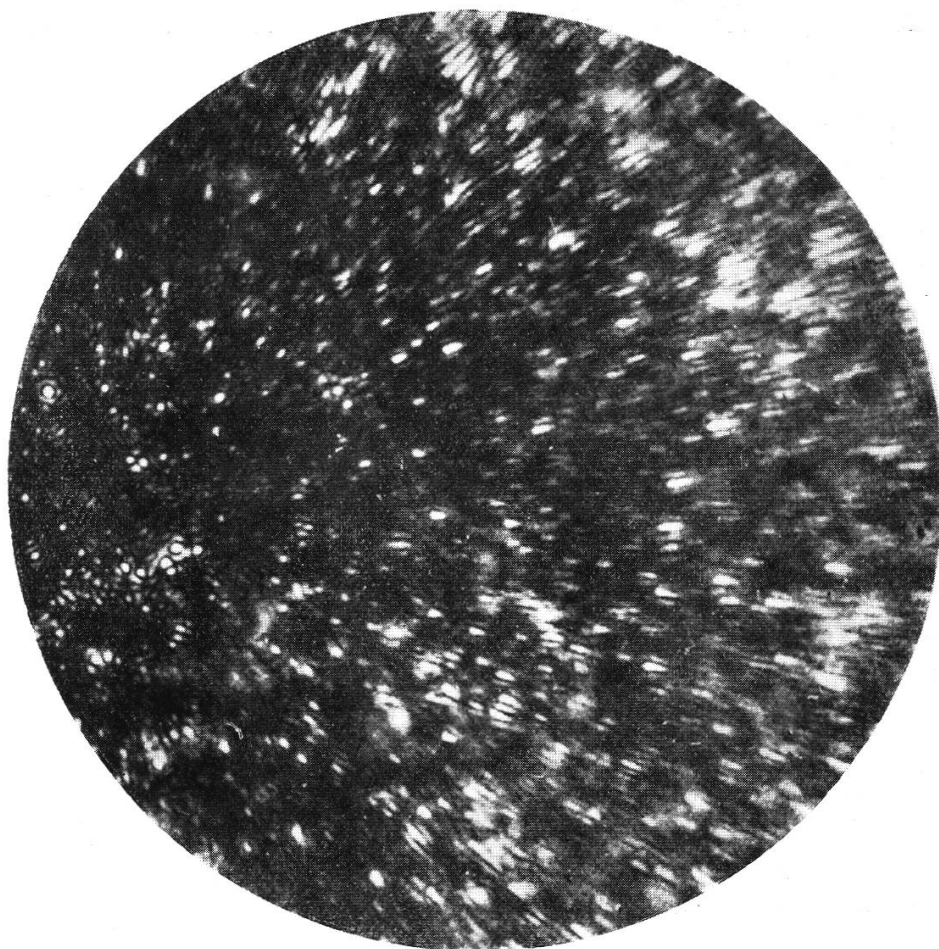


Cellule épithéliale de la bouche.

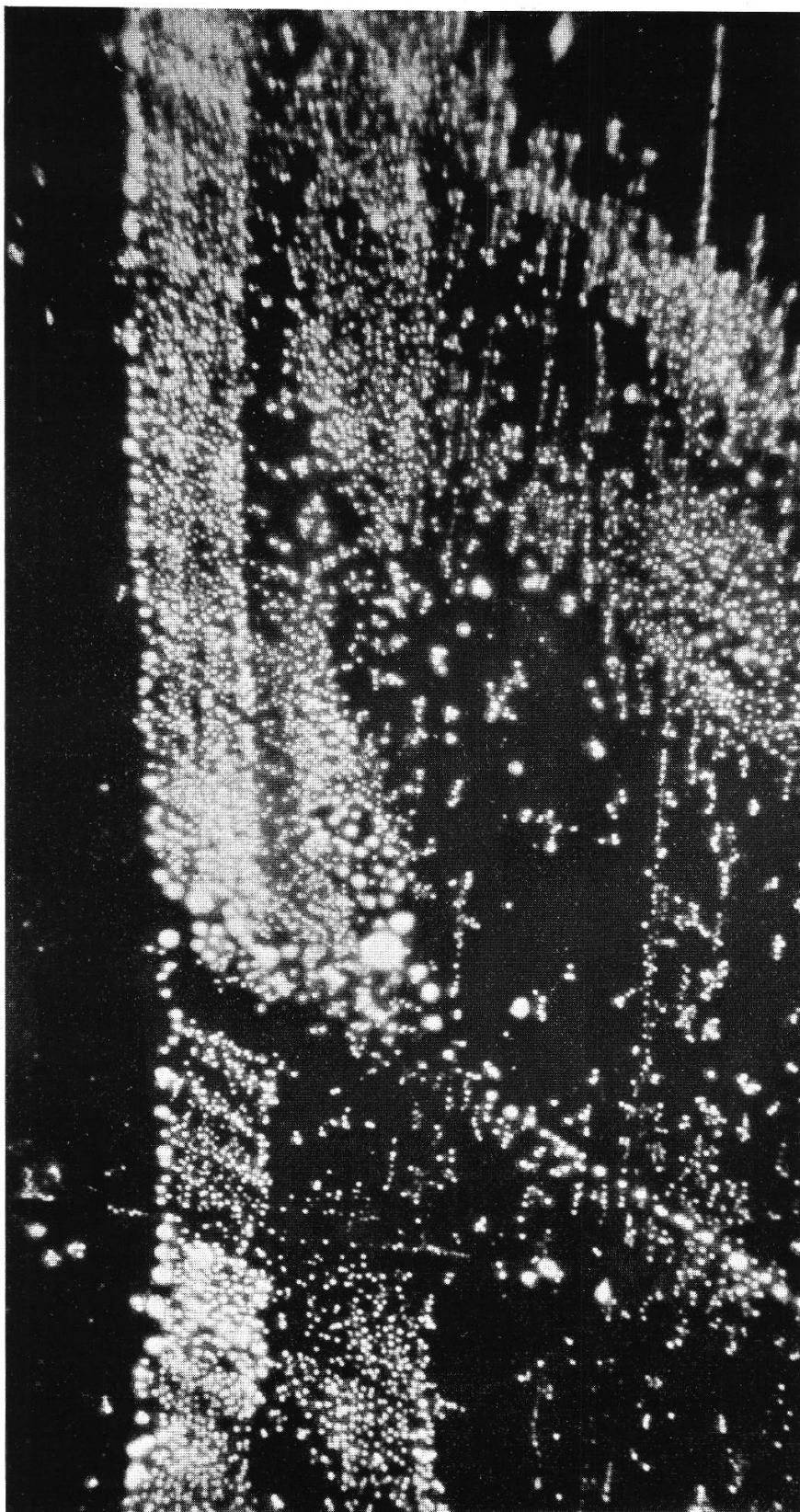


Protoplasme végétal.



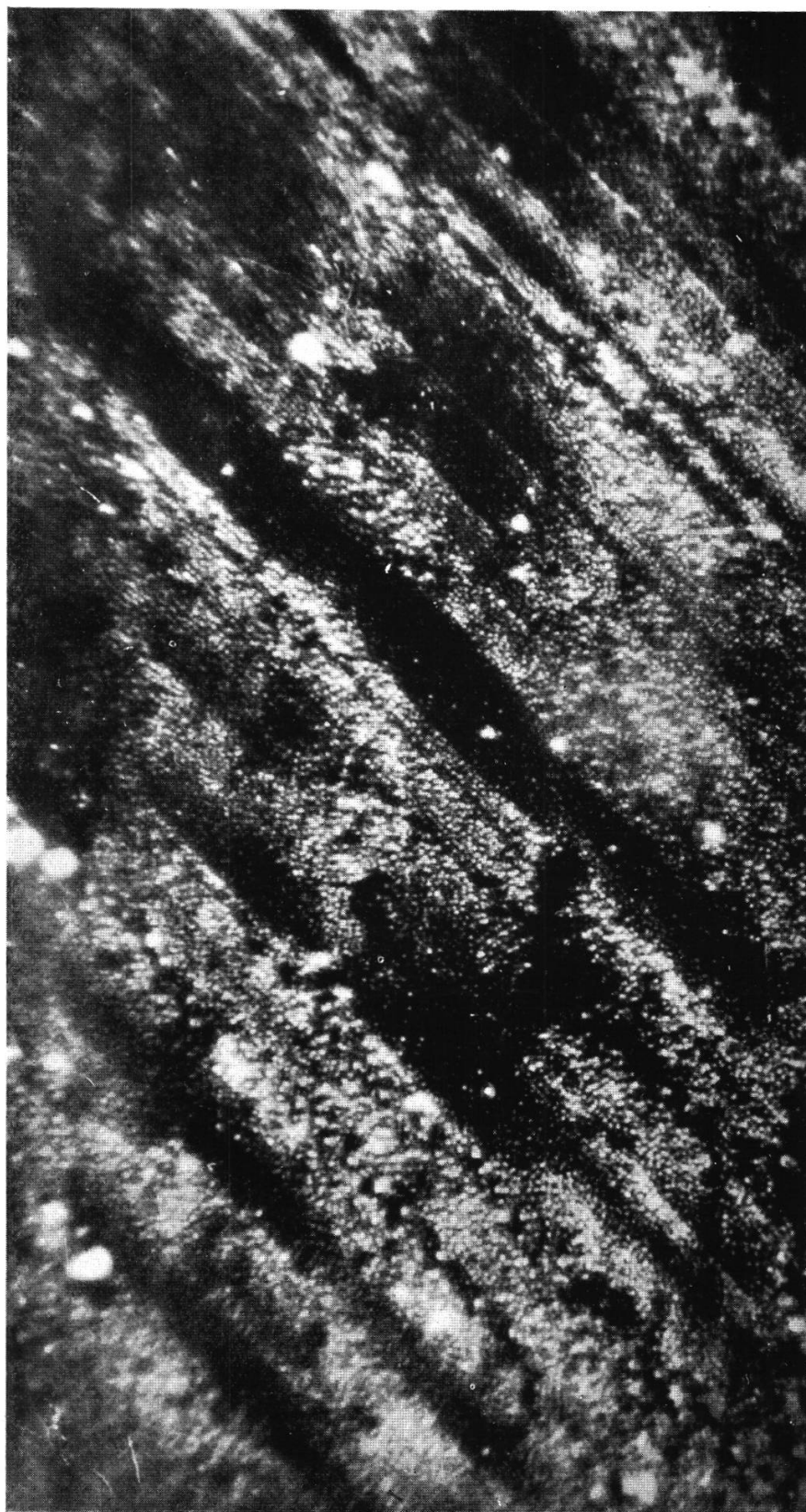


Couche unimicellaire de protoplasme.



Cristaux naissants de NaCl.





Lamelles ultra-minces de NaCl.

réseau nématoplasmique. Le nématoplasme des cellules à l'état naturel correspond au spongioplasme, au kinoplasme et au reticulum constatés dans les cellules coagulées par la fixation; et l'hygroplasma correspond à l'ancien hyaloplasme et à l'enchylema. Il y a donc assez de ressemblance entre les structures cytoplasmiques constatées *in vivo* et celles qui résultent après fixation; la coagulation provoquée par les bains fixateurs se produit généralement le long de lignes préétablies par l'architecture naturelle des cellules; mais il est évident que la coagulation, surtout si elle est trop violente, peut donner lieu à des déformations et à des regroupements artificiels; en tous cas elle tue la cellule et nous empêche de suivre les mouvements du nématoplasme dont la configuration change lentement et continuellement pendant la vie cellulaire.

Il y a aussi une analogie de structure entre le nématoplasme et les filaments chromatiques (spirème, etc.) du nucléoplasme; quant aux rayons de l'aster et aux filaments achromatiques du fuseau, chez les cellules en état de division, ils ne sont autre chose que du nématoplasme disposé et orienté dans un certain ordre en vue d'une fonction spéciale; car, nous l'avons déjà signalé, le nématoplasme vivant n'est pas immobile; c'est une charpente mobile qui se monte et se démonte elle-même, construit les dispositifs nécessaires à toutes les phases de la vie cellulaire (certaines vacuoles, les alvéoles, plasmodesmes, pseudopodes, canaux pour la circulation protoplasmique, asters, fuseaux, etc.) et les démolit lorsqu'ils ont cessé d'être utiles. Ainsi, à titre d'exemple, la planche VIII nous montre une quatrième cellule épithéliale, dans laquelle le nématoplasme a été surpris en train de commencer la construction de nombreuses vacuoles sphériques en se pelotonnant en une demi-douzaine de pelotes creuses dont les cavités ont fini par constituer autant de vacuoles bien nettes; toute l'opération a duré environ une heure et demie.

De même que, dans le noyau, ce sont les éléments filiformes (spirème et chromosomes) qui ont une importance capitale dans des fonctions aussi essentielles que la multiplication et l'hérédité, de même, dans le cytoplasme, ce sont les filaments nématoplasmiques qui jouent les principaux rôles. On peut,

en effet, constater par des observations prolongées et répétées de la même cellule vivante que le filament nématoplasmique est doué de presque toutes les propriétés que possèdent les organites filiformes des cellules les plus spécialisées dans leurs fonctions: il a la motilité qui se retrouve sous une forme plus accentuée chez les cils vibratiles et les flagelles; il a l'irritabilité et la conductibilité des fibres nerveuses; il a la contractilité élémentaire que manifestent plus fortement les fibrilles musculaires; il est à l'intérieur de la cellule un constructeur de charpentes et de parois comme les fibres du tissu conjonctif par rapport à un organisme; et, pour finir, il y a des probabilités pour qu'il soit l'agent du métabolisme cellulaire.

La structure nématoplasmique se retrouve aussi dans les cellules végétales, comme le montrent, à titre d'exemple, les planches IX et X où l'on voit une goutte de protoplasme extraite de l'extrémité d'un tube pollinique naissant et encore court de *Lilium*, par sectionnement du tube et compression de son extrémité entre la lame et la lamelle, sans adjonction d'eau ni d'un autre liquide; le grain de pollen en question avait commencé sa germination sur de la gelée d'agar sucrée. Il s'agit là d'une expérience déjà ancienne faite d'après les indications de Wm. Seifriz. Sur la planche IX la goutte protoplasmique est moins aplatie que sur la photo de la planche X qui a été prise quelques secondes plus tard, lorsque par l'effet d'une nouvelle compression la couche de protoplasme était déjà d'épaisseur unimicellaire.

Les deux microphotographies ont été prises avec le même objectif à réflecteur central, en fond noir, à un grossissement de 2700.

La structure du protoplasme vivant peut aussi être mise en évidence par la microphotographie aux rayons ultra-violet, le nématoplasme étant beaucoup plus absorbant pour ces rayons que l'hygroplasma; cependant l'emploi des objectifs à réflecteur interne conduit aux mêmes constatations par des moyens plus simples et beaucoup plus commodes.

Nématoplasme et hygroplasma réunis forment le cryptoplasme de Seifriz, ainsi dénommé parce que ses deux constituants sont difficiles à distinguer optiquement et à tout moment

dans la cellule vivante; le même auteur dénomme phanéroplasma les innombrables gouttelettes d'une émulsion très fine qui sont ultra-microscopiquement visibles et toujours présentes dans le protoplasme. Ces gouttelettes nous semblent être en général adsorbées tout le long des filaments nématoplasmiques dont la tension les étire souvent en leur donnant l'aspect de bâtonnets aux extrémités arrondies. La présence de ces gouttelettes le long des filaments contribue à leur donner une apparence de discontinuité qui est surtout visible dans la cellule de la planche IV et celle de la planche VIII. Sur la planche V les discontinuités sont moins visibles à cause de l'obliquité de l'éclairage. La structure filamenteuse du protoplasme vivant a été en premier lieu décrite par Wm. Seifriz dans de nombreuses publications, notamment dans son livre « Protoplasm » où le sujet est traité *in extenso*.

Seifriz y compare le protoplasme au lait, qui contient trois systèmes distincts mais intimement associés, c'est-à-dire une émulsion de graisse, une dispersion d'unités fibreuses susceptibles de former un caillot, et une solution de divers sels et autres substances qui pénètre le tout.

Le plasma sanguin supporte aussi la comparaison avec le protoplasme et avec le lait, étant un composé des systèmes sérum et fibrinogène auquel s'ajoute le plus souvent, sinon toujours, une émulsion très fine de graisse.

Il y a donc une certaine homologie entre les fibrilles de la paracaséine, les filaments de fibrine, et le nématoplasme cellulaire.

L'importance vitale attribuée au nématoplasme cadre aussi très bien avec la « Biocondensation Hypothesis » de B. J. Luyet (St. Louis, U.S.A.) selon laquelle la vie aurait pour véritable substratum les éléments les plus denses du protoplasme cellulaire et nucléaire.

Il y a, cependant, deux faits très importants qu'il ne faut pas perdre de vue: le premier c'est que les éléments filiformes visibles du protoplasme ne représentent qu'une fraction de sa masse totale; le deuxième c'est que ces mêmes éléments morphologiques apparaissent et parfois se résorbent dans la masse protoplasmique qui présente très fréquemment sous le

microscope un aspect homogène, abstraction faite de ses inclusions.

Rien que ces deux faits conduisent à la supposition que l'architecture visible du protoplasme dérive des propriétés d'une structure plus subtile et amicroscopique de toute sa substance. Et cette supposition acquiert un fondement solide si, comme l'a fait Frey-Wyssling, on étudie l'ensemble des propriétés physico-chimiques du protoplasme par les divers moyens d'investigation dont dispose la science moderne: étude des propriétés chimiques et des caractères stéréo-chimiques, emploi de la lumière polarisée et des rayons X, recherches sur l'élasticité, la viscosité, la perméabilité, etc. Les travaux de Frey-Wyssling aboutissent à la conclusion que le protoplasme manifeste déjà à l'échelle moléculaire une structure réticulaire plutôt labile constituée par un arrangement des molécules filiformes de l'albumine; la partie aqueuse du protoplasme remplit les mailles de ce réseau moléculaire.

Dans les photos de cellules que nous publions ici les noyaux n'apparaissent pas nettement parce que la mise au point a été réglée de façon à obtenir une vue aussi claire que possible de la structure granulo-filamenteuse du cytoplasme; on peut cependant, avec les objectifs à réflecteur interne, observer la micro-structure naturelle des noyaux dans des conditions satisfaisantes, en tant qu'il s'agit de cellules vivantes, ou du moins de cellules à l'état normal, sans fixation ni coloration.

La planche VI montre, à un grossissement de 1500, deux stades différents de la gélification d'un sol de gélatine extrêmement pure, clarifiée par électro-osmose et ne donnant aucune cendre, dissoute dans de l'eau tri-distillée, à raison de cinq pour cent. Les photos ont été prises en fond noir avec un objectif à réflecteur central.

Le sol est au début de l'expérience optiquement vide et constitue, nous semble-t-il, un colloïde moléculaire. Lorsque la gélification commence il y a condensation de la substance dispersée en de très nombreux points de la couche liquide et de ce fait formation de micelles d'aspect sphérique qui ont une tendance très marquée à s'aligner en rangées souvent parallèles, mais qui se coupent parfois à des angles quel-

conques. Les rangées prennent d'abord l'aspect discontinu de chapelets mais finissent par ressembler à des fibrilles continues quand la gélification est plus avancée. Ces chapelets ou fibrilles s'incurvent très souvent et s'enroulent autour de minuscules vacuoles qui contiennent de la gélatine plus dispersée, restée à l'état de colloïde moléculaire liquide; dans le cas du xérogel le liquide intermicellaire se solidifie aussi par dessiccation et, comme les densités sont alors réparties dans la masse, d'une façon plus uniforme, le corps semble redevenir optiquement vide, tant que la couche observée est relativement épaisse; mais, dans des lamelles extrêmement minces, c'est-à-dire unimicellaires, de xérogel, la structure discontinue que nous avons décrite peut être rendue visible, à la condition que le milieu d'inclusion soit l'air.

L'ouvrage de Wo. Ostwald, « Licht und Farbe in Kolloiden », contient des microphotographies de lamelles de gélatine, traitées par l'alcool ou par l'acide chromique pour en différencier les structures, et dont l'aspect ressemble beaucoup à celui de la planche VI.

Il y a lieu de faire remarquer ici la grande analogie existant entre les filaments de la gélatine et le nématoplasme, comme aussi entre la gélatine intermicellaire liquide et l'hygroplasma. Dans les deux cas le passage de l'état de sol à l'état de gel est réversible: en effet, dans les cellules vivantes le nématoplasme n'est pas toujours visiblement présent; et quand il s'est formé (par une gélification plus avancée du protoplasme) il peut de nouveau disparaître, optiquement parlant, par le passage à un état de gélification moindre.

Un autre cas de ressemblance frappante entre structures colloïdales inertes et structures vivantes nous est fourni par les cellules artificielles de Fernand Chodat qui sont remplies d'une liqueur cupro-albumineuse. Lorsque l'eau qui constitue le milieu extérieur a pénétré dans une des ces cellules à travers sa membrane semi-perméable, on observe sous le microscope une structure interne qui se présente de manière constante. Des centres se forment à partir desquels rayonnent des filaments de matière en voie de coagulation qui imitent de très près les figures désignées sous le nom d'aster chez les cellules vivantes.



Une structure fibro-granuleuse caractérise aussi les gels de savon, examinés en lamelles extrêmement minces; on y constate des micelles plus ou moins allongées, ou cristallites, qui, se joignant bout à bout, forment des filaments parfois incurvés; ces derniers, en se rangeant les uns à côté des autres, constituent des lamelles par une sorte de feutrage souvent très régulier.

La planche VII est la microphotographie de la pellicule d'une bulle de savon à son endroit le plus mince et juste avant son éclatement. A l'endroit photographié la pellicule était si ténue qu'elle ne contenait qu'une seule couche de micelles dans son épaisseur; si elle n'était pas monomoléculaire elle était en tout cas unimicellaire; son épaisseur pouvait donc varier suivant le cas entre 4,5 millièmes de millimètre au minimum (suivant Jean Perrin) et 0,25 millièmes de millimètre au maximum. La microphotographie a été prise avec un objectif sec à réflecteur central à un grossissement de 1500.

Les planches XI et XII présentent des exemples de microstructures cristallines étudiées à l'aide de l'objectif à réflecteur excentrique, à un grossissement de 1500 diamètres. Il s'agit de cristaux lamellaires excessivement minces de chlorure de sodium obtenus par évaporation lente d'une solution très faible à l'alcool. Les lamelles ont une épaisseur de quelques microns seulement, et comme elles résultent de l'évaporation d'une solution à l'alcool elles sont anhydres au moment de leur formation, ce qui favorise la visibilité des détails de structure les plus fins.

Pendant l'évaporation de l'alcool on assiste à tous les stades ultra-microscopiquement visibles de la cristallisation qui débute par l'apparition soudaine de nombreux points brillants et puis d'éléments linéaires très fins et très allongés qui se disposent parallèlement; ces filaments présentent le plus souvent un aspect discontinu comme s'ils étaient constitués par un alignement de points matériels qui sont, certainement, des éléments cristallins ultramicroscopiques de dimensions non mesurables et de forme indéterminable, probablement des cubes infiniment petits. Entre ces premières fibrilles en apparaissent constamment de nouvelles qui conservent en général un paral-

lélisme régulier avec les premières nées; cependant on constate parfois des irrégularités exceptionnelles dans ce parallélisme.

La planche XI montre ce stade préliminaire de la cristallisation.

Lorsque cette première trame s'est formée le phénomène se précipite et presque instantanément l'espace qui était encore optiquement vide se remplit de particules granulo-linéaires si nombreuses et si serrées qu'on a de la peine à les discerner; toutefois la disposition symétrique de ces structures se reconnaît encore pendant un moment.

La planche XII montre ce stade plus avancé de la cristallisation.

Dans la suite les lamelles primitives vont en s'épaississant par la formation de nouvelles couches cristallines qui se superposent aux premières; et comme les images ultra-microscopiques de ces couches se superposent aussi, on arrive assez vite à la confusion de toutes ces interférences et le cristal plus épais apparaît finalement homogène.

De cette étude résultent deux constatations intéressantes: premièrement que l'architecture moléculaire d'un cristal, c'est-à-dire son réseau de Bravais, est souvent soutenue par une sorte de charpente de dimensions colloïdales qui obéit aux mêmes lois de symétrie que la structure amicroscopique; deuxièmement qu'il existe une similitude frappante entre la méthode architecturale que la Nature emploie pour ses constructions cristalloïdes et celle qu'elle adopte pour la formation des systèmes colloïdes, les gels en particulier.

Schrön avait déjà émis l'hypothèse, il y a une vingtaine d'années, que la formation des cristaux s'effectuait en trois phases successives: granuleuse, filamenteuse et homogène. Nos observations confirment l'exactitude de son opinion. Lorsqu'on observe en fond noir des lamelles cristallines ultra-minces d'un sel hygroscopique exposées à l'air, donc non recouvertes par une lamelle de verre, on peut constater un autre phénomène curieux en prenant la précaution de protéger la préparation par un écran approprié contre la souffle humide de l'observateur.

Le champ microscopique noir, rempli par les structures brillantes du cristal, subit à chaque endroit des fluctuations



rapides et rythmiques de luminosité, c'est-à-dire de visibilité des structures. Pendant qu'un petit secteur du champ s'illumine un secteur voisin s'obscurcit et ces alternatives de luminosité et d'extinction se succèdent comme un fourmillement dans toute l'étendue du champ. Entre deux obscurcissements du même endroit il se passe de une à trois secondes, et les zones de luminosité différente diminuent ou augmentent d'étendue sans avoir de contours définis.

La seule explication qui se présente c'est qu'on assiste aux fluctuations du nombre de molécules d'eau présentes à tout moment dans un très petit volume d'air au voisinage immédiat de la préparation. Lorsqu'un nuage plus dense de ces molécules s'abat sur une portion minime de la lamelle cristalline il est immédiatement happé par les particules hydrophiles du sel qui, à ce moment, perdent leur visibilité par hydratation, l'eau remplissant les espaces intergranulaires à la place de l'air sec qui s'y trouvait. Ensuite, sous l'effet de la chaleur dégagée par l'éclairage microscopique l'eau intergranulaire s'évapore et la structure redevient visible à cet endroit jusqu'à ce qu'un nouveau nuage moléculaire d'eau frappe la même zone. Les alternances locales d'illumination et d'obscurcissement correspondraient exactement aux fluctuations des molécules d'eau dans la pellicule d'air adhérent à la surface cristalline.

L'observation de ce phénomène est considérablement facilitée si l'on diminue le grossissement microscopique jusqu'à deux cents et même jusqu'à cent diamètres. Il y a intérêt, en ce cas, à se servir pour l'observation d'un simple objectif sec n° 3 et à éclairer la préparation en fond noir avec le condensateur Abbe muni d'un écran à fente circulaire placé dans l'ouverture du porte-diaphragme. La préparation se trouve alors éclairée obliquement et coaxialement par un cône creux de lumière et le fond reste noir.

Avec ce dernier dispositif on ne discerne plus bien les détails de structure mais, par contre, le champ visuel étant considérablement plus grand les fluctuations se voient très distinctement.

L'apparition du phénomène dépend évidemment des conditions d'humidité et de température de l'air ambiant. Nos obser-

vations ont été faites sur des lamelles ultra-minces et nues de chlorure de sodium arrivées au stade représenté par la planche XII, au mois de novembre, par temps humide, mais dans une pièce fermée chauffée constamment à 21 degrés. Pour l'éclairage de la préparation nous avons employé une petite lampe électrique à filament court, aussi bien avec les objectifs forts qu'avec les objectifs faibles; cet éclairage est nécessaire pour toutes les observations décrites ici, qui ne peuvent pas bien réussir en lumière diffuse ou diurne. Pour protéger les yeux contre une lumière trop éclatante pendant la préparation des expériences on peut se servir d'écrans transparents de couleur verte placés entre la lampe et le microscope.

La planche XII est en elle-même une microphotographie des fluctuations car les champs sombres et clairs qu'on y voit sur les lamelles cristallines n'étaient nullement permanents; ce qui était noir au moment de la prise de vue était parsemé de granulations lumineuses une seconde après et, inversement, les zones granulées qu'on voit sur la planche étaient redevenues sombres.

Quelques heures après, l'hydratation du sel avait pris le dessus et rien n'était plus visible sur la préparation, sauf les contours d'une mince nappe de liquide.

Pour conclure cet exposé nécessairement rapide nous devons dire que dans la grande majorité des cas l'objectif à réflecteur central est à préférer à celui dont le réflecteur est excentrique. Ce dernier est surtout utile quand il s'agit d'objets dont la structure constitue un système périodique linéaire très fin comme, par exemple, certaines diatomées, les écailles des ailes de papillons et les microstructures cristallines.

D'une façon générale les objectifs à réflecteur interne des deux types décrits ne peuvent être employés avec utilité que dans le cas de préparations suffisamment minces (maximum, l'épaisseur d'une seule assise cellulaire) et qui n'ont subi aucun traitement chimique de fixation ou de coloration. Les préparations biologiques et colloïdales à l'état naturel, en couches très minces, se prêtent particulièrement bien à l'examen par ces objectifs. La beauté des résultats dépend beaucoup aussi du milieu d'inclusion: liquides physiologiques naturels, eau,

huiles, glycérine, baume de Canada, air, etc. Le microscopiste devra varier les milieux d'inclusion pour découvrir celui qui, par son indice de réfraction particulier, convient le mieux à un objet déterminé, car il est difficile de formuler des règles à ce sujet.

Les dispositifs que nous avons décrits ne sont nullement destinés à se substituer aux appareils de la microscopie classique en fond clair et noir qui sont indispensables dans la pratique courante. Les nouvelles méthodes ont pour but de compléter les anciennes dans une certaine mesure et d'augmenter ainsi nos moyens d'investigation microscopique.

#### INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- R. G. ATKINSON, R. E. BREWER, J. D. DAVIS, Characteristics of coal plasticity. *Ind. Eng. Chem.*, 29, 7 (1937).
- Fernand CHODAT, Nouvelle démonstration de la cellule de Traube. *Comptes rendus des séances de la Société de Physique et d'Histoire naturelle de Genève*, volume 46, n° 3 (1929); *Archives* [5] 11 (1929).
- A. T. CLIFFORD and F. K. CAMERON, *Ind. Eng. Chem.*, 26, 1209 (1934).
- A. FREY-WYSSLING, *Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate* (pp. 137-146). Gebr. Borntraeger, Berlin (1938).
- A. KUHN, *Wörterbuch der Kolloidchemie* (article « Spierer-Kondensator », p. 144), Steinkopf (1932).
- J. W. LANGELAAN, Striped muscle seen on the darkfield of the Spierer lens, *Archives néerlandaises de Physiologie*, tome XIX, p. 445 (1934).
- On the nuclei of the striped muscle fibre of the frog. *Arch. néerl. Physiol.*, tome XXI, p. 1 (1936).
- On the texture of the axoplasm and the origin of neurofibrils. *Arch. néerl. Physiol.*, tome XXII, p. 72 (1937).
- On the texture of the muscle fibre. *Arch. néerl. Physiol.*, tome XXI, p. 6 (1936).
- Über mikroskopische Gitteranalyse. *Arch. néerl. Physiol.*, tome XXII, p. 212 (1937).
- E. L. LEDERER, *Kolloidchemie der Seifen* (pp. 95-98), Steinkopf (1932).
- B. J. LUYET, Working hypotheses on the nature of life. *Biodynamica*, n° 1, oct. 1934.
- B. J. LUYET and P. M. GEHENIO, Comparative ultra-violet absorption by the constituent parts of protozoan cells. *Biodynamica*, n° 7, juin 1935.

- Wo. OSTWALD, *Licht und Farbe in Kolloiden* (pp. 155-166), Steinkopf, Dresden (1924).
- Jean PERRIN, *Les Atomes* (pp. 72-76, bulles de savon; 190-204, fluctuations), Félix Alcan (1924).
- Monomolekulare Häutchen. *Kolloid-Zeitschr.*, 51, 2 (1930).
- Hans H. PFEIFFER, Evidence for linear units within protoplasm. *Nature*, December 19 (1936).
- Wm. SEIFRIZ, The Spierer lens. *Journ. Phys. Chem.*, 35, 118 (1931).
- The origin, composition and structure of cellulose in the living plant. *Protoplasma*, 21, 129 (1934).
- The structure of protoplasm. *Botanical Review*, 1, 1 (1935).
- Spierer lens and colloidal structure. *Ind. Eng. Chem.*, 28, 136 (1936).
- *Protoplasm* (pp. 98-99 et 236-267), Mc. Graw-Hill Book Co. (1936).
- The structure of living matter. *Biodynamica*, n° 32 (1938).
- H. SIEDENTOPF, Über Sichtbarmachung und Grössenbestimmung ultramikroskopischer Teilchen. *Ann. d. Phys.*, sér. 4, 10, 1 (1903).
- *Über die physikalischen Prinzipien der Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen*, Berlin (1904). (Conférence.)
- Ch. SPIERER, Un nouvel ultra-microscope à éclairage bilatéral. *Arch. Sc. Phys. natur. Genève*, [5], 8, 121 (1926).
- Emploi de l'ultra-microscope à éclairage bilatéral pour l'examen sur fond clair. *Arch. Sc. Phys. natur. Genève*, [5], 9, 128 (1927).
- Une lampe électrique pratique pour l'éclairage ultra-microscopique. *Arch. Sc. Phys. natur. Genève*, [5], 10, 275 (1928).
- Über Dunkelfeld-Mikroskopie bei mehrseitiger Beleuchtung. *Kolloid-Zeitschr.*, 53, 88 (1930).
- Mehrseitige Beleuchtung im Dunkelfelde. *Kolloid-Zeitschr.*, 51, 162 (1930).
- Die ultramikroskopische Struktur der monomolekularen Seifenwasser-äutchen. *Kolloid-Zeitschr.*, 54, 17 (1931).
- Die ultramikroskopische Struktur unimizellarer, speziell irisierender Häutchen von Eiweiss und anderen Substanzen. *Kolloid-Zeitschr.*, 55, 36 (1931).
- R. THIESSEN, Physical structure of coal and cellulose. *Ind. Eng. Chem.*, 24, 1032 (1932).
- A. W. THOMAS, *Colloid Chemistry* (pp. 44-45), Mc Graw-Hill Book Co. (1934).
- Sybil WOODRUFF, Microscopy of starch by the Spierer lens. *Ind. Eng. Chem.*, 30, 12 (1938).
-