1970

503<mark>76</mark> 1970 155

### FACULTE DES SCIENCES DE LILLE

THESE DE TROISIEME CYCLE
Mention Biologie Cellulaire

Christian HERBAUT



CONTRIBUTION A L'ETUDE CYTOLOGIQUE ET CYTOCHIMIQUE DE L'OVOGENESE CHEZ <u>LITHOBIUS FORFICATUS</u> L. (MYRIAPODE CHILOPODE)

Présentée en Décembre 1970 devant la Commission d'Examen

Jury d'examen

MM. M. DURCHON

Président

E. VIVIER

Examinateurs

R. JOLY



# SOMMAIRE

INTRODUCTION	p.	1
MATERIEL ET TECHNIQUES	p.	2
CHAPITRE I - ETUDE DU CYCLE OVOGENETIQUE ANNUEL	p.	6
I - RAPPELS ANATOMIQUES	p.	6
II - ACTIVITE OVOGENETIQUE ANNUELLE	p.	7
DISCUSSION	p.	11
CHAPITRE II - ETUDE DES DIFFERENTS STADES OVOGENETIQUES	p.	13
I - ETUDE BIOMETRIQUE DE LA CROISSANCE OVOCYTAIRE	p.	13
II - ETUDE CYTOLOGIQUE ET CYTOCHIMIQUE DE L'OVOGENESE	p.	14
A - EPITHELIUM OVARIEN	p.	14
B - LA CELLULE SEXUELLE	p.	18
l - Ovogonie	p.	18
2 - Préméïose ou stade l	p.	20
3 - Prévitellogenèse ou stade 2	p.	22
a) Le noyau	p.	24
b) Le cytoplasme		33
4 - Vitellogenèse ou stade 3	p.	54
a) Le noyau	p.	54
b) Le cytoplasme	_	56
Les organites cytoplasmiques		56
Accumulation des réserves vitellines	-	62
5 - Maturation ovocytaire ou stade 4		68
a) Le noyau	-	68
	p.	
C - IES CELLULES DEGENERESCENTES		72
D - CELLUIES ASSOCIEES A L'OVOCYTE	-	83
1 - Les cellules folliculaires		83
2 - Les cellules sanguines	p.	88
DISCUSSION	p.	94
I - ORIGINE DES DIFFERENTS TYPES CELLULAIRES	p.	94
TT _ TA CELLUIE SEXUELLE	n.	94

A - LE NOYAU	p. 94
B - IE CYTOPIASME	p. 98
1 - Réactions cytochimiques	p. 98
2 - Les inclusions cytoplasmiques	p. 99
3 - Accumulation des réserves vitellines	p. 105
III - LES CELLULES DEGENERESCENTES	p. 107
IV - CELLULES ASSOCIEES AUX OVOCYTES	p. 108
l - Les cellules folliculaires	p. 108
2 - Les cellules sanguines	p. 109
CONCLUSION GENERALE	p. 110

#### INTRODUCTION

L'étude cytologique de l'ovogenèse a fait l'objet de nombreux travaux dans toutes les classes animales. Chez les Myriapodes toutefois, les recherches sont souvent anciennes et fragmentaires ; citons les travaux effectués chez diverses espèces de Chilopodes et de Diplopodes (IUBBOCK, 1861) et chez le Chilopode <u>Geophilus</u> (BAIBIANI, 1883 a et b).

Les premières observations effectuées chez <u>Lithobius forficatus</u> L. sont dues à FABRE (1855) et LUEBOCK (1861). Elles furent reprises par TONNIGES (1902) et complétées par NATH (1924), KING (1925) et KOCH (1925). Lors d'une étude du développement post-embryonnaire, ZERBIB (1966) décrit sommairement la structure de la gonade et quelques stades ovogénétiques.

Les seules études ultrastructurales sont relatives à la morphologie nucléolaire chez la Scolopendre (BEAMS et SEKHON, 1967) et <u>Scutigera</u> (BEAMS et SEKHON, 1968).

Il semblait donc intéressant d'apporter quelques précisions sur l'ovogenèse des Chilopodes.

Dans la première partie de notre travail, nous avons étudié le cycle ovogénétique annuel, qui n'avait fait l'objet que d'observations incomplètes (ROBERTS, 1956; LEWIS, 1965). Nous avons également envisagé la croissance ovocytaire d'un point de vue biométrique.

Dans la seconde partie, nous avons effectué une étude cytologique et cytochimique, en microscopie photonique et électronique, des différents stades ovogénétiques. Nous avons enfin tenté d'établir des relations entre les évolutions cytologiques et physiologiques.

#### MATERIEL ET TECHNIQUES

Nous avons choisi pour la conduite de notre travail le Chilopode Lithobius forficatus L., relativement abondant dans le Nord de la France.

Nos observations, <u>in vivo</u> et surtout après fixation, ont été effectuées chez des individus <u>maturus senior</u>, selon la terminologie de VERHOEFF (1905).

#### 1 - Etude in vivo

Elle est réalisée après dissection. L'ovaire est prélevé et immergé dans le liquide de Ringer après ou sans coloration au vert Janus ou au rouge neutre. La paroi dorsale est fendue longitudinalement et étalée latéralement. Cette méthode permet de repérer la disposition des ovocytes dans l'ovaire.

#### 2 - Etude histologique et cytologique

#### a) Microscopie photonique

Les deux tiers postérieurs de l'animal sont prélevés. Le vitellus des ovocytes mûrs durcit généralement à la fixation et gêne la confection des coupes ; aussi avons-nous dû tester plusieurs techniques afin de trouver celle qui nous procurerait les meilleurs résultats.

Divers fixateurs ont été utilisés : Bouin ordinaire, Bouin alcoolique, Bouin-Hollande, Regaud, Helly, Carnoy, Smith.

La déshydratation est soit classique, le butanol remplaçant toutefois le toluène, soit accélérée : passage direct du fixateur dans l'alcool absolu, suivi de bains dans le dioxane et le benzène (EWEN, 1969).

Les pièces sont incluses dans la paraffine à 56-58° ou à basse température de fusion (43-45°). Dans certains cas, l'inclusion est précédée soit d'un passage dans le mélange alcool isopropylique-paraffine (ANDERSON D., 1964), soit d'une imprégnation à la celloïdine.

Les tissus sont ramollis soit par le mélange alcool 60°-glycérine (GABE, 1968), soit par le tergitol à 5 % (EWEN, 1968) ou encore par le Mollifex B.D.H.

Les meilleurs résultats ont été obtenus par la technique suivante :

- fixation au liquide de Smith (24 heures)
- lavage à l'eau courante, déshydratation

- inclusion dans la celloïdine-paraffine
- passage des blocs dans le Mollifex pendant 12 à 24 heures.

Les pièces sont débitées en coupes transversales ou longitudinales d'une épaisseur de 6 à 7 µ. Elles sont colorées par l'hématoxyline de Regaud et le picroindigocarmin pour les études histologique et cytologique classiques. La mise en évidence de l'appareil de Golgi est réalisée par imprégnation argentique selon la technique de Da FANO (in GABE, 1968).

L'étude de la numération cellulaire a demandé une technique un peu particulière. Les individus sont fixés quelques jours après leur récolte hebdomadaire, durant toute l'année. Des coupes longitudinales comprenant une épaisseur de 250  $\mu$  et situées de part et d'autre du plan dorso-ventral de l'ovaire sont retenues ; une sur deux est dessinée à la chambre claire. Tous les ovocytes sont représentés et leur stade d'évolution est repéré.

Ce travail n'a toutefois été effectué que sur une des récoltes mensuelles, les autres animaux servant de contrôle éventuel.

## b) Microscopie électronique

Les ovaires sont fixés au glutaraldéhyde dans le tampon phosphate à pH 7,2 et postfixés à l'acide osmique à 1 % dans le même tampon. Ils sont inclus dans l'epon. Les coupes sont effectuées à l'ultramicrotome Porter-Blum et contrastées par le citrate de plomb selon REYNOLDS (1963), précédé ou non d'un passage dans l'acétate d'uranyle en solution aqueuse ou alcoolique. Les grilles sont examinées aux microscopes électroniques HITACHI HS 7S et HU 11E.

#### 3 - Etude cytochimique

### a) Microscopie photonique

Diverses techniques plus ou moins spécifiques des constituants cytoplasmiques sont pratiquées (voir tableau I). En ce qui concerne dans l'épon ou l'étude des lipides, les coupes sont effectuées au cryostat après fixation par congélation et colorées par le noir soudan B. La recherche de phosphatases acides a été effectuée selon la technique de GOMORI (1950), sur coupes réalisées au cryostat.

## b) Microscopie électronique

La recherche du glycogène a été effectuée après coloration à la thiocarbohydrazide-protéinate d'argent (technique de SELIGMAN

modifiée par THIERY, 1967).

Les ribonucléoprotéines ont été colorées selon la méthode de DERNHARD, (1969).

Ia mise en évidence de phosphatases acides a été réalisée par l'application de la technique de GOMORI (1950) à la microscopie électronique. Les ovaires sont fixés au glutaraldéhyde dans le tampon cacodylate à 0,05 M. Après lavage dans le tampon, les pièces sont incubées dans le milieu de Gomori pendant 75 minutes (pour les témoins, le milieu ne contient pas de 3 -glycérophosphate). Elles sont ensuite lavées pendant 2 minutes dans un tampon acétate à 0,05 M contenant 5 % de sucrose et passées rapidement dans un bain d'acide acétique à 2 % puis dans le tampon acétate. Les pièces déshydratées par l'acétone sont incluses dans l'epon.

( Techniques :	Auteurs	Composés ou radicaux mis en évidence	Remarques
( (		PROTEINES	
( Millon trichlor-)	POLLISTER et RIS	Protéines totales	:
Millon sulfurique		Protéines sauf histones	
( Bleu de bromophénol ( mercurique ( (	MAZIA et coll. (1953)		avec ou sans diges- tion pepsique; avec ou sans HCl dans la solution enzymatique
( Ninhydrine-Schiff :	YASUMA et ICHIKAWA (1952, 53)	- NH <sub>2</sub>	
1	ALFERT et GESCHWIND (1953)		avec ou sans extraction à l'acide tri- chloracétique
Eosine Y	BLOCH et YEW (1960)	:	avec ou sans extraction à l'acide pi-
D.D.D.	BARNETT et SELIGMAN (1952)	- SH	avec ou sans bloca- ge par la n-éthyl- maléimide
( Acide performique : ( bleu alcian	in PEARSE (1968)	- S-S	
		ACIDES NUCLEIQUES	
Feulgen	FEULGEN et ROSSENBECK (1924)	ADN :	avec ou sans hydro-) lyse par l'acide chlorhydrique
Brachet	in LISON (1960)	ADN et ARN	
Bleu de toluidine : à pH 4,6	in LISON (1960) et : PEARSE (1968)	ARN	avec ou sans diges- tion par la RNase
:		POLYSACCHARIDES	
Acide périodique- Schiff (P.A.S.)	MAC MANUS (1946) et HOTCHKISS (1948)	vic-glycol	avec ou sans diges- tion par la salive; avec ou sans méthy- lation puis saponi- fication
Acide périodique- : ( dimédon-Schiff	BULMER (1959)		avec ou sans diges- tion par la salive
Bleu alcian	STEEDMAN (1950)	mucopolysaccharides acides	avec ou sans méthy- lation

#### CHAPITRE I

#### ETUDE DU CYCLE OVOGENETIQUE ANNUEL

Avant d'exposer nos résultats, il nous semble utile de rappeler la morphologie de l'appareil génital femelle et l'anatomie de l'ovaire de L. forficatus.

## I - RAPPELS ANATOMIQUES

# 1 - Morphologie de l'appareil génital

Les premières observations sont dues à FABRE (1855):

L'ovaire, impair et médiodorsal, s'étend sur les deux tiers postérieurs de l'animal. Il est prolongé par un oviducte qui se divise en deux branches et constitue un collier périrectal, l'arcus genitalis, avant d'aboutir à l'atrium génital. L'orifice génital s'ouvre ventralement sur le sternite du segment génital II; il est encadré par les gonopodes, portés par le segment génital I.

L'ovaire est flanqué de deux paires de glandes accessoires ventrales et d'une paire de réceptacles séminaux. Un tissu glandulaire entoure l'atrium génital (PRUNESCO, 1965).

Les observations des différents auteurs sont résumées dans la figure 1 (RILLING, 1968).

## 2 - Anatomie de l'ovaire

Dès 1855, FABRE remarque l'enchevêtrement des ovocytes de toutes tailles tout au long du tube ovarien ; la paroi ventrale est différenciée en un épithélium ovigère et les plus jeunes ovocytes y sont attachés. Ces observations furent confirmées ultérieurement par LUBBOCK (1861) et TONNIGES (1902). Notons que nous avons pu observer plusieurs ovocytes à des stades différents portés par un même pédoncule. L'ovaire est entouré de faisceaux de muscles circulaires ; de nombreuses trachéoles sont en contact étroit avec sa basale.

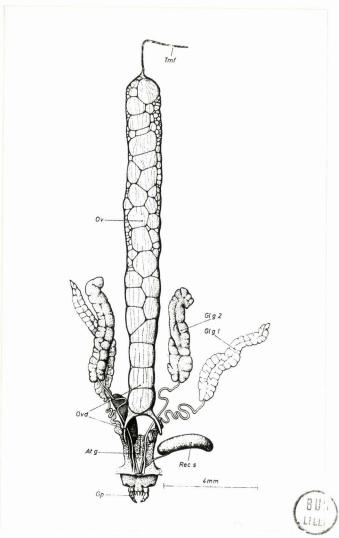


Figure 1 - Appareil génital femelle de <u>Lithobius forficatus</u> (vue dorsale).

Atg : atrium génital ; Glg<sub>1</sub> : glande accessoire ventrale ; Glg<sub>2</sub> : glande accessoire dorsale ; Ov : ovaire ; Ovd : oviducte ; Rec.

s. : réceptacle séminal ; Tmf : filament terminal.

### II - ACTIVITE OVOGENETIQUE ANNUELLE

Nous envisagerons successivement l'évolution des cellules sexuelles au long de l'année et les pourcentages des ovocytes d'un même stade par rapport au nombre ovocytaire total.

### 1 - Evolution des cellules sexuelles

Elle permet de distinguer quatre phases annuelles.

# a) Phase d'élaboration des ovocytes (Pl. 1, fig. a)

Ia paroi ventrale de l'ovaire est épaissie et très plissée. Elle présente de place en place des ovocytes dont la taille est d'environ 20 μ. Groupés en amas, ces ovocytes sont souvent observés au même stade prémétotique que nous appellerons stade l.

La cavité ovarienne, réduite, contient des ovocytes à un stade d'évolution plus avancé mais dont la taille n'exède pas 200 μ.

# b) Phase d'accroissement ovocytaire (Pl. 1, fig. b)

Ia lumière ovarienne s'accroît et la taille des cellules sexuelles varie de 20 à 500  $\mu$ . On peut observer des ovocytes en préméîose et en prévitellogenèse ; ces derniers ont une taille maximum de 150  $\mu$  (stade 2). Certains ovocytes peuvent atteindre 500  $\mu$  et sont en vitellogenèse (stade 3). Quelques cellules sont mûres et enveloppées d'un chorion (stade 4).

## c) Phase de maturation ovocytaire (Pl. 1, fig. c)

Une vingtaine de cellules sexuelles mûres emplissent la lumière de l'oviducte et celle de l'ovaire. Quelques cellules à un stade d'évolution moins avancé (prévitellogenèse et vitellogenèse) sont localisées dans la partie apicale de l'ovaire.

L'ovaire entre ensuite dans une phase d'activité continue. En effet, tous les stades de développement ovocytaire sont abondamment représentés. Pour chacun d'eux, on observe un nombre variable d'éléments suivant les individus (Pl. 1, fig. d).

#### 2 - Numération des ovocytes

Les résultats obtenus sont résumés sur la figure 2. Ils permettent les constatations suivantes :

Le décompte des cellules observées lors des stades ovogénétiques met en évidence un cycle annuel, surtout net pour les cellules en prémétose, en vitellogenèse et matures (stades 1, 3 et 4).

Les ovocytes en prémérose sont abondants en été. Leur nombre décrost en automne et atteint sa valeur la plus basse au moment où la ponte est la plus active. On peut toujours les observer durant l'hiver et le printemps.

Cycle ovarien annuel.

Smith ; hématoxyline de Groat - picroindigocarmin

Fig. a - Phase d'élaboration des ovocytes

Fig. b - Phase de croissance ovocytaire

Fig. c - Phase de maturation ovocytaire

Fig. d - Phase d'activité ovarienne continue

2 : prévitellogenèse ; 3 : vitellogenèse ; 4 : ovocyte mûr

Les échelles correspondent à 200 / ...



Les ovocytes en vitellogenèse et les ovocytes matures sont rares en été. Ils sont abondants en automne et deviennent de moins en moins nombreux durant l'hiver et le printemps.

Par contre, les ovocytes en prévitellogenèse (stade 2) sont présents en grande quantité durant toute l'année. Toutefois, leur nombre augmente légèrement peu après la poussée préméfotique estivale et diminue pendant la période de ponte active.

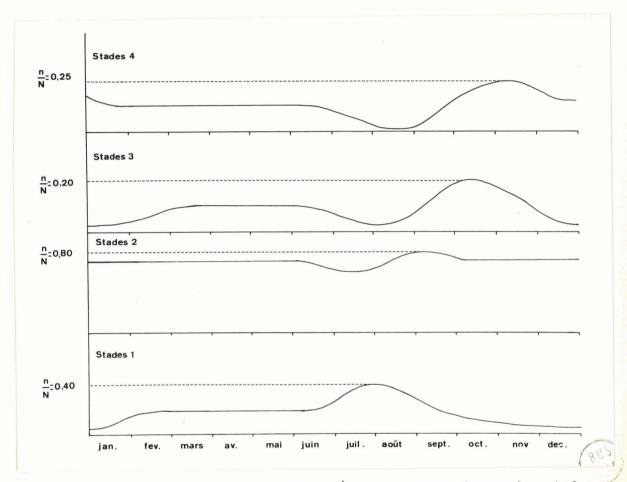


Figure 2 - Evolution annuelle du nombre d'ovocytes pour chacun des stades.  $\frac{n}{N}: \text{Nombre ovocytaire maximum par rapport à la population cellulaire totale.}$ 

# 3 - Durées des différents stades ovogénétiques

L'examen de la figure 2 permet d'évaluer approximativement la durée de chacun des stades ovogénétiques. Les espacements des pics observés pour les différents stades devraient correspondre à leur durée.

La prémésose est relativement brève ; elle n'excède probablement pas quelques jours. Le stade prévitellogénétique est le plus long ; il peut durer deux à trois mois. La vitellogenèse est beaucoup plus rapide ; sa durée

est vraisemblablement de deux à trois semaines. L'ovocyte mûr semble rapidement fécondé et pondu, à moins qu'il ne dégénère.

Ces calculs ne peuvent être effectués que d'après l'évolution ovocytaire pendant l'été et l'automne. Il est possible que les durées de chaque stade soient modifiées au cours de la saison froide. Une étude en cours de l'action de la température sur l'ovogenèse permettra peut être de résoudre ce problème.

Les observations précédentes nous ont permis d'établir les cycles annuels d'activité ovarienne et de ponte chez L. forficatus.

# 4 - Cycle d'activité génitale chez la femelle de L. forficatus

# a) L'activité ovarienne :

Durant l'hiver et le **pr**intemps, elle est de type asynchrone. Il est alors possible d'observer simultanément tous les stades ovogénétiques. Vers la fin du printemps de nombreuses cellules mûres dégénèrent dans les voies génitales.

Durant l'été, l'élaboration d'ovocytes jeunes est prépondérante et l'activité de type synchrone s'établit progressivement dans l'ovaire. Elle persistera jusqu'à la fin de l'automne.

# b) Les périodes de ponte

Pendant la phase d'activité asynchrone (hiver et printemps), certaines cellules sexuelles peuvent parvenir à maturité et être pondues. Durant l'été, les pontes sont plus rares. Les cellules élaborées pendant cette période s'accroissent et des pontes importantes sont observées en octobre et novembre.

### DISCUSSION

Nous envisagerons successivement l'activité ovarienne et les périodes de reproduction.

## 1 - Activité ovarienne

Nous avons mis en évidence une alternance d'activité synchrone et asynchrone dans l'ovaire de <u>L. forficatus</u>. Ces observations sont légèrement différentes de celles qui sont effectuées chez les autres

Arthropodes, notamment en ce qui concerne les périodes hivernale et printanière : l'activité ovarienne est généralement de type synchrone chez les Crustacés (BEAMS et KESSEL, 1963; ANDRE, 1960; MAUCHLINE, 1968), chez les Insectes (WIGGLESWORTH, 1964) et chez le Myriapode Diplopode Polydesmus complanatus (PETIT, communication personnelle).

Notons également que chez le mâle, on observe un cycle spermatogénétique annuel caractérisé par deux phases spermatogénétiques et deux périodes d'émission des spermatophores : le printemps et l'automne (JOLY et DESCAMPS, 1969). De plus, le cycle spermatogénétique présente une période de repos qui n'est pas retrouvée dans le cycle ovogénétique.

## 2 - Périodes de reproduction

En toutes saisons nous avons pu observer des pontes et récolter de jeunes individus anamorphes. Ces observations confirment celles des précédents auteurs (VERHCEFF, 1925 et BRCCHER, 1930); ce dernier toutefois n'a poursuivi son étude que sur une période très limitée. IEWIS (1965) décrit une reproduction continue chez <u>L. forficatus</u> et <u>L. variegatus</u>. Cependant pour cet auteur, la période de ponte préférentielle serait le printemps et non est l'automne; il faut noter que son étude relative à des animaux récoltés dans le Yorkshire.

Les spermatophores sont stockés dans les réceptacles séminaux des femelles, qui renferment des spermatozoïdes toute l'année. Ce fait peut expliquer la possibilité constante d'une fécondation et corrélativement la continuité des pontes.

Les pontes sont également continues chez le Symphyle <u>Scutigerella</u> sp. (MUIR et KERSHAW, 1909). Toutefois chez les Arthropodes, on observe généralement une période préférentielle de reproduction (MARSCHALL'S, 1956). Cette période varierait suivant les individus et suivant leur répartition géographique.

Signalons enfin que chez la femelle de <u>L. forficatus</u>, il y a indépendance du cycle de mue et du cycle de reproduction. La même observation a été faite chez le mâle (JOLY et DESCAMPS, 1969). Ce caractère, assez général chez les Arthropodes, différencie les Chilopodes des Symphyles (JUBERTHIE-JUPEAU, 1960).

#### CHAPITRE 2

#### ETUDE DES DIFFERENTS STADES OVOGENETIQUES

Nous envisagerons **succ**essivement l'étude biométrique de la croissance ovocytaire et l'évolution cytologique et cytochimique au cours de l'ovogenèse.

#### I - ETUDE BIOMETRIQUE DE LA CROISSANCE OVOCYTAIRE

## a) Technique

Les contours des ovocytes et de leurs noyaux sont dessinés à la chambre claire à partir de coupes ovariennes sériées. Les surfaces, mesurées au planimètre, sont ramenées à leurs valeurs réalles en  $\mu^2$ . Connaissant l'épaisseur moyenne des coupes  $(7 \, \mu)$ , les volumes cellulaires et nucléaires sont aisément obtenus. Il est alors possible de calculer le rapport nucléoplasmique (R.N.P.).

Les observations ont été effectuées sur 73 ovocytes de toutes tailles. Dans cette étude, nous n'avons pas retenu les ovocytes en prémétose; leur représentation à la chambre claire présente trop d'erreurs par suite de l'existence d'un volumineux noyau entouré par une mince couche cytoplasmique.

Les masses nucléolaires sont également dénombrées et les résultats obtenus ont été utilisés lors de l'étude de l'évolution du nucléole.

Selon la méthode de TEISSIER (1934), les valeurs obtenues sont reportées sur un système d'axes à coordonnées logarithmiques. En abcisses sont portés les volumes cellulaires et en ordonnées les volumes nucléaires (fig. 3).

#### b) Résultats

La courbe de croissance du noyau par rapport à la cellule entière est représentée par deux segments de droites (AB, BC), de pentes différentes.

Le segment AB correspond aux ovocytes en prévitellogenèse. Le coefficient d'allométrie est alors de 0,70. Le cytoplasme s'accroît donc plus rapidement que le noyau. Le RNP passe de 0,300 en début de croissance à 0,150 en fin de prévitellogenèse.

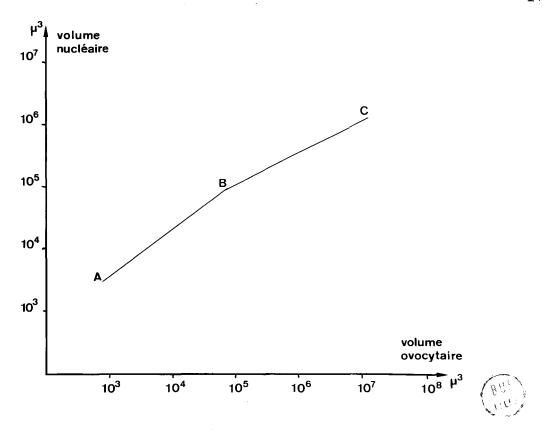


Figure 3 - Courbe de la croissance nucléaire en fonction de la croissance ovocytaire.

Durant la vitellogenèse (segment BC) la croissance cytoplasmique est plus rapide encore. Le coefficient d'allométrie n'est que de 0,53 et le RNP présente une forte diminution : 0,030 en fin de vitellogenèse.

Le volume nucléaire des ovocytes parvenus à maturité diminue. Cette diminution correspond sans doute aux figures de rétraction présentées par le noyau.

# II - ETUDE CYTOLOGIQUE ET CYTOCHIMIQUE DE L'OVOGENESE

Après avoir examiné les différents types cellulaires de l'épithélium ovarien, nous envisagerons l'évolution cytochimique et ultrastructurale de la cellule germinale. Enfin, nous décrirons les caractères des cellules associées à l'ovocyte, cellules folliculaires et cellules sanguines.

#### A - EPITHELIUM OVARIEN

L'épithélium ovarien est unistratifié, prismatique. Il repose sur une basale d'une épaisseur de 0,2  $\mu$ . Les cellules épithéliales banales, d'une taille voisine de 15  $\mu$  ont un noyau ovoide qui présente un nucléole de 1  $\mu$ 

environ. Leur cytoplasme très basophile est fortement coloré par le bleu de toluidine à pH 4,6, sauf après traitement à la RNase. L'étude ultrastructurale révèle un ergastoplasme très développé et d'abondants ribosomes libres (Pl. 2, fig. a), sans doute responsables de la forte basophilie. Le cytoplasme renferme également des mitochondries, quelques dictyosomes et parfois des formations lysosomiales (le test de Gomori y révèle de la phosphatase acide).

Des feyers de mitoses localisés dans l'épithélium ventral constituent des nodules dans la cavité ovarienne (Pl. 5, fig. a). Le cytoplasme des cellules en division est pauvre en organites ; il ne contient que quelques mitochondries et des ribosomes libres.

L'épithélium ovarien présente plusieurs types de cellules qui sont soit isolées, soit groupées parmi les cellules épithéliales banales :

- 1) des cellules caractérisées par d'abondantes formations de cytolyse : figures myéliniques, corps denses. L'ergastoplasme et les mitochondries sont rares ; nous n'y avons jamais rencontré de dictyosomes. Le noyau présente des contours sinueux (Pl. 3, fig. b).
- 2) des cellules renfermant de nombreux corps denses ; les figures myéliniques y sont rares. Les mitochondries sont nombreuses. Le noyau est très lobé (Pl. 3, fig. a).
- 3) des cellules enfin où les corps denses sont rares et les mitochondries très nombreuses. Un réseau de microtubules abondants parcourt le cytoplasme. Le noyau présente des indentations très profondes. Des formations vésiculeuses sont parfois visibles entre les deux feuillets de l'enveloppe nucléaire (Pl. 3, fig. c et d).

Les cellules épithéliales contiennent parfois des corps bactériens. Le fait n'est pas exceptionnel : des bactéries symbiontes ont été décrites dans l'ovaire de certains insectes : Periplaneta americana (ANDERSON E, 1964), Chironomus (WULKER et WINTER, 1970) et Drosophila (CUMMINGS et KING, 1970). Ces auteurs leur ont donné le nom de "bactéroïdes". Chez l'Arachnide Ornithodorus moubata, les symbiontes ovariens seraient des rickettsies (HECKER, 1970).

Chez <u>Lithobius forficatus</u>, les cellules qui renferment de tels organismes montrent une dilatation considérable des citernes ergastoplasmiques et de l'espace périnucléaire (Pl. 2, fig. b). Fréquemment, une lame d'ergastoplasme entoure le corps bactérien et l'isole du cytoplasme de la cellule hôte (Pl. 2, fig. b).

Epithélium ovarien.

Market Michael Co. Co. Co.

and the second of the second

and the first of

And the second s

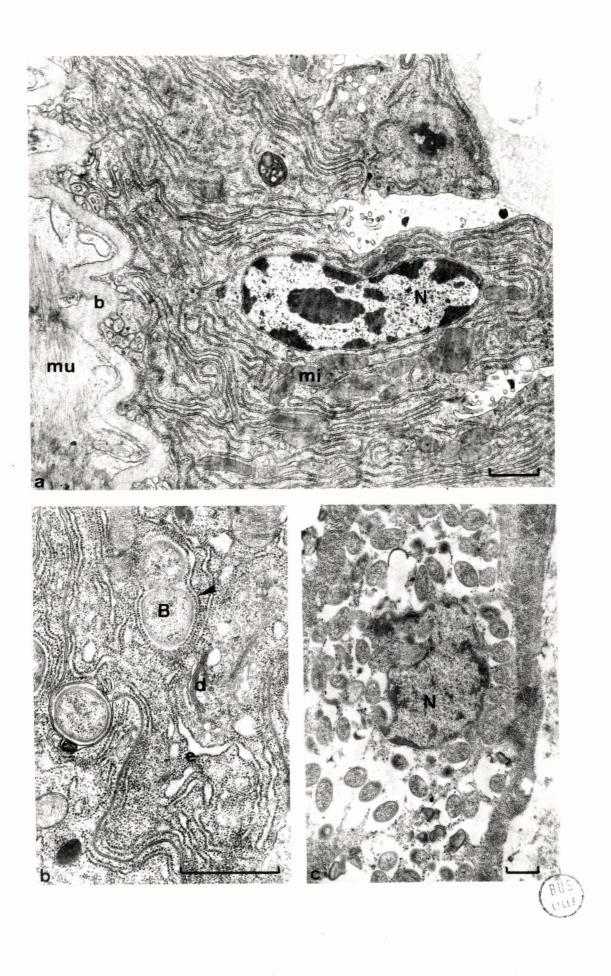
Fig. a - N: noyau; b: basale; mi: mitochondrie; mu: fibre musculaire; X 12 800.

Fig. b Corps bactérien en division, enveloppé d'une lame ergastoplasmique (index). d : dictyosome; e : ergastoplasme dilaté; X 24 500.

Fig. c - Cellule infestée par les corps bactériens ; N : noyau ; X 8 400.

en de la companya de Na companya de la companya del companya de la companya de la companya del companya de la companya del la companya del la companya de la

Les échelles correspondent à 1  $\mu$ 



Différents types cellulaires de l'épithélium ovarien.

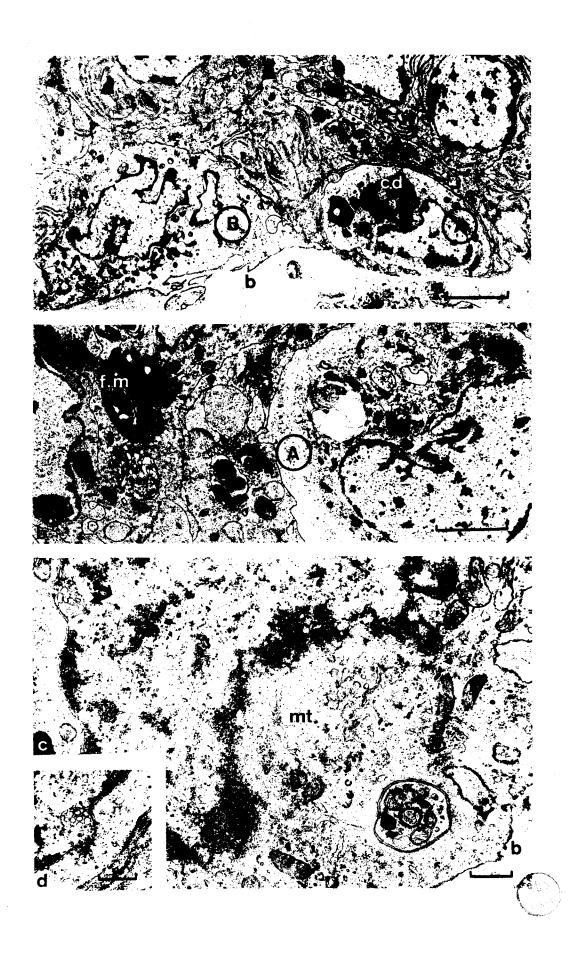
- Fig. a et b A : cellules avec de nombreuses formations de cytolyse ;

  B : cellule avec de nombreuses mitochondries et un noyau
  lobé. b : basale ; c.d : corps dense ; f.m. ; figures
  myéliniques ; a , X 5 600 ; b, X 6 700.
- Fig. c Cellule avec de nombreux microtubules (mt) et mitochondries.

  Noter les formations vésiculeuses dans l'espace périnucléaire

  (flèche) ; b : basale ; X 22 400.
- Fig. d Formations vésiculeuses dans l'espace périnucléaire ; X 21 000.

Les échelles correspondent à 3  $\mu$  (a et b) et 0,5  $\mu$  (c et d).



Ces organismes peuvent se multiplier par scissiparité (P1. 2, fig. b) et leur prolifération peut aboutir à la destruction de la cellule hôte (P1. 2, fig. c). Libérés, ils peuvent infester d'autres cellules. Les corps étrangers peuvent donc se comporter comme de véritables parasites et diffèrent des symbiontes décrits dans d'autres espèces.

#### B - LA CELLULE SEXUELLE

Au cours de cette étude, nous essaierons de suivre les transformations cytologiques, cytochimiques et ultrastructurales subies par la cellule femelle lors de son évolution.

Nous envisagerons successivement les stades classiques de l'ovogenèse : ovogonie, prémétose, prévitellogenèse, vitellogenèse et maturation. Pour chacun des stades, nous suivrons les évolutions nucléaires et cytoplasmiques.

#### 1 - Ovogonie

La microscopie photonique ne permet pas de reconnaître les cellules souches indéterminées. Nous avons pu les caractériser grâce à la microscopie électronique.

Le noyau, d'un diamètre de 15 à 20 μ, occupe une grande partie de la cellule. La chromatine est peu abondante et condensée à la périphérie contre le feuillet interne de l'enveloppe nucléaire (Pl. 4, fig. a). Le nucléole, généralement massif, est entouré de masses nucléolaires de taille nettement inférieure (Pl. 4, fig. b).

Au niveau des pores nucléaires, des amas denses, de nature fibrillo-granulaire semblent en relation avec des formations comparables localisées dans le nucléoplasme et le cytoplasme périnucléaire (Pl. 4, fig. a et b).

Les organites cytoplasmiques sont rares : l'ergastoplasme et les dictyosomes sont peu abondants. Les ribosomes sont souvent groupés en rosettes. Les mitochondries sont réparties dans la zone périnucléaire. Les microtubules sont nombreux. Quelques corps résiduels montrent des figures myéliniques (Pl. 4, fig. a).

La différenciation de cette cellule en ovocyte est accompagnée de quelques transformations morphologiques (Pl. 4, fig. b). La chromatine semble se détacher de l'enveloppe nucléaire et diffuse dans le nucléoplasme. En certains points, les deux feuillets de l'enveloppe s'écartent et consti-

Ovogonies.

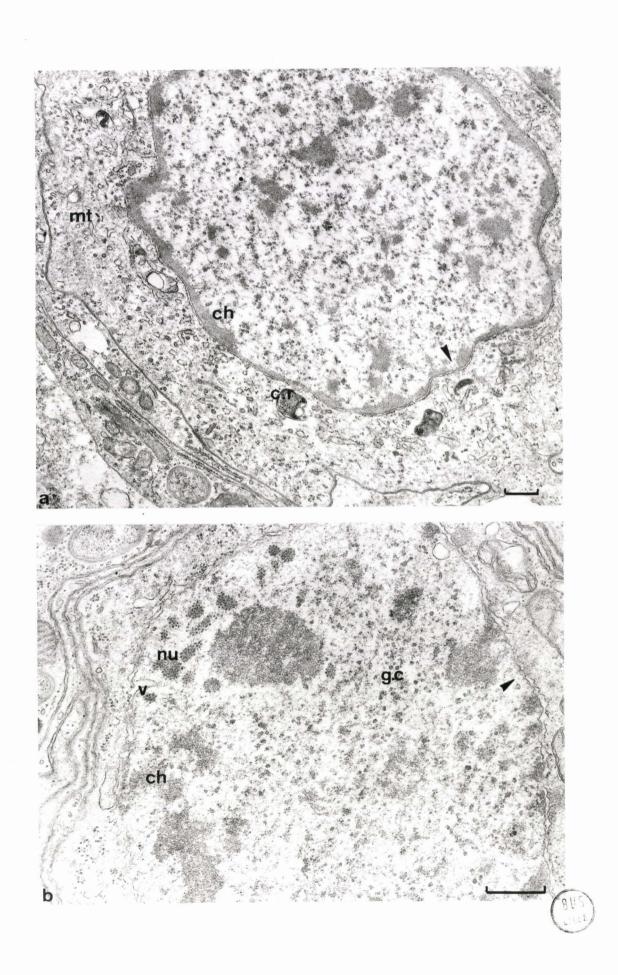
- Fig. a Ch : chromatine accolée à l'enveloppe nucléaire ; c.r. : corps résiduel ; mt : microtubules. Noter les échanges nucléo-plasmiques (index) ; X 16 800.
- Fig. b Stade plus avancé: la chromatine (ch) se détache de l'enveloppe nucléaire, qui devient vésiculeuse (v); g.c: grains chromatiniens; nu: amas nucléolaire. Noter les échanges nucléoplasmiques (index); X 30 500.

yî î kirdîsanî kurî diyatê bû di bi karên dewleta bû di bi bû bû karên di bû bû bû di bû bû di bû bû bû di bû b

a l'Estre de la colombia del colombia del colombia de la colombia del la colombia de la colombia de la colombia del la colombia de la colombia del la co

The second of th

Les échelles correspondent à 0,5 //.



tuent des vésicules parfois importantes disposées en chapelets. Les grains chromatiniens, de 350 Å environ, deviennent très nombreux. Ils se retrouvent parfois à proximité de pores de l'enveloppe nucléaire qui, comme dans les ovogonies, semble être le lieu de passage de matériel entre le noyau et le cytoplasme. Ce dernier reste pauvre en organites. Les mitochondries, dont le nombre s'accroît, sont réparties autour du noyau.

## 2 - Prémérose ou stade 1

La prémésose débute rapidement après la différenciation de l'ovogonie en ovocyte. Classiquement elle est bloquée au stade diplotène et la croissance ovocytaire s'achève avant la maturation nucléaire. L'étude de la prémésose a été effectuée en microscopie photonique chez de jeunes femelles, dont les ovocytes présentent de nombreuses figures mésotiques.

Avant les stades classiques : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène, les chromosomes passent par un stade préleptotène, qui n'existe pas chez toutes les espèces (WILSON, 1928; RHOADES, 1961).

a) Stade préleptotène : les amas chromatiniens sont compacts et paraissent pairs (Pl. 5, fig. b). Ils correspondent aux "prochromosomes" (WILSON, 1928). Le nombre d'amas correspond au nombre de chromosomes. Nous avons pu en dénombrer 24. Cette valeur coïncide avec les observations faites chez le mâle (BOUIN et BOUIN, 1902; DESCAMPS, 1969 b). L'augmentation du volume nucléaire, très importante au cours du stade préleptotène est ralentie durant les stades suivants.

Les amas chromatiniens disparaissent ensuite et le noyau semble vide de matériel chromophile (Pl. 5, fig. c). C'est alors que commence la préméiose classique :

- b) Stade leptotène : les chromosomes, longs et flexueux, constituent un réseau serré dans le nucléoplasme (Pl. 5, fig. d).
- c) <u>Stade zygotène</u>: ils se regroupent à un pôle du noyau qui semble contenir le nucléole (Pl. 5, fig. d).
- d) Stade pachytène : les chromosomes sont courts et très épais (Pl. 5, fig. f).
- e) Stade diplotène : les chromatides se séparent et les chromosomes apparaissent fissurés (Pl. 5, fig. g et h).

A partir de ce stade les chromosomes se déspiralisent et deviennent de plus en plus diffus dans le nucléoplasme (Pl. 5, fig. h). Ils vont alors constituer les chromosomes plumeux (chromosomes lampbrush des Batraciens),

Divisions cellulaires et stades préméiotiques. Smith ; hématoxyline de Groat - picroindigocarmin.

Fig. a - Mitoses (M) dans l'épithélium ovarien.

Fig. b - Stades préleptotènes, "prochromosomes" (Pc).

Fig. c - Stade préloptotène, repos (R).

Fig. d - Stade leptotène (L).

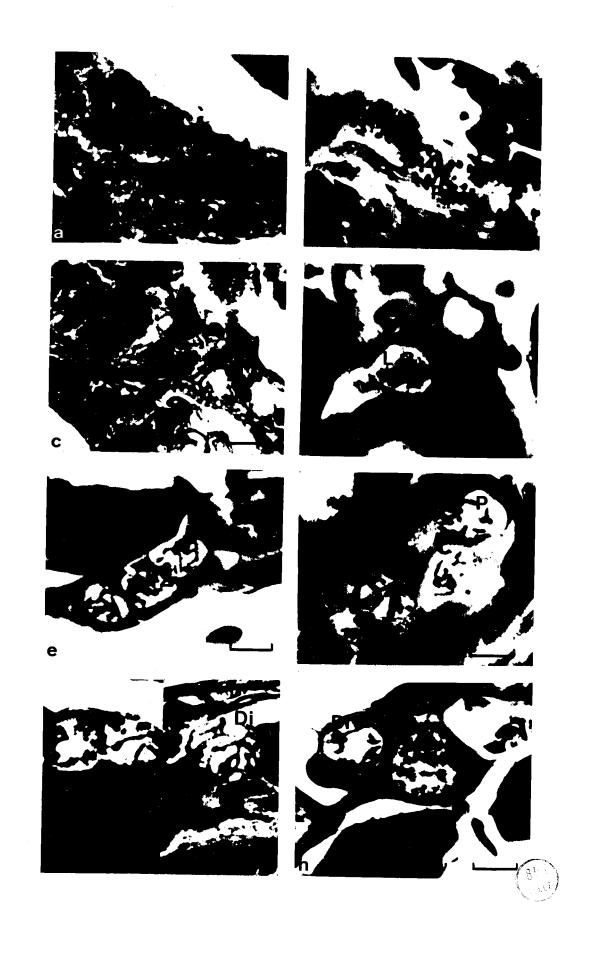
Fig. e - Stades zygotènes (Z).

Fig. f - Stades pachytènes (P).

Fig. g - Stades diplotènes (Di).

Fig. h : Stade diplotène (Di) ; 2 A : jeune stade 2 A ; noter la diffusion des chromosomes dans le nucléoplasme.

Les échelles correspondent à 10 /L.



souvent observés au cours de l'ovogenèse animale (voir CALIAN, 1963).

Nous avons tenté d'évaluer la durée relative de chacun des stades par rapport à la durée totale de la préméiose et dans ce but, avons identifié plus de 400 figures préméiotiques (voir Tableau II). La fréquence des images d'un stade est sans doute proportionnelle à sa durée.

Stades	: : Nombre de cell :	Pourcentage par rapport à la population cellulaire totale
Préleptotène	218	51 %
Leptotène	70	16 %
Zygotène	: : 89	21 %
Pachytène	: : 28	6 %
Diplotène	23	5 %
	e •	

Tableau II - Numération des cellules préméiotiques et pourcentage par rapport à la population cellulaire totale.

Cette étude nous montre que la durée du stade préleptotène est environ la moitié de celle de la préméiose. Les stades leptotène et zygotène se poursuivent pendant le sixième et le quart de cette période. Les stades pachytène et diplotène sont rapides, occupant chacun un dixième de la durée de la préméiose. Le stade diplotène, le plus bref, est vraisemblablement écourté par les processus de déspiralisation des chromosomes.

L'étude ultrastructurale des cellules prémésotiques met en évidence un nucléole volumineux, duquel semble bourgeonner du matériel qui se pédiculise, se libère et se disperse dans le nucléoplasme (Pl. 7, fig. a). En fin de prémésose, le nucléole commence à se disloquer (Pl. 7, fig. b).

## 3 - Prévitellogenèse ou stade 2

Immédiatement après la prémésose, l'ovocyte entre dans une phase d'accroissement rapide appelée prévitellogenèse.

Chez <u>Lithobius forficatus</u>, ce stade peut être divisé en deux périodes que nous appellerons stades 2A et 2B.

Ovocyte en prévitellogenèse.

THE PARTY OF THE P

Figs a, b et d - Structures chromatiniennes.

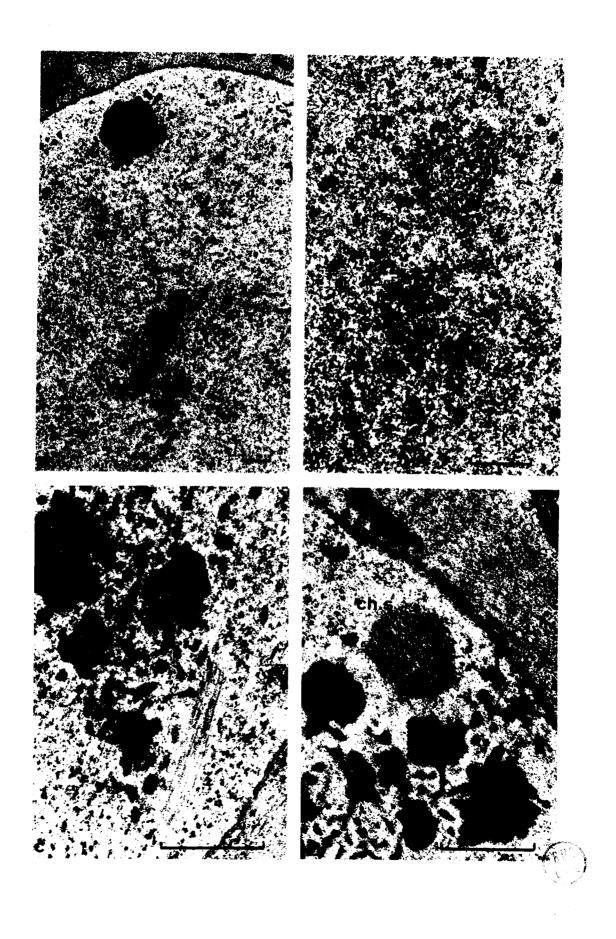
Figs a et b Ch: amas chromatinien; g.c: grains chromatiniens; a, X 7 400; b, X 16 000.

Fig. d - Chromatine sexuelle (ch.s). Noter l'accolement de matériel nucléolaire contre l'enveloppe nucléaire (index) ; X 27 300.

And the second s

Fig. c - Fibrilles intranucléaires (f) , X 24 500.

Les échelles correspondent à 1 /1.



- stade 2 A Le noyau renferme quelques dizaines de masses nucléo-laires d'un diamètre de 2 à 3  $\mu$ , souvent réunies en grappes. Le cytoplasme est très basophile. Les premières cellules folliculaires apparaissent autour de l'ovocyte.
- <u>stade 2 B</u> Les masses nucléolaires paraissent se fragmenter et se disperser dans le nucléoplasme. La basophilie du cytoplasme diminue. L'enveloppe péricellulaire s'épaissit. Les cellules folliculaires entourent complètement l'ovocyte.

Nous envisagerons successivement les évolutions nucléaire et cytoplasmique au cours de la prévitellogenèse.

# a) Le noyau

Durant toute la prévitellogenèse le volume s'accroît régulièrement. A la fin de cette période, il garde une forme ovoide; ses dimensions atteignent 70 à 75  $\mu$  sur 50 à 55  $\mu$ .

### . Le nucléoplasme

Il semble être de nature protéique et n'est pas coloré par les réactifs des glucides et des lipides. Les protéines sont essentiellement de type neutre : elles ne sont pas colorées par les réactifs des protéines acides (bleu de toluidine à pH 4,6) et des protéines basiques (vert solide à pH 8,2).

#### . Chromosomes et chromatine

En microscopie photonique, les chromosomes constituent un réseau très lâche de filaments (Pl. 14, fig. a et b). Diffus, ils ne réagissent pas au Feulgen, utilisé avec le Schiff ou avec des leucodérivés tels que l'azur A. Ils sont décelables par les colorants généraux des protéines (jaune naphtol S) et par l'hématoxyline.

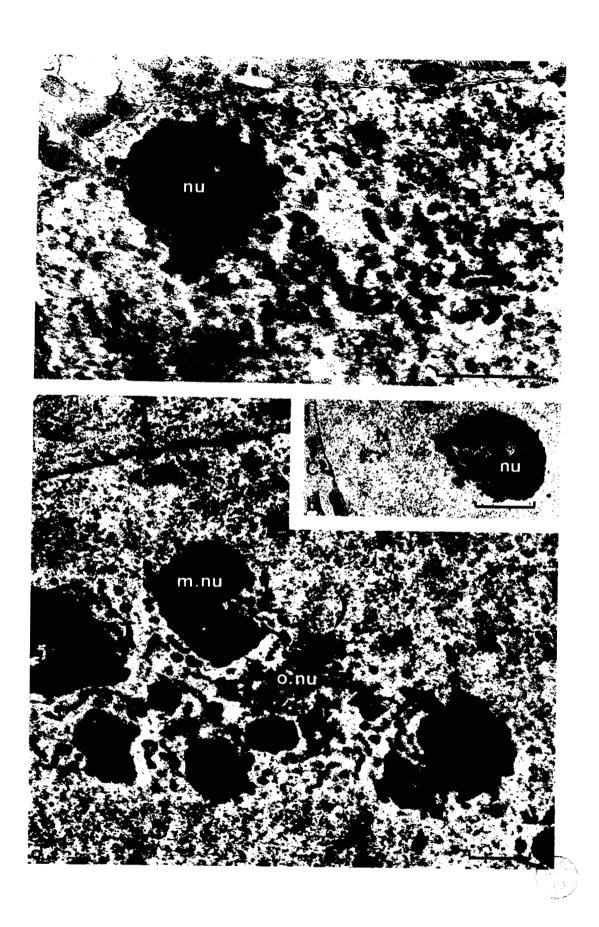
L'étude ultrastructurale montre qu'au début de la prévitellogenèse la chromatine n'est plus uniquement localisée à la périphérie nucléaire mais est répartie dans tout le nucléoplasme (Pl. 12, fig. a). Par la suite on peut observer dans le noyau des amas diffus, fibrillo-granulaires, fréquents dans tout le nucléoplasme et entourés de fortes condensations de grains chromatiniens (Pl. 6, fig. a et b). Ces formations pourraient correspondre aux chromosomes plumeux, toujours observés en microscopie photonique.

Evolution nucléolaire.

Figs a et b - Prémétose. N : noyau ; C : cytoplasme; a : amas nucléolaires ;
e.n : enveloppe nucléaire : ; g.c : grains chromatiniens ;
nu : nucléole ; a, X 26 300 ; b, X 5 000.

Fig. c - Jeune ovocyte (début du stade 2 A) m.nu : masse nucléolaire ; o.nu : organisateur nucléolaire. Des petits amas de matériel nucléolaire sont accolés à l'organisateur (flèche courbe) et à l'enveloppe nucléaire (flèche droite) ; X 16 200.

Les échelles correspondent à  $1/\omega$  (a et c) et 3  $\mu$  (b).



Pendant toute la prévitellogenèse et la vitellogenèse, une masse dense, homogène, est constante dans le noyau. De nature fibrillo-granulaire, elle n'est pas entourée de membrane ; son diamètre est d'environ 1,2  $\mu$  (Pl. 6, fig. d). Elle pourrait correspondre à la "vésicule sexuelle" ou chromatine sexuelle, toujours observée dans les cellules germinales.

## . Le nucléole

# - Morphologie

Dès le début du stade 2 A, le nucléole se fragmente (Pl. 10, fig. a). L'étude ultrastructurale montre 10 à 30 éléments de 3 à 4 μ, groupés autour d'une substance chromatinienne dense, fibrillaire et d'aspect spongieux : l'organisateur nucléolaire (Pl. 7, fig. c et Fig. 4 p. 93). Des petits fragments de matériel nucléolaire sont accolés à la chromatine et en relation avec des masses plus importantes, dont les contours sont irréguliers (Pl. 7, fig. c et Pl. 8).

Les masses nucléolaires, isolées ou groupées, se détachent et se dispersent rapidement dans tout le nucléoplasme. Leur nombre peut alors atteindre une centaine. Des fragments de matériel nucléolaire semblent s'en détacher.

Au début du stade 2 B, elles semblent libérer des lamelles plus ou moins nombreuses dont les dimensions atteignent 150  $\mu$  de largeur sur 50  $\mu$  d'épaisseur. Ce processus, d'abord visible au niveau des éléments les plus proches de l'organisateur nucléolaire (Pl. 8), est bientôt décelable dans tous les fragments nucléolaires (Pl. 9, fig. b). Les lames se fragmentent en une multitude de particules dispersées dans tout le nucléoplasme.

A la fin du stade 2 B, la taille maximale des masses nucléolaires a diminué et n'excède plus 1,5 à 2  $\mu$ . Leur nombre a augmenté et peut atteindre un millier. Tout le matériel nucléolaire se rassemble progressivement à un pôle du noyau, disposition surtout visible en microscopie photonique (Pl. 10, fig. b et Fig. 5, p. 93).

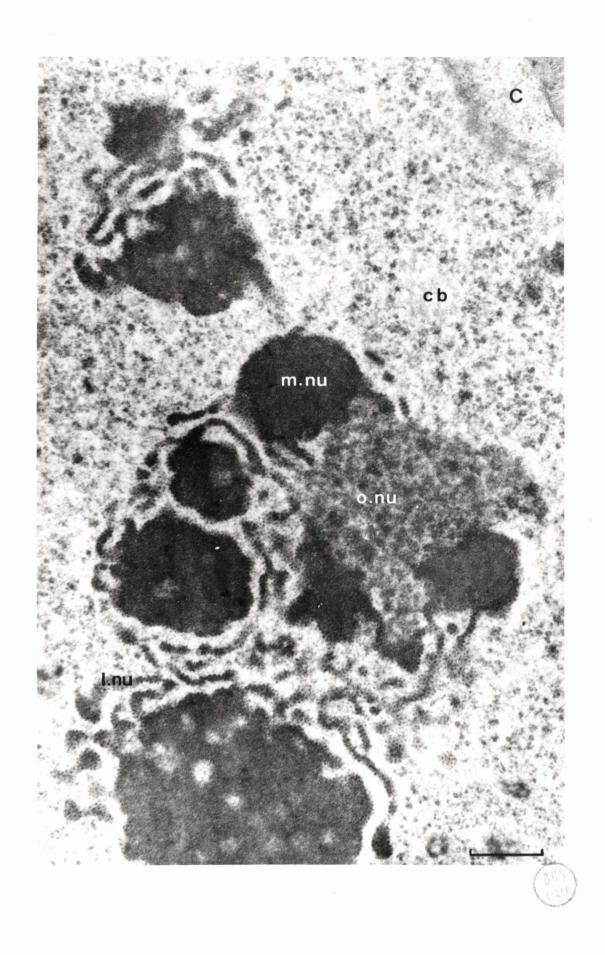
#### - Structure

Les éléments nucléolaires sont composés d'une zone centrale constituée d'un enchevêtrement de fibrilles atteignant 50 Å d'épaisseur et d'une zone périphérique renfermant des granules de 150 à 200 Å, à l'intérieur desquels on observe parfois des fibrilles (Pl. 11, fig. a). Ces deux constituants se retrouvent dans les fragments et

Evolution nucléolaire : délamination au cours du stade 2 B.

C : cytoplasme ; l.nu : lame nucléolaire ; m.nu : masse nucléolaire ; a.nu : organisateur nucléolaire. Le corps noté cb correspond peut-être à un "coiled body" (MONNERON et BERNHARD, 1969) ; X 39 000.

L'échelle correspond à 0,5  $\mu$ .



Le nucléole au cours de la prévitellogenèse.

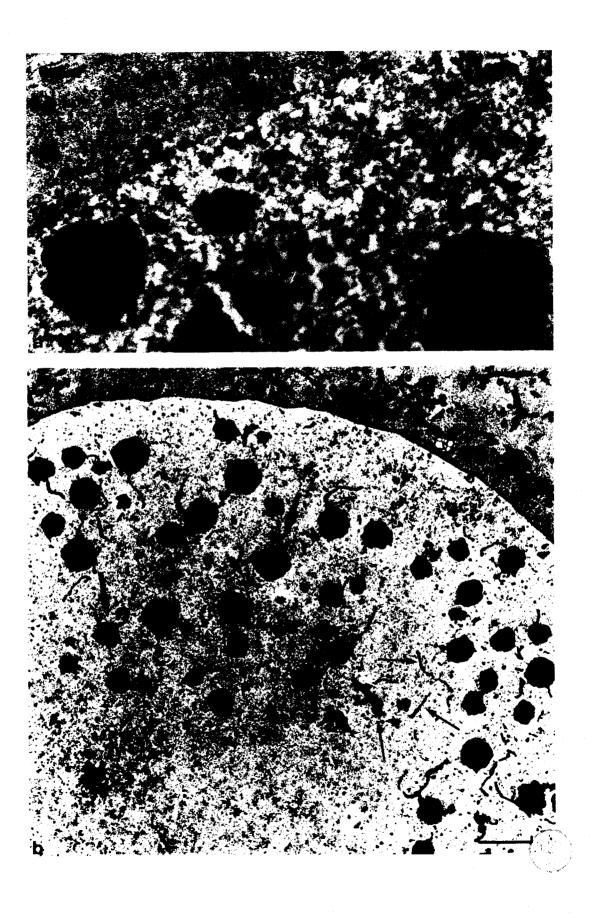
Fig. a - Réaction de BERNHARD (1969). Les clichés ne sont pris que lorsque les cellules somatiques montrent une coloration caractéristique.

N : noyau ; C : cytoplasme ; e.o : enveloppe ovocytaire ; ex.n : extrusions nucléaires ; X 20 200.

Fig. b - Délamination nucléolaire au cours du stade 2 B.

Les lames émises par les masses nucléolaires (flèches grasses) sont libérées dans le nucléoplasme (flèches minces). g.c : grains chromatiniens ; ex.n : extrusions nucléaires. m : mitochondries ; X 6 700.

Les échelles correspondent à  $1 \mu(a)$  et  $3 \mu(b)$ .



les lames nucléolaires. Les granules périphériques sont surtout abondants au niveau des lames (Pl. 11, fig. b). Par contre, dans sa zone de contact avec l'organisateur, le matériel nucléolaire semble composé exclusivement de fibrilles (Pl. 7, fig. c et Pl. 8).

## - Nature

Au début de la prévitellogenèse, le matériel nucléolaire semble constitué de protéines (coloration par le Millon, le bleu de bromophénol mercurique (Pl. 26, fig. b) sauf après action de la pepsine chlorhydrique) liées à de l'A.R.N. (coloration par le bleu de toluidine à pH 4,6 (Pl. 10, fig. e et Pl. 14, fig. e, f et h) sauf après traitement préalable à la RNase). Cette nature ribonucléoprotéique est confirmée en microscopie électronique par la coloration préférentielle des ribonucléoprotéines (BERNHARD, 1969); le matériel nucléolaire montre alors une forte densité électronique (Pl. 9, fig. a).

Il renferme également des protéines basiques (coloration par le vert solide à pH 8,2) (Pl. 10, fig. f) et des protéines à groupements SH (coloration par le D.D.D. sauf après blocage par le n-éthyl-maléimide).

Sa basophilie et sa teneur en protéines basiques diminuent progressivement au cours de la prévitellogenèse, notamment pendant le stade 2 B (Pl. 10, fig. e et f).

# . Autres composants nucléaires

Pendant le stade 2 A le noyau contient des structures denses, de nature fibrillo-granulaire et généralement périphériques. Elles semblent résulter de la fragmentation d'éléments importants, d'allure spiralée ou circulaire (Pl. 12, fig. b et c). Des grains chromatiniens sont souvent visibles dans leur voisinage. Du matériel fibrillaire semble se détacher de ces formations et diffuser dans le nucléoplasme (Pl. 12, fig. d); elles disparaissent rapidement et ne sont plus observées à la fin du stade 2 A.

Nous avons également observé des microfibrilles dont la longueur atteint environ l  $\mu$ , dans un noyau d'ovocyte au stade 2 A. Groupées en faisceau, elles sont généralement peu nombreuses (une dizaine) (Pl. 6, fig. c).

Le nucléole au cours de l'ovogenèse.

Figs a, b, c et d : évolution mucléolaire au cours de l'ovogenèse. Smith ; hématoxyline de Groat - picroindigocarmin.

Fig. a - Stade 2 A. g: masses nucléolaires en grappes.

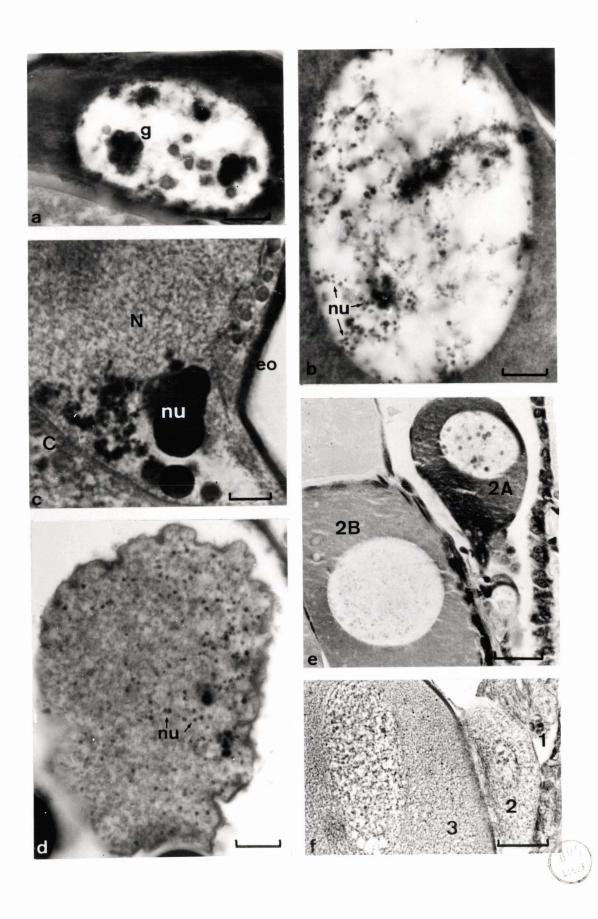
Fig. b - Stade 2 B. nu : masses nucléolaires.

Figs c et d - Stade 4. N : noyau ; C : cytoplasme ; nu : masses nucléolaires ; eo : enveloppe ovocytaire.

Fig. e - Diminution de la basophilie nucléolaire et cytoplasmique. Bouin alcoolique ; bleu de toluidine à pH 4,6. 2A : stade 2A ; 2B : stade 2B.

- Fig. f Diminution de la teneur en protéines basiques du matériel nucléolaire.
- Carnoy; vert solide à pH 8,2. 1: très jeune ovocyte; 2: stade 2A; 3: stade 2B.

Les échelles correspondent à 10  $\mu$  (a, b, c et d) et 20  $\mu$  (e et f).

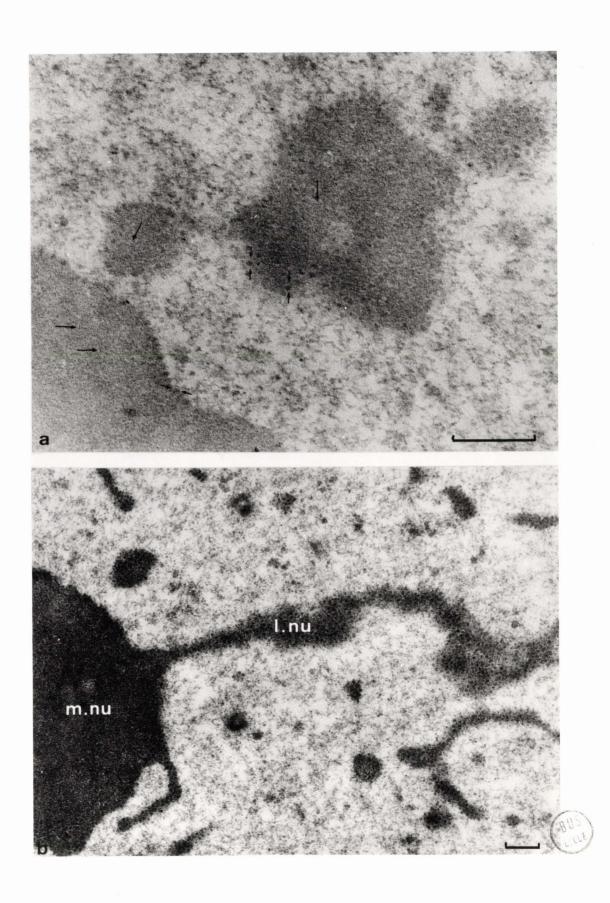


Structure du matériel nucléolaire.

Fig. a - Noter les fibrilles de 50 Å d'épaisseur (flèches longues); les granules de 200 Å montrent parfois des fibrilles parallèles (flèches courtes en vis à vis). X 108 500.

Fig. b - l.nu : lame nucléolaire ; m.nu : masse nucléolaire ; X 43 500.

Les échelles correspondent à 0,2  $\mu$ .

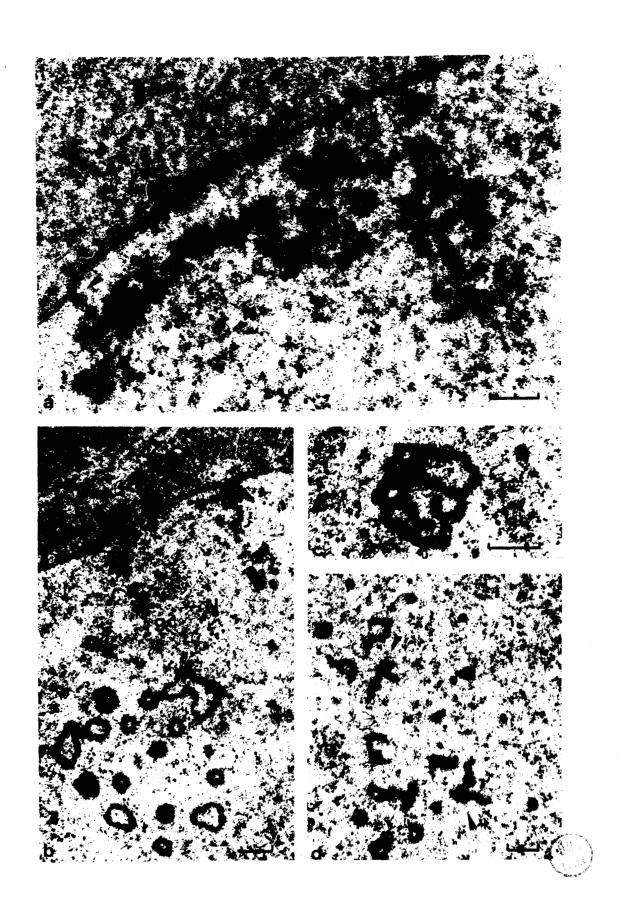


Structures nucléaires au cours de la prévitellogenèse.

- Fig. a Diffusion de la chromatine ; la chromatine (ch) se détache de l'enveloppe nucléaire (index) ; N : noyau ; C : cytoplasme ; X 26 000.
- Figs b, c et d formations denses intranucléaires ; N : noyau ; C : cytoplasme ; g.c : granules chromatiniens ; t.c : travées cytoplasmiques. Noter la diffusion du matériel dans le nucléoplasme (index, fig. d) ; b, X 17 000 ; c, X 28 000; d, X 17 000.

Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$ .





## · L'enveloppe nucléaire

L'enveloppe nucléaire subit d'importantes modifications au cours de la prévitellogenèse.

Au début du stade 2 A, les vésicules décelées lors de la préméfose disparaissent et l'espace périnucléaire acquiert une épaisseur constante de 300 Å. Les pores nucléaires sont peu nombreux et contiennent parfois un matériel fibrillaire.

Au cours de l'accroissement cellulaire, le nombre des pores augmente considérablement et atteint 35 à 40 par  $\mu^2$  (Pl. 13, fig. b). Leur diamètre est d'environ 700 à 800 Å, dimension généralement observée (STEVENS et ANDRE, 1969) et leur contour apparaît parfois octogonal (Pl. 13, fig. c).

Beaucoup de pores présentent un granule central ; certains contiennent un matériel fibrillogranulaire qui reste décelable jusqu'à la fin de la prévitellogenèse (Pl. 13, fig. b). A ce stade, les pores apparaissent souvent diaphragmés (Pl. 13, fig. c).

# b) Le cytoplasme

Le cytoplasme est essentiellement de nature protéique : il réagit fortement aux colorants généraux des protéines (Millon; bleu de bromophénol mercurique sauf après action de la pepsine chlorhydrique). Son caractère basophile est peut être dû à l'abondance de ribonucléoprotéines (bleu de toluidine à pH 4,6 sauf après RNase) et il diminue progressivement au cours du stade 2 B (Pl. 10, fig. e et Pl. 14, fig. e et f).

D'autre part, le cytoplasme contient une faible proportion de protéines basiques (ninhydrine-Schiff, vert solide alcalin).

La présence de mucopolysaccharides acides peut être décelée au début de la prévitellogenèse (coloration au bleu alcian sauf après méthylation); elle décroît progressivement pendant tout ce stade.

Le cytoplasme renferme un certain nombre d'inclusions dont nous allons suivre l'évolution pendant la prévitellogenèse.

#### . Les ribosomes

Le nombre de ribosomes augmente considérablement pendant toute la prévitellogenèse. Pendant le stade 2 A persistent toutefois une couronne périnucléaire et des travées cytoplasmiques ne contenant que quelques rosettes ribosomiales (Pl. 17, fig. a ; Pl. 12, fig. b et Fig. 4, p.93);

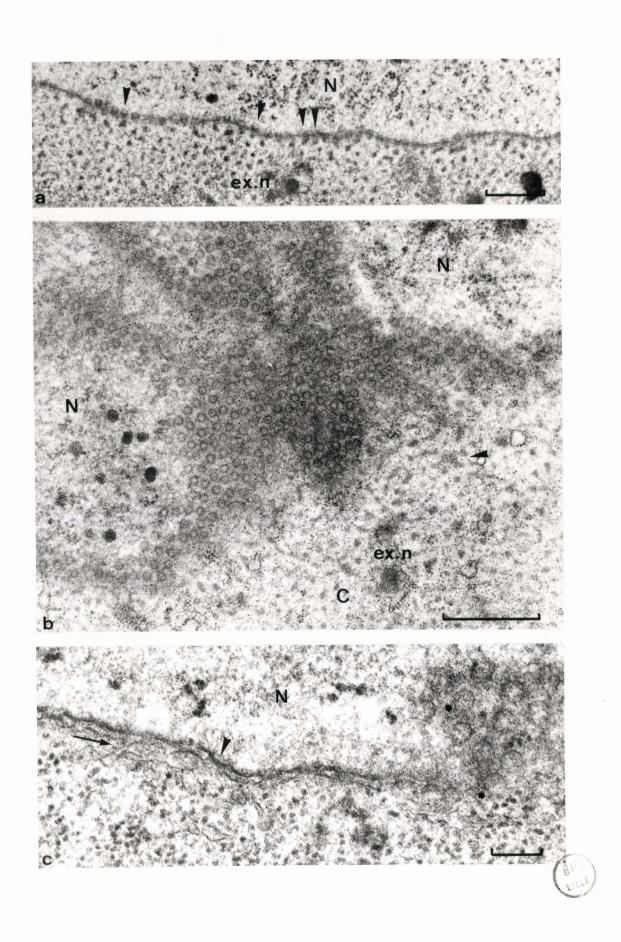
Structure de l'enveloppe nucléaire.

- Fig. a Coupe perpendiculaire. Les extrusions nucléaires (ex.n) semblent issues de chaque pore (index); N: noyau; X 14 200.
- Fig. b Coupe tangentielle. Beaucoup de pores présentent un grain central. Les extrusions nucléaires (ex.n) fusionnent en amas importants (index); N: noyau; C: cytoplasme; X 25 200.
- Fig. c De nombreux pores présentent un contour octogonal (astérisques);
  Certains sont diaphragmés (index). Noter la continuité entre l
  l'enveloppe nucléaire et le reticulum (flèche); N: noyau;
  X'64 800.

The second of the control of the second of t

Les échelles correspondent à 1  $\mu$  (a let b) et 0,2  $\mu$  (c).

The effect of the experience of the effect of the effect of the contract of the experience of the expe



Evolution cellulaire au cours de l'ovogenèse.

Figs a, b, c et d : évolution nucléaire au cours de l'ovogenèse. Smith ; hématoxyline de Groat, picroindigocarmin.

Fig. a - Stade 2 A; Fig. b - Stade 2 B; Fig. c - Stade 3; les flèches indiquent les chromosomes.

Fig. d - Les contours du noyau (N) sont sinueux.

Figs e et f - Diminution de la basophilie cytoplasmique au cours de l'ovogenèse.

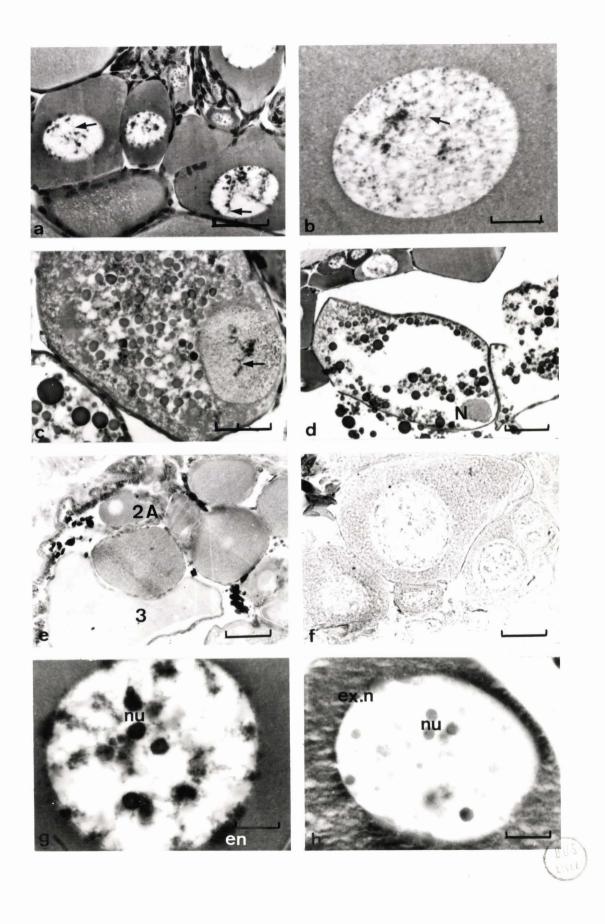
Smith; bleu de toluidine à pH 4,6; en f, après action de la RNase; 2A: stade 2A; 3: stade 3.

Figs g et h - Extrusions nucléaires.

Fig. g - Smith ; hématoxyline de Groat, pieroindigocarmin. nu : masses nucléolaires ; en : extrusions nucléaires.

Fig. h - Bouin alcoolique ; bleu de toluidine à pH 4,6. nu : masses nucléolaires ; ex.n : extrusions nucléaires.

Les échelles correspondent à 100  $\mu$  (d et e), 20  $\mu$  (b et f), 50  $\mu$  (a et c) et 10  $\mu$  (g et h).



cette disposition rappelle celle qui a été décrite dans l'ovocyte en préméfose. Les travées disparaissent à la fin de ce stade et la couronne périnucléaire persiste jusqu'à la fin du stade 2 B. Le cytoplasme est alors bourré de ribosomes libres, baignant dans une substance amorphe.

## . Le reticulum endoplasmique

Surtout localisé à la périphérie de l'ovocyte, notamment en fin de prévitellogenèse, le reticulum se présente sous sa forme granulaire ; les lames ergastoplasmiques sont souvent empilées, disposées en arcs de cercles et séparées par un espace de 0,1  $\mu$  (Pl. 16, fig. a).

Le reticulum se dispose parfois en un réseau régulier, de base hexagonale et dont chaque côté mesure 0,1  $\mu$  (Pl. 15, fig. b). Ultérieurement le réseau se désorganise mais les sommets des polyèdres restent visibles (Pl. 15, fig. c). Au stade ultime de cette évolution, les lames de reticulum, devenues de type lisse, constituent un lacis très complexe (Pl. 15, fig. d); elles restent toujours en continuité avec l'ergastoplasme périphérique.

Le reticulum, lisse ou granulaire, est souvent en continuité avec l'enveloppe nucléaire (Pl. 18, fig. a).

Des lamelles annelées sont quelquefois observées à la périphérie de la cellule. Souvent peu nombreuses, elles peuvent constituer des amas importants lors du stade 2 B (Pl. 16, fig. c). Leur surface est courbe ou même anguleuse (Pl. 16, fig. c). Elles sont généralement distantes de 20 à 25 mµ.

Elles baignent dans une substance dense aux électrons, dans laquelle les ribosomes sont peu abondants (Pl. 16, fig. b). Leur continuité avec l'ergastoplasme est fréquente (Pl. 16, fig. b).

## . Les dictyosomes

L'appareil de Golgi est peu développé au début de la prévitellogenèse. Quelques rares dictyosomes sont situés dans la zone périnucléaire et semblent peu actifs. Ultérieurement, ils se trouvent à la périphérie de la cellule, généralement groupés dans des lames d'argastoplasme (Fig. 4 et 5, p. §3).

## . Les mitochondries

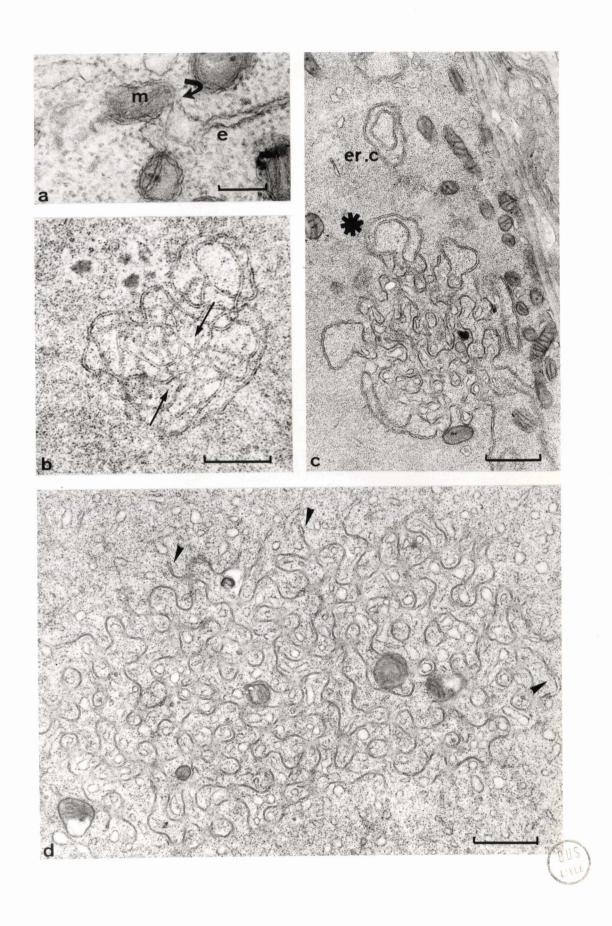
Leur nombre et leur morphologie sont profondément modifiés au cours de la prévitellogenèse.

Evolution du reticulum pendant la prévitellogenèse.

化铁色直接 医蜂科性 电放射

- Fig. a L'ergastoplasme (e) est parfois accolé aux mitochondries (m) (flèche) ; X 61 200.
- Fig. b L'ergastoplasme s'organise parfois en réseau (flèches); X 17500.
- Fig. c Des lamelles ergastoplasmiques concentriques (er.c) semblent se détacher du réseau (étoile); X 14 200.
- Fig. d En fin d'évolution, en lacis complexe de membranes lisses montre à sa périphérie des rapports avec le reticulum granulaire (index) X 17 200.

Les échelles correspondent à 0,2  $\mu$  (a) et 1  $\mu$  (b, c et d).



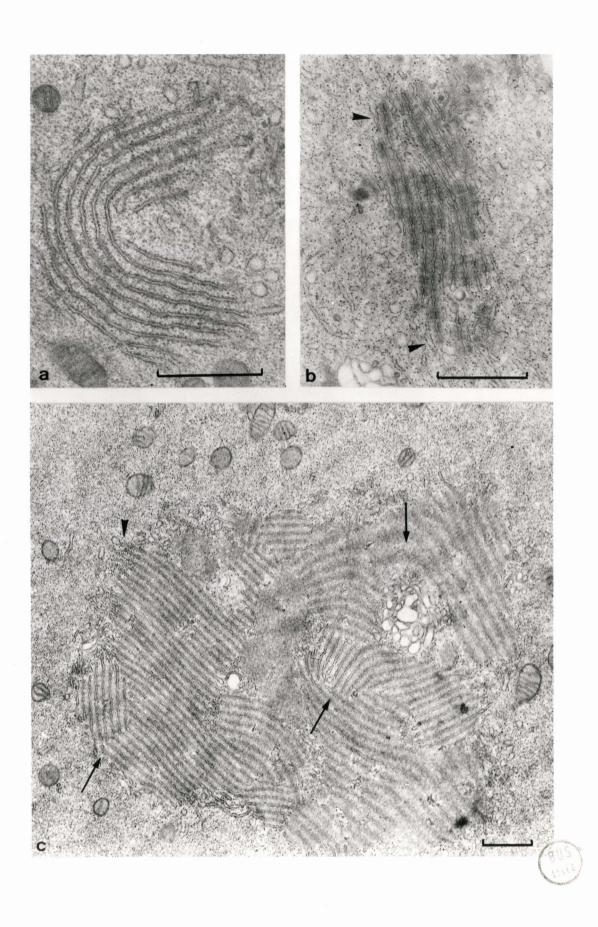
Reticulum et lamelles annelées.

Fig. a - Ergastoplasme en lames concentriques ; X 28 000.

Figs b et c - Les lamelles annelées sont en continuité avec l'ergastoplasme (index) ; leur trajet peut être courbe ou anguleux
(flèches) ; b, X 24 500 ; c, X 13 400.

Les échelles correspondent à 1  $\mu$  .



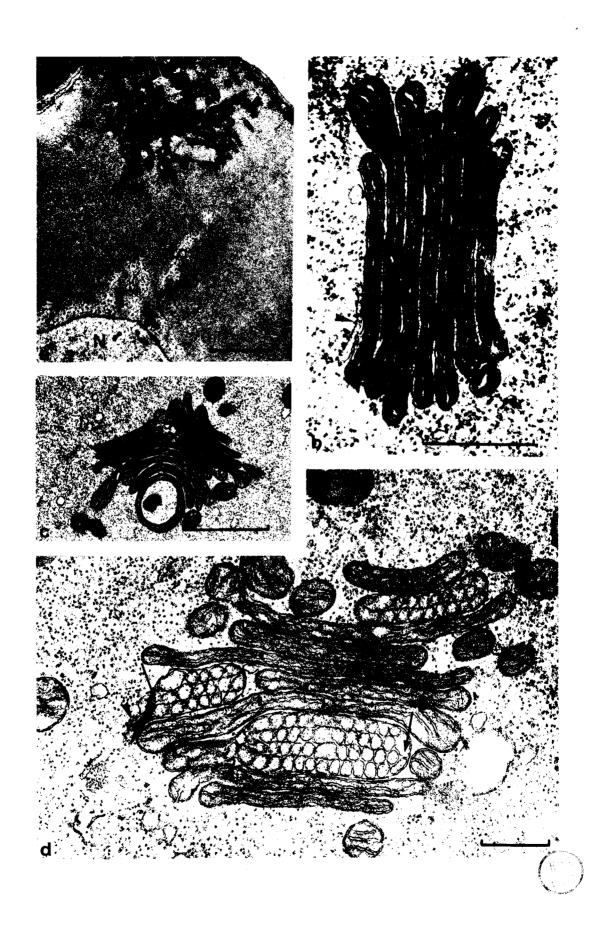


Evolution mitochondriale au cours de la prévitellogenèse.

- Fig. a Au cours du stade 2A, les mitochondries (m) sont souvent groupées à un pôle de la cellule ; N : noyau ; t.c : travée cytoplasmique ; X 8 400.
- Figs b et c Figures d'empilement de mitochondries. Noter une lame ergastoplasmique à proximité d'une mitochondrie (index) ; b, X 45 500 ; c, X 15 400.
- Fig. d Au niveau des extrémités mitochondriales, les crêtes et le feuillet interne de la membrane (flèches) constituent des vacuoles. Les index montrent la continuité avec le corps de la mitochondrie; X 35 700.

Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$  (b et d) et 2  $\mu$  (a et c).





Peu nombreuses dans l'ovogonie, leur nombre augmente au cours du stade 2 A et à la fin de ce stade elles se répartissent essentiellement en deux zones, à la périphérie de la cellule où elles peuvent se grouper à un pôle et dans la zone périnucléaire où elles sont associées aux extrusions nucléaires (Pl. 17, fig. a et Fig. 4, p. ). Petites et allongées, leur matrice renferme souvent plusieurs grains denses. Leurs crêtes sont généralement transversales.

Au cours du stade 2 B, le nombre de mitochondries s'accroît considérablement. Leur multiplication est rapide autour du noyau, à proximité des extrusions nucléaires et leur matrice devient plus dense.

A la fin de cette période elles s'étirent et s'amincissent ; leur longueur peut atteindre 3 µ. Dans leur zone médiane, les crêtes sont rares (1 ou 2) et disposées longitudinalement (Pl. 17, fig. b et c); elles sont plus nombreuses et transversales au niveau des extrémités.

Parfois les mitochondries présentent des figures d'empilement. Elles ne sont alors séparées que par une mince couche de cytoplasme de 100 à 200 Å, libre de ribosomes (Pl. 17, fig. b et c); nous avons pu compter jusqu'à 14 mitochondries empilées. Elles peuvent également entourer une mitochondrie dont la morphologie n'est pas modifiée.

Leurs extrémités montrent parfois de profondes modifications en fin d'évolution : le feuillet interne de la membrane mitochondriale et les feuillets des crêtes constituent des vésicules alignées, qui rappellent la disposition alvéolaire des nids d'abeilles (Pl. 17, fig. d).

## . Les extrusions nucléaires

Durant toute la prévitellogenèse, l'enveloppe nucléaire semble être le siège d'un transit de matériel du noyau vers le cytoplasme.

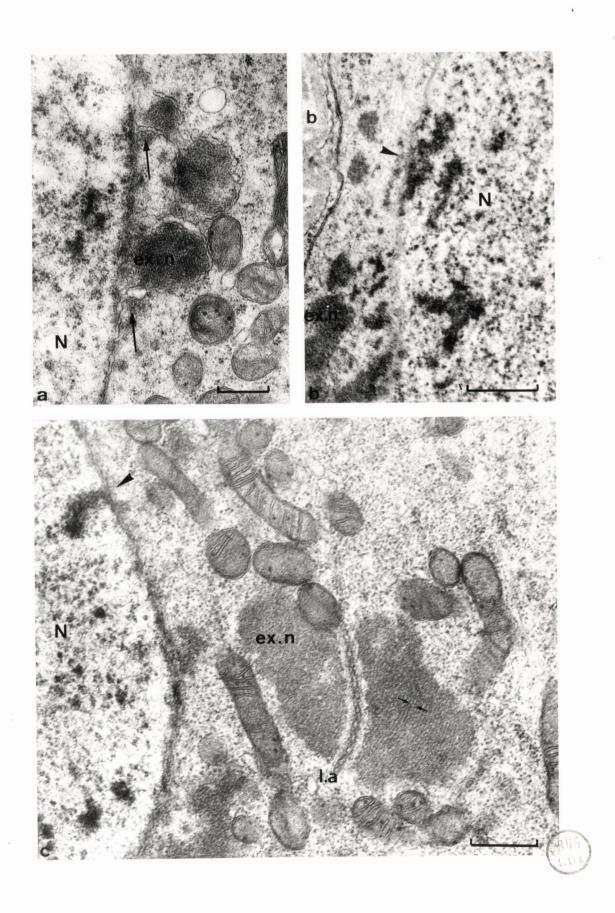
Pendant la préméiose et le début de la prévitellogenèse, le phénomène est réduit et donne naissance à des amas de faible importance. Une lame membranaire simulant un système de lamelles annelées est parfois observable dans les amas (Pl. 18, fig. c), dont le matériel montre une alternance de couches sombres et minces, disposées régulièrement selon une période de 270 à 280 Å. Les couches sombres semblent constituées d'un filament enroulé en hélice dont le pas serait de 20 Å environ (Pl. 18, fig. c).

Dès la fin du stade 2 A et pendant la majeure partie du stade 2 B, le phénomène est beaucoup plus intense. Des petits amas de matériel fibrillogranulaire sont observés au niveau de chaque pore nucléaire, tant en coupe

Extrusions nucléaires au cours du stade 2 A (début de prévitellogenèse).

- Fig. a N : noyau ; ex.n : extrusions nucléaires. Noter la continuîté entre l'enveloppe nucléaire et le reticulum (flèche); X 26200.
- Fig. b N : noyau ; ex.n : extrusions nucléaires ; b : basale de l'ovaire. Les extrusions semblent en continuité avec un matériel nucléaire de même structure (index) ; X 38 500.
- Fig. c Lamelles annelées (1.a) dans les extrusions nucléaires (ex.n) dont le matériel est disposé en couches denses et claires (flèches); noter la continuité entre les extrusions et un matériel dense nucléaire (index); N : noyau; X 35 000.

Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$ 



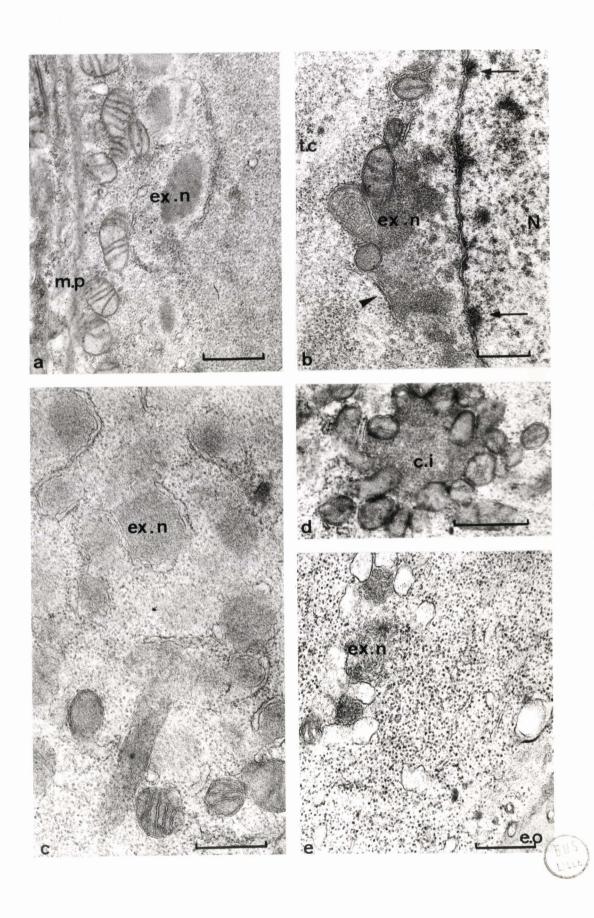
Evolution des extrusions nucléaires.

- Fig. a Ovocyte au stade 2A; les extrusions nucléaires (ex.n) sont visibles à la périphérie cellulaire; m.p: membrane plasmique; X 16 800.
- Figs b, c, d et e Ovocyte au stade 2 B.
- Fig. b Les extrusions nucléaires (ex.n) sont souvent associées à des mitochondries et de l'ergastoplasme qui ne porte des ribosomes que sur sa face externe (index). Du matériel dense nucléaire est accolé à l'enveloppe (flèches); N: noyau; t.c: travée cytoplasmique; X 29 000.
- Figs c, d et e Migration des extrusions vers la périphérie cellulaire.

  Les extrusions nucléaires (ex.n) constituent parfois le ciment intermitochondrial (c.i); e.o : enveloppe ovocytaire; c, X 36 400;
  d, X 21 000; e, X 33 600.

Les échelles correspondent à 1 🎮 (a et d) et 0,5  $\mu$  (b, c et e).





perpendiculaire qu'en coupe tangentielle (Pl. 13, fig. a et b).

Le matériel de ces amas semble parfois se condenser en granules de 50 à 100 Å, donc de taille inférieure à celle des ribosomes (Pl. 20, fig. c). Ceux-ci, libres ou associés en polysomes, sont souvent observés à proximité des extrusions et semblent parfois enrobés dans leur matériel (Pl. 20, fig. c).

Des lames de reticulum peuvent se détacher de l'enveloppe nucléaire et coiffer les amas d'extrusions. Parfois de type lisse au stade 2 A (Pl. 18, fig. a), ce reticulum porte généralement des ribosomes sur sa face externe (Pl. 19, fig. b).

De nombreuses mitochondries sont souvent associées à ces amas qui semblent constituer le "ciment intermitochondrial" décrit par ANDRE (1962) (Pl. 19, fig. d).

Reticulum, mitochondries et extrusions migrent vers la périphérie de la cellule (Pl. 19, fig. c). Le volume des extrusions diminue beaucoup pendant ce transfert (Pl. 19, fig. a et e).

# - Nature des extrusions nucléaires Elles semblent composées essentiellement

de ribonucléoprotéines (coloration par le bleu de bromophénol mercurique sauf après action de la pepsine chlorhydrique (Pl. 26, fig. b), par le bleu de toluidine à pH 4,6 (Pl. 14, fig. h) sauf après traitement à la RNase et par la coloration préférentielle des ribonucléoprotéines sur coupes d'epon (BERNHARD, 1969) (Pl. 9, fig. a)). Elles pourraient contenir en outre des protéines basiques (coloration par la ninhydrine-Schiff et le vert solide, (Pl. 26, fig. a)).

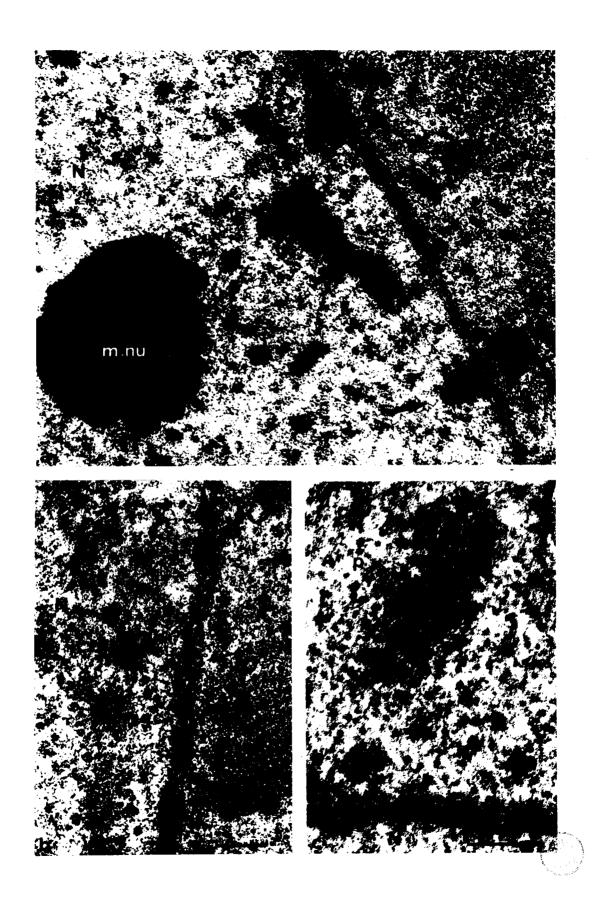
# - Origine des extrusions nucléaires Pendant la prévitellogenèse, les masses

nucléolaires se fragmentent et se retrouvent jusqu'à la périphérie du noyau. Des fragments nucléolaires peuvent entrer en contact avec l'enveloppe nucléaire à travers laquelle leur matériel semble diffuser et s'accumuler dans le cytoplasme périnucléaire (Pl. 18, fig. b et c et Pl. 20, fig. a). Des grains chromatiniens entourent fréquemment ces fragments et se retrouvent jusqu'à proximité des pores nucléaires où ils semblent se détruire (Pl. 20, fig. b).

Figs a et b - Origine des extrusions nucléaires.

- Fig. a Du matériel nucléolaire accolé à l'enveloppe nucléaire (flèches) semble en continuité avec les extrusions nucléaires (ex.n);
  N: noyau; m.nu: masse nucléolaire; X 49 000.
- Fig. b Lespores nucléaires (flèches) semblent être le lieu de passage du matériel des extrusions nucléaires (ex.n). A leur niveau, des grains chromatiniens (g.c) se dégradent (flèches courtes);
  N: noyau; X 65 500.
- Fig. c Des granules de 100 Å (flèches) apparaissent dans les extrusions nucléaires (ex.n) dont le matériel enrobe des polyribosomes (p); r : ribosomes ; N : noyau ; X 98 000.

Les échelles correspondent à 0,2 //.



### . Les microtubules

Au début du stade 2 A, ils sont groupés en faisceaux et associés à des amas de matériel qui pourraient correspondre à des extrusions nucléaires migrant vers la périphérie cellulaire (Pl. 21, fig. a).

Rapidement les microtubules sont localisés à la zone périnucléaire et aux travées cytoplasmiques où ils sont disposés parallèlement (Pl. 21, fig. b et c). Ils ne persistent pas après le stade 2 A.

## . Les formations lysosomiales

La membrane plasmique est le siège d'une intense pinocytose (Pl. 22, fig. a et Pl. 23, fig. a). Deux types de vésicules sont observées :

- 1) des vésicules lisses qui semblent fusionner et donner rapidement naissance à des gros corps très denses (Pl. 22, fig. a); ces derniers migrent vers l'intérieur du cytoplasme (Pl. 22, fig. b) et sont souvent entourés de mitochondries. Après leur déplétion dans le cytoplasme ou dans les masses denses, les vésicules prennent parfois des formes étirées ou en fer à cheval (Pl. 22, fig. a et e), comparables à celles qui ont été décrites chez les Ciliés (FAVARD et CARASSO, 1964).
- 2) des vésicules "hérissées" ("coated vesicles" des auteurs anglosaxons), souvent observées à proximité de gros complexes golgi-ergastoplasme (Pl. 23, fig. a et b), dont la disposition est caractéristique : plusieurs dictyosomes sont entourés par une ou plusieurs lames d'ergastoplasme repliées en cupules (Pl. 24, fig. a). La face interne de l'ergastoplasme, dépourvue de ribosomes, bourgeonne de très nombreuses vésicules qui pourraient entrer en rapport avec les saccules golgiens. Du pôle interne des dicytosomes s'échappent de nombreuses vésicules "hérissées" qui peuvent fusionner et constituer des petites vacuoles à contenu très dense (Pl. 24, fig. b).

Les corps denses et les complexes golgi-ergastoplasme constituent ensuite de gros ensembles dont la taille peut atteindre 10  $\mu$  (P1. 23, fig. c). Des corps résiduels s'y constituent ; ils sont caractérisés par des figures myéliniques associées à des granules et sont en relation avec de très nombreux tubules (P1. 23, fig. d).

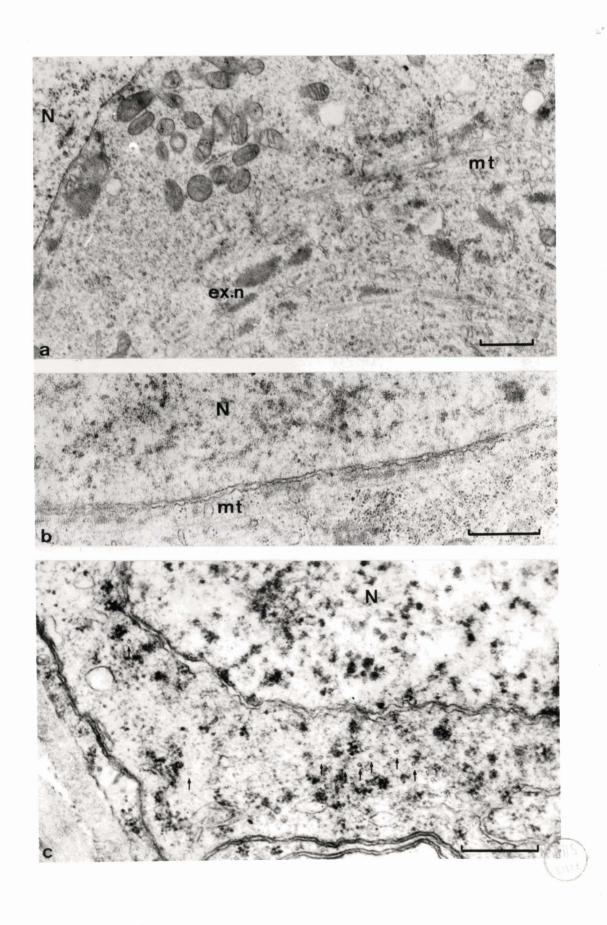
Les lames d'ergastoplasme et les dictyosomes disparaissent; ils sont remplacés par des corps multivésiculaires (Pl. 25, fig. a) dont la membrane limitante est typiquement asymétrique, le feuillet interne paraissant épaissi par une condensation de matériel fin (Pl. 25, fig. d). Corps multi-vésiculaires et corps denses se regroupent parfois en amas importants (Pl. 25, fig. b et c).

Les microtubules.

- Fig. a Entre les microtubules (mt) en faisceaux sont visibles des extrusions nucléaires (ex.n); N : noyau; X 14 000.
- Figs b et c Les microtubules sont orientés parallèlement dans la zone périnucléaire, en coupe tangentielle (fig. b, mt) ou en coupe perpendiculaire (fig. c, flèches); N: noyau; b, X 35 000; c, X 40 600.

Les échelles correspondent à  $1 \mu$  (a) et 0,5  $\mu$  (b et c).

e or the state of the second the second seco



Endocytose au cours de la prévitellogenèse.

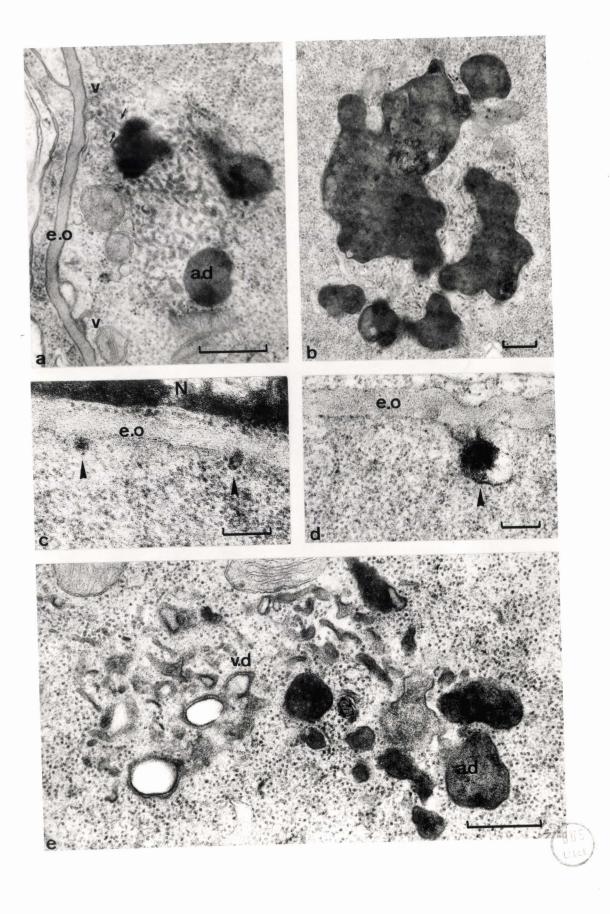
- Figs a, b et e Formation de phagosomes au cours de la prévitellogenèse.

  Des vésicules de pinocytose (v) semblent fusionner (flèches)

  et constituer de gros amas denses (a.d); e.o: enveloppe ovo
  cytaire; v.d: vésicules de déplétion; a, X 35 000; b, X

  17 200; e, X 40 000.
- Figs c et d Présence de phosphatospacides (index) au niveau de vésicules de pinocytose (technique de Gomori); N: noyau; e.o: enveloppe ovocytaire; coloration à l'acétate d'uranyle; c, X 68 000; d, X 50 600.

Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$  (a, b et e) et 0,2  $\mu$ (c et d).

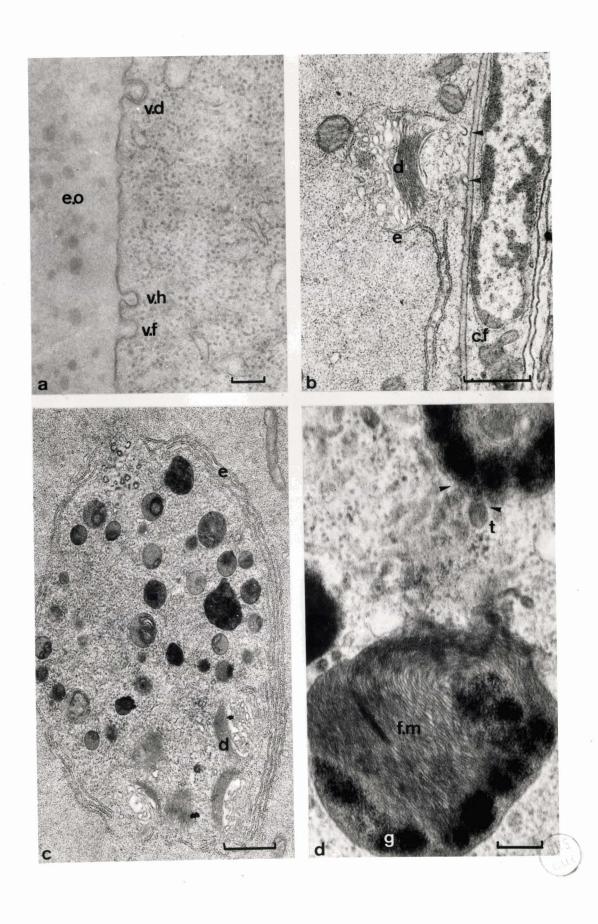


Pinocytose et formations lysosomiales au cours de la prévitellogenèse.

Figs a et b - Pinocytose.

- Fig. a e.o : enveloppe ovocytaire ; v.f : vésicule en formation ; v.h : vésicule "hérissée" ; v.d : vésicule de déplétion ; X 45 500.
- Pig. b Des vésicules de pinocytose (index) sont souvent observées à
   proximité de complexes Golgi (d) ergastoplasme (e); c.f:
   cellule folliculaire; X 17 500.
- Figs c et d Formations lysosomiales.
- Fig. c d : dictyosome ; e : ergastoplasme ; X 11 600.
- Fig. d Détail de la précédente : des tubules (t) semblent fusionner (index) avec les corps denses qui montrent des granules (g) et des figures myéliniques (f.m); X 67 600.

Les échelles correspondent à 0,2  $\mu$ (a et c) et 1  $\mu$ (b et d).

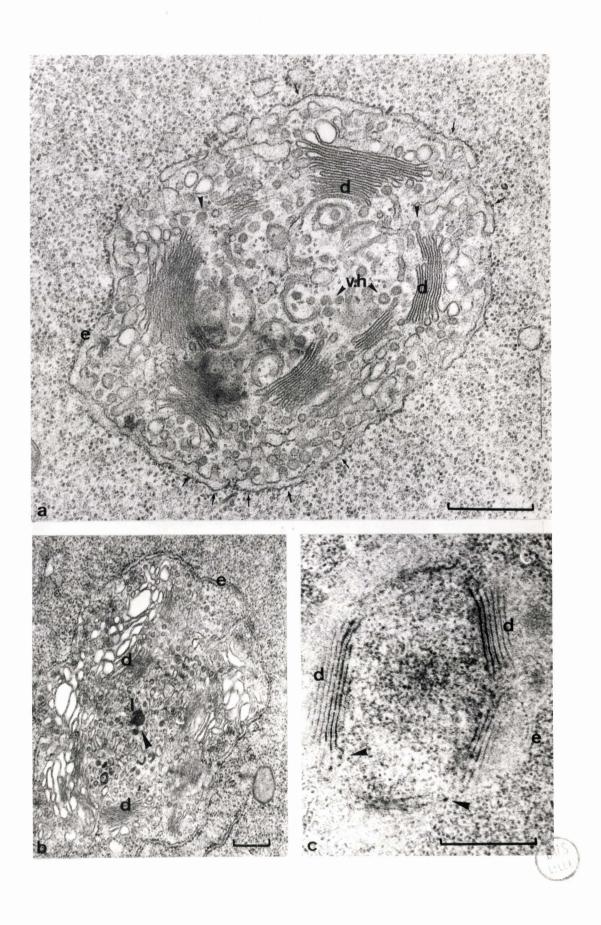


Complexes Golgi - ergastoplasme.

- Fig. a Une lame d'ergastoplasme enroulée (e) émet de nombreuses vésicules (flèches) vers les dictyosomes (d) dont les saccules semblent libérer (index) des vésicules "hérissées" (v.h) ; X 42 200.
- Fig. b e : orgastoplasme ; d : dictyosome ; l : lysosome primaire ; X 21 300.
- Fig. c Mise en évidence de phosphatase acide dans les saccules golgiens (d) et leurs vésicules (index) ; e : ergastoplasme ; X 53 500 ; technique de Gomori.

Les échelles correspondent à 0,5 µ.





Tous ces éléments sont constants mais leur nombre et leur taille varient suivant les ovocytes.

### Nature chimique des formations lysosomiales

Les masses d'origine pinocytotique (Pl. 22, fig. a et b) semblent de nature glycoprotéique (bien colorées par le PAS même après action de l'amylase salivaire (Pl. 26, fig. f et g), colorés par le bleu de bromophénol mercurique).

Le test de Gomori appliqué à la microscopie électronique révèle la présence de phosphatases acides au niveau de certaines vésicules de pinocytose (Pl. 22, fig. c et d), des saccules du pôle interne des dictyosomes et de leur vésicules (Pl. 24, fig. c et Pl. 27, fig. a), des corps denses résiduels (Pl. 27, fig. a et c) et des membranes des corps multivésiculaires (Pl. 27, fig. b).

Les gros amas (Pl. 23, fig. c) correspondent vraisemblablement aux vacuoles claires à contenu granuleux qui sont observées en microscopie photonique et qui sont positives au test de Gomori (Pl. 26, fig. h). Leur richesse en membranes peut expliquer la forte imprégnation argentique (méthode de da FANO) observée à leur niveau et déjà décrite par d'anciens auteurs (NATH, 1924; KOCH, 1925).

### . Les globules

Au cours de la prévitellogenèse, le cytoplasme présente une ou plusieurs formations globuleuses. Leur présence, décrite par KOCH (1925) semble constante mais leur nombre varie beaucoup selon les ovocytes.

L'étude ultrastructurale permet d'apporter quelques précisions sur l'origine de ces formations.

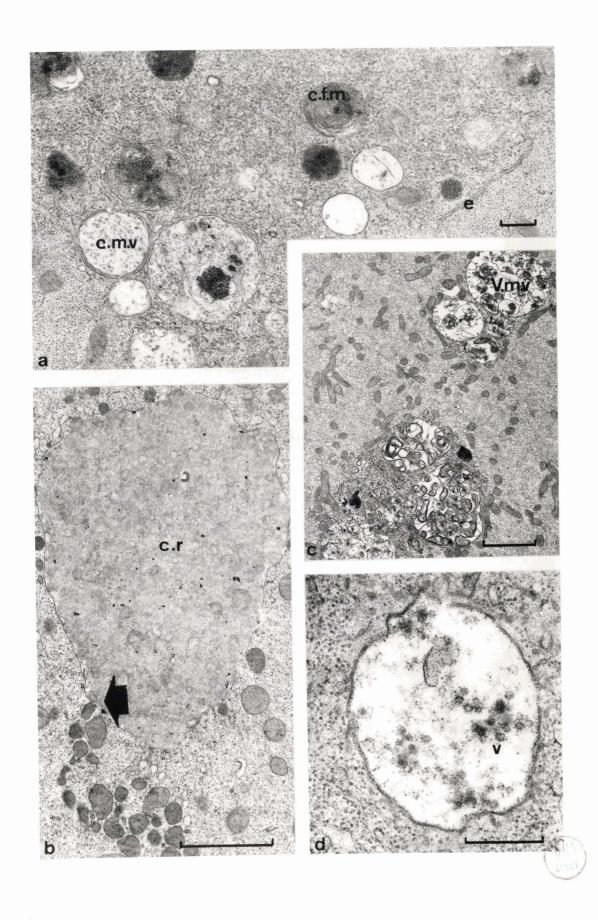
Des lames d'ergastoplasme enroulées, concentriques, isolent une partie de cytoplasme périphérique (Pl. 28, fig. b et c). Ce dernier, libre de ribosomes, contient des amas de matériel dense, homogène, comparable à celui qui est observé dans la lumière de l'ergastoplasme et dans les vésicules qui s'en détachent (Pl. 28, fig. b). Il se constitue ainsi un amas de matériel floconneux, entouré de vésicules ergastoplasmiques qui tendent à disparaître (Pl. 28, fig. a).

Le matériel se condense ; il forme une masse globuleuse, très homogène, d'un diamètre de 5 à 6  $\mu$  et montrant des vésicules périphériques (Pl. 28, fig. e). Les vésicules correspondent à des enclaves cytoplasmiques

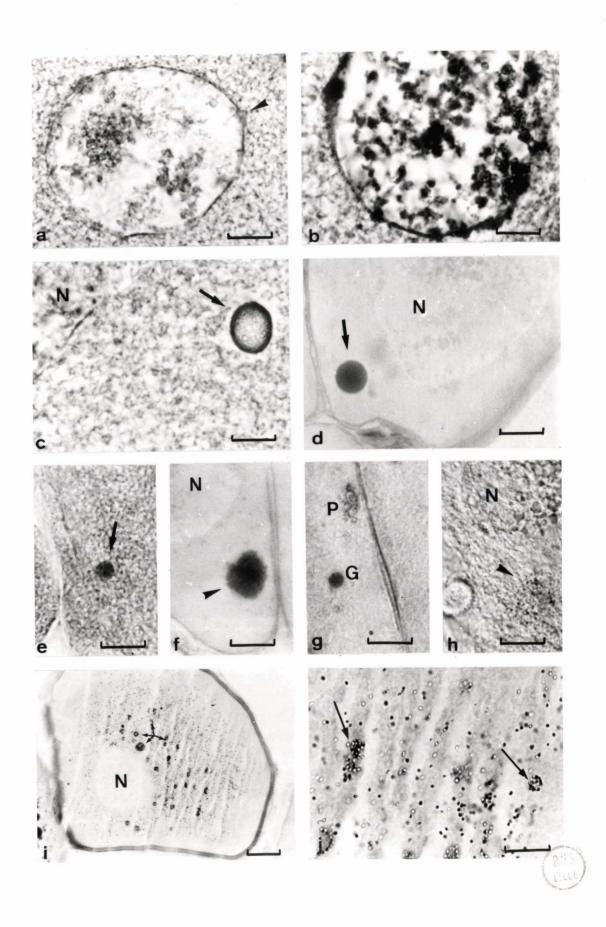
Evolution des formations lysosomiales au cours de la prévitellogenèse.

- Fig. a 0.fpm : corps à figures myéliniques ; c.m.v : corps multivésiculaire ; e : ergastoplasme ; X 18 200.
- Fig. b Corps résiduel (c.r) dans lequel des corps denses semblent fusionner (flèches); X 12 500.
- Fig. c V.mv : vacuole multivésiculaire ; X 7 000.
- Fig. d Structure des corps multivésiculaires.Noter la condensation de grains contre le feuillet interne de la membrane. v : vésicule ; X 42 000.

Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$  (a et d) et 2  $\mu$  (b et c).



- Figs a, b, c, d, e, f, g et h: Inclusions cytoplasmiques dans l'ovocyte en prévitellogenèse.
- Figs a et b Extrusions nucléaires.
- Fig. a Carnoy; vert solide : les extrusions nucléaires sont faiblement colorées (index).
- Fig. b Carnoy ; bleu de bromophénol mercurique : les masses nucléolaires et les extrusions nucléaires sont fortement colorées.
- Figs c, d et e Le "globule".
- Fig. c Carnoy; bleu de bromophénol mercurique. Le globule (flèche) est fortement coloré. N, noyau.
- Fig. d Carnoy; P.A.S. salive. Le globule (flèche) est fortement coloré. N: noyau.
- Fig. e Smith; D.D.D. Le globule (flèche) est bien coloré.
- Figs f et g Produits d'endocytose.
- Fig. f Smith; PAS-salive. Des amas cytoplasmiques sont fortement colorés.
- Fig. g Smith; PAS-salive. Les hétérophagosomes (P) sont bien colorés; G: globule.
- Fig. h Formations lysosomiales (index) (technique de Gomori sur coupes au cryostat). N : noyau.
- Figs i et j Granules réfringents dans un ovocyte en début de vitellogenèse (flèches). N : noyau. Carnoy ; P.A.S.-salive.
- Les échelles correspondent à 10  $\mu$  (a, b, c, d, e, f, g, h et j) et 50  $\mu$  (i).



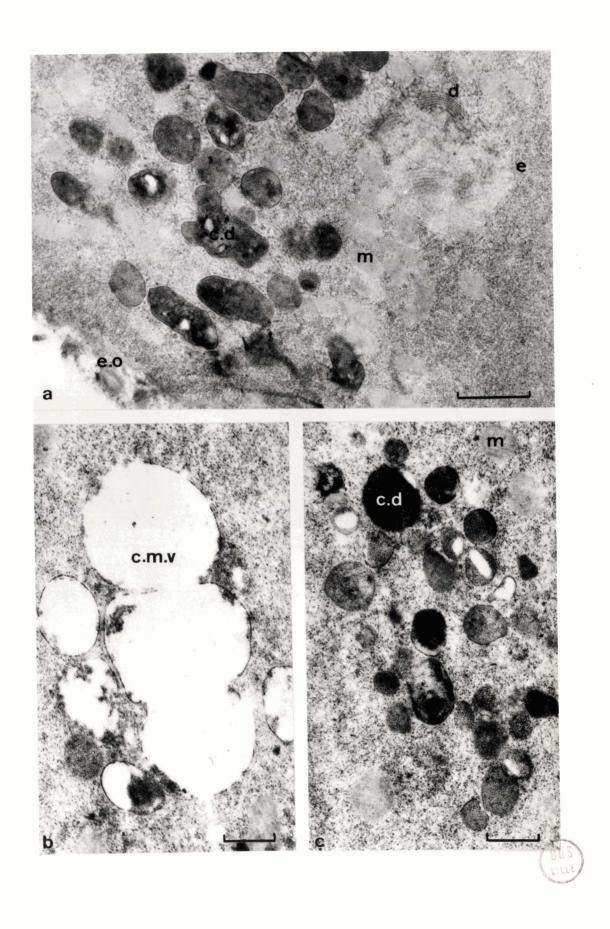
Mise en évidence de phosphatases acides au niveau des formations lysosomiales (technique de Gomori).

Fig. a - c.d: corps dense ; d : dictyosome ; e ; ergastoplasme ; e.o : enveloppe ovocytaire ; m : mitochondrie ; X 31 000.

Fig. b - c.m.v : corps multivésiculaire ; X 27 000.

Fig. c - c.d : corps dense ; m : mitochondrie ; X 27 000.

Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$ .



ne contenant que des ribosomes et un matériel très dense, pelotonné (Pl. 28, fig. e), qui semble issu du cytoplasme (Pl. 28, fig. d).

Les globules, encore visibles au début de la vitellogenèse, n'ont pas pu être suivis jusqu'à la maturation ovocytaire. Il est possible qu'ils soient alors masqués par les réserves vitellines.

## - Nature chimique des globules

Les globules semblent être de nature glycoprotéique (coloration intense par le PAS même après action de l'amylase salivaire (Pl. 26, fig. d et g), par le Millon, le bleu de bromophénol mercurique (Pl. 26, fig. c)); ils sont riches en protéines à radicaux SH (D.D.D. sauf après blocage à la n-éthyl-maléimide, (Pl. 26, fig. e)).

# c) L'enveloppe ovocytaire

Dès la fin du stade 2 A, une couche de matériel homogène s'insinue entre les cellules folliculaires et les ovocytes (Pl. 50, fig. a); elle s'accroît progressivement. Lorsqu'elle atteint une épaisseur de 400 à 500 Å, on peut distinguer 2 couches:

- a) une couche externe qui garde la structure et l'épaisseur de l'enveloppe initiale.
- b) une couche interne dont le matériel dense semble constituer un réseau.

La couche interne s'accroît pendant toute la prévitellogenèse et la vitellogenèse ; son épaisseur peut atteindre de 3 à 4  $\mu$  (Pl. 36, fig. a).

La nature cytologique ovocytaire en début et en fin de prévitellogenèse a été résumée sur les figures 4 et 5 (p. 93).

## 4 - Vitellogenèse ou stade 3

Nous envisagerons successivement les transformations subies par le noyau et par le cytoplasme.

# a) Le noyau

Après une faible croissance (taille maximale 80 à 90  $\mu$  sur 60 à 65  $\mu$ ), le noyau présente une dimension de volume en fin de vitellogenèse. Ses contours deviennent alors sinueux et irréguliers ; il occupe une position très excentrique et n'est plus séparé de la membrane plasmique.

Genèse et structure des "globules"

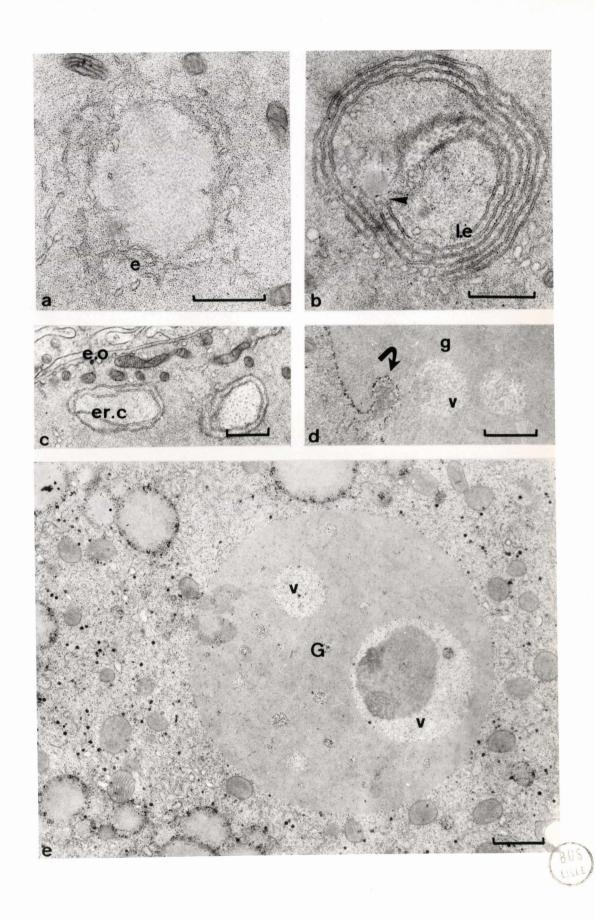
Fig. a - e : ergastoplasme ; X 19 300.

Fig. b - Un matériel dense, homogène, semble libéré (index) par les lames ergastoplasmiques (l.e); X 17 300.

Fig. c - Un matériel floconneux semble capté (flèche) par le globule (g) ; v : vacuole ; X 13 300.

Fig. e - Structure du globule (G) ; v : vacuole ; X 13 000.

Les échelles correspondent à 1 //..



que par une couche cytoplasmique dont l'épaisseur est de 2 à 3  $\mu$  (Pl. 38, fig.a).

Les constituants nucléaires présentent des modifications importantes au cours de ce stade.

### . Chromatine et chromosomes

Les chromosomes plumeux sont toujours observés en microscopie photonique; ils se condensent en fin de vitellogenèse (Pl. 14, fig. c).

En microscopie électronique, la chromatine montre des amas de plus en plus denses (Pl. 38, fig. b).

## . Le nucléole

Au début du stade 3, de nombreuses lames de matériel nucléolaire sont libres dans le nucléoplasme ; elles disparaissent rapidement. Les masses nucléolaires se fragmentent, leur diamètre n'excède plus 1 à 2  $\mu$  (P1. 29, fig. a). Nous avons pu en dénombrer jusqu'à 4500. Elles sont très regroupées à un pôle nucléaire (Fig. 6, p. 93).

Le nombre de leurs granules périphériques diminue et un matériel fibrillaire rayonnant constitue un halo autour de chacune d'entre elles (Pl. 29, fig. a).

La nature chimique des masses nucléolaires est comparable à celle qui a été décrite en fin de prévitellogenèse.

# b) Le cytoplasme

Le cytoplasme perd progressivement sa basophilie. Les ribosomes libres, encore nombreux au début de ce stade ne sont plus décelables après le dépôt des réserves vitellines; ils ne persistent que dans la zone périnucléaire (Pl. 37, fig. b).

Nous envisagerons successivement l'évolution des différents organites et les processus de dépôt des réserves.

## Les organites cytoplasmiques

## . Le reticulum et les lamelles annelées

L'ergastoplasme se développe considérablement pendant la vitellogenèse; les saccules se vésiculisent et les membranes perdent progressivement leurs ribosomes (Pl. 33, fig. b et c).

Les amas de lamelles annelées sont dispersés entre les réserves vitellines.

Evolution nucléolaire au cours de la vitellogenèse et de la maturation ovocytaire.

Figs a et b - Vitellogenèse.

Car.

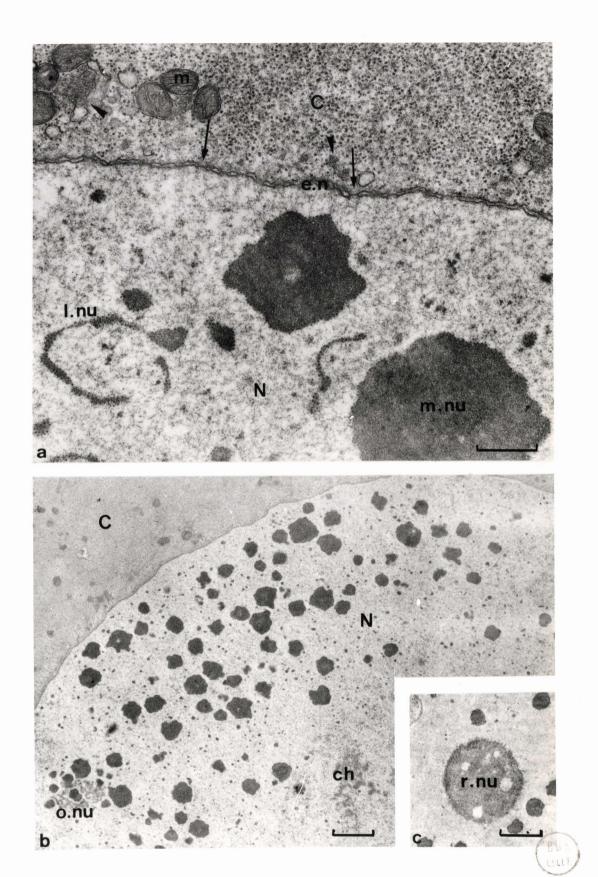
- Fig. a N : noyau ; l.nu : lame nucléolaire ; m.nu : masse nucléolaire.

  Des pores de l'enveloppe nucléaire (e.n) paraissent diaphragmés (flèches). Les extrusions nucléaires (index) sont rares ; C : cytoplasme ; m : mitochondrie ; X 32 500.
- Fig. b N : noyau ; ch : chromatine ; o.nu : organisateur nucléolaire.

  Noter l'accumulation des masses nucléolaires à un pôle du noyau. C : cytoplasme ; X 5 200.
- Fig. c Ovocyte en phase de maturation.

  Image de regroupement du matériel nucléolaire (r.nu).; X 5 100.

Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$ (a) et 2  $\mu$  (b et c).



### . Les mitochondries

Petites, ovoïdes, les mitochondries présentent parfois des crêtes disposées en fer à cheval (Pl. 32, fig. b). A la périphérie cellulaire, elles sont souvent associées à des amas de substance dense, floconneuse, parfois isolés par une membrane (Pl. 32, fig. c et d). Elles présentent alors des modifications profondes : leur matrice s'éclaircit et leurs crêtes se vésiculisent (Pl. 32, fig. c et d). L'origine, la nature et le devenir de ces formations denses demeurent énigmatiques.

Le nombre des mitochondries diminue considérablement à la fin de la vitellogenèse.

### . Les formations lysosomiales

Les complexes golgi-ergastoplasme sont rares et réduits. Les corps multivésiculaires et les corps denses sont groupés en amas (Pl. 30, fig. a). Les corps denses disparaissent rapidement au début de la vitellogenèse. Seuls persistent les corps multivésiculaires qui se dispersent dans tout le cytoplasme. Des vésicules, peut être d'origine pinocytotique et dont la taille atteint une centaine d'Â, fusionnent avec ces corps et semblent y libérer un matériel dense, homogène (Pl. 30, fig. b).

Pendant la phase de dépôt du vitellus lipidique, les corps multivésiculaires englobent parfois des lobules lipidiques (Pl. 30, fig. c).

## . Les granules réfringents

Le début de la vitellogenèse est caractérisé par l'apparition de granules, très réfringents en microscopie photonique.

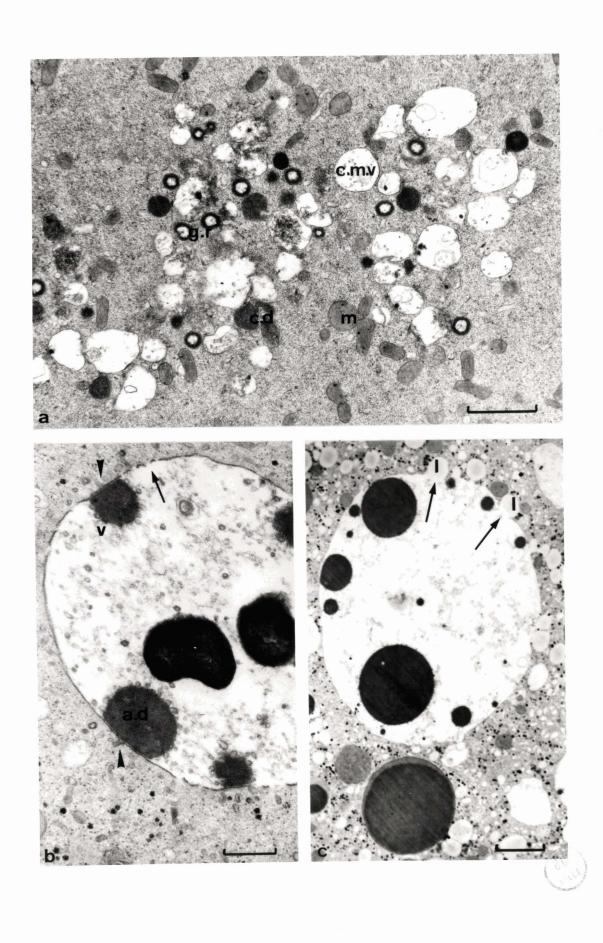
L'étude ultrastructurale met en évidence l'accumulation d'un matériel dense dans les citernes ergastoplasmiques (Pl. 31, fig. a); ce matériel se présente sous forme d'importants corpuscules constitués d'une zone centrale claire, sans organites, entourée d'une couronne dense et vacuolisé (Pl. 31, fig. b et c).

Les corpuscules bourgeonnent de nombreuses excroissances qui s'en détachent (Pl. 31, fig. b et c) et dont la structure est comparable à celle des corpuscules. Toujours enveloppées d'une membrane unitaire, elles s'accroissent (le diamètre atteint 2  $\mu$ ) et leur zone centrale présente une alternance de couches denses et claires concentriques (Pl. 32, fig. a). Ces formations correspondent aux granules réfringents observés en microscopie **photo**nique.

Evolution des formations lysosomiales au cours de la vitellogenèse.

- Fig. a c.d : corps dense ; c.m.v : corps multivésiculaire ; g.r : granules réfringents ; m : mitochondrie ; X 9 600.
- Fig. b Des vésicules fusionnent avec les corps multi▼ésiculaires (index), dont la paroi est parfois interrompue ; a.d : amas dense ; X 25 300.
- Fig. c Des gouttelettes lipidiques (1) semblent englobées par des corps multivésiculaires (flèches); X 6 800.

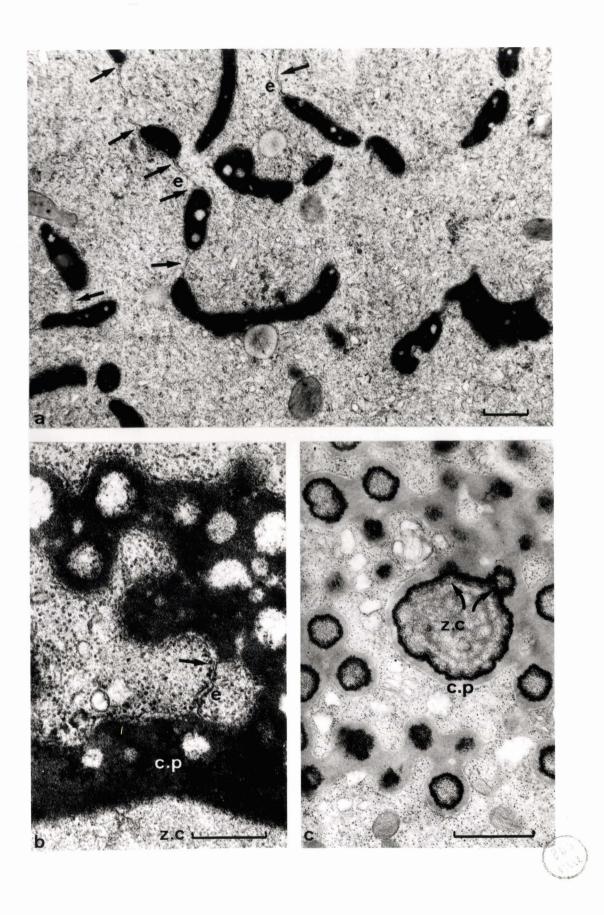
Les échelles correspondent à 2  $\mu$  (a et c) et 0,5  $\mu$ (b).



Genèse des granules réfringents.

- Fig. a Les lames ergastoplasmiques (e) sont parfois dilatées et semblent accumuler un matériel dense, vacuolisé (flèches); X 12000.
- Figs b et c Structure des corpuscules ; z.c + zone centrale ; c.p : couche périphérique ; noter la continuité de l'ergastoplasme (e) avec la membrane limitante des corpuscules. Ces derniers bourgeonnent des excroissances (flèches courbes) ; b, X 40 000 ; (Acétate d'uranyle-citrate de plomb) ; c, X 21 300 (Citrate de plomb seul).

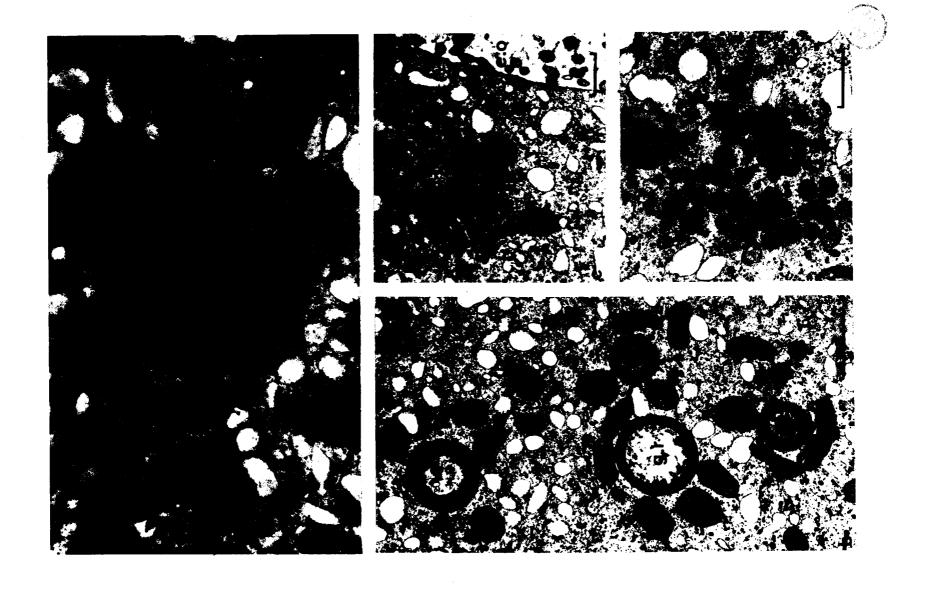
Les échelles correspondent à 1  $\mu$  (a et c) et 0,5  $\mu$  (b).



Evolution des granules réfringents et des mitochondries au cours de la vitellogenèse.

- Fig. a g.r : granule réfringent ; gl : glycogène ; mi : mitochondrie ; X 33 600.
- Fig. b g.r : granule réfringent ; mi : mitochondrie dont les crêtes sont disposées en fer àcheval ; X 16 200.
- Fig. c Des amas denses (a.d) sont parfois entourés d'une membrane (index) ; e.o : enveloppe ovocytaire ; mi : mitochondrie ; X 11 500.
- Fig. d mi : mitochondrie très modifiée ; X 30 800.

Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$  (a et d) et 1  $\mu$  (b et c).



La couche périphérique des corpuscules et des granules est beaucoup plus dense après double coloration (acétate d'uranyle et citrate de plomb) qu'après la coloration au seul citrate de plomb. Leurs zones centrales ne montrent qu'un réseau fibrillaire lâche après double coloration et présentent une forte condensation de grains denses périphériques après coloration simple.

Au début du stade 3, ils sont dispersés dans tout le cytoplasme, parmi les corps multivésiculaires et les corps denses (Pl. 30, fig. a); des mitochondries les accompagnent toujours (Pl. 32, fig. b). En fin de ce stade les granules sont le plus souvent visibles à la périphérie de l'ovocyte. Leur diamètre peut atteindre 3  $\mu$ .

L'étude cytochimique en microscopie photonique montre que le matériel des corpuscules pourrait être de nature glycoprotéique (coloration par le PAS même après action de l'amylase salivaire (Pl. 26, fig. i et j) et par les réactifs des protéines tels que le bleu de bromophénol mercurique).

## Accumulation des réserves vitellines

L'accumulation des réserves vitellines est rapide. Elles sont de trois types : le glycogène apparaît le premier, immédiatement suivi par les lobules lipidiques ; les plaquettes protéiques se déposent les dernières.

#### . Le glycogène

En microscopie photonique, le glycogène est coloré par le PAS Dimédon et apparaît diffus dans tout le cytoplasme.

Les colorations classiques de la microscopie électronique ou la technique de SELIGMAN modifiée par THIERY (1967) mettent en évidence des granules isolés ou en rosettes (formes  $\beta$  et  $\alpha$  de DROCHMANS, 1962). Certains amas de glycogène ont une taille intermédiaire (Pl. 33, fig. a, b et c). Les rosettes, isolées ou groupées, sont parfois observées à proximité ou au contact de citernes ergastoplasmiques (Pl. 33, fig. b et c). En fin de vitellogenèse, le glycogène est abondant entre les lobules lipidiques et les plaquettes de vitellus protéique (Pl. 37, fig. c).

#### . Le vitellus lipidique

En microscopie photonique, les lipides sont bien colorés par le noir soudan B, sur coupes de tissu frais effectuées au cryostat ou sur coupes semi-fines dans l'epon (Pl. 35, fig. g et h).

Depôt de glycogène (vitellogenèse).

Figs a et b - Technique de SELIGMAN modifiée par THIERY (1967).

Fig. a - Le glycogène est dispersé dans le cytoplasme. v.l : vitellus lipidique ; v.p : vitellus protéique ; X 17 500.

Fig. b - Le glycogène apparaît sous forme  $\propto$  ( $\propto$ ) et  $_{\mathcal{O}}$  ( $_{\mathcal{O}}$ ); il est parfois accolé aux citernes du reticulum (flèches); v.p: vitellus protéique; X 35 000.

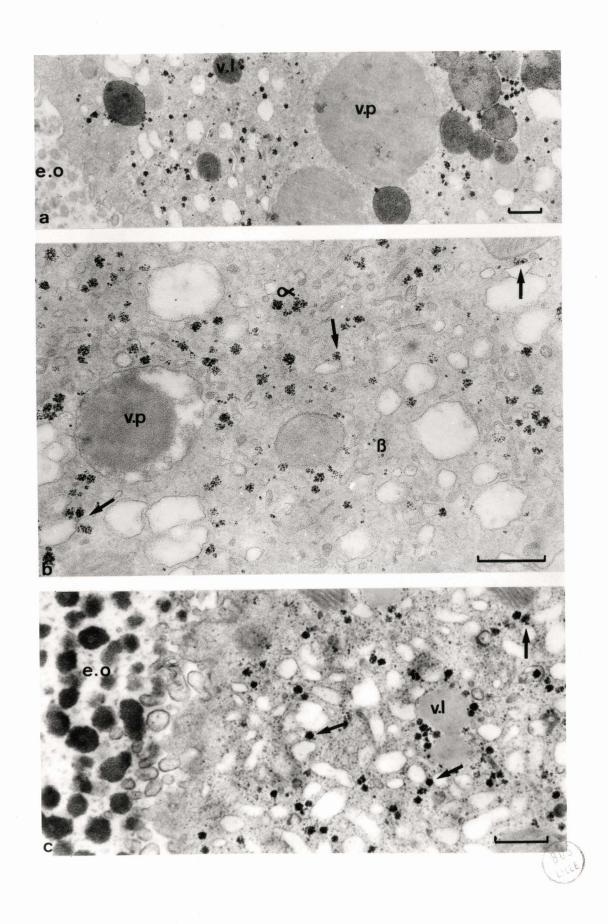
Fig. c - Acétate d'uranyle et citrate de plomb.

Le glycogène est parfois accolé aux membranes du reticulum

(flèches) e.o: enveloppe ovocytaire; v.l: vitellus lipidique;

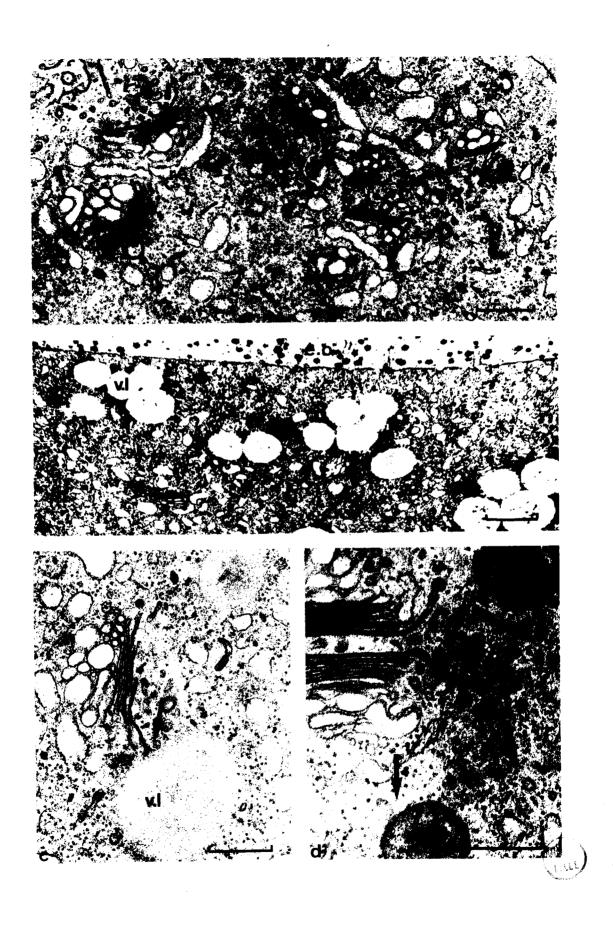
X 26 600.

Les échelles correspondent à 0,5 //.



Depôt du vitellus lipidique.

- Fig. a Le reticulum lisse (r.e) est souvent proche de l'appareil de Golgi (g) ; il lui est parfois même continu (flèche) ; X 29300.
- Fig. b A la périphérie cellulaire, le vitellus lipidique (v.l) apparaît souvent au voisinage de l'appareil de Golgi (g); e.o: enveloppe ovocytaire; X 14 000.
- Fig. c Des saccules des dictyosomes (d) sont parfois accolés (flèche) au vitellus lipidique (v.1); X 35 000.
- Fig. d Des vésicules issues des dictyosomes (d) sont parfois accolées aux goutelettes lipidiques (v.1) (flèche); X 57 000.
- Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$ (a, c et d) et 1  $\mu$ (b).



L'étude ultrastructurale met en évidence des associations fréquentes entre le reticulum et les dictyosomes, à la périphérie de l'ovocyte (Pl. 34, fig. a). Un même matériel floconneux semble être visible dans les citernes du reticulum et dans les saccules de l'appareil de golgi qui leur sont contigus (Pl. 34, fig. a).

Les premières gouttelettes lipidiques apparaissent à la périphérie de la cellule, à proximité de ces associations (Pl. 34, fig. b). Les saccules du pôle interne des dictyosomes et les vésicules qui s'en échappent présentent un matériel dense et homogène; ils sont parfois accolés à des lobules lipidiques (Pl. 34, fig. c et d). Les gouttelettes lipidiques fusionnent et le vitellus lipidique est abondant en fin de vitellogenèse (Pl. 37, fig. c).

## . Le vitellus protéique

En microscopie photonique, des granules apparaissent à la périphérie ovocytaire, s'accroissent (leur taille peut atteindre 15 à 20 μ) et envahissent tout le cytoplasme. Ils sont de nature glycoprotéique (bien colorés par le PAS même après action de l'amylase salivaire (P1. 35, fig. a et b), par le bleu de bromophénol mercurique (P1. 35, fig. e) sauf après traitement par la pepsine chlorhydrique et par le Millon); ils contiennent des protéines à radicaux SH (D.D.D. sauf après blocage par la n-ethyl-maléimide) (P1. 35, fig. f) et des protéines basiques (vert solide à pH 8,2 avec ou sans hydrolyse par l'acide trichloracétique) (P1. 35, fig. d).

L'enveloppe ovocytaire réagit aux mêmes colorants, toutefois plus faiblement que le vitellus protéique.

L'étude ultrastructurale montre à sa périphérie des granules denses, qui semblent fusionner et migrer vers la membrane de l'ovocyte et dont la taille peut atteindre 250 mµ (Pl. 36, fig. a). La membrane ovocytaire présente de nombreuses microvillosités enchevêtrées, ne renfermant qu'un matériel fibrillaire disposé parallèlement à leur axe.

Des vésicules de pinocytose apparaissent entre les microvillosités; elles sont caractérisées par un revêtement de matériel à disposition radiale et entourées d'un halo cytoplasmique clair (Pl. 36, fig. b et d). L'aspect de leur contenu rappelle celui des granulations de l'enveloppe ovocytaire.

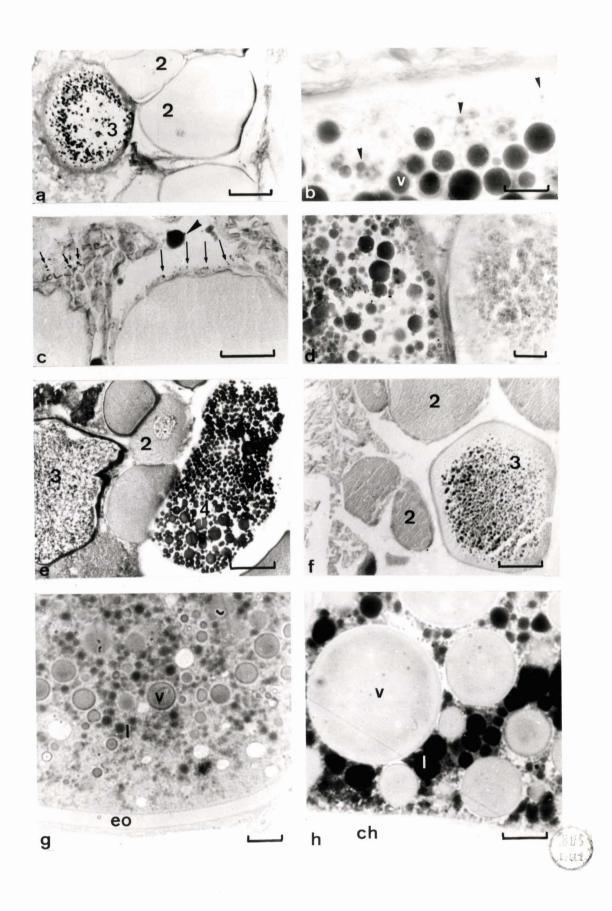
Les vésicules se détachent de la membrane, semblent fusionner et constituer des tubules et des vésicules importantes puis des globules de matériel homogène et très dense aux électrons (Pl. 36, fig. b et c). Ces globules constituent les plaquettes vitellines ; ils sont enveloppés par une

Etude cytochimique des réserves protéiques et lipidiques.

- Figs a, b, c, d, e et f Vitellus protéique.
- Figs a, b et c Smith; P.A.S. salive.
- Fig. a Les cellules en vitellogenèse (3) montrent des granules très colorés ; 2 : ovocytes en prévitellogenèse.
- Fig. b Les plaquettes vitellines (v) semblent issues de la fusion de petits granules périphériques (index).
- Fig. c Des granules colorés sont visibles dans l'épithélium ovarien (flèches courtes), contre les follicules ovocytaires (flèches longues) et peuvent constituer des plages importantes (index) dans la cavité ovarienne.
- Fig. d Recherche des protéines basiques. Carnoy ; vert solide alcalin.

  Les plaquettes de vitellus protéique sont colorées.
- Fig. e Recherche des protéines totales. Carnoy ; bleu de bromophénol mercurique. Dans les ovocytes en vitellogenèse '3) et mûrs (4), les plaquettes vitellines sont colorées ; 2 : ovocytes en prévitellogenèse.
- Fig. f Recherche des protéines à groupements -SH. Carnoy ; D.D.D.

  Dans les ovocytes en vitellogenèse (3), le vitellus protéique est fortement coloré ; 2 : cellules en prévitellogenèse.
- Figs g et h Vitellus lipidique. Coupes dans l'épon ; noir soudan B.
- Fig. g Ovocyte en vitellogenèse. Le vitellus lipidique (1) est bien coloré ; v : vitellus protéique ; e.o : enveloppe ovocytaire.
- Fig. h Ovocyte mûr. Le vitellus lipidique (1) est abondant ; v : vitellus protéique ; ch : chorion.
- Les échelles correspondent à  $100\mu$  (a, e et f), 20  $\mu$  (c), 50  $\mu$  (d et g) et  $100 \mu$  (b et h).

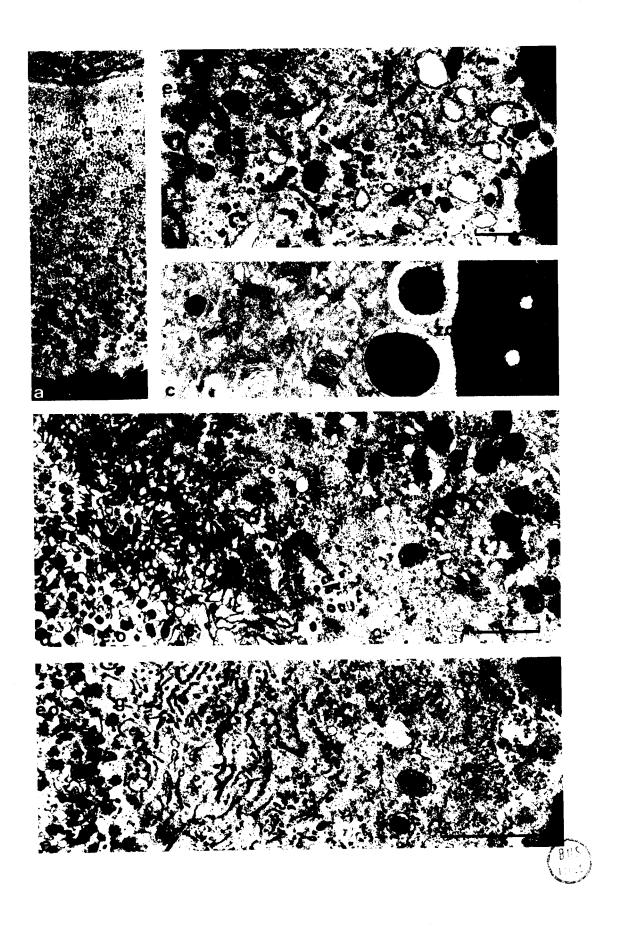


Depôt du vitellus protéique.

- Fig. a 0: ovocyte; c.f: cellule folliculaire. Dans l'enveloppe ovocytaire (e.o), des granules denses (g) semblent fusionner (index); X 12 900.
- Fig. b Des vésicules de pinocytose (flèches) semblent se détacher de la membrane plasmique et fusionner (flèche courbe) avec des plaquettes de vitellus protéique (v.p); e.o: enveloppe ovocytaire; X 31 500.
- Fig. c Fusion de granules protéiques avec des plaquettes de vitellus protéique (flèches). g.p : granule protéique ; v.p : vitellus protéique ; z.c : zone corticale ; X 5 900.
- Fig. d Les vésicules de pinocytose (index) sont abondantes; e.o : enveloppe ovocytaire ; mv : microvillosité ; X 9 100.
- Fig. e A la fin de la vitellogenèse , la membrane plasmique se rompt et libère les granules (g) de l'enveloppe ovocytaire (e.o) ; t : tubules ; v.p : vitellus protéique ; X 13 400.

Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$ (a et b) et 2  $\mu$ (c, d et e).





membrane et présentent un noyau dense entouré d'un cortex clair (Pl. 37, fig. a).

A la fin du stade 3, les microvillosités s'allongent, atteignent 4 à 5 µ et le phénomène de pinocytose devient très important. La membrane cytoplasmique se rompt et les granules de l'enveloppe ovocytaire sont captés par le cytoplasme ; dans cette zone on peut observer de très nombreux tubules (Pl. 36, fig. e).

L'aspect de la cellule en vitellogenèse a été représenté sur la figure 6 (p. 93).

## 5 - Maturation ovocytaire ou stade 4

Après le dépôt des réserves vitellines, l'ovocyte entre dans sa phase de maturation.

# a) Le noyau

Le noyau est très excentré et son volume a diminué ; il n'excède guère 55 à 60  $\mu$  sur 35 à 40  $\mu$  (Pl. 14, fig. d).

La microscopie photonique permet de suivre la condensation des chromosomes en amas bien distincts ; la mitose réductionnelle ne semble pas achevée. Les masses nucléolaires se regroupent en un gros nucléole vacuolisé dont la taille peut atteindre  $8~\mu$  ; ce dernier phénomène est plus ou moins intense selon les ovocytes (Pl. 10, fig. c et d).

En microscopie électronique, le nucléoplasme est très clair. Des vésicules apparaissent à sa périphérie (Pl. 38, fig. c); elles semblent dériver de l'enveloppe nucléaire (Pl. 38, fig. d). Des figures de regroupement du matériel nucléolaire sont également observables (Pl. 29, fig. c).

## b) Le cytoplasme

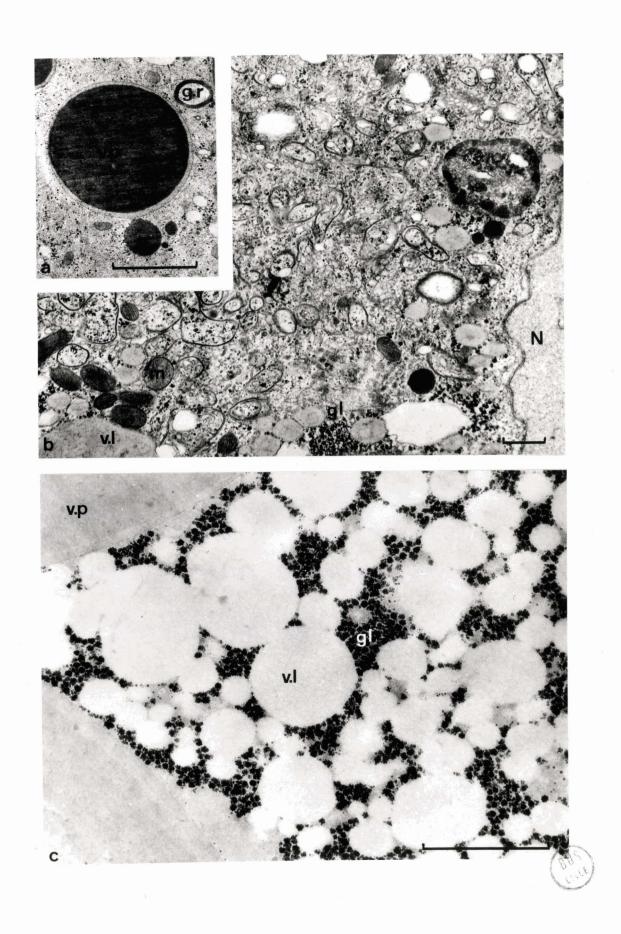
Des vacuoles dont la taille est de 0,5 à 1 µ apparaissent à la périphérie ovocytaire, le plus souvent à proximité des dictyosomes (P1. 39, fig. a). Des vésicules issues de l'extrémité des saccules de l'appareil de golgi ou de son pôle interne semblent fusionner avec les vacuoles (P1. 39, fig. b et c). Le contenu vésiculaire et vacuolaire est dense et granuleux.

Les ribosomes et quelques mitochondries ne sont observés que dans la zone périnucléaire (Pl. 37, fig. b).

Maturation ovocytaire.

- Fig. a Structure des plaquettes de vitellus protéique (v.p) : noter le cortex clair ; g.r : granule réfringent ; X 12 000.
- Fig. b Zone périnucléaire d'un ovocyte mûr. N : noyau ; gl : glycogène ; m : mitochondrie ; v.l : vitellus lipidique ; X 5 000.
- Fig. c Cytoplasme d'un ovocyte mûr (technique de SELIGMAN modifiée par THIERY, 1967) ; gl : glycogène ; v.l : vitellus lipidique ; v.p : vitellus protéique ; X 17 300.

Les échelles correspondent à 2  $\mu$ 



Evolution nucléaire au cours de la vitellogenèse et de la maturation ovocytaire.

Figs a et b - Vitellogenèse.

Fig. a - N : noyau ; v.p : vitellus protéique ; e.o : enveloppe ovocytaire ; X 8 400.

Fig. b - N : noyau ; C · cytoplasme ; ch : amas chromatinien ; m.nu : masses nucléolaire: ; X 5 200.

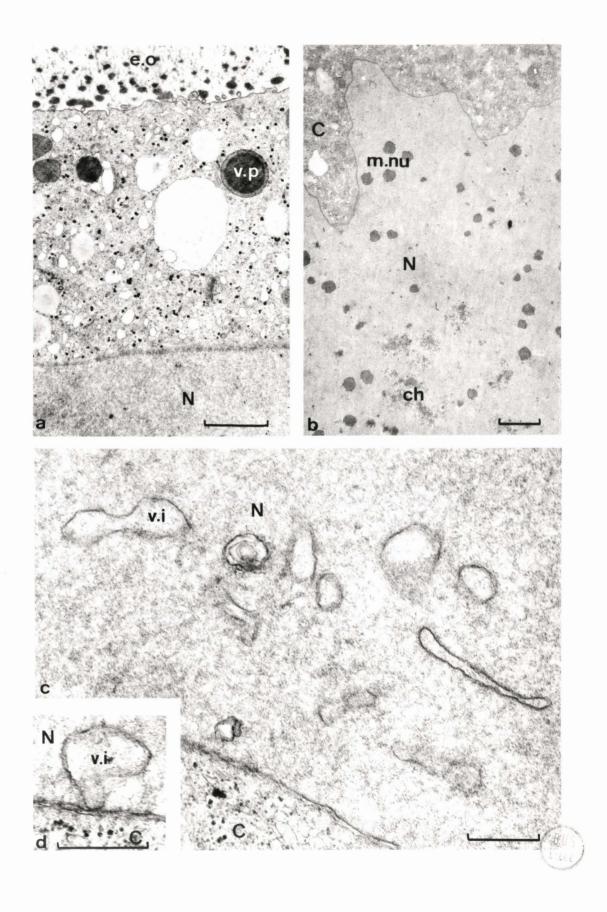
Figs c et d - Maturation ovocytaire.

Fig. c - N : noyau ; C : cytoplasme ; v.i : vésicule intranucléaire : X 39 000.

Fig. d - Les vésicules intranucléaires (v.i) semblent issues de l'enveloppe nucléaire. N : noyau ; C : cytoplasme ; X 47 400.

Les échelles correspondent à 2  $\mu$  (a et b) et 0,5  $\mu$  (c et d).





Vacuoles périphériques dans l'ovocyte en maturation.

Fig. a - G : Golgi ; ch : chorion ; va.p : vacuole périphérique ; x 17.800.

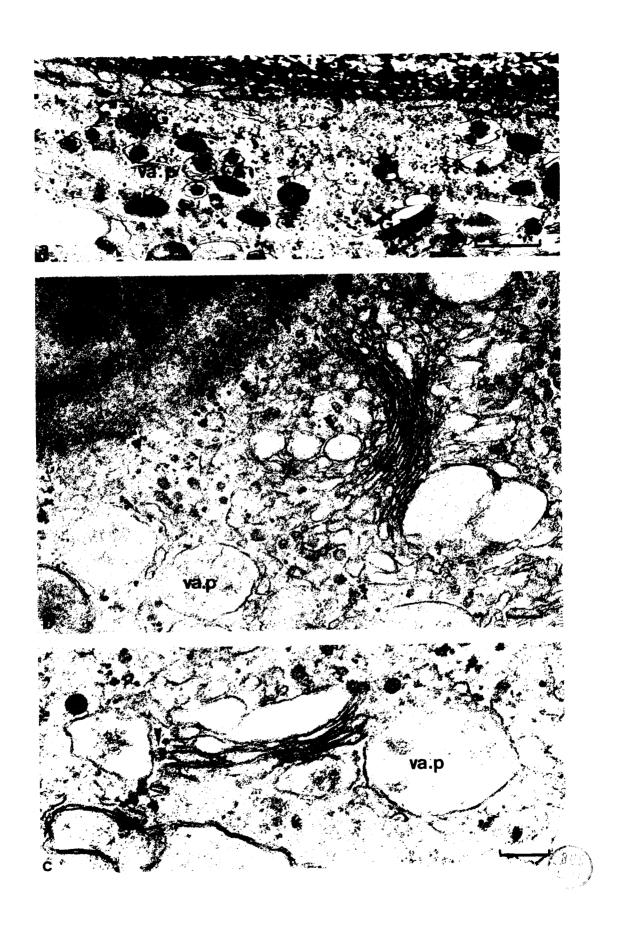
Coloration à l'acétate d'uranyle - citrate de plomb.

Figs b et c - Le pôle interne et les extrémités des saccules (index) de l'appareil de Golgi (G) émettent des vésicules dont le contenu est identique à celui des vacuoles périphériques (va.p). b, x 46.200; c, x 68.000.

Figs b et c - Coloration par le citrate de plomb seul.

Les échelles correspondent à l  $\mu$  (a) et 0,2  $\mu$  ( b et c).





### c) Le chorion

Vers la fin de la phase de maturation, l'ovocyte migre vers la région postérieure de l'ovaire. La première enveloppe ovocytaire se désintègre (Pl. 36, fig. e); elle est remplacée par une seconde enveloppe : le chorion.

Un matériel dense, floconneux, se dépose autour de l'ovocyte, en couches plus ou moins concentriques (Pl. 40, fig. d). Les couches semblent ensuite écartées par un matériel amorphe, peu abondant vers la périphérie (Pl. 40, fig. e). L'enveloppe s'épaissit et atteint de 25 à 30  $\mu$ .

Le chorion se délamine lors de la confection des coupes histologiques et sa nature chimique est difficile à déterminer ; elle semble être au moins partiellement protéinique (coloré par le Millon).

Le chorion semble avoir son crigine dans les cellules épithéliales de la région postérieure de l'ovaire. Ces cellules présentent des dictyosomes dont les vésicules à contenu floconneux semblent fusionner et constituer des vacuoles (Pl. 40, fig. a et b). Le matériel vacuolaire est retrouvé en amas importants dans la lumière ovarienne et autour des ovocytes en phase de maturation (Pl. 40, fig. a, b et c), dont il pourrait constituer le chorion; ce matériel est également visible en microscopie photonique (Pl. 47, fig. h).

La répartition des constituants d'un evecyte mûr est schématisée sur la figure 7 (p. 93).

# C - LES CELLULES DEGENERESCENTES

Nous venons de décrire l'évolution normale des ovocytes jusqu'à leur maturation. Cependant la majorité d'entre eux (90 % environ) dégénèrent en cours de croissance : un ovaire semble capable d'élaborer environ un millier d'ovocytes par an et l'animal ne pond qu'une centaine d'oeufs durant cette période.

La dégénérescence peut survenir à tous les stades de l'ovogenèse.

# 1 - Dégénérescence d'ovocytes au stade 1 (préméiose)

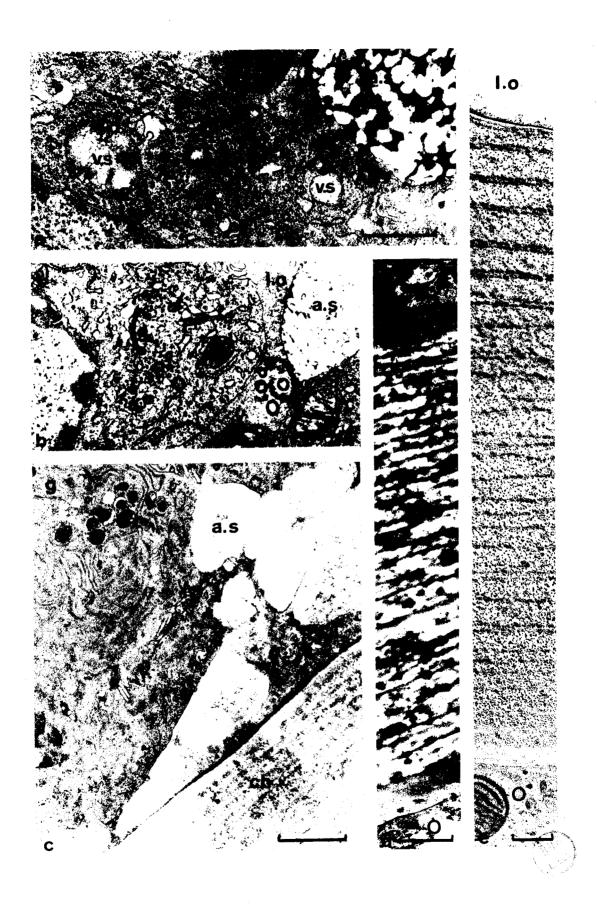
Une plage de matériel homogène et vacuolaire envahit le cytoplasme qui ne contient plus que quelques mitochondries et des rosettes ribosomales (Pl. 41, fig. d); le noyau semble déjà lysé.

Le chorion : élaboration et structure.

Figs a, b et c - Dans les cellules de l'épithélium ovarien, l'appareil de Golgi (g) émet des vésicules qui s'accumulent en vacuoles de sécrétion (v.s). Le contenu de ces dernières est comparable à celui des amas de sécrétion (a.s) observés dans la lumière ovarienne (l.o); ch : chorion; a, x 19.600; b, x 12.600; c, x 19.600.

Figs d et e - Structure du chorion. 0 : ovocyte ; c : cellule de l'épithélium ovarien ; l.o : lumière ovarienne ; d, x 16.000 ;

Les échelles correspondent à  $1 \mu$  (a, b, c et d) et  $2 \mu$  (e).



# 2 - Dégénérescence d'ovocytes au stade 2 (prévitellogenèse)

Le noyau présente des contours sinueux et renferme plusieurs amas denses (Pl. 47, fig. e).

L'étude ultrastructurale met en évidence la digestion locale du cytoplasme périphérique (Pl. 41, fig. a). Le nucléole bourgeonne et renferme parfois une vacuole contenant un matériel dense, constitué de filaments ramifiés et pelotonnés, d'une épaisseur de 600 Å (Pl. 41, fig. b).

Une lame d'ergastoplasme entoure fréquemment l'enveloppe nucléaire (Pl. 41, fig. c). Lorsque les processus de dégénérescence sont avancés, l'enveloppe se rompt et le matériel nucléaire se mêle au cytoplasme.

Les figures initiales de dégénérescence cytoplasmique diffèrent en fonction de l'âge des ovocytes. Chez les ovocytes encore jeunes (stade 2 A), la membrane plasmique peut être le siège d'une endocytose anormalement importante. Des vésicules de 250 m $\mu$ , à contenu peu dense et floconneux s'en détachent (Pl. 42, fig. a). Elles fusionnent et peuvent constituer des vacuoles de grande taille (jusqu'à 10  $\mu$ ), parfois dépourvues de membrane et en rapport direct avec le cytoplasme des cellules folliculaires (Pl. 42, fig. b); ces vacuoles sont d'ailleurs bien visibles en microscopie photonique (Pl. 47, fig. f).

Dans certains cas l'enveloppe ovocytaire présente des excroissances remplies d'un matériel clair, dans les cellules folliculaires et dans les ovocytes (Pl. 42, fig. c et d).

Chez les ovocytes plus âgés (stade 2 B), la vacuolisation du cytoplasme semble plus rare. Par contre, des zones cytoplasmiques périphériques en contact avec la membrane plasmique semblent lysées et renferment très peu de ribosomes (Pl. 43, fig. a).

Le résultat final de la dégénérescence est toujours identique : il se matérialise par une basophilie généralement peu marquée du cytoplasme (Pl. 47, fig. e).

L'étude ultrastructurale met en évidence des amas de grains denses à proximité de mitochondries transformées (Pl. 43, fig. b). La dégénérescence mitochondriale se manifeste par la disparition locale d'un feuillet de la membrane et par la réduction du nombre et de la taille des crêtes (Pl. 43, fig. b). Ultérieurement les mitochondries ont l'aspect d'une vacuole difforme

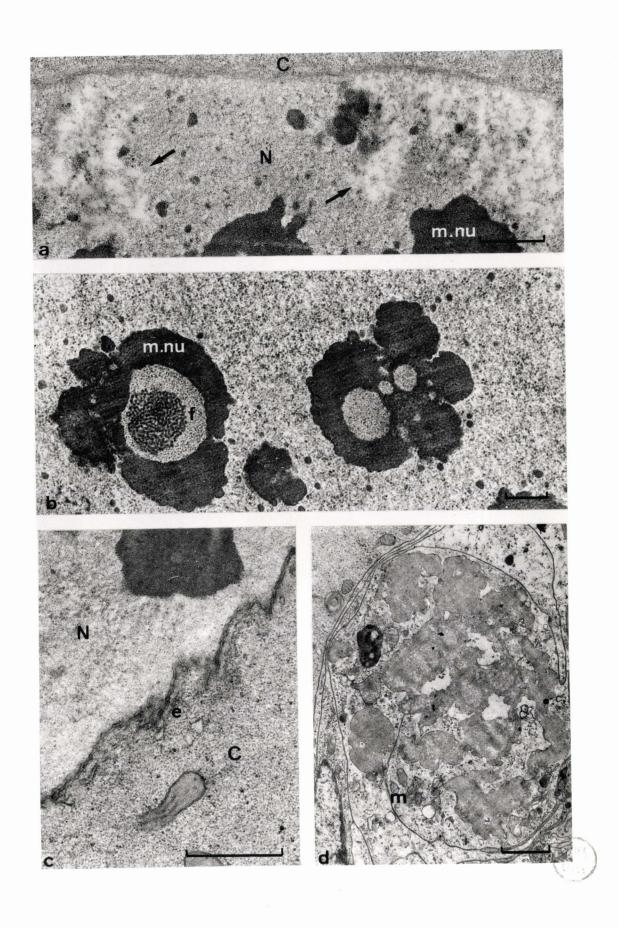
#### PIANCHE 41

# Dégénérescence d'ovocytes jeunes.

Figs a, b et c - Noyaux de cellules prévitellogénétiques.

r segmenting to be a good and

- Fig. a Dans le noyau (N), des plages semblent digérées (flèches);
  C: cytoplasme; m.nu: masses nucléolaires; x 17.400.
- Fig. b Dans une masse nucléolaire (m.nu) une vacuole montre un réseau fibrillaire (f); x 11.800.
- Fig. c Une lame d'ergastoplasme (e) est parallèle à l'enveloppe nucléaire. N : noyau ; C : cytoplasme ; x 25.000.
- Fig. d Cellule préméfotique dégénérée. Une plage de matériel homogène envahit la cellule. m : mitochondrie ; x 6.700.
- Les échelles correspondent à 1  $\mu$  (a, b et c) et 2  $\mu$  (d).

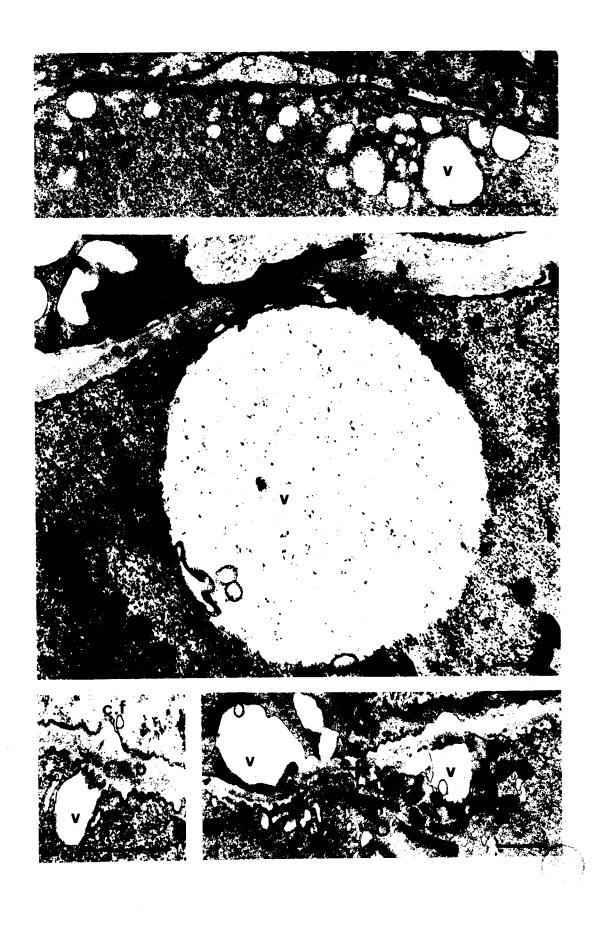


#### PIANCHE 42

Vacuolisation périphérique de cellules prévitellogénétiques

- Fig. a Des vésicules issues de la membrane plasmique (flèches) fusionnent (index) et constituent des vacuoles (v): o: ovecyte; x 23.300.
- Fig. b Une vacuole périphérique (v) est en relation avec les cellules folliculaires (c.f); 0 : ovocyte ; e.o : enveloppe ovocytaire ; x 14.500.
- Fig. c et d L'enveloppe ovocytaire (e.o) montre parfois des exeroissances en forme de vacuole (v) dans les cellules folliculaires (c.f) et les ovocytes (o). Les flèches (fig. c) indiquent une continuité de la vacuole de part et d'autre de l'enveloppe ovocytaire; c, x 23.500; d, x 13.000.

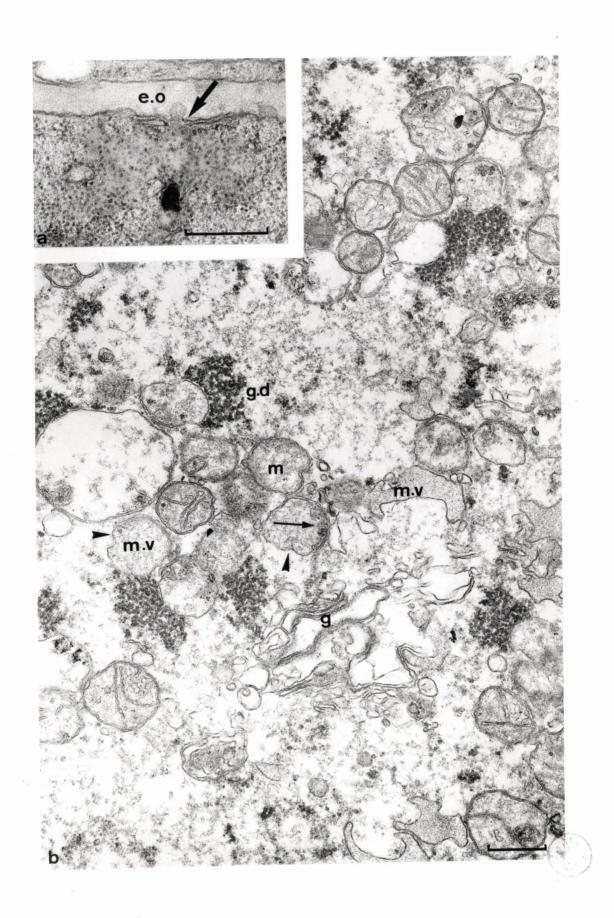
Les échelles correspondent à 1 μ.



Dégénérescence de cellules prévitellogénétiques.

- Fig. a Une plage de cytoplasme périphérique semble lysée (flèche); c.o: enveloppe ovocytaire; x 44.200.
- Fig. b Les mitochondries (m) perdent un feuillet membranaire (index) et leurs crêtes sont réduites (flèche); elles sont parfois vacuolisées (m.v). Les saccules golgiens (g) sont dilatés; g.d: grains denses; x 30.700.

Les échelles correspondent à  $0,5 \mu$ .

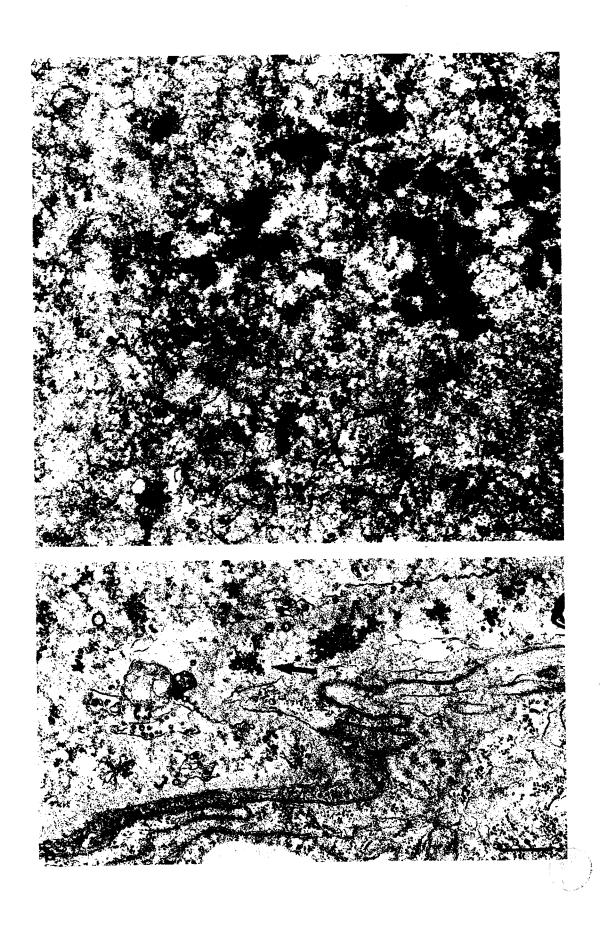


Ovocytes prévitellogénétiques dégénérés.

Fig. a - a;d: amas denses; m: mitochondries. x 24.300.

Fig. b - Noter la présence de grains denses de part et d'autre de l'enveloppe (e.o) d'un ovocyte (G) dégénéré (flèche); x 27.300.

Les échelles correspondent à 0,5  $\mu$ .



à contenu homogène (Pl. 43, fig. b). Simultanément, les saccules golgiens sont dilatés et les ribosomes disparus (Pl. 43, fig. b). Au stade ultime de la dégénérescence, le cytoplasme ne montre que des amas de matériel dense, des granules et des mitochondries très dégradées (Pl. 44, fig. a).

# 3 - Dégénérescence de cellules au stade 3 (vitellogenèse)

L'étude en microscopie photonique montre des images de rétraction nucléaire identiques à celles que l'on observe dans les cellules dégénérant en prévitellogenèse.

Nous suivrons l'évolution des inclusions cytoplasmiques en microscopie électronique.

Ia membrane plasmatique se rompt localement et s'enroule sur elle-même (Pl. 45, fig. a); et le reticulum se vacuolise (Pl. 45, fig. b). Les ribosomes disparaissent. Les crêtes mitochondriales se vésiculisent et la membrane externe des mitochondries, parfois détruite, libère des vésicules dans le cytoplasme (Pl. 45, fig. c). La zone centrale des granules réfringents devient homogène (Pl. 46, fig. a), leur membrane disparaît et libère le matériel dense périphérique, qui semble se condenser autour des mitochondries (Pl. 46, fig. b).

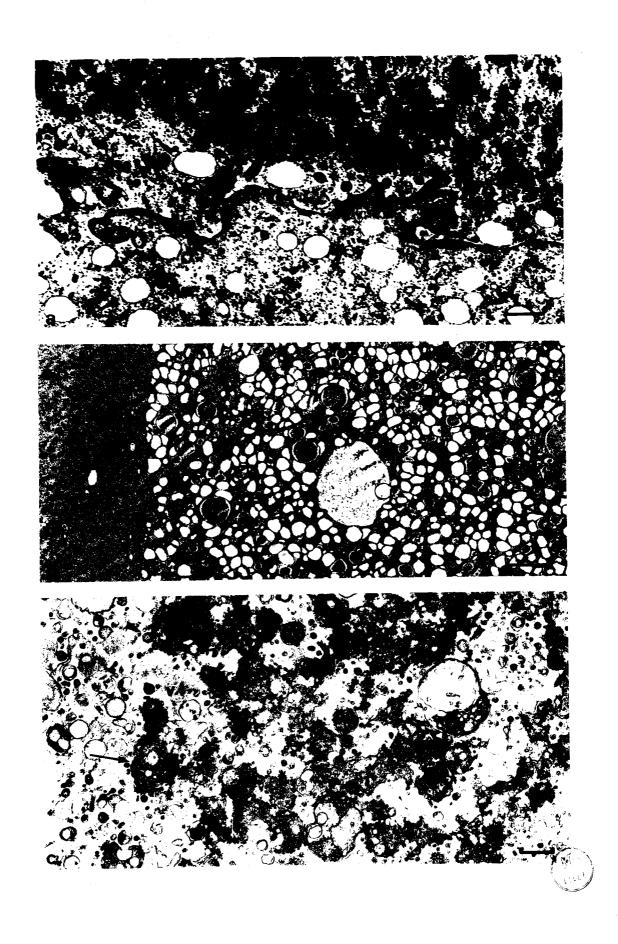
Lorsque la dégénérescence atteint des ovocytes en phase de vitellogenèse avancée, les plaquettes protéiques perdent leur forme sphérique, fusionnent et constituent un réseau anastomosé. Au niveau des plaquettes une déhiscence de la zone corticale est parfois visible (Pl. 48, fig. c). La nature chimique du vitellus semble modifiée, il est plus faiblement coloré par le P.A.S.

4 - <u>Des cellules parvenues au stade 4</u> (maturation) peuvent dégénérer (Pl. 47, fig. g). Les figures, observées en microscopie photonique, sont comparables à celles qui sont relatives à des cellules dégénérant en fin de stade 3.

Nous remarquons donc que, quel que soit le degré d'évolution de la cellule sexuelle (sauf pour le stade 1), les processus dégénératifs sont d'abord visibles au niveau du cytoplasme et se manifestent plus tardivement dans le noyau.

Dégénérescence d'ovocytes en vitellogenèse.

- Fig. a La membrane plasmique (m.p) est rompue ; e.o: enveloppe ovocytaire ; x 21.000.
- Fig. b Vacuolisation du reticulum. e.o: enveloppe ovocytaire;  $\times$  5.600.
- Fig. c Stade avancé de la dégénérescence. Les mitochondries (m) perdent un feuillet membranaire (flèche) et libèren des vésicules (index); v.l: vitellus lipidique; x 17.500.
- Les échelles correspondent à  $1 \mu$  (a et c) et  $2 \mu$  (b).



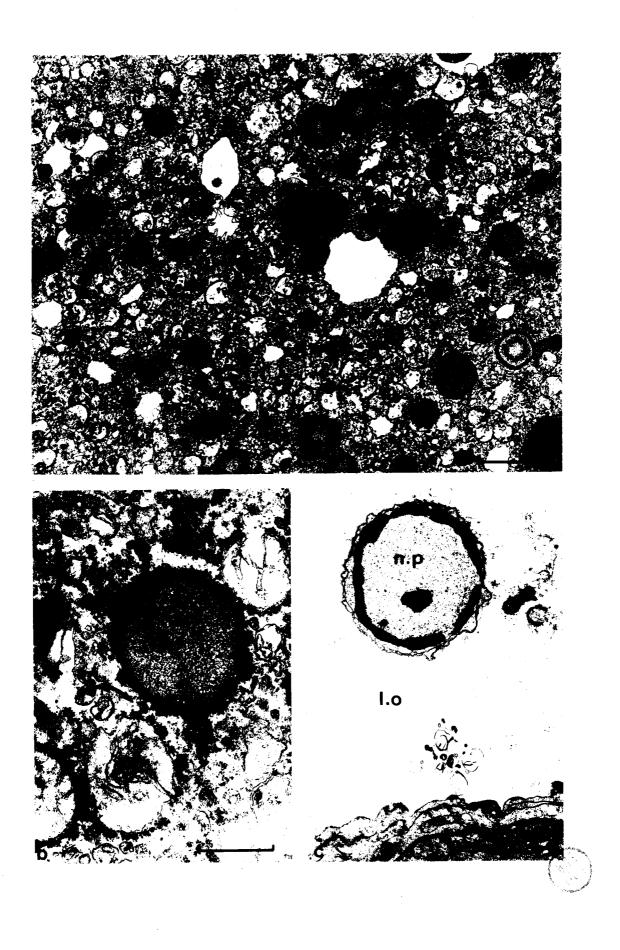
Dégénérescence d'ovocytes en vitellogenèse et de cellules folliculaires

Figs a et b - Ovocytes vitellogénétiques.

- Fig. a -g.r: granules réfringents; m: mitochondries; v.l: vitellus lipidique; x 7.800.
- Fig. b Les granules réfringents (g.r) ont perdu leur membrane. Le matériel de leur couche périphérique, libéré, se condense autour des mitochondries (m) (flèche); x 40.000.
- Fig. c Un noyau pycnotique (n.p.) issu d'une cellule folliculaire dégénérée est libre dans la cavité ovarienne (l.o); O : ovocyte ; x 7.700.

Les échelles correspondent à 2  $\mu$  (a et c) et 0,5  $\mu$  (b).





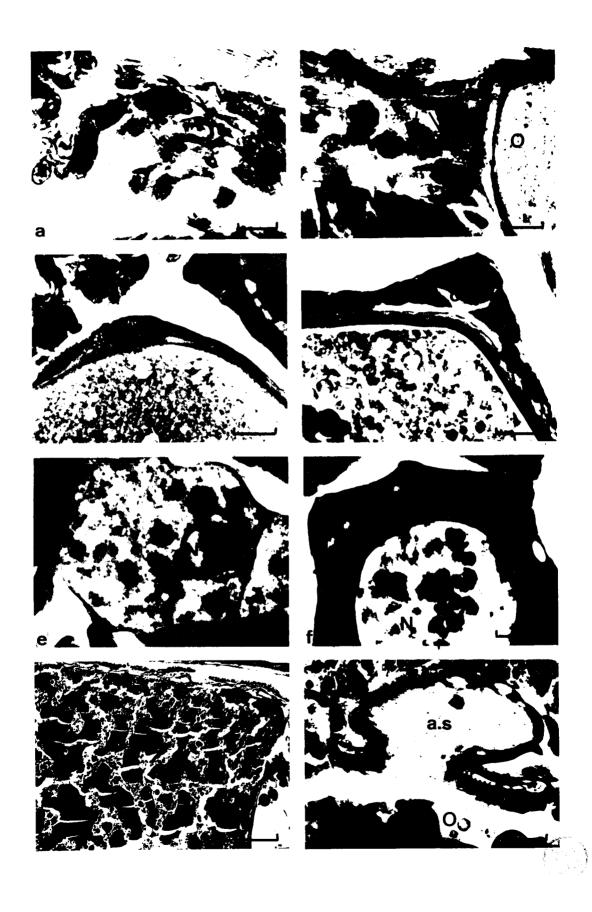
Cellules sanguines (Figs a, b, c et d).

- Fig. a Cellule sanguine (c.s) dans l'épithélium ovarien (e).
- Fig. b Cellules sanguines (c.s) dans un cordon reliant un ovocyte (0) à la paroi ovarienne.
- Figs c et d Cellules sanguines (c.s) situées entre le follicule (f) et l'enveloppe des ovocytes (O).

Cellules dégénérescentes (Figs e, f et g).

- Fig. e Ovocyte en prévitellogenèse ; N : noyau.
- Fig. f Vacuolisation périphérique (v) d'un ovocyte en prévitellogenèse ; N : noyau.
- Fig. g Ovocyte mûr dégénéré.
- Fig. h Dépôt du chorion ovocytaire. Un amas de sécrétion (a.s) qui paraît issu des cellules de l'épithélium ovarien (e.o) est plaqué (flèche) contre un ovocyte (0).

Smith ; hématoxyline de Groat - picroindigocarmin les échelles correspondent à 100  $\mu$  (g), 20  $\mu$  (h) et 100  $\mu$  (a, b, c, d, e et f).



# Devenir des cellules dégénérescentes

L'enveloppe ovocytaire est finalement détruite et le matériel des dégénérats est libéré dans la cavité ovarienne (Pl. 44, fig. b et Pl. 48, fig. a). Les cellules de l'épithélium ovarien semblent parfois englober des portions d'ovocytes dégénérés (Pl. 48, fig. b). Les cordons cellulaires reliant les ovocytes à la paroi pourraient participer à la dégradation de ce matériel; elles renferment parfois de très gros cytolysomes (Pl. 48, fig. d).

Les cellules folliculaires qui accompagnent les cellules en dégénérescence présentent des images de lyse qui se manifestent plus tardivement. La chromatine est condensée à la périphérie du noyau et l'espace périnucléaire est irrégulier. Les noyaux pycnotiques sont libérés dans la lumière ovarienne (Pl. 46, fig. c).

### D - CELLUIES ASSOCIEES A L'OVOCYTE

Lors de l'évolution ovogénétique, on peut remarquer au voisinage de la cellule femelle des cellules qui lui sont généralement associées : les cellules folliculaires et les cellules sanguines.

### l - Les cellules folliculaires

# a) Evolution du follicule

Au stade 2 A, les cellules folliculaires entourent incomplètement l'ovocyte et laissent souvent **nn**e l'enveloppe primaire. Elles se multiplient par mitoses (Pl. 51, fig. d) et constituent rapidement un follicule complet dont l'épaisseur s'accroît (Pl. 49, fig. a).

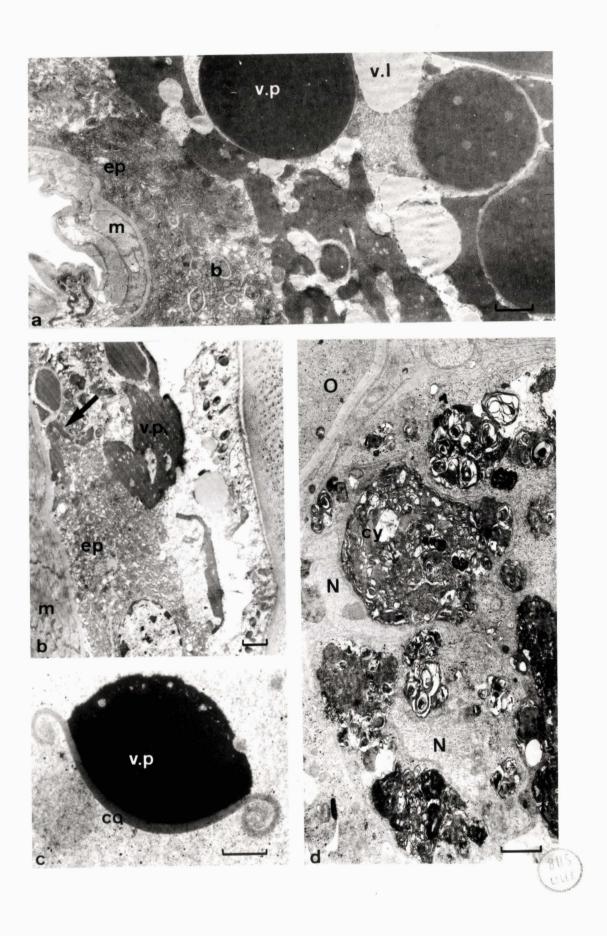
Pendant la vitellogenèse, les cellules folliculaires sont intimement soudées par des desmosomes, des desmosomes septés et un système complexe d'engrenages (Pl. 49, fig. c). Au niveau de leur zone de contact elles présentent de nombreuses microvillosités dans la lumière ovarienne (Pl. 49, fig. b).

Certaines cellules des follicules ou des cordons reliant les ovocytes à l'épithélium ovarien présentent des faisceaux de fibrilles qui semblent converger vers des zones où la membrane plasmique est interrompue (Pl. 50, fig. e). Ces fibrilles sont en relation avec une substance amorphe visible dans les espaces intercellulaires, en contact avec les parois des cellules. Il se pourrait que les fibrilles et le matériel qu'elles semblent acheminer participent à la constitution de cette substance (Pl. 50, fig. b, c et d). Des filaments relient les deux couches externes de l'espace

Dégénérescence d'ovocytes mûrs et leur récupération.

- Figs a b : corps bactérien ; ep : épithélium ovarien ; m : faisceau musculaire ; v.l : vitellus lipidique ; v.p : vitellus protéique ; x 5.300.
- Fig. b Des plages de vitellus protéique (v.p) sont visibles dans les cellules de l'épithélium ovarien (ep) (flèche); m : fibre musculaire; x 3.500.
- Fig. c Dégradation d'une plaquette vitelline ; co : cortex ; v.p: vitellus protéique ; x 6.000.
- Fig. d De gros cytolysomes (cy) sont observés dans les cellules reliant les ovocytes (0) à la paroi ovarienne ; N : noyaux ; x 5.000.

Les échelles correspondent à 2  $\mu$ .



Evolution des cellules folliculaires.

- Fig. a 0 : ovocyte ; c.f : cellule folliculaire ; e.o : enveloppe ovocytaire ; l.o : lumière ovarienne ; x 12.800.
- Fig. b e.o: enveloppe ovocytaire; my: microvillosités; x 28.000.
- Fig. c d : desmosome ; d.s : desmosome septé ; e.o : enveloppe ovocytaire ; x 28.000.
- Fig. d Cellule folliculaire dégénérée. N : noyau ; e.o : enveloppe ovocytaire ; x 15.000.
- Les échelles correspondent à l  $\mu$ .



Croissance et origine de l'enveloppe ovocytaire primaire.

- Fig. a Entre l'ovocyte (0) et les cellules folliculaires (c.f) s'insinue un martériel homogène (index); x 20.500.
- Figs b et c Une substance localisée dans les espaces intercellulaires (e.i) semble se déposer autour de l'ovocyte (0) et constituer l'enveloppe ovocytaire (e.o) (flèches) ; c.f: cellule folliculaire ; b, x 28.700 ; c, x 18.200.
- Figs d et e Dans des cellules folliculaires, des faisceaux de matériel fibrillaire (f) convergent en des points de rupture de la membrane plasmique (flèches). Dans les espaces intercellulaires, la substance dense est accolée à la membrane (astérisques et index) ; e.o: enveloppe ovocytaire ; d, x 12.000 ; e, x 16.200.

Les échelles correspondent à  $1 \mu$ .



### PIANCHE 51

Rapports entre les cellules folliculaires et les ovocytes.

- Figs a et b Au cours de la prévitellogenèse. O : ovocyte ; c.f : cellule folliculaire ; e.o : enveloppe ovocytaire ; a, x 19.200 ; b, x 12.000.
- Fig. c Au cours de la vitellogenèse. Un matériel fibrillaire (f)
  est visible dans les cellules folliculaires (c.f),les canalicules de l'enveloppe ovocytaire et le cytoplasme ovocytaire
  périphérique (flèches); C: ovocyte; e.o: enveloppe
  ovocytaire.
- Fig. d Mitose de cellule folliculaire. N : noyau télophasique ; e.o: enveloppe ovocytaire ; l.o: lumière ovarienne.

Les échelles correspondent à l μ.



intercellulaire (Pl. 50, fig. d et e).

Lors de la maturation ovocytaire les cellules folliculaires dégénèrent ; leur noyau pycnotique reste observable le plus longtemps (P1. 49, fig. d). Les figures observées sont comparables à celles qui ont été décrites lors d'une dégénérescence anticipée, accompagnant celle de l'ovocyte ; toutefois, dans le cas d'une dégénérescence normale, le noyau pycnotique ne semble pas être rejeté dans la lumière ovarienne.

Les ovocytes sont rattachés à l'épithélium ventral par un cordon de cellules identiques aux cellules folliculaires. Ils ne se détachent que pendant la vitellogenèse.

### b) Rapports cellules folliculaires - ovocyte

Des ponts cytoplasmiques sont souvent visibles entre les cellules folliculaires et les ovocytes. Les canalicules de l'enveloppe primaire renferment un matériel fibrillaire, identique à celui qui est décelé dans le cytoplasme des cellules folliculaires et de l'ovocyte, sous la membrane externe (Pl. 51, fig. c). Les rapports apparaissent au début de la prévitellogenèse (Pl. 51, fig. a) et sont surtout fréquents en fin de ce stade (Pl. 51, fig. b); ils se raréfient puis disparaissent au cours de la vitellogenèse.

### 2 - Les cellules sanguines

Dès 1925, KING décrit -sans en définir la nature- des cellules à cytoplasme granulaire dans l'ovaire de <u>L. forficatus</u>. Les éléments observés par cet auteur correspondent vraisemblablement à des cellules sanguines.

Des hémocytes sont nombreux autour de l'ovaire, entre les cellules épithéliales, dans les cordons reliant l'épithélium ovarien aux ovocytes et dans le voisinage immédiat des ovocytes (Pl. 47, fig. a, b, c et d). L'étude ultrastructurale semble mettre en évidence des phénomènes d'effraction des cellules sanguines dans l'ovaire. La basale ovarienne se rompt et enveloppe intimement le diverticule de la cellule sanguine (Pl. 52, fig. a).

Les hémocytes constituent parfois des amas importants sous l'épithélium ovarien (Pl. 52, fig. c). Ils migrent dans les espaces intercellulaires, notamment au niveau des cordons reliant les ovocytes à la paroi ovarienne (Pl. 52, fig. b). Ils s'insinuent sous le follicule et sont visibles contre l'enveloppe d'ovocytes à des stades d'évolution avancée : fin de

### Cellules sanguines

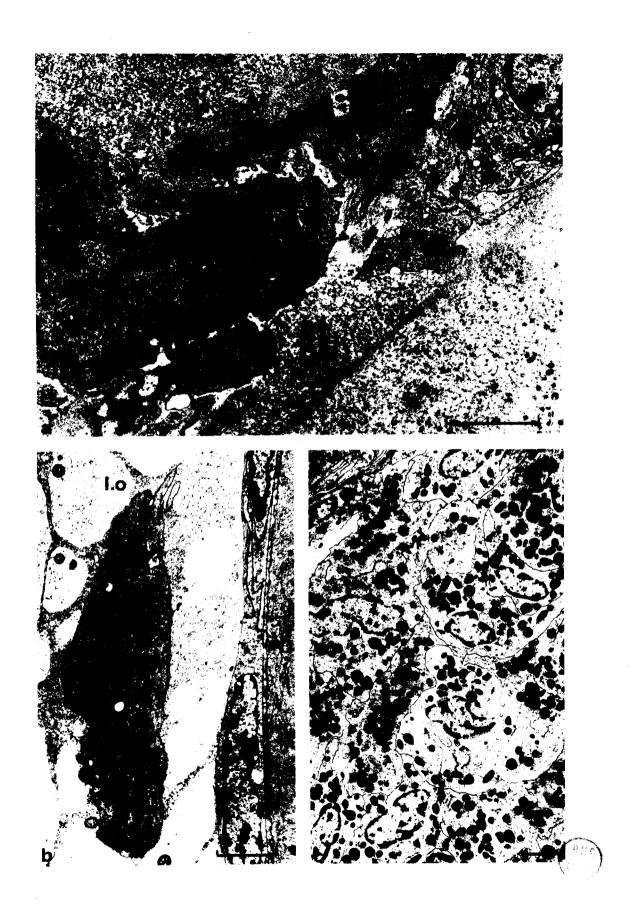
Figs a - b : basale ; c.s : cellules sanguines ; ep : cellule épithéliale. Le diverticule (d) appartient à la cellule sanguine de gauche ; x 12.500.

Fig. b - 0 : ovocyte ; c.s: cellule sanguine ; l.o: lumière ovarienne ;  $\times$  8.000.

Fig. c - Amas de cellules sanguines. 0 : ovocyte ; x 5.000.

Les échelles correspondent à 2  $\mu$ .





prévitellogenèse et vitellogenèse, exceptionnellement contre celle des ovocytes plus jeunes, Une couche de substance comparable à celle de l'enveloppe ovocytaire les entoure.

Nous avons résumé dans un tableau l'évolution des constituants cellulaires au cours des différents stades ovogénétiques et tenté de trouver une relation entre les évolutions cytologiques et physiologiques (tableau III, p. ).

L'examen du tableau III permet les constatations suivantes :

#### 1 - Noyau et activité nucléaire

L'activité nucléaire est surtout intense pendant la prévitellogenèse et au début de la vitellogenèse. Les pores nucléaires sont très nombreux pendant la période précédant l'accumulation des réserves, le matériel nucléolaire augmente considérablement et les grains chromatiniens sont abondants. Les extrusions nucléaires sont fréquentes.

L'activité nucléaire décroît considérablement lors du dépôt des substances de réserves.

#### 2 - Les organites cytoplasmiques

Les ribosomes et les mitochondries sont très abondants pendant la prévitellogenèse. Leurs potentialités synthétiques et énergétiques semblent complètement épuisées au cours de la vitellogenèse. Les métabolites apportés soit par la pinocytose prévitellogénétique, soit par les cellules folliculaires pourraient participer à l'activité cellulaire. Les protéines vitellines d'origine pinocytotique ne seraient pas simplement accumulées, mais subiraient des transformations de nature chimique (SCHJEIDE et coll., 1970).

Comme c'est le cas dans la plupart des ovogenèses, le stockage des réserves vitellines semble demander une longue préparation, réalisée au cours de la prévitellogenèse.

3 - Les activités physiologiques de la membrane plasmique et des dictyosomes varient en cours à ovogenèse.

En effet la membrane semble capable de capter diverses substances : des enzymes et probablement divers métabolites au cours de la prévitellogenèse, des protéines vitellines au cours de la vitellogenèse.

Stades	:	:	: : :	•	
Consti- tuants cellulaires	: Ovogonie :	Prémélose Stade 1	: Prévitellogenèse : : Stade 2 :	Vitellogenèse Stade 3	Maturation Stade 4
	:	:	 		:
NOYAU dimension max.	: : 10 µ	: 15 à 20 µ	: : 50 à 70 µ ;	70 а 80 μ	40 ≩ 60 µ
Chromosomes	: non visibles :	: préleptotène : → diplotène	: plumeux :	plumeux	condensés
Chromatine	: : condensation : périphérique	: amas : chromosomiques	: nombreux amas diffus :	nombreux amas diffus ,	amas chromosomiques
	:	: La chromati:	ne sexuelle et l'organisateur nucléol :	Aire sont toujours visibles	
Grains chromatiniens	nombreux	nombreux	nombreux	rares	rares ou absents
Nucléole	: unique :	: bourgeonnement : nucléolaire	: : nombreuses masses nucléolaires; : délamination	émiettement ; regroupement à un pôle nucléaire	condenstation ; gros nucléole vacuolisé
Enveloppe	: vésiculeuse :	: vésiculeuse	: régulière ; / nb. pores ::	nombreux pores	contours sinueux
CYTOPLASME Ribosomes	: : rosettes :	: rosettes	: : très nombreux et dispersés : :	> de leur nombre	zone périnucléaire e cytopl. périphérique
Reticulum	: rare	: rare	: granulaire et périphérique :	lisse et vacuolisé	zone périnucléaire
Lamelles annelées	: : 0	: 0	: peu abondantes :	peu abondantes	?
Mitochondries	: : peu nbrses :	: peu nbrses	: : très nbrses ; modifications mor- : : phologiques en fin de stade :	⅓nombre en fin de stade	zone périnucléaire
Appareil de Golgi	: rare :	: rare	: associé aux lysosomes (GERL) : :	associé au vitellus lipidique	: associé aux vacuoles périphériques
Microtubules	: abondants	t abondants	: zone périnucléaire + travées : cytopl.,st 2A ; 0,st 2B :	0	0
Extrusions nucléaires	rares	rares	très abondantes	o	0
Formations lysosomiales	; ; 0	0	amas importants	dispersées	?
"Globule"	: : 0	: 0	: un ou plusieurs :	?	?
Granules réfringents	. 0	; 0 ;	0	abondants ; peu à peu repoussés à la périphérie	surtout à la périphe rie
Glycogène	: 0	: 0	0	formes β et surtout ×	abondant (surtout 국
Vitellus lipidique	0	. 0	0	d'abord périphérique puis dispersé	abondant
Vitellus protéique	: : 0	: 0 :	0	d'abord périphérique puis dispersé	abondant
Vacuoles périphériques	0	: 0	0 :	apparaissent en fin de stade	nombreuses
Membrane plasmique		: : : : : : : : : : : : : : : : : : :	pinocytose importante : (vésicules lisses et "hérissées"):	microvillosités et pinocytose importante (vitellus protéique)	: 
Enveloppes ovocytaires	0	: : 0 :	: croissance enveloppe primaire : : (I)	disparition enveloppe primaire(I) en fin de stade	dépôt du chorion (enveloppe II)
CELLUIES FOLLICUIAIRES	0	: 0	: : constitution du follicule : rapports étroits avec l'ovocyte :	l'rapports avec l'ovocyte ; dégénèrent en fin de stade	0

Tableau III - Evolution des constituants cellulaires en fonction des différents stades ovogénétiques.

Les dictyosomes paraissent impliqués dans l'élaboration d'enzymes pendant la prévitellogenèse et pourraient participer à la synthèse de lipides au cours de la vitellogenèse. Lors de la maturation, ils émettent des vacuoles périphériques.

de gauche à droite, Figs 4, 5, 6 et 7.

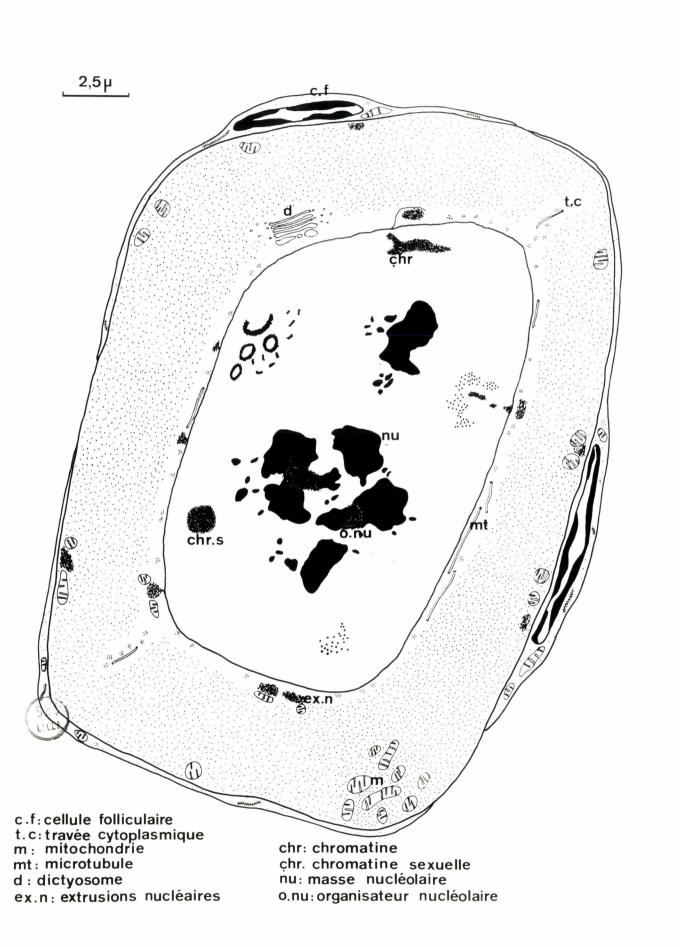
Fig. 4 - Prévitellogenèse, stade 2 A.

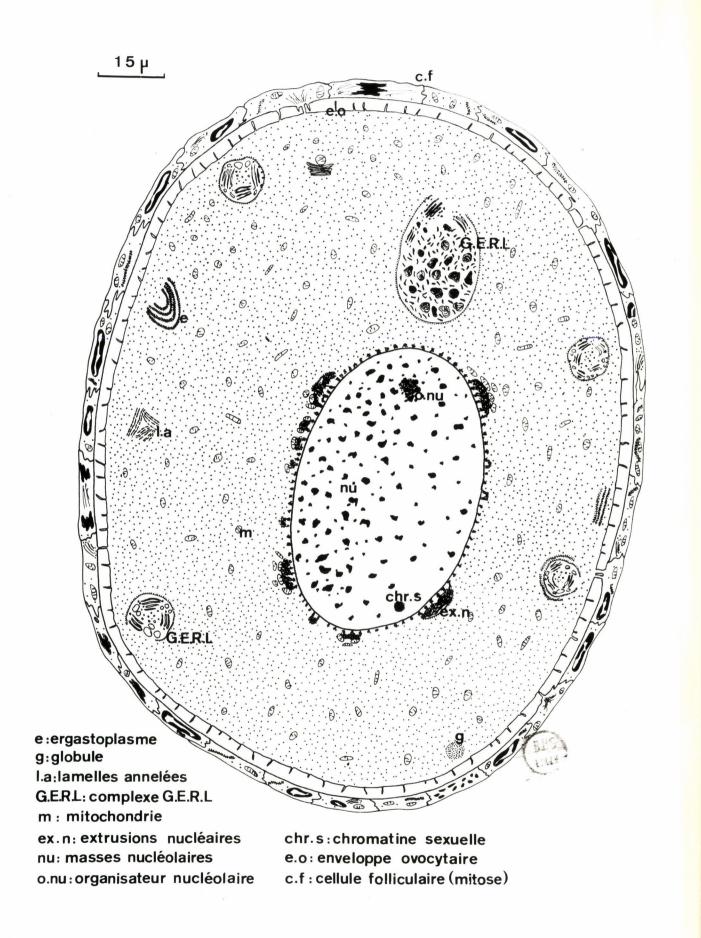
Fig. 5 - Prévitellogenèse, stade 2 B.

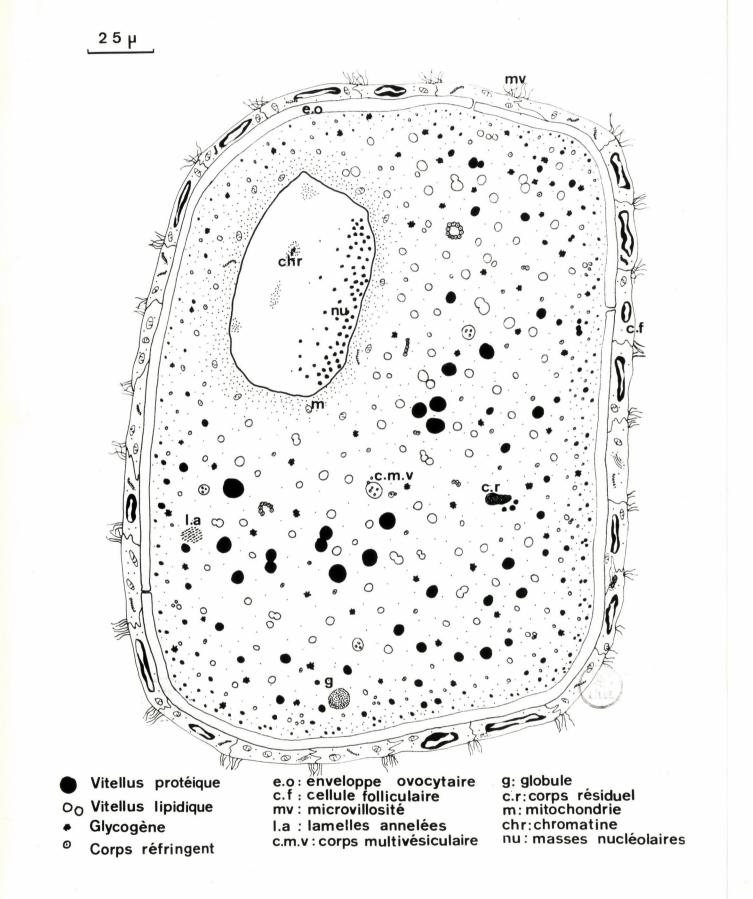
Fig. 6 - Vitellogenèse.

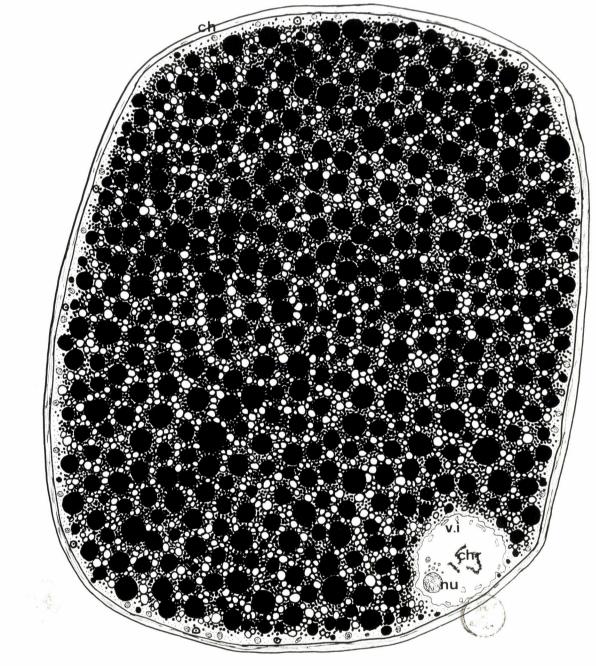
Fig. 7 - Maturation.











Vitellus protéique

Glycogène
O Corps réfringent

Vacuole périphérique

ch: chorion nu: nucléole chr: chromosomes v.i:vésicules intranucléaires

#### DISCUSSION

Nous envisagerons d'abord l'origine des cellules ovariennes, puis la structure et le rôle des différents organites de l'ovocyte de <u>L. forficatus</u>. Nous préciserons également les données nouvelles apportées par notre travail et nous essaierons de comparer nos résultats à ceux qui ont été obtenus dans d'autres espèces. Nous envisagerons enfin les cellules associées aux éléments germinaux, cellules folliculaires et cellules sanguines.

#### I - ORIGINE DES DIFFERENTS TYPES CELLULAIRES

Chez L. forficatus, les cellules germinales prennent naissance dans la paroi ovarienne ventrale ; nous y avons recherché l'existence de cellules souches. Certains éléments montrent de gros cytolysomes, caractère qui semble fréquent dans les cellules en voie de dédifférenciation (HAY, 1959; KARASAKI, 1964; BOILLY, 1968). Leur évolution pourrait peut être donner naissance soit aux cellules sexuelles, soit aux cellules folliculaires.

Des irradiations aux rayons X, ainsi qu'elles ont été effectuées chez l'Echinoderme <u>Asterina gibbosa</u> (BRUSIE, 1969) permettront peut-être de préciser l'origine de la lignée germinale femelle.

## II - LA CELLULE SEXUELLE

#### A - LE NOYAU

#### 1 - La chromatine

Chez <u>L. forficatus</u>, les chromosomes sont déspiralisés mais sont toujours observables, alors qu'ils disparaissent généralement au cours des différentes ovogenèses animales (RAVEN, 1961).

#### 2 - Les corps denses et les fibrilles

Nous avons mis en évidence des formations denses dans les noyaux des jeunes ovocytes (Pl. 12, fig. b, c et d). Leur structure rappelle celle des éléments observés dans les ovocytes de <u>Priapulus</u> (NØRREVANG, 1963, 1965) et de <u>Xenopus</u> (YEW, 1969). Selon ces auteurs, elles pourraient correspondre à de la chromatine à l'état condensé.

Les fibrilles intranucléaires, que nous avons observées exceptionnellement toutefois, ont été également décrites dans les ovocytes d'<u>Ophioderma panamensis</u> (KESSEL, 1968 a). Elles sont parfois abondantes dans les
noyaux de <u>Paramecium caudatum</u> (VIVIER et ANDRE, 1961) et les neurones de
poulet (MASUROWSKY et coll., 1970). Nous ne pouvons émettre aucune hypothèse
quant à leur nature et à leur fonction.

### 3 - Le nucléole

# a) Ultrastructure

Les granules, de 200 Å environ, sont localisés à la périphérie de la masse centrale fibrillaire. Cette disposition semble fréquente; elle a été observée dans les ovocytes de l'Echinoderme Paracentrotus (SANCHEZ, 1970), des Batraciens Triturus (MILLER, 1966), Ambystoma mexicanum (IANE, 1967) et Xenopus laevis (VAN GANSEN et SCHRAM, 1968) et dans de nombreux types cellulaires (HAY, 1968).

Nous avons parfois remarqué des éléments fibrillaires dans les granules. Cette observation rejoint celles qui ont été faites dans des ovocytes de Paracentrotus (SANCHEZ, 1970) et de Xenopus laevis (VAN GANSEN et SCHRAM, 1968) et dans des cellules des glandes salivaires de Chironomus (MARINOZZI et BERNHARD, 1963) et du pois (HYDE et coll., 1965). Selon ces derniers auteurs, les granules pourraient résulter d'une condensation des fibrilles. Une telle hypothèse est cependant contradictoire avec la nature biochimique de chacun des deux composants (voir HAY, 1968; MILLER et BEATTY, 1969).

# b) Nature

Les masses nucléolaires contiennent des protéines basiques et de l'ARN dont la teneur baisse au cours de la prévitellogenèse. Des protéines basiques nucléolaires ont été décelées dans des ovocytes des Echinodermes: Asterias (GEUSKENS, 1965), Paracentrotus (SANCHEZ et IANET, 1966) et de Néréidiens (BERTOUT, 1970); elles seraient associées à de l'ARN qui passerait dans le cytoplasme (IECHENAULT, 1968). La diminution de la basophilie du nucléole est fréquente au cours de l'ovogenèse animale (RAVEN, 1961).

Les protéines à groupements SH, que nous avons mises en évidence dans les masses nucléolaires, caractériseraient des cellules à métabolisme

intense (GABE et MORTOJA-PIERSON, 1956).

## c) Augmentation de volume et fragmentation nucléolaire

Chez <u>L. forficatus</u>, le volume du matériel nucléolaire augmente plusieurs centaines de fois pendant la prévitellogenèse. Un accroissement comparable a été observé au cours de nombreuses ovogenèses (HAY, 1968). Il pourrait correspondre à une synthèse importante d'ARN de nature ribosomal (GOULD-SOMERO et SCHROEDER, 1969), destiné au cytoplasme (FAVARD-SERENO, 1968; DHAINAUT, 1970).

Ia fragmentation des masses nucléolaires permet une augmentation de surface considérable. Bien chez L. forficatus (IUBBCCK, 1861; NATH, 1924; KOCH, 1925), elle est observée chez les lithobiomorphes et les scolopendromorphes mais non chez les géophilomorphes (KOCH, 1925). Elle a aussi été décrite chez <u>Scutigera</u> (BEAMS et SEKHON, 1968). La multiplicité des nucléoles est d'ailleurs fréquente dans les ovocytes animaux (HAY, 1968) et particulièrement chez les Batraciens (BROWN et RIS, 1959).

La constitution des lames de matériel nucléolaire permet également une forte augmentation de la surface. Lors de cette phase, les extrusions nucléaires sont très abondantes dans le cytoplasme périnucléaire. Une délamination comparable a été décrite dans des ovocytes de Scolopendre (BEAMS et SEKHON, 1967), de Scutigera (BEAMS et SEKHON, 1968), de Gryllus (FAVARD-SERENO, 1968) et de Chatte (MORATO, 1964). Elle pourrait être due aux mouvements du nucléole dans le nucléoplasme (BEAMS et SEKHON, 1968; GONZAIES et NARDONE, 1968).

La désintégration des lames suit l'arrêt de l'accroissement volumétrique du noyau. Les extrusions nucléaires deviennent alors rares et cette désintégration pourrait correspondre à la fin du transfert d'ARN vers le cytoplasme (FAVARD-SERENO, 1968; DHAINAUT, 1970).

La reconstitution d'un nucléole massif a été également décrite chez les Batraciens (WICHNITZER, 1967); comme chez L. forficatus, elle est fort variable selon les ovocytes (BRACHET et coll., 1970).

# d) Organisateur nucléolaire

Chez L. forficatus, la chromatine associée au nuclécle est nettement visible en microscopie électronique. Elle ne peut toutefois pas être décelée après la réaction de Feulgen, et diffère en cela de celle qui est observée chez les Insectes : <u>Tipula</u> (LIMA de FARIA et MOSES, 1966), <u>Gryllus</u> (KUNZ, 1969) et certains <u>Dytiscidae</u> (KATO, 1968; GALL et coll., 1969; URBANI, 1969), chez les Batraciens : <u>Xenopus</u> (MAC GREGOR, 1968; GALL, 1968) et chez l'Echinoderme Arbacia punctulata (BAL et coll., 1968).

Les masses nucléolaires ne semblent pas contenir d'ADN (réaction de BERNHARD); ce résultat diffère également de celui qui est obtenu chez les Amphibiens: Triturus (MILIER, 1966; EBSTEIN, 1969), Xenopus laevis (MAC GREGOR, 1968) et chez le Grillon Acheta (CAXE et ALLEN, 1969).

#### 4 - Les grains chromatiniens

Nous les avons fréquemment observés à proximité de matériel nucléolaire périnucléaire. Ils atteignent une taille de 350 Å et semblent se dégrader au niveau des pores de l'enveloppe nucléaire. Un tel processus a été décrit dans les ovocytes de Rana (CIEROT, 1968) et les cellules somatiques de Mammifères (MONNERON et BERNHARD, 1969); selon ces derniers auteurs, le matériel granulaire en migration vers le cytoplasme se transformerait en matériel fibrillaire avant le passage dans les pores de l'enveloppe nucléaire.

## 5 - L'enveloppe nucléaire

Nous avons observé une irrégularité de l'espace périnucléaire dans les ovogonies et les très jeunes ovocytes; ce fait caractériserait des ovogonies en voie de différenciation en ovocytes (NØRREVANG, 1968).

L'augmentation du nombre de pores, classique au cours de l'ovogenèse animale (NØRREVANG, 1968), serait corrélative d'une intensification du métabolisme (STEVENS et ANDRE, 1969).

La présence de granules centraux et de matériel fibrillaire, souvent observée dans les pores nucléaires, est fréquente dans de nombreuses cellules à métabolisme élevé (FRANLE, 1970); elle a été décrite dans les ovocytes de Batraciens (FRANKE et SCHEER, 1970 a et b).

Quelques formations vésiculeuses ont été rencontrées dans l'espace périnucléaire des cellules de l'épithélium ovarien. Des formations comparables ont été décrites dans des ovocytes d'un Dipneuste, <u>Protopterus aethiopicus</u>

(SCHARRER et WURZELMANN, 1969) et certains tissus végétaux (FALK, 1969); elles ont été étudiées dans les cellules de la vessie gazeuse d'un Poisson, Perca fluviatilis (KIIARSKI et JASINSKI, 1970). Selon ces auteurs, elles proviendraient d'invaginations du feuillet interne de l'enveloppe nucléaire.

La formation de vésicules intranucléaires à partir de l'enveloppe, en fin d'ovogenèse, a été observée également chez l'Annélide Nereis diversicolor (DHAINAUT, 1969).

#### B - LE CYTOPLASME

Nous envisagerons successivement les réactions cytochimiques et les inclusions cytoplasmiques.

#### 1 - Réactions cytochimiques

Le cytoplasme de la cellule prémé otique est acidophile. Il devient très basophile au début de la prévitellogenèse et redevient progressivement acidophile à la fin de ces stade. Ce résultat est comparable à celui qui est obtenu dans les ovocytes de Myriapodes Diplopodes (CRANE et COWDEN, 1968), d'un Echinoderme: Psammechinus miliaris (BACKSTROM, 1965), de Mollusques (DAVENFORT et DAVENPORT, 1965 a), d'Ascidies (DAVENPORT et DAVENPORT, 1965 b) et d'autres espèces (COWDEN, 1966; LECHENAULT, 1968). Les protéines basiques cytoplasmiques pourraient jouer un rôle répresseur des ribosomes (MAGGIO et coll., 1965; COWDEN, 1967).

Nous avons mis en évidence des mucopolysaccharides acides, dont la teneur décroît au cours de la prévitellogenèse. Des polysaccharides cytoplasmiques sont également observés dans les ovocytes de <u>Paracentrotus</u> <u>lividus</u> et <u>Psammechinus miliaris</u> (BACKSTROM, 1966); selon cet auteur, ils auraient également un rôle répresseur des ribosomes.

Chez L. forficatus, il semble que l'ARN stocké dans le cytoplasme durant la prévitellogenèse soit entièrement utilisé au cours de la vitellogenèse. Cette observation diffère de celles qui ont été réalisées chez d'autres espèces où les ovocytes contiennent deux types d'ARN bloqués, respectivement utilisés au cours de la vitellogenèse et pendant l'embryogenèse (LECHENAULT, 1968). L'étude du métabolisme des ARN au cours de l'ovogenèse et de l'embryogenèse nous permettra peut être de préciser ce point.

#### 2 - Les inclusions cytoplasmiques

## a) Les mitochondries

# BUS

#### . Morphologie

La morphologie des mitochondries subit de profondes modifications au cours de l'ovogenèse chez <u>L. forficatus</u>; elle suffirait à déterminer chacun des stades. Des transformations morphologiques mitochondriales sont d'ailleurs souvent observées au cours des gamétogenèses animales (ANDRE, 1962; BEAMS, 1964; NØRREVANG, 1968).

Les figures d'étirement, d'empilement, d'enroulement de mitochondries, que nous avons remarquées en fin de prévitellogenèse, ont été décrites dans les ovocytes d'une Annélide, Enchytraeus albidus (DUMONT, 1969), du Lapin, Oryetolagus cuniculus (ANDERSON et coll., 1970), les spermatocytes du Scorpion, Euscorpius flavicaudis (ANDRE, 1958), dans la corticosurrénale du Hamster (DE ROBERTIS et SABATINI, 1958), dans les glandes prothoraciques de Vers à soie (BEAULATON, 1968), du Criquet, Locusta migratoria migratoriofdes (FAIN-MAUREL et CASSIER, 1970) et dans les cellules tumorales (KEYHANI, 1969). La morphologie des mitochondries a été souvent liée au cycle cellulaire (ANDRE, 1958; FAIN-MAUREL et CASSIER, 1970).

L'organisation en nid d'abeilles des crêtes mitochondriales, que nous avons observée en fin de prévitellogenèse, ne semble avoir été décrite que dans les spermatocytes d'<u>Euscorpius flavicaudis</u> (ANDRE, 1958), le cortex surrénalien du Rat (IDELMAN, 1964) et la glande prothoracique des Vers à soie (BEAUIATON. 1968).

#### . Multiplication des mitochondries

Ia multiplication des mitochondries est toujours importante au cours de la gamétogenèse animale (ANDRE, 1962; BEAMS, 1964; NØRREVANG, 1968).

Chez L. forficatus, les mitochondries sont souvent associées à des extrusions nucléaires pendant la prévitellogenèse. Leur nombre s'accroît au voisinage de ces formations; nous n'avens jamais observé de figures de formation de novo. Leur association avec du matériel d'origine nucléaire est fréquente également dans les auxocytes de Rana (CIEROT, 1968) et le matériel nucléaire induirait la multiplication mitochondriale. Les extrusions nucléaires pourraient amener soit du matériel mitochondrial, soit des intermédiaires métaboliques nécessaires à la formation de mitochondries nouvelles

(ANDRE. 1968).

Les figures d'étirement sont nombreuses dans les ovocytes en fin de prévitellogenèse. La multiplication mitochondriale à partir d'organites préexistants a souvent été signalée (LUCK, 1963, 1965 et revue de ROODYN et WILKIE, 1967). Pour certains auteurs, les figures d'étirement seraient assimilables à de la scissiparité ; ce serait le cas pour les ovocytes d'Oryctolagus cuniculus (ANDERSON et coll., 1970) et les cellules du foie humain (MUGNAINI, 1954).

Chez L. forficatus, un grand nombre de mitochondries disparaissent en fin de vitellogenèse. Cette observation ne semble pas encore avoir été décrite au cours de l'ovogenèse animale; elle est fréquente au cours de la spermatogenèse, notamment chez les Mollusques Mytilus perna (PCURCART et coll., 1965), Mytilus edulis (LONGO et DCRNFEID, 1967) et Nucella lapillus (WALKER et MAC GREGOR, 1968).

#### . Relations mitochondries - ergastoplasme

L'ovocyte de L. forficatus présente des lamelles ergastoplessiques au voisinage des mitochondries. Cette disposition a été observée chez les spermatocytes de la même espèce (DESCAMPS, 1969 a) et chez les evocytes de la ferme (BACA et ZAMBONI, 1967; HERTIG et ADAMS, 1967). Une continuité entre les membranes mitochondriales et réticulaires a été également décrite dans les cellules hépatiques irradiées (GHIDONI et THOMAS, 1970).

L'engratoplasme utiliscraît l'énergie apportée par les mitochondries (FAWCETT, 1966). Pour d'autres auteurs, il pourrait être le lieu de synthèse et de transfert d'enzymes mitochondriales (HERTIG et ADAMS, 1967; DE DUVE, 1969; CHIDONI et THOMAS, 1970).

# b) Le roticulum et les lamilles annelées

Lo développement du reticulum semble très général e cours de l'ovogenèse animale (BEAMS, 1964; NØRREVANG, 1968).

Des lamelles concentriques, comparables à celles que nous avons décrites dans l'ovocyte en prévitellogenèse, ont été observées dans des ovocytes d'une Annélide, Eisenia foetida (IECHENAULT, 1968), d'Cursins (VERHEY et MOYER, 1967), du Hérisson, Erinaceus europaeus (SYDOW, 1968) et du Hamster, Mesocricetus auratus (WEAKLEY, 1968).

Chez <u>L. forficatus</u>, le reticulum semble se développer à partir de lamelles ergastoplasmiques disposées en réseau. L'ergastoplasme pourrait peut être synthétiser et véhiculer du matériel membranaire, comme c'est le cas dans les cellules hépatiques du Rat (DALLNER et coll., 1966 a et b).

Les lamelles annelées sont généralement peu développées et disposées à la périphérie de l'ovocyte de <u>L. forficatus</u>. Elles peuvent se grouper en faisceaux, dont les lamyes prennent un trajet courbe ou anguleux, observation comparable à celle qui a été réalisée dans les ovocytes du Triton, <u>Triturus helveticus</u> et l'organe de Bidder de <u>Bufo</u> (HUMEAU et TEMPLE, 1969) et dans les cellules tumorales (MERKOW et coll., 1970).

Leur continuité avec l'ergastoplasme semble très fréquente (MESSEL, 1968 b).

L'origine des lamelles annelées reste énigmatique chez <u>L. forficatus</u>. Nous les avons rencontrées dans des amas d'extrusions nucléaires, comme c'est le cas chez les ovocytes de la Libellule <u>Aeschna</u> (KESSEL et BEAMS, 1969) et les spermatocytes d'<u>Orconectes virilis</u> (KESSEL, 1968 b). Cependant, chez cet Insecte, les lamelles sont en continuité avec l'ergastoplasme qui semble subir une différenciation locale au contact des extrusions.

#### c) Les microtubules

Chez L. forficatus, les microtubules ovocytaires sont décelables pendant la première partie de la prévitellogenèse et répartis dans le cytoplasme périnucléaire. Une telle répartition, bien connue dans les spermatides (POCHON-MASSON, 1967) n'a -à notre connaissance- jamais été signa-lée dans les cellules femelles ; elle a été décrite dans des cellules hépatiques (STERNLIEB, 1965) et dans les glandes salivaires d'un Insecte, Centrotus cornutus (GOURANTON et FOLLIOT, 1970).

Les microtubules pourraient maintenir la forme des ovocytes : les cellules les plus jeunes gardent toujours une forme ovoïde alors que les plus âgées, dépourvues de microtubules, sont souvent déformées par leur tassement dans l'ovaire. La fonction cytosquelettique de ces organites a déjà été discutée par de nombreux auteurs (revues de PORTER, 1966 et POCHON-MASSON, 1967).

Leur rôle dans le transfert d'organites à travers l'ovocyte semble également possible. Les extrusions nucléaires, qui leur sont parfois associées, pourraient gagner la périphérie cellulaire par les travées cytoplasmiques, dans lesquelles des microtubules sont souvent visibles. Cette fonction leur

a été attribuée (revues de PORTER, 1966 et POCHON-MASSON, 1967) et leur dépolymérisation sous l'action de drogues enpêcherait le transfert d'organites dans l'ovaire de Rhodnius prolixus (HUEBNER et ANDERSON , 1970).

Les microtubules ne sont jamais observés dans les processus des cellules folliculaires les reliant aux ovocytes. Ce résultat diffère de celui qui a été obtenu dans les ovaires d'Insectes, Notonecta glauca glauca (MAC GREGOR et STEBBINGS, 1970) et Rhodnius prolixus (HUEBNER et ANDERSON , 1970).

## d) Les extrusions nucléaires

#### • Morphologie

L'existence d'extrusions nucléaires a été envisagée en microscopie photonique dans les ovocytes d'animaux de toutes classes (RAVEN, 1961). En microscopie électronique, des figures de passage de matériel nucléaire vers le cytoplasme, comparables à celles que nous avons décrites, ont été observées dans de nombreux gonocytes (CLEROT, 1968; DHAINAUT, 1970) et les cellules nourricières d'ovocytes de Rhodnius prolixus (ANDERSON et BEAMS, 1956). Elles caractériseraient des cellules à métabolisme intense ou à caractères embryonnaires (LE MOIGNE, 1966, 1967).

Chez <u>L. forficatus</u>, les extrusions nucléaires constituent des amas considérables dans le cytoplasme périnucléaire. Leur accumulation est également importante dans les ovocytes de Trématodes (KOULISH, 1965) et de Tuniciers (KESSEL, 1966 a et b); elle leur a valu le terme de "noyau vitellin" chez certains Batraciens (VOSS et DORN, 1969).

Nous avons fréquemment observé une lame ergastoplasmique associée aux extrusions ; une telle association a déjà signalée chez les Trématodes (KOULISH, 1965).

#### • Structure

Chez L. forficatus, la structure des extrusions nucléaires est fibrillo-granulaire, comme c'est généralement le cas (MORITA et coll., 1969; DHAINAUT, 1970). Elles renferment parfois de gros granules dans les ovocytes d'Ecrevisses (BEAMS et KESSEL, 1963) et de Grillons (FAVARD-SERENO, 1968) et des formations cylindriques dans les ovocytes de Rana catesbeiana (MASSOVER, 1968). Signalons enfin que les fibrilles et les granules constituent des amas distincts dans les ovocytes d'Arbacia et de Paracentrotus (MILLONIG et coll., 1968).

#### . Origine

Nous avons signalé que les extrusions pourraient avoir une origine nucléolaire. Cette observation est comparable à celle qui a été réalisée après une étude cinétique chez <u>Nereis pelagica</u> (DHAINAUT, 1970). Des protéines nucléaires entreraient également dans leur constitution (CIEROT, 1968).

# • Rôle

Les granules des extrusions pourraient correspondre à des précurseurs ribosomiaux. Cette observation correspond à celles qui ont été effectuées dans les ovocytes de <u>Ciona intestinalis</u> (KESSEL, 1966 a) et de <u>Nereis pelagica</u> (DHAINAUT, 1970). Elle est en accord avec les résultats biochimiques : les ARN ribosomiaux sont en effet synthétisés au niveau du nucléole (PERRY, 1969) ; une partie des protéines des ribosomes semble également d'origine nucléolaire (WARNER et SOIERO, 1967).

## e) Les formations lysosomiales

## . Nature des produits ingérés

L'ovocyte de <u>L. forficatus</u> semble capable d'ingérer du matériel exogène de nature glycoprotéique; ce matériel constitue de grosses masses denses qui correspondraient aux hétérophagosomes (De DUVE et WATTIAUX, 1966; BECK et LLOYD, 1969). Il serait capté soit par des vésicules lisses soit par des vésicules 'hérissées'; ce dernier type est le seul visible dans les macrophages (HIRSCH et Coll., 1968). Le matériel incorporé s'accumule soit dans les corps multivésiculaires, soit dans les plaquettes de vitellus protéique; cette hypothèse a été suggérée pour les ovocytes de la Blatte Periplaneta americana (ANDERSON , 1969).

L'ovocyte de <u>L. forficatus</u> ingère en outre des enzymes d'origine exogène, comme cela a été décrit dans le segment proximal du tube urinifère (MILLER et PALADE, 1964).

#### . Les lysosomes

Les complexes golgi - ergastoplasme, fréquents dans l'ovocyte de <u>L. forficatus</u> sont capables d'élaborer des enzymes ; ils correspondent au GERL (Golgi-Endoplasmic Reticulum-Lysosomes, NOVIKOFF, 1964). Les vésicules golgiennes seraient des lysosomes primaires (NOVIKOFF et coll.,

1964; COHN et FEDORKO, 1969); leur association avec les hétérophagosomes donne naissance aux corps denses et multivésiculaires qui sont des lysosomes secondaires (HOURDRY, 1968; ERICSSON, 1968) ou hétérolysosomes (BECK et LLOYD, 1969). La dissymétrie que nous avons observée au niveau de la membrane du lysosome secondaire semble caractéristique (DAEMS et coll., 1969).

Dans les corps multivésiculaires, les vésicules pourraient être d'origine golgienne et le matériel dense d'origine pinocytotique, ainsi que cela a été montré dans les macrophages (HIRSCH et coll., 1968). Les lysosomes secondaires fonctionneraient très longtemps (BERTHET, 1965) avant de donner naissance aux corps résiduels (télolysosomes, BECK et LLOYD, 1969).

#### . Rôle des enzymes

Chez L. forficatus, les hétérophagosomes semblent digérés par les lysosomes de l'ovocyte. La dégradation intracellulaire de substances étrangères a également été montrée dans les macrophages (HIRSCH et Coll., 1968; COHN et FEDORKO, 1969), les cellules de Küpfer (NOVIKOFF et coll., 1964) et les cellules du vas deferens chez le Rat (FRIEND et FARQUHAR, 1967); elle a été dénommée hétérophagie (De DUVE, 1969). L'importance des lysosomes pourraient être en relation avec la quantité de matériel ingéré, comme cela a été signalé dans les cellules du vas deferens chez le Rat (\*\*\* et FARQUHAR, 1966). La digestion serait parfois effectuée par les enzymes d'origine pinocytotique, ce qui semble être le cas dans les cellules du tube proximal rénal (MILIER et PAIADE, 1964).

Les lysosomes de l'ovocyte semblent capables de détruire les substances de réserves lipidiques accumulées en trop grande quantité. Un tel processus a été décrit dans les cellules hypophysaires (SMITH et FARQUHAR, 1966; FARQUHAR, 1969); il correspond à la crinophagie (De DUVE, 1969).

L'ovocyte de <u>L. forficatus</u> pourrait enfin accumuler des enzymes, comme c'est le cas dans les ovocytes d'Insectes (LOCKSHIN, 1969) et d'autres animaux (RAVEN, 1961). D'origine soit exogène (pinocytose), soit endogène (GERL) comme cela a été suggéré dans les ovocytes d'<u>Enchytraeus albidus</u> (DUMONT, 1969), les enzymes seraient utilisées lors de la dégradation des réserves vitellines au cours de l'embryogenèse (BRACHET, 1963; DALCQ, 1963).

## f) Les granules réfringents

Des éléments comparables aux "corps réfringents", observables dans l'ovocyte de L. forficatus ont été décrits dans de nombreuses

cellules, notamment les ovocytes de Diplopodes (SHARMA et CHHOTANI, 1957; GUPTA, 1968; CRANE et COWDEN, 1968; PETIT, 1970), d'un Lépidoptère, Zygaena carniolica (CANTACUZENE et MARTOJA, 1967, 1968) et chez un Protozoaire, Phorodon (ANDRE et FAURE-FREMIET, 1967).

Chez <u>L. forficatus</u>, ils semblent être de nature glycoprotéique. Ce résultat est comparable à ceux qui ont été obtenus chez les Diplopodes (SHARMA et CHHOTANI, 1957; GUPTA, 1968). Signalons toutefois qu'une étude cytochimique ultrastructurale effectuée chez <u>Polydesmus complanatus</u> (PETIT, 1970) ne met en évidence que des sels de calcium (phosphates et carbonates).

Nous avons montré l'accumulation de leurs substances constitutives dans le reticulum granulaire, ce qui n'avait été observé jusqu'à présent que dans les ovocytes de Polydesmus complanatus (PETIT, 1970).

#### 3 - Accumulation des réserves vitellines

# a) Le glycogène

Le glycogène apparaît souvent contre les membranes ergastoplasmiques. Il a été souvent décrit accolé aux membranes lisses dans les cellules hépatiques (COIMBRA et LEBLOND, 1966; DUPCUY et JOST, 1969) et la trompe de Fallope chez la lapine (LE BEUX, 1970), à l'ergastoplasme chez les Protozoaires (ESTEVE, 1969), le muscle de Rat (HEUSON-STIENNON et DROCHMANS, 1967), les cellules visuelles (CARASSO, 1960), les cellules hépatiques (STADHOUDERS, 1965; VRENSEN et KUYPER, 1969) et même situé dans l'ergastoplasme des cellules épididymaires chez le Hamster (FOUQUET, 1970). Depuis la découverte de la glycogène-synthétase dans la fraction ribosomiale des microsomes (LELOIR et GOLDEMBERG, 1960), la synthèse du glycogène sur les ribosomes de l'ergastoplasme a été suggérée après des études morphologiques (STADHOUDERS, 1965) et autoradiographiques (VRENSEN, 1970). Selon ces auteurs, cette hypothèse expliquerait la transformation du reticulum granulaire en reticulum lisse.

Une partie du glycogène stocké pourrait constituer une réserve énergétique utilisée au cours de la vitellogenèse (MERRIAM, 1966).

## b) Le vitellus lipidique

L'étude morphologique met en évidence le rôle possible du reticulum lisse et de l'appareil de Golgi dans la synthèse et l'accumulation des lipides. L'origine golgienne du vitellus lipidique avait déjà été soupçonnée lors d'études réalisées en microscopie photonique chez <u>L. forficatus</u> (NATH, 1924; KING, 1925) et chez de nombreuses espèces (RAVEN, 1961).

Des saccules golgiens accolés à des gouttelettes lipidiques ent également été observés dans les ovocytes du poisson <u>Lebistes reticulatus</u> guppyi (DROLLER et ROTH, 1966), dans les cellules du foie de Souris (TROTTER, 1967) et chez le Protozoaire <u>Diplauxis hatti</u> (VIVIER et coll., 1969). La synthèse de lipides dans le reticulum et l'appareil de Golgi a été montrée par une étude autoradiographique dans le foie de Rat (STEIN et STEIN, 1967 a). Signalons qu'elle s'effectuerait dans le reticulum seul dans la glande mammaire (STEIN et STEIN, 1967 b) et dans le reticulum et les mitochondries dans le coeur de Rat (STEIN et STEIN, 1968).

# c) Le vitellus protéique

Chez L. forficatus le vitellus protéique semble d'origine exogène et pinocytotique. Cette observation est comparable à celle qui a été effectuée chez de nombreuses espèces animales et notamment chez les Insectes: Aedes aegypti (ROTH et PORTER, 1964), Periplaneta americana (ANDERSON E., 1964), Gryllus (FAVARD-SERENO, 1964), Panorpa communis (BIER et RAMAMURTY, 1964), Hyalophora cecropia (STAY, 1965), etc... (voir revues de NØRREVANG, 1968 et EUSSON-MABILLOT, 1969).

Les plaquettes de vitellus protéique de <u>L. forficatus</u> montrent un cortex clair autour d'un noyau dense et sont ainsi comparables à celles de Priapulus (NØRREVANG, 1965).

Les granules dont les caractères cytochimiques sont comparables à ceux des plaquettes et que nous avons observés dans la cavité ovarienne, pourraient représenter des accumulations de substances qui passeraient dans les ovocytes. Les protéines vitellines seraient en effet synthétisées hors de l'ovaire (TELFER, 1965; SCHJEIDE et coll., 1970) et parviendraient aux ovocytes après avoir traversé la paroi ovarienne et cheminé dans les espaces intercellulaires (STAY, 1965).

Chez <u>L. forficatus</u>, les cellules folliculaires, toujours riches en ribosomes, pourraient également participer à la synthèse de protéines vitellines ainsi que cela a été suggéré après une étude morphologique chez l'Insecte <u>Leptinotarsa</u> (DE LOOF et LAGASSE, 1970) et autoradiographique chez Hyalophora cecropia (ANDERSON et TELFER, 1969).

Le matériel des plaquettes est de nature glycoprotéique, ce qui semble un fait très général (RAVEN, 1961). Nous y avons montré l'existence de protéines basiques. Cette observation rejoint celles qui ont été effectuées dans les ovocytes de Néréidiens (BERTOUT, 1970), de Némertes (LECHENAULT, 1968) et de Batraciens (HORN, 1962). Signalons que ces résultats ont été contestés, la coloration pouvant être due à la libération au cours de l'hydrolyse par l'acide trichloracétique d'acides aminés basiques à partir des phosphoprotéines vitellines (DAVENPORT, 1967); nous avons cependant obtenu le même résultat en l'absence d'hydrolyse, comme c'est le cas chez les Néréidiens (BERTOUT, 1970).

## III - IES CELLULES DEGENERESCENTES

L'évolution des organites cellulaires au cours de la dégénérescence ovocytaire a rarement été étudiée. Des observations souvent fragmentaires ont été effectuées chez les Mammifères (ODOR, 1960; FRANCHI et MANDL, 1962) la seule étude détaillée a été effectuée chez le Rat (VASQUEZ-NIN et SOTELO, 1967).

Chez L. forficatus, le nombre d'ovocytes dégénérescents semble important (90 %); de nombreux spermatceytes dégénèrent également en cours de croissance (DESCAMPS, sous presse).

Les processus suivent toujours la même évolution: Lyse successive des ribosomes, des dictyosomes, des mitochondries regroupées en amas et du vitellus protéique et glucidique dans le cas des cellules parvenues en vitellogenèse; la pycnose nucléaire semble plus tardive et les globules de vitellus lipidique résistent très longtemps à la dégénérescence. Ces observations sont comparables à celles qui ont été effectuées chez le Rat (VASQUEZ-NIN et SOTELO, 1967) et chez Nereis (DOILLY, communication personnelle).

Nous avons parfois observé la vacuolisation du cytoplasme périplique d'ovocytes jeunes. Les vacuoles ne mesurent jamais plus de 10 à 15  $\mu$ ; il semblerait que les cellules puissent soit rejeter le matériel absorbé, soit dégénérer.

Les figures d'autolyse sont absentes. Cette observation rejoint celles qui ont été effectuées dans les ovocytes du Rat (VASQUEZ-NIN et SOTELO, 1967) et de Nere's (BOILLY, communication personnelle); elle diffère de celles qui ont été réalisées dans des tissus en voie d'histolyse, au cours de la métamorphose de Batraciens (BONNEVILLE, 1963; WEBER, 1964), dans le canal de Müller du Poulet (SCHEIB, 1965) et dans la glande prothoracique d'imagos d'Insectes (SCHARRER, 1966; BEAULATON, 1967; CASSIER et FAIN-MAUREL, 1970).

Chez <u>L. forficatus</u>, le matériel des ovocytes dégénérés est en majeure partie récupéré par les cellules de l'épithélium ovarien. Par contre, chez la mâle, les dégénérats ont le plus souvent un rôle métabolique direct, après phagocytose par les spermatocytes sains (DESCAMPS, sous presse).

Les cellules folliculaires ne paraissent pas intervenir dans la résorption ovocytaire, contrairement à ce qui a été observé chez les Insectes : Nasonia vitripennis (KING et RICHARDS, 1968) et Machilis (BITSCH, 1968).

Les hémocytes rencontrés dans l'ovaire de <u>L. forficatus</u> ne sont pas impliqués dans l'élimination des dégénérats comme c'est le cas chez les Batraciens (WEBER, 1964) et dans les glandes prothoraciques d'Insectes (SCHARRER, 1966).

## Causes de la dégénérescence

Plusieurs causes peuvent être invoquées: 1) une libération des enzymes lysosomiales qui provoquerait la lyse cellulaire (BERTHET, 1965; WATTIAUX, 1969).2) une insuffisance métabolique qui perturberait la croissance ovocytaire (TELFER et RUTBERG, 1960; HIGHNAM et coll., 1963).

Chez les Insectes, la dégénérescence ovocytaire semble correspondre à un fonctionnement ralenti des corps allates (JOLY, 1945; HIGHNAM et coll., 1963; KING et RICHARDS, 1968). L'étude du contrôle endocrinien de l'ovogenèse chez <u>L. forficatus</u> permettra peut être de mieux comprendre les causes de la dégénérescence.

#### IV - CELLULES ASSOCIEES AUX OVOCYTES

#### 1 - <u>Les cellules folliculaires</u>

Chez L. forficatus, l'enveloppe ovocytaire apparaît dès le début de la prévitellogenèse. Il n'existe pas entre les ovocytes et les cellules folliculaires de microvillosités comparables à celles qui ont été décrites chez les Crustacés (BEAMS et KESSEL, 1963), les Insectes (ANDERSON E., 1964; ROTH et PORTER, 1964; STAY, 1965; De LOOF et LAGASSE, 1970), les Batraciens (KEMP, 1956) et les Mammifères (ODOR, 1960).

Nous avons fréquemment observé des desmosomes septés entre les cellules folliculaires voisines. Ce type d'attache intercellulaire, observé dans l'ovaire de <u>Periplaneta americana</u> (ANDERSON E., 1964) serait moins efficace que les desmosomes vrais (KELLY et IDFT, 1966).

Nous n'avons jamais remarqué d'augmentation du taux d'ADN nucléaire des cellules folliculaires au cours de l'ovogenèse, contrairement à ce qui a été décrit chez les Insectes (JACOB et SIRLIN, 1959; NIGON et NONNENMACHER, 1961; FAVARD-SERENO et DURAND, 1963; ORIANDO et CREMA, 1967).

Chez L. forficatus, les cellules folliculaires dégénèrent en fin de vitellogenèse; chez les autres Arthropodes au contraire, elles libèrent leur cytoplasme dans l'ovocyte (cas des Insectes - NØRREVANG, 1968) ou sont englobées dans la cellule femelle (cas d'Artemia salina - ANTEUNIS et coll., 1966).

#### Rôle des cellules folliculaires

Malgré l'absence de microvillosités, des rapports directs existent entre l'ovocyte et les cellules folliculaires par des canalicules de l'enveloppe primaire; nous n'avons pas pu préciser la nature des substances échangées. Chez les Insectes à ovaire méroïstique, le passage de matériel de nature protéique, glucidique ou lipidique des cellules nourricières à l'ovocyte est fréquent (revues de BONHAG, 1958 et TELFER,1965); on y a même décelé le passage d'ARN (BIER et coll., 1967) et d'ADN (JACOB et SIRLIN, 1959).

L'enveloppe primaire apparaît dès le début de la prévitellogenèse. Elle semble élaborée à partir de substances émises par les cellules folliculaires et cheminant au voisinage de formations fibrillaires. Chez les Insectes Drophila (KING et KOCH, 1963), Gryllus (FAVARD-SERENO, 1966), Aeschna (BEAMS et KESSEL, 1969) et le Mollusque Sypharochiton septentriones (SELWOOD, 1970), le matériel des enveloppes ovocytaires serait secrété et acheminé par les vésicules golgiennes des cellules folliculaires.

Signalons enfin que le chorion, qui semble élaboré par les cellules de l'épithélium ovarien chez <u>L. forficatus</u>, serait secrété par les cellules folliculaires chez <u>Gryllus</u> (FAVARD-SERENO, 1966), <u>Aeschna</u> (BEAMS et KESSEL, 1969) et chez le Chiton (SELWOOD, 1970).

#### 2 - Les cellules sanguines

La présence de cellules sanguines dans l'ovaire d'Invertébrés n'a, à notre connaissance, jamais été signalée. Leur pénétration par effraction dans l'épithélium ovarien est probablement très rapide; chez L. forficatus elle est rarement observée et nous n'en connaissons pas le processus exact. Notons que les cellules sanguines semblent également traverser les cellules épithéliales dans la tunique des Tuniciers lors de la métamorphose (CLONEY et GRIMM, 1970) et dans les veinules des ganglions lymphatiques (MARCHESI et GOWANS, 1964).

#### CONCLUSION GENERALE

L'étude histologique de l'ovogenèse chez L. forficatus a permis de définir avec précision les différents stades ovogénétiques et de calculer leur durée approximative. Certains résultats encore inédits chez les Chilopodes ont été mis en évidence : l'existence d'une période prémélotique, la présence d'hémocytes dans l'ovaire et de granules réfringents ovocytaires.

L'étude cytochimique a révélé la nature de certaines inclusions cytoplasmiques : extrusions nucléaires, "globules" et réserves vitellines.

L'étude ultrastructurale a permis d'apporter de nombreuses précisions, relatives notamment à l'augmentation du volume nucléolaire et à sa fragmentation et à l'abondance des extrusions nucléaires. L'ergastoplasme semble participer à la formation du "globule"; les granules réfringents y prennent naissance. L'enveloppe ovocytaire primaire et le chorion paraissent respectivement synthétisés par les cellules folliculaires et les cellules de l'épithélium ovarien.

L'étude ultrastructurale a également mis en évidence des phénomènes non encore décrits chez les Chilopodes: multiplication mitochondriale, synthèse d'enzymes aux niveaux des complexes Golgi - ergastoplasme, rapports entre ovocytes et cellules folliculaires, chronologie de l'apparition des réserves vitellines. Elle a permis de montrer l'origine pinocytotique du vitellus protéique et de confirmer certains résultats obtenus par l'étude cytochimique, notamment la relation entre la diminution du nombre de ribosomes et la perte de la basophilie cytoplasmique. Les stades de dégénérescence ovocytaire et folliculaire ont été décrits.

Les résultats obtenus chez <u>L. forficatus</u> sont comparables à ceux qui ont été observés chez les différentes espèces animales (RAVEN, 1961) : après une augmentation considérable du volume nucléaire et de la masse cytoplasmique, l'ovocyte est orienté vers l'accumulation de réserves vitellines et le noyau semble passif. Cette observation est confirmée par l'étude biométrique de la croissance ovocytaire.

L'accumulation des réserves protéiques par pinocytose, la grande richesse en vitellus et la présence d'un follicule complet permettent de rapprocher l'ovocyte de <u>L. forficatus</u> de ceux des Insectes (TELFER, 1965); toutefois, ces caractères le différencient de ceux des Crustacés, chez lesquels

le vitellus apparaît dans le reticulum ovocytaire et les cellules folliculaires sont rares (BEAMS, 1964).

Il faut cependant noter la disparition quasi totale des ribosomes et des mitochondries dans l'ovocyte mature de <u>L. forficatus</u>, caractère qui, à notre connaissance, n'a pas été signalé dans les travaux effectués sur les ovogenèses animales.

Certains points importants restent à préciser notamment le lieu de synthèse du vitellus lipidique, la destinée des produits d'endocytose et le rôle exact des cellules folliculaires. L'utilisation de techniques spécialisées (autoradiographie, injection de marqueurs) permettra peut-être d'élucider ces problèmes. Il s'avère également nécessaire d'étudier le rôle des facteurs externes sur l'évolution ovogénétique et de préciser les facteurs endocrines qui interviennent dans sa régulation.

#### BTBLTOGRAPHTE

- ALFERT M. and GESCHWIND I.I., 1953 A selective staining method for the basic proteins of cell nuclei. Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.) 39, 991-999.
- ANDERSON D.S., 1964 Serial sectioning of refractory locust eggs. Quart. J. Micr. Sci., 105, 379-380.
- ANDERSON E., 1964 Oocyte differenciation and vitellogenesis in the roach Periplaneta americana. J. Cell. Biol., 20, 131-155.
- ANDERSON E., 1969 Orgenesis in the cockroach Periplaneta americana, with special reference to the specialization of the colemna and the fate of coated vesicles. J. Microscopie, 8, 721-738.
- ANDERSON E. and BEAMS H.W., 1956 Evidence from electron micrographs for the passage of material through pores of the nuclear membrane.

  J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, suppl., 439-444.
- ANDERSON E., CONDON W. and SHARP D., 1970 A study of oogenesis and early embryogenesis in the rabbit, Oryotolagus cuniculus, with special reference to the structural changes of mitochondria. J. Morphol., 130, 67-92.
- ANDERSON L.M. and TELFER W.H., 1969 A follicle cell contribution to the yolk spheres of moth occytes. Tissue and Cell 1, 633-644.
- ANDRE J., 1958 Etude au microscope électronique de l'évolution du chondriome pendant la spermatogenèse du scorpion <u>Euscorpius flavicaudis</u>. J. Ultrastructure Res., 2, 288-308.
- ANDRE J., 1962 Contribution à la connaissance du chondriome. Etude de ses modifications ultrastructurales pendant la spermatogenèse. J. Ultrastructure Res., Suppl. 3, 1-185.
- ANDRE J., 1968 Données récentes sur la physiologie des mitochondries. C.R. Soc. Biol., 162, 7-12.
- ANDRE M., 1960 Les écrevisses françaises. P. LECHEVALIER Fd., Paris.
- ANTEUNIS A., FAUTREZ-FIRLEFYN N. et FAUTREZ J., 1966 L'incorporation de cellules nourricières par l'oocyte d'<u>Artemia salina.</u> Etude au microscope électronique. Arch. Biol. Belg., 77, 665-676.

- BACA M. and ZAMBONI L., 1967 The fine structure of human follicular occytes. J. Ultrastructure Res., 19, 354-381.
- BACKSTROM S., 1965 Basic proteins during sea urchin oogenesis (<u>Psammechinus</u> miliaris). Acta Embryol. Morph. exp. Ital., 8, 178-182.
- BÄCKSTRÖM S., 1966 A complex between basic proteins and acid polysaccharides in sea urchin oocytes and eggs. Acta Embryol. Morph. exp. Ital., 9, 37-43.
- BAL A.K., JUBINVILLE F. and COUSINEAU G.H., 1968 DNA synthesis of young occytes of Arbacia punctulata. J. Cell BIol., 39, 7a.
- BALBIANI E.G., 1883 a Sur l'origine des cellules du follicule et du noyau vitellin de l'oeuf chez les Géophiles. Zool. Anz., 6, 658-662.
- BALBIANI E.G., 1883 b Sur l'origine des cellules du follicule et du noyau vitellin de l'oeuf chez les Géophiles. Zool. Anz., 6, 676-680.
- BARRNETT R.J. and SELIGMAN AM., 1952 Histochemical demonstration of protein bound sulfhydril groups. Science 116, 323-327.
- BEAMS H.W., 1964 Cellular membranes in Oogenesis. In "Cellular membranes in Development". 22nd Symposium of the Society for the study of Development and Growth. M. LOCKE Ed., Acad. Press, New York and London.
- BEAMS H.W. and KESSEL R.G., 1963 Electron microscope studies on developing crayfish occytes with special references to the origin of yolk. J. Cell Biol., 18, 621-649.
- BEAMS H.W. and KESSEL R.G., 1969 Synthesis and deposition of oocytes envelopes (vitelline membrane, chorion) and the uptake of yolk in the dragonfly (Odonata; Aeschnidae). J. Cell Science 4, 241-265.
- BEAMS H.W. and SEKHON S.S., 1967 Fine structure and configuration of the nucleoli in the young occytes of the centipede. J. Cell Biol. 35, 151A.
- BEAMS H.W. and SEKHON S.S., 1968 Fine structure of the nucleolus in the young occyte of a centipede. Zeit.Zellf. 85, 237-242.
- BEAULATON J., 1967 Localisation d'activités lytiques dans la glande prothoracique du Ver à soie du chêne, <u>Antheraea pernyi</u> Guér., au stade prénymphal. II. Les vacuoles autolytiques (cytolysomes). J. Microscopie 6, 349-370.

- BEAULATON J., 1968 Modifications ultrastructurales des cellules sécrétrices de la glande prothoracique de Vers à soie au cours des derniers stades larvaires. I. Le chondriome et ses relations avec le reticulum endoplasmique agranulaire. J. Cell Biol., 39, 501-525.
- BECK F. and LLOYD J.B., 1969 Histochemistry and electron microscopy of lysosomes. In "Frontiers in Biology", 14: Lysosomes in Biology and Pathology, 2, 567-599. DINGLE J.T. and FELL H.B. Ed., Amsterdam.
- BERNHARD W., 1969 A new staining procedure for electron microscopical cytology. J. Ultrastructure Res. 27, 250-265.
- BERTHET J., 1965 La digestion intracellulaire et les lysosomes. Arch. Biol. Belg. 76, 367-385.
- BERTOUT M., 1970 Contribution à l'étude du mode d'action de l'hormone cérébrale au cours de l'ovogenèse chez <u>Nereis diversicolor</u> O.F. Müller (Annélide Polychète). D.E.A. Fac. Sciences, Lille.
- BIER K., KUNZ W. und RIBBERT D., 1967 Struktur und Funktion der Oocytenchromosomen und Nukleolen sowie der Extra-DNS während der Oogenese panoistischer und meroistischer Insekten. Chromosoma 23, 214-254.
- BIER K. und RAMAMURTY P.S., 1964 -Elektronoptische Untersuchungen zur Einlagerung der Dotterproteine in die Oocyte. Naturwissenschaften 51, 223-224.
- BITSCH J., 1968 Sur les phénomènes de résorption d'oocytes chez les Machilis (Insectes, Thysanoures). Bull. Soc. Zool. France 93, 385-396.
- BLOCH D.P. and HEW H.Y.C., 1960 Schedule of spermatogenesis in the Pulmonate snail, <u>Helix aspersa</u>, with special reference to histone transition.

  J. Biophys. Biochem. Cytol. 7, 515-532.
- BOILLY B., 1968 Etude ultrastructurale de l'évolution des tissus impliqués dans la régénération céphalique et caudale de <u>Syllis amica</u> Q. (Annélidé Polychète). I. La dédifférenciation. J. Microscopie 7, 865-876.
- BONHAG P., 1958 Ovarian structure and vitellogenesis in insects. Ann Rev. of Entomol. 3, 137-160.
- BONNEVILLE A.M., 1963 Fine structural changes in the intestinal epithelium of the bullfrog during metamorphosis. J. Cell Biol. 18, 579-597.

- BOUIN P. et BOUIN M., 1902 Réduction chromatique chez les Myriapodes. C.R. Assoc. Anat., 4ème session, 74-78.
- BOURCART C., LAVALLARD R. et LUBET P., 1965 Ultrastructure du spermatozoïde de la Moule (Mytilus perna von Thering). C.R. Acad. Sc. Paris 260, 5096-5099.
- BRACHET J., 1963 In Panel Discussion during Symposium on Lysosomes, Ciba Foundation, p. 422. DE REUCK A.V.S. and CAMERON M.P. Ed. Boston.
- BRACHET J., HANOCQ F., VAN GANSEN P., 1970 A cytochemical and ultrastructural analysis of in vitro maturation in amphibian oogytes. Devel. Biol. 21, 157-195.
- BROCHER F., 1930 Observations biologiques sur la ponte et les premiers stades du <u>Lithobius forficatus</u> L. Revue suisse de Zool. 37, 375-383.
- BROWN C.A. and RIS H., 1959 Amphibian oocyte nucleoli. J. Morphol. 104, 377-414
- BRUSLE J., 1969 Radiosensibilité des cellules germinales et somatiques de la gonade hermaphrodite d'Asterina gibbosa Penn. après irradiation X.

  Etudes ultrastructurales des radiolésions différentielles. Arch. Biol. Belg. 80, 451-470.
- BULMER D., 1959 Dimedon as an aldehyde blocking reagent to facilitate the histochemical demonstration of glycogen. Stain Technol. 34, 95-98.
- BUSSON-MABILLOT S., 1969 Données récentes sur la vitellogenèse. Année Biologique, 8, 199-228.
- CALLAN H.G., 1963 The nature of Lampbrush Chromosomes. Int. Rev. of Cytology, 15, 1-34.
- CANTACUZENE A.M. et MARTOJA R., 1967 Présence d'acides uriques cristallisé dans les ovocytes de <u>Zygaena carmiolica</u> (Lépidoptère). Ann. Sci. Nat., Zool. et Biol. animale, 12° série, 9, 327-335.
- CANTACUZENE A.M. et MARTOJA R., 1968 Origine des urates de l'oocyte des Zygènes et évolution de ces composés au cours du développement embryonnaire. Ann. Sci. Nat., Zool. et Biol. animale, 12° série, 10, 455-462
- CARASSO N., 1960 Rôle de l'ergastoplasme dans l'élaboration du glycogène au cours de la formation du paraboloïde des cellules visuelles. C.R. Acad. Sci. Paris, 250, 600-602.

- CASSIER P. et FAIN-MAUREL M.A., 1970 Contrôle plurifactoriel de l'évolution post-imaginale des glandes ventrales chez <u>Locusta migratoria</u> L. Données expérimentales et infrastructurales. J. Insect. Physiol. 16, 301-318.
- CAVE M.D. and ALLEN E.R., 1969 Synthesis of nucleic acids associated with a DNA containing body in occytes of Acheta. Exp. Cell Res. 58, 201-212.
- CLEROT J.C., 1968 Mise en évidence par cytochimie ultrastructurale de l'émission de protéines par le noyau d'auxocytes de Batraciens. J. Microscopie, 7, 973-992.
- CLONEY R.A. and GRIMM L., 1970 Transcellular emigration of blood cells during ascidian metamorphosis. Zeit. Zellf. 107, 157-173.
- COHN Z.A., FEDORKO M.E., 1969 Lysosomal form and function. In "Frontiers in Biology", 14: Lysosomes in Biology and Pathology, 1, 43-63. DINGLE J.T. and FELL H.B. Ed. Amsterdam.
- COIMBRA A., LEBLOND C.P., 1966 Sites of glycogen synthesis in rat liver cells as shown by electron microscope radioautography after administration of glucose 3H. J. Cell Biol. 30, 161-175.
- COWDEN R.R., 1966 Cytochemical studies on cytoplasmic RNA associated basic proteins in oocytes, somatic cells and ribosomes. Histochemie 6, 226-242.
- COWDEN R.R., 1967 Quantitative cytochemical studies of oocyte growth in the Ascidian Ascidia nigra. Acta embryol. morph. exp. 9, 235-245.
- CRANE D.F. and COWDEN R.R., 1968 A cytochemical study of oocyte growth in four species of millipedes.Zeit.Zellf. 90, 414-431.
- CUMMINGS M.R. and KING R.C., 1970 The cytology of the vitellogenetic stages of oogenesis in <u>Drosophila melanogaster</u>. II. Ultrastructural investigations on the origin of protein yolk spheres. J. Morphol. 130, 467-478.
- DAEMS W.T., WISSE E. and BREDEROO P., 1969 Electron microscopy of the vacuolar apparatus. In "Frontiers in Biology", 14: Lysosomes in Biology and Pathology, 1, 64-112. DINGLE J.T. and FELL H.B. EA. Amsterdam.
- DALCQ L., 1963 The relationship to lysosomes of the in vivo metachromatic granules. In "Symposium on Lysosomes", Ciba Foundation, 226-263. De REUCK A.V.S. and CAMERON M.P. Ed. Hoston.

- DALINER G., SIEKEWIETZ P. and PALADE G.E., 1966 a Biogenesis of endoplasmic reticulum membranes. I. Structural and chemical differentiation in developing rat hepatocyte. J. Cell Biol. 30, 73-96.
- DALLNER G., SIEKEWIETZ P. and PALADE G.E., 1966 b Biogenesis of endoplasmic reticulum membranes. II. Synthesis of constitutive microsomal enzymes in developing rat hepatocyte. J. Cell Biol. 30, 97-117.
- DAVENPORT R., 1967 The cytoplasmic basic proteins of the frog oocyte. Cytochemical detection and electrophoretic characterization. Exp. Cell Res. 47, 397-402.
- DAVENPORT R. and DAVENPORT J.C., 1965 a A cytochemical study of cytoplasmic basic proteins in the ascidian oocyte. J. Cell Biol. 25, 319-326.
- DAVENPORT R. and DAVENPORT J.C., 1965 b Cytoplasmic basic proteins in the oocyte of three species of molluscs. Exp. Cell Res. 39, 74-80.
- De DUVE C., 1969 The lysosome in retrospect. In "Frontiers of Biology", 14:

  Lysosomes in Biology and Pathology, 1, 3-40. DINGLE D.T. and FELL H.B.

  Ed. Amsterdam.
- De DUVE C. and WATTIAUX R., 1966 Functions of lysosomes. Ann. Rev. of Physiol. 28, 435-492.
- De LOOF A. and LAGASSE A., 1970 The ultrastructure of the follicle cells of the ovary in the colorado beetle in relation to yolk formation. J. Insect Physiol. 16, 211-220.
- De ROBERTIS E., SABATINI D., 1958 Mitochondrial changes in the adenocortex of normal hamster. J. Biochem. Biophys. Cytol. 4, 667.
- DESCAMPS M., 1969a- Contribution à l'étude cytologique et cytochimique de la spermatogenèse chez <u>Lithobius forficatus</u> L. (Myriapode Chilopode). Thèse 3ème Cycle. Fac. Sciences. Lille.
- DESCAMPS M., 1969b- Sur la présence de deux mitoses non réductionnelles après la phase de croissance spermatocytaire chez <u>Lithobius forficatus</u> L. (Myriapode Chilopode). C.R. Acad. Sci. 268, 1942-1944.
- DESCAMPS M. Le cycle spermatogénétique chez <u>Lithobius forficatus</u> L. (Myriapode Chilopode). I. Evolution et étude quantitative des populations cellulaires du testicule au cours du développement postembryonnaire. Arch. Zool. exp. gén. (sous presse).

- DHAINAUT A., 1969 Etude ultrastructurale et cytochimique de la formation des inclusions intranucléaires dans les ovocytes de l'Annélide Nereis diversicolor O.F. Müller. Zeit. Zellf. 96, 75-86.
- DHAINAUT A., 1970 Etude en microscopie électronique et par autoradiographie à haute résolution des extrusions nucléaires au cours de l'ovogenèse chez Nereis pelagica L. J. Microscopie 9, 99-118.
- DROCHMANS P., 1962 Morphologie du glycogène. Etude au microscope électronique de colorations négatives du glycogène particulaire. J. Ultrastructure Res. 6, 141-163.
- DROLIER M.J. and ROTH T.F., 1966 An electron microscope study of yolk formation during oogenesis in <u>Lebistes reticulatus</u> Guppyi. J. Cell Biol. 28, 209-232.
- DUMONT J.N., 1969 Oogenesis in the annelid <u>Enchytraeus albidus</u> with special reference to the origin and cytochemistry of yolk. J. Morphol. 129, 317-344.
- DUPOUY J.P. et JOST A., 1969 Aspect ultrastructural de l'accumulation anticipée de glycogène dans le foie du foetus de rat soumis au cortisol. Arch. Anat. micr. Morphol. exp. 58, 183-201.
- EBSTEIN B.S., 1969 The distribution of DNA within the nucleoli of the amphibian oocyte as demonstrated by tritiated actinomycin D radioautography.

  J. Cell Science 5, 27-44.
- ERICSSON J.L.E., 1968 Morphological identity of various types of lysosomes and their relationship to other cytoplasmic organelles. Ann. Acad. Sci. Fennicae 128, 5-14.
- ESTEVE J.C., 1969 Observations sur l'ultrastructure et le métabolisme du glycogène de <u>Paramecium caudatum</u>. Arch. Protistenkunde 111, 195-203.
- EWEN A.B., 1968 An improved method for embedding and sectioning eggs of the migratory grasshopper Melanoplus sanguinipes Fabr. (Orth. Acrididae). Canad. J. Zool. 46, 1084-1085.
- FABRE J.H., 1855 Recherches sur l'anatomie des organes reproducteurs et sur le développement des Myriapodes. Ann. Sci. Nat. Zool. 4e série, 3.

- FAIN-MAUREL M.A. et CASSIER P., 1969 Pléomorphisme mitochondrial dans les corpora allata de <u>Locusta migratoria migratorioïdes</u> (R. et F.) au cours de la vie imaginale. Zeit. Zellf. 102, 543-553.
- FALK H., 1969 Lomasomen ? Berichte Dtsch. Bot. Gesellschaft, 82, 427-429.
- FARQUHAR M., 1969 Lysosome function in regulating secretion: disposal of secretory granules in cells of the anterior pituitary gland. In "Frontiers in Biology", 14: Lysosomes in Biology and Pathology, 2, 462-482. DINGIE J.T. and FELL H.B. Ed., Amsterdam.
- FAURE-FREMIET E., COURTINES H. et MUGARD H., 1950 Double origine des ribonucléoprotéines dans l'oocyte de <u>Glomeris marginata</u>. Exp. Cell Res. 4, 253-263.
- FAVARD P., CARASSO N., 1964 Etude de la pinocytose au niveau des vacuoles digestives de Ciliés péritriches. J. Microscopie, 3, 671-696.
- FAVARD-SERENO C., 1964 Phénomène de pinocytose au cours de la vitellogenèse protéique chez le Grillon (Orthoptère). J. Microscopie, 3, 323-338.
- FAVARD-SERENO C., 1966 Rôle de l'appareil de Golgi dans la sécrétion du chorion de l'oeuf chez le Grillon. 6<sup>th</sup> Int. Congr. Elect. Micr. Kyoto 1966. MAZUREN Co, Ltd., Nihonbashi, Tokyo.
- FAVARD-SERENO C., 1968 Evolution des structures nucléolaires au cours de la phase d'accroissement cytoplasmique chez le Grillon. J. Microscopie, 7, 205-230.
- FAVARD-SERENO C. et DURAND M., 1963 L'utilisation de nucléosides dans l'ovaire du Grillon et ses variations au cours de l'ovogenèse. II. Incorporation dans l'ADN. Devel. Biol. 6, 206-218.
- FAWCETT D.W., 1966 The Cell. SAUNDERS W.B. Company, Philadelphia and London.
- FEULGEN R. und ROSSENBECK H., 1924 Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsaüre von Typus der Thymonucleinsaüre und auf die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischer Präparatur. Hoppe-Seylers Zeit. physiol. Chem. 135, 203-248.
- FRANCHI L.L. MANDL A.M., 1962 The ultrastructure of oogonia and oocytes in the foetal and neonatal rat. Proc. royal Soc. G.B., ser. B, 157, 99-114.

- FRANKE W.W., 1970 On the universality of nuclear pore complex structure. Zeit. Zellf. 105, 405-429.
- FRANKE W.W. and SCHEER U., 1970 a The ultrastructure of the nuclear envelope of amphibian oocytes : a reinvestigation. I. The mature oocyte.

  J. Ultrastructure Res. 30, 288-316.
- FRANKE W.W. and SCHEER U., 1970 b The ultrastructure of the nuclear envelope of amphibian oocytes: a reinvestigation. II. The immature oocyte and dynamic aspects. J. Ultrastructure Res. 30, 317-327.
- FRIEND D.S. and FARQUHAR M.G., 1967 Functions of coated vesicles during protein absorption in the rat vas deferens. J. Cell Biol. 35, 357-376.
- FOUQUET J.P., 1970 Glycogène et activité glycogène synthétasique dans les citernes ergastoplasmiques de l'épididyme du Hamster doré, <u>Mesocricetus auratus</u> W. C.R. Acad. Sci. 270, 2821-2824.
- GABE M., 1968 Techniques histologiques. MASSON et Cie Ed., Paris.
- GABE M. et MARTOJA-PIERSON M., 1956 Localisation histochimique des groupements SH dans quelques nucléoles. Ann. Histochim. 1, 230-236.
- GALL J.G., 1968 Differential synthesis of the genes for ribosomal RNA during amphibian oogenesis. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 60, 553-560.
- GALL J.G., MAC GREGOR H.C. and KIDSTON M.E., 1969 Gene amplification in the oocytes of Dytiscid water beetles. Chromosoma, 26, 169-187.
- GEUSKENS M., 1965 Synthèse de deux types différents de RNA dans le suc nucléaire de l'oocyte d'astérie, au début de l'oogenèse. Arch. Biol. Belg. 76, 87-95.
- GHIDONI J.J. and THOMAS H., 1960 Connection between a mitochondrion and endoplasmic reticulum. Experientia, 25, 632-633.
- GOMORI G., 1950 Une amélioration de la technique de détection histochimique des phosphatases acides. Stain Technol. 25, 81-85.
- GONZAIES P. and NARDONE R.M., 1968 Cyclic nucleolar changes during the cell cycle. Variations in number, size, morphology and position. Exp. Cell Res. 50, 599-615.
- GOUID-SOMERO M.C. and SCHROEDER P.C., 1969 Studies on oogonesis in the Polychaete Annelid Nereis grubei Kinberg. I. Some aspect of RNA synthesis. Biol. Bull. 136, 216-225.

- GOURANTON J., FOLLIOT R., 1970 Présence de microtubules périnucléaires dans la glande salivaire d'un Insecte Homoptère, Centrotus cornutus L. C.R. Acad. Sci. 270, 1819-1821.
- GUPTA P.D., 1968 "Concentric ringed bodies" in the oocytes of the millipede Phyllogonostreptus nigrolabiatus. The Microscope 16, 359-361.
- HAY E.D., 1959 Electron microscopic observations of muscle in regenerating salamander limbs. Anat. Rec. 133, 287.
- HAY E.D., 1968 Structure and function of the nucleolus in developing cells. in "The Nucleus". DALTON P.J. and HAGUENAU F. Ed. Acad. Press. New York and London.
- HECKER H., 1970 Ultrastruktur der Symbionten in Ovozyten von <u>Ornithodorus</u>

  <u>moubata</u> Murray (Ixodoïdea : Argasidae) nach simultaner GlutaraldehydOsmiumfixierung und Nachbehandlung mit Uranyl-acetat (Triple-Fixation).

  Experientia, 26, 874.
- HEUSON-STIENNON J.A. et DROCHMANS P., 1967 Morphogenèse de la cellule musculaire striée, étudiée au microscope électronique. II. Localisation et structure du glycogène. J. Microscopie, 6, 639-656.
- HERTIG A.T. and ADAMS E.C., 1967 Studies on the human oocyte and its follicle.

  I. Ultrastructural and histochemical observations on the primordial follicle stage. J. Cell Biol. 34, 647-676.
- HIGHNAM K.C., LUSIS O. and HILL L., 1963 Factors affecting oocyte resorption in the desert locust Schistocerca gregaria Forskâl. J. Insect Physiol. 9, 827-838.
- HIRSCH J.G., FEDORKO M.E. and COHN Z.A., 1968 Vesicle fusion and formation at the surface pinocytotic vacuoles in macrophages. J. Cell. Biol. 38, 629-632.
- HORN E.C., 1962 Extranuclear histone in the amphibian oocyte. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 49, 257-265.
- HOTCHKISS R.D., 1948 A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparation. Arch. Biochem. 16, 131-141.
- HOURDRY J., 1968 Données cytologiques et cytochimiques sur l'évolution des lysosomes. Année Biol. 7, 485-512.

- HUEBNER E. and ANDERSON E., 1970 The effects of vinblastine sulfate on the microtubular organization of the ovary of Rhodnius prolixus. J. Cell Biol. 46, 191-198.
- HUMEAU C. et TEMPLE D., 1969 Origine des lamelles annelées dans les ovocytes d'Amphibiens. C.R. Soc. Biol. 163, 1898-1902.
- HYDE B.B., SANKAR K. and BIRNSTIEL M.L., 1965 Observations on fine structure in pea nucleoli in situ and isolated. J. Ultrastructure Res. 12, 652-667.
- IDELMAN S., 1964 Mitochondries et liposomes. Description d'une transformation mitochondriale observée dans la corticosurrénale du rat. J. Microscopie 3, 437-446.
- JACOB J., SIRLIN J.L., 1959 Cell function in the ovary of Drosophila. I. DNA. Chromosoma 10, 210-228.
- JOIY P., 1945 La fonction ovarienne et son contrôle humoral chez les Dytiscides. Arch. Zool. exp. gén. 84, 49-164.
- JOLY R. et DESCAMPS M., 1969 Evolution du testicule, des vésicules séminales et cycle spermatogénétique chez <u>Lithobius forficatus</u> L. (Myriapode Chilopode). Arch. Zool. exp. gén. 110, 341-348.
- JUBERTHIE-JUPEAU L., 1960 Cycle d'émission des spermatophores et évolution des testicules et des vésicules séminales au cours de l'intermue chez Scutigerella pagesi Jupeau (Symphyle). C.R. Acad. Sci. 250, 2285-2287.
- KARASAKI S., 1964 An electron microscopic study of wolfian lens regeneration in the adult newt. J. Ultrastructure Res. 11, 246-273.
- KATO K., 1968 Cytochemistry and fine structure of elimination chromatin in Dytiscidae. Exp. Cell Res. 52, 507-522.
- KELLY D.E. and LUFT J.H., 1966 Fine structure, development and classification of desmosomes and related attachtment mechanisms. 6<sup>th</sup> Int. Congr. Micr. Kyoto. MAZUREN Co Ltd, Nihonbashi, Tokyo.
- KEMP N.E., 1956 Electron microscopy of growing oocytes of Rana pipiens. J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, 281-292.
- KESSEL R.G., 1966 a An electron microscope study of nuclear-cytoplasmic exchange in oocytes of <u>Ciona intestinalis</u>. J. Ultrastructure Res. 15, 181-196.

- KESSEL R.G., 1966 b Some observations on the ultrastructure of the oocyte of

  Thyone briareus with special reference to the relationship of the

  Golgi complex and endoplasmic reticulum in the formation of yolk.

  J. Ultrastructure Res. 16, 305-319.
- KESSEL R.G., 1968 a An electron microscope study of differenciation and growth in occytes of Ophioderma panamensis. J. Ultrastructure Res. 22, 63-89.
- KESSEL R.G., 1968 b Annulate Lamellae. J. Ultrastructure Res. Suppl. 10, 5-82.
- KESSEL R.G. and BEAMS H.W., 1969 Annulate Lamellae and "Yolk Nuclei" in occytes of the dragongly, <u>Libellula pulchella</u>. J. Cell Biol. 42, 185-201.
- KEYHANI E., 1969 Anomalies de structure de mitochondries dans un adénocarcinome rénal spontané de la souris. Arch. Biol. 80, 153-166.
- KTIARSKI W. and JASINSKI A., 1970 The formation of multivesicular bodies from the nuclear envelope. J. Cell Biol. 45, 205-211.
- KING E., 1925 Oogenesis in <u>Lithobius forficatus</u>. Scient. Proc. Roy. Dub. Soc. 18. 29-36.
- KING P.E. and RICHARDS J.G., 1968 Oösorption in Nasonia vitripennis (Hymenoptera: Pteromalidae). J. Zool. 154, 495-516.
- KING R.C. and KOCH E.A., 1963 Studies on the ovarian follicle cells of Drosophila. Quart. J. micr. Sci. 104, 297-320.
- KOCH A., 1925 Morphologie des Eiwachtums der Chilopoden. Zeit. Zellf. 2, 293-346.
- KOULISH S., 1965 Ultrastructure of differentiating oocytes in the Trematode Gorgoderina attenuata. I. The "Nucleus like" cytoplasmic body and some lamellar membrane systems. Devel. Biol. 12, 248-268.
- KUNZ W., 1969 Die Entstehung multipler Oocytennukleolen aus akzessorischen DNS Körpern bei Gryllus domesticus. Chromosoma, 26, 41-75.
- IANE N.J., 1967 Spheroidal and ring nucleoli in Amphibian oocytes. Patterns of uridine incorporation and fine structural features. J. Cell Biol. 35, 421-434.

- IE BEUX Y.J., 1969 An unusual ultrastructural association of smooth membranes and glycogen particles: the glycogen body. Zeit. Zellf. 101, 433-447.
- LECHENAULT H., 1968 a Etude cytochimique et ultrastructurale de l'ovocyte d'Eisenia foetida (Sav.). Zeit. Zellf. 90, 96-112.
- LECHENAULT H., 1968 b Les protéines basiques nucléaires et cytoplasmiques au cours de la gamétogenèse animale. Ann. Univ. et A.R.E.R.S. 6, 37-43.
- IELOIR L.F. and GCIDEMBERG S.H., 1960 Synthesis glycogen from uridine diphosphate glucose in liver. J. Biol. Chem. 235, 919-923.
- LE MOIGNE A., 1966 Etude au microscope électronique de cellules d'embr**y**ons de <u>Polycelis</u> (Turbellarié, Triclade) au début de leur développement. C.R. Acad. Sci. 263, 550-553.
- LE MOIGNE A., 1966 Présence d'émissions nucléaires fréquemment associées à des mitochondries dans les cellules embryonnaires de Planaires.

  C.R. Soc. Biol. 161, 508-511.
- IEWIS J.G.E., 1965 The food and reproductive cycle of the centipedes <u>L. variegatus</u> et <u>L. forficatus</u> in a Yorkshire woodland. Proc. roy. Soc. London, 114, 269-283.
- LIMA de FARIA A. and MOSES M.J., 1966 Ultrastructural and cytochemistry of metabolic DNA in Tipula. J. Cell Biol. 30, 177-192.
- LISON L., 1960 Histochimie et cytochimie animales. GAUTHIER-VILLARD Ed. Paris.
- LOCKSHIN R.A., 1969 Lysosomes in insects. In "Frontiers in Biology", 14.

  Lysosomes in Biology and Pathology, 1, 363-391. DINGLE J.T. and

  FELL H.B. Ed. Amsterdam.
- LONGO F.J. and DORNFEID E.J., 1967 The fine structure of spermatid differentiation in the Mussel, <u>Mytilus edulis</u>. J. Ultrastructure Res. 20, 462-480.
- IUBBOCK J., 1861 Notes on the generative organs and the formation of eggs in the Annulosa. Phil. Trans. 151, 595-627.
- LUCK D.J.L., 1963 Genesis of mitochondria in Neurospora crassa. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 49, 233-240.
- LUCK D.J.L., 1965 Formation of mitochondria in Neurospora crassa. A study based on mitochondrial density charges. J. Cell Biol. 24, 461-470.

- MAC GREGOR H.C., 1968 Nucleolar DNA in oocytes of Xenopus laevis. J. Cell Sci. 3, 437-444.
- MAC GREGOR H.C. and STEBBINGS H., 1970 A massive system of microtubules associated with cytoplasmic movement in telotrophic ovarioles. J. Cell Sci. 6, 431-449.
- MAC MANUS J.F.A., 1946 Histological demonstration of mucin after periodic acid. Nature, 158, 202.
- MAGGIO R., MONROY A., RINAIDI A.M. et VITTORELLI M.L., 1965 Activation

  "in vitro" des ribosomes des oeufs vierges d'oursins. C.R. Acad. Sci.
  260, 1293-1295.
- MARCHESI V.T., GOWANS J.L., 1964 The migration of lymphocytes through the endothelium of venules in lymph nodes : an electron microscope study. Proc. roy. Soc. B, 159, 283-290.
- MARINOZZI V. et BERNHARD W., 1963 Présence dans le nucléole de deux types de ribonucléoprotéines morphologiquement distinctes. Exp. Cell Res. 32, 595-598.
- MARSHALL'S F.H.A., 1956 Physiology of reproduction. 3e Ed., vol. 1, Pt 1.

  The breeding season. 1-42. PARKES A.S. Ed. London and Colchester.
- MASSOVER W.H., 1968 Cytoplasmic cylinders in bullfrog oocytes. J. Ultrastructure Res. 22, 159-167.
- MASUROWSKY E.B., BENITEZ H.H., KIM S.U. and MURRAY M.R., 1970 Origin, development and nature of intranuclear rodlets and associated bodies in chicken sympathetic neurons. J. Cell Biol. 44, 172-191.
- MAUCHLINE J., 1968 The development of the eggs in the ovaire of euphausiids and estimation of fecundity. Crustaceana, 14, 155-163.
- MAZIA D., BREWER P.A. and ALFERT M., 1953 The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. Biol. Bull. 104, 57-67.
- MERKOW L.P., SLIFKIN M., PARDO M. and RAPOZA N.P., 1970 Pathenogenesis of oncogenic simian adenovirses VII. The origin of annulate lamellae in LLC-MK, cells infected with SV 30. J. Ultrastructure Res. 30, 344-353.

- MERRIAM R.W., 1966 Protein synthesis in mature frog oocytes. Exp. Cell Res. 41, 614-621.
- MILIER F. and PAIADE G.E., 1964 Lytic activities in renal protein adsorption droplets. An electron microscopal cytochemical study. J. Cell Biol. 23, 519-552.
- MILIER O.L., 1966 Structure and composition of peripheral nucleoli of salamander occytes. Nat. Canc. Inst. Monograph 23, 53-66.
- MILLER O.L. and BEATTY B.R., 1969 Nucleolar structure and function. In "Frontiers of Biology" 15: Handbook of Molecular Cytology. 605-619.

  LIMA de FARIA A. Ed. Amsterdam.
- MILLONIG G., BOSCO M. and GIAMBERTONE L., 1968 Fine structure analysis of oogenesis in sea urchin. J. exp. Zool. 169, 293-314.
- MONNERON A. et BERNHARD W., 1969 Fine structural organization of the interphase nucleus in some mammalian cells. J. Ultrastructure Res. 27, 266-288.
- MORATO M.J.X., 1964 Le nucléole de l'ovocyte I de la chatte étudié au microscope électronique. Bull. Assoc. Anat. 49e réunion, 1243-1244.
- MORITA M., BEST J.B. and NOEL J., 1969 Electron microscopic studies of planarian regeneration. I. Fine structure of neoblasts in <u>Dugesia</u> dorotocephala. J. Ultrastructure Res. 27, 7-23.
- MUGNAINI E., 1964 Filamentous inclusions in the matrix of mitochondria from human livers. J. Ultrastructure Res. 11, 525-544.
- MUIR F. and KERSHAW J.C., 1909 On the eggs and instars of <u>Scutigerella</u> sp. Quart. J. micr. Sci. 53, 741-745.
- NATH V., 1924 Gogenesis in <u>Lithobius forficatus</u>. Proc. Cambridge phil. Soc. 1, 148-157.
- NIGON V. et NONNENMACHER J., 1961 L'incorporation de la thymidine tritiée durant l'ovogenèse de la Drosophile. Devel. Biol. 3, 210-224.
- NØRREVANG A., 1963 Helical structures in the nucleus of early oocytes of Priapulus. Exp. Cell Res. 31, 603-606.
- NØRREVANG A., 1965 Oogenesis in <u>Priapulus caudatus</u> Lamarck. Vidensk. Medd. Dansk. naturh. Foren. 128, 1-83.

- NØRREVANG A., 1968 Electron microscopic morphology of oogenesis. Int. Rev. Cytol. 23, 114-186.
- NOVIKOFF A.B., 1964 GERL, its form and function in neurons of rat spinal ganglia. Biol. Bull. 127, 358.
- NOVIKOFF A.B., ESSNER E. and QUINTANA N., 1964 Golgi apparatus and lysosomes. Fed. Proc. 23, 1010-1022.
- ODOR L.D., 1960 Electron microscopic studies on ovarian oocytes and unfertilized tubal ova in the rat. J. Biophys. Biochem. Cytol. 7, 567-574.
- ORIANDO E. and CREMA R., 1968 Growth of follicular cells in aphids. A cytophotometric and autoradiographic study. Experientia, 24, 1038-1039.
- PEARSE A.G.E., 1968 Histochemistry. Theoretical and applied. CHURCHILL J.A. Ltd. London.
- PERRY R., 1969 Nucleoli: the cellular sites of ribosome production. In "Frontiers of Biology". 15: Handbook of Molecular Cytology 620-636.

  LIMA de FARIA Ed. Amsterdam.
- PETIT J., 1970 Sur la nature et l'accumulation de substances minérales dans les ovocytes de <u>Polydesmus complanatus</u> (Myriapode Chilopode). C.R. Acad. Sci. 270, 2107-2110.
- POCHON-MASSON J., 1967 Structure et fonctions des infrastructures cellulaires dénommées "microtubules". Année Biol. 6, 367-390.
- POLLISTER A.W. and RIS H., 1947 Nucleoprotein determination in cytological preparations. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. 12, 147-157.
- PORTER K.R., 1966 Cytoplasmic microtubules and their function. In Ciba Foundation Symp. on Principles of Biomolecular organization 308-345.
- PRUNESCO C., 1965 Contribution à l'étude anatomique et an**ato**momicroscopique du système génital femelle de l'ordre des Lithobiomorpha. Rev. Roum. Biol. 10, 11-16.
- RAVEN C.P., 1961 Oogenesis: the storage of developmental information. Pergamon Press. London, 274 p.
- RHOADES M.M., 1961 Meïosis. In "The Cell", vol. 3, 1-75. BRACHET J. and MIRSKY A.E. Ed. Acad. Press New York and London.

- RILLING G., 1968 Lithobius forficatus. Grosses Zool. Prakt. Heft 13. FISCHER G. Ed., Stuttgart.
- ROBERTS H., 1956 An ecological study of the arthropods of a mixed beech-oak woodland, with particular reference to <u>Lithobiidae</u>. Ph. D. thesis, Univ. of Southampton.
- ROODYN D.B. and WILKIE D., 1968 The biogenesis of mitochondria. METHUEN'S Monograph on Biological Subjects. London.
- ROTH T.F. and PORTER K.R., 1964 Yolk protein uptake in the oocyte of the mosquito Aedes aegypti L. J. Cell Biol. 20, 313-332.
- SANCHEZ S., 1969 Formation et rôle des nucléoles des ovocytes de <u>Triturus</u>
  <a href="helveticus">helveticus</a> Raz. Etude autoradiographique et ultramicroscopique. J.
  <a href="helveticus">Embryol. exp. Morphol. 22, 127-143.</a>
- SANCHEZ S., 1970 Mode de formation, ultrastructure et nature chimique de micronucléoles d'un type particulier formés au cours de l'ovogenèse de Paracentrotus lividus. C.R. Acad. Sci. 270, 828-830.
- SANCHEZ S. et IANET A., 1966 Distribution des protéines basiques nucléaires et cytoplasmiques dans l'ovocyte en croissance de <u>Paracentrotus</u> <u>lividus</u>. C.R. Soc. Biol. 160, 145-147.
- SCHARRER B., 1966 Ultrastructural study of the regressing prothoratic glands of blattarian insects. Zeit. Zellf. 69, 1-21.
- SCHARRER B. and WURZELMANN S., 1969 Ultrastructural study on nuclear-cytoplasmic relationships in oocytes of the african Lungfish, <u>Protopterus</u> aethiopicus. Zeit. Zellf. 96, 325-343.
- SCHEIB D., 1965 Structure fine du canal de Müller de l'embryon de Poulet : lésions cytoplasmiques du canal mâle en régression. C.R. Acad. Sci. 260, 1252-1254.
- SCHJEIDE C.A., GALEY F., GREFFERT E.A., I-SAN LIN R., De VELLIS and MEAD J.F., 1970 Macromolecules in Cocyte Maturation. Biology of Reprod. Suppl. 2, 14-43.
- SELWOOD L., 1970 The role of the follicle cells during oogenesis in the chiton Sypharochiton septentriones (Ashby) (Polyplacophora, Mollusca). Zeit. Zellf. 104, 178-192.

- SHARMA G.P. and CHHOTANI O.B., 1957 The millipede egg. Res. Bull. Panjab Univ. 103, 241-250.
- SMITH R.E. and FARQUHAR M.G., 1966 Lysosome function in the regulation of the secretory process in cells of the anterior pituitary gland. J. Cell Biol. 31, 319-347.
- STADHOUDERS A.M., 1965 Particulate glycogen. Thèse Univ. Nimègue. Thoben offset Nijmegen.
- STAY B., 1965 Protein uptake in the oocytes of the <u>Cecropia</u> moth. J. Cell Biol. 26, 49-62.
- STEEDMAN H.F., 1950 Alcian blue 8 GS: a new stain for mucin. Quart. J. micr. Sci. 91, 477-479.
- STEIN O. and STEIN Y., 1967 a Lipid synthesis, intracellular transport, storage and secretion. I. Electron microscopic radioautographic study of liver after injection of tritiated palmitate on glycerol in fasted and ethanol treated rats. J. Cell Biol. 33, 319-340.
- STEIN O. and STEIN Y., 1967 b Lipid synthesis, intracellular transport and secretion. II. Electron microscopic autoradiographic study of the mouse lactating mammary gland. J. Cell Biol. 34, 251-263.
- STEIN G. and STEIN Y., 1968 Lipid synthesis, intracellular transport and storage. III. Electron microscopic radioautographic study of the rat heart perfused with tritiated oleic acid. J. Cell Biol., 36, 63-77.
- STERNLIEB I., 1965 Perinuclear filaments and microtubules in human hepatocytes and biliary epithelial cells. J. Microscopie, 4, 551-558.
- STEVENS B., ANDRE J., 1969 The nuclear envelope. In "Frontiers in Biology" 15: Handbook of Molecular Biology, 837-871. LIMA de FARIA Ed. Amsterdam.
- SYDOW H., 1968 Elektromikroskopische Untersuchungen über zytosomale Lamellenkörper in der Eizellen des Gvars vom Igel (Ericaceus europaeus L.). Zeit. Zellf. 88, 387-407.
- TEISSIER G., 1934 Dysharmonies et discontinuités dans la croissance. Act. Scientif. 95, HERMANN Ed. Paris.
- TELFER W.H., 1965 The mechanism and control of yolk formation. Ann. Rev. Entomol. 10, 161-184.

- TELFER W.H. and RUTBERG L.D., 1960 The effects of blood protein depletion on the growth of the oocytes in the <u>Cecropia</u> moth. Biol. Bull. 118, 352-366.
- THIERY J.P., 1967 Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. J. Microscopie, 6, 987-1018.
- TONNIGES C., 1902 Beiträge zur Spermatogenese und Oogenese der Myriapoden. Z. wiss. Zool. 71, 328-355.
- TROTTER N.L., 1967 Electron opaque bodies and fat droplets in mouse liver after fasting: a glucose injection. J. Cell Biol. 34, 703-711.
- URBANI E., 1969 Cytochemical and ultrastructural studies of oogenesis in the Dytiscidae. Monit. Zool. ital. 3, 55-87.
- VAN GANSEN P. et SCHRAM A., 1968 Ultrastructure et cytochimie ultrastruturale de la vésicule germinative et du cytoplasme périnucléaire de l'ovocyte mûr de Xenopus laevis. J. Embryol. exp. Morphol. 20, 375-389.
- VASQUEZ-NIN G.H. and SOTELO J.R., 1967 Electron microscope study of the atretic occytes of the rat. Zeit. Zellf. 80, 518-533.
- VERHEY C.A. and MOYER F.H., 1967 Fine structural changes during sea urchin oogenesis. J. exp. Zool., 195-225.
- VERHOEFF K.W., 1905 Uber die Entwicklungsstufen der Steinlaüfer, Lithobiiden und Beiträge zur Kenntniss der Chilopoden. Zool. Jb. suppl. VII, 195-208.
- VERHOEFF K.W., 1902-1925 Chilopoda. In: Browns Klassen und Ordnungen des Tierreichs, Bd 5, Ab II, Buch 1.
- VIVIER E. et ANDRE J., 1961 Existence d'inclusions d'ultrastructure fibrillaire dans le macronucleus de certaines souches de <u>Paramecium cauda-</u> <u>tum</u> Ehr. C.R. Acad. Sci. 252, 1848-1850.
- VIVIER E., PETITPREZ A. et PRENSIER G., 1969 Recherches sur les polysaccharides et les lipides chez la Grégarine <u>Diplauxis hatti</u>; observations en microscopie électronique. C.R. Acad. Sci. 268, 1197-1199.
- VOSS H., DORN A., 1969 Zur Ultrastruktur des Dotterkernes (Mitochondrienvolke) der Oocyten von Rana fusca. Anat. Anz. 125, suppl., 215-221.

- VRENSEN G.F.J.M., 1970 Further observations concerning the involvement of rough endoplasmic reticulum and ribosomes in early stages of glycogen repletion in rat liver. A combined biochemical and electronmicroscopic autoradiographic study. J. Microscopie, 9, 517-534.
- VRENSEN G.F.J.M. and KUYPER C.M.A., 1969 Involvement of rough endoplasmic reticulum and ribosomes in early stages of glycogen repletion in rat liver. J. Microscopie, 8, 589-614.
- WALKER M. and MAC GREGOR N.C., 1968 Spermatogenesis and the structure of the mature sperm in <u>Nucella lapillus</u> (L). J. Cell Science, 3, 95-104.
- WARNER J.R. and SCEIRO R., 1967 Nascent ribosomes from HeLa cells. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 58, 1984-1990.
- WATTIAUX R., 1969 Biochemistry and function of lysosomes. In "Frontiers of Biology", 15: Handbook of Molecular Cytology LIMA de FARIA A. Ed. Amsterdam.
- WEAKIEY B.S., 1968 Comparison of cytoplasmic lamellae and membranous elements in the oocytes of five mammalian species. Zeit. Zellf. 85, 109-123.
- WEBER R., 1964 Ultrastructural changes in regressing tail muscles of Xenopus larvae at metamorphosis. J. Cell Biol. 22, 481-487.
- WICHNITZER S., 1967 The ultrastructure of the nucleus of the developing amphibian egg. Adv. Morphogonesis 6, 173-196.
- WIGGLESWORTH V.B., 1964 The life of Insects. Chap. 7. Mating and Reproduction 108-125. WEIDENFELD and NICOLSON Ed. London.
- WILSON E.B., 1928 The cell in development and heredity. Maturation and reduction. Meiosis, 488-548. MAC MILIAN and Cie Ed. Toronto.
- WULKER W. und WINTER G., 1970 Untersuchungen über die Ultrastruktur der Gonaden von Chironomus (Dipt.). 1. Normalentwicklung der Ovarien inn 4.

  Iarven Stadium. Zeit. Zellf. 106, 348-370.
- YASUMA A. and ICHIKAWA T., 1952 Ninhydrin-Schiff and alloxan-Schiff staining.

  A new histochemical staining method for protein. Nagoya J. med. Sci.

  15, 96-102.

- YASUMA A. and ICHIKAWA T., 1953 Ninhydrin-Schiff and alloxan-Schiff staining.

  A new histochemical method for protein. J. Lab. clin. Med. 41,
  296-299.
- YEW M.L.S., 1969 A cytological study of oogenesis and yolk formation by oocytes and eggs of Xenopus laevis. Cellule 67, 333-339.
- ZERBIB C., 1966 Etude descriptive et expérimentale de la différenciation de l'appareil génital du Myriapode Chilopode <u>Lithobius forficatus</u> L. Bull. Soc. Zool. 91, 203-215.
- ANDRE J. et FAURE-FREMIET E., 1967 Formation et structure des concrétions calcaires chez Phorodon morgani Kahl. J. Microscopie, 6, 391-398.

