

ÉTUDES SUR LES IGUANIDAE DE MADAGASCAR

VI. — Observations sur la structure et la signification des cellules folliculeuses ovocytaires

chez *Chalarodon madagascariensis* Peters, 1854

PAR

C. P. BLANC

(Laboratoire de Zoologie — Biologie générale)

RÉSUMÉ

Nous décrivons la formation, l'évolution et les caractères cytologiques et histochimiques de la granulosa et de la thèque. La zone pellucide est constituée de microvillosités avec à leur base un feutrage de tonofilaments.

L'existence de ponts intercellulaires, de macrovillosités, d'une corrélation entre l'évolution histo-chimique de la granulosa et de l'ovocyte (glycogène, lipides, ARN...) sont des arguments en faveur d'un rôle actif de l'enveloppe folliculeuse dans l'accroissement de l'ovocyte.

ABSTRACT

Formation, evolution, cytological and histochemical characteristics of the granulosa and theca are described. The cell membrane of the oocyte is extended into villous projections with a basal felting of tonofilaments. Protoplasmic bridges between oocyte and follicular cells, and a parallelism in the histochemical evolution between granulosa and oocyte (glycogen, lipids, RNA) suggest that follicular cells may have some importance for the oocyte in relation to yolk formation.

INTRODUCTION

La structure et le rôle de l'enveloppe folliculeuse et de la zone pellucide des ovocytes chez les Reptiles sont encore insuffisamment connus. A côté des travaux d'histologie classique, dont beaucoup sont anciens, ou d'histochimie (C. GEGENBAUR, 1861 ; W. WALDEYER, 1870 ; T. EIMER, 1872 ; M. BRAUN, 1877 ; C.-K. HOFFMANN, 1889 ; G. OSAWA 1898 ; M. LOYEZ, 1900, 1905 ; J.-H.-F. KOLHBRUGGE, 1901 ;

J.-P. MUNSON, 1904 ; G. TRINCI, 1905 ; A. THING, 1918 ; D.-R. BHATTACHARYA, 1925, 1929 ; R.-G. MOSELLA, 1926 ; M.-M.-M. BOYD, 1940 ; A.-S. SRIVASTAVA, 1948 ; H. SAINT-GIRONS, 1959 ; J.-P. ZAHND et A. PORTE, 1963 ; N. BONS, 1966), les investigations ultrastructurales se limitent à celles de E. KEMP, 1958, chez *Chrysemys picta* (Emydidé) ; A. PORTE et J.-P. ZAHND, 1961, chez *Lacerta stirpium* (Lacertidé) ; G. GHIARA et coll., 1968, chez *Lacerta s. sicula* (Lacertidé).

L'objet de ce travail est de rapporter nos observations chez un autre Reptile : *Chalarodon madagascariensis* (Iguanidé). Nous décrivons tout d'abord la structure histologique, complétée par nos premières observations ultrastructurales, des différents constituants de la paroi folliculaire. Nous chercherons ensuite à préciser les rapports entre l'enveloppe folliculeuse et l'ovocyte en étudiant leur zone d'affrontement : la zone pellucide, ainsi que les manifestations morphologiques et histochimiques d'une participation possible dans l'élaboration des réserves vitellines.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les ovaires ont été fixés au cours des différentes phases du cycle reproducteur (C.-P. Blanc, 1969) en utilisant les techniques suivantes :

Pour les recherches histologiques et histo-chimiques, les 2 ovaires sont fixés en bloc, aussitôt après une dissection rapide, dans les fixateurs suivants : Bouin acétique, B.O.S.U., Stieve, Halmi, formol salé, formol sublimé, formol-alcool-acétique Ammerman, Carnoy, Zenker acétique, Helly, Regaud, Champy, Flemming, Ciaccio, da Fano, Gendre à 0° C et à -80° C, Pasteels-Léonard à 0° C. La fixation à 0° C. par le fixateur de Pasteels-Léonard nous a donné de bons résultats quantitatifs mais des images de fuite dans les ovocytes. Nous n'avons

pas observé ces images après la fixation selon la méthode de congélation-dissolution de Lison.

Les pièces ont été incluses à la paraffine ou par double inclusion celloïdine-paraffine, selon la méthode de Peterfi ; 54 ont été débitées en coupes sériées à 5 μ ou 7 μ . L'étude des lipides a été faite sur coupes à congélation à 10 ou 20 μ après une fixation de 12 à 18 heures au formol-calcium selon BAKER (1947) *in* L. LISON (1960).

Nous avons utilisé les colorations topographiques suivantes : azan ; hémalum-éosine ; triple coloration de Prenant au vert lumière ; trichrome en un temps selon Gabe et Martoja ; triple coloration de Flemming.

Les colorations histochimiques, qui ont donné les meilleurs résultats, sont les suivantes :

— Les nucléoprotéines ont été mises en évidence par le test de Brachet, à la R. NASE (solution à 0,01 p. 100 en eau distillée de ribonucléase) avec coloration au vert de méthyl-pyronine ou à la gallocyanine. L'ADN a été révélé par la réaction de Feulgen, après fixation au Carnoy, Champy ou Zenker acétique.

— Les protéines : par la réaction de Chèvremont et Frédéricq, variante de Lillie *in* L. LISON (1960), (détection des radicaux réducteurs) et la réaction à la ninhydrine-Schiff selon Lison (protéines à radicaux NH_2).

— Les lipides : par le Soudan III, après fixation au bichromate de potassium, sur coupes à la paraffine ; sur coupes à congélation, par l'écarlate S, le noir Soudan B en solution saturée dans le butanol selon LISON, HADLER et SAMPAIO (1960) *in* L. LISON p. 749, les lipides à caractères acides par le bleu de Nil, les lipides à doubles-liaisons conjuguées par la réaction O_2 -Schiff, variante de LISON (1939), les phospholipides par l'hématéine acide selon BAKER (1946) *in* L. LISON (1960), sur coupes à congélation après post-fixation dans du bichromate-calcium et contrôle après extraction par la pyridine.

— Le glycogène a été détecté par la réaction de Hotchkiss, Mac-Manus et Lillie (APS) en milieu aqueux ou alcoolique avec contrôle par la salive ou la maltase, selon LILLIE (1947) *in* L. LISON (pp. 748 ; 420), après fixation au Gendre à 0° C ou - 80° C, selon la méthode de congélation - dissolution de LISON (1949).

— Les mucopolysaccharides acides par la réaction à l'APS, et par les réactions métachromatique de Lison et au bleu Alcian.

Pour l'étude au microscope électronique, les ovaires sont fixés par le tétraxyde d'osmium à 2 p. 100 dans les tampons de Palade 0,1 M ou de collidine 0,05 M à pH 7,3 - 7,4 précédé ou non d'une préfixation dans la glutaraldéhyde à 3 p. 100 final dans les tampons ci-dessus ou de Sørensen 0, 1 M.

L'inclusion a été faite dans l'araldite selon GLAUERT et GLAUERT (1958), les coupes colorées à l'acétate d'uranyle — citrate de plomb, et les clichés réalisés, à Paris, dans le laboratoire du Professeur Ch. DEVILLERS à l'aide d'un microscope Hitachi HS 7 sous 50 kv.

Les mesures sont effectuées au micromètre oculaire dans deux directions orthogonales. Dès que le même élément se retrouve sur plusieurs coupes sériées, on a calculé son épaisseur. Les dimensions fournies sont la moyenne arithmétique de ces 2 (ou 3) mesures, et ont été établies sur 5 à 10 éléments de même nature.

I. ENVELOPPE FOLLICULEUSE

En quittant le cortex, l'ovocyte entraîne une couronne de petites cellules, probablement interstitielles, du lit germinatif. Ces cellules constituent l'ébauche de la granulosa. Des cellules médullaires entourent ensuite peu à peu le jeune follicule en 1 ou 2 rangs : elles sont à l'origine de la thèque impaire.

La granulosa et la thèque sont séparées en permanence par la membrana propria, mince couche d'épaisseur uniforme (0,1 à 0,15 μ) homogène, à structure vaguement fibrillaire (pl. I, fig. 4).

A — GRANULOSA

A-1 — Observations

I — FORMATION

Les premières cellules folliculeuses apparaissent autour d'un ovocyte de 20-25 à 40 μ de diamètre moyen. Ce sont des cellules à noyau dense, à cytoplasme réduit, aplaties tangentiellement contre l'ovocyte et, soit groupées, soit disséminées à sa périphérie.

La mise en place des cellules de la granulosa peut résulter d'un phénomène mécanique. La formation des ovocytes est polarisée : ils quittent généralement le lit germinatif à l'opposé du hile ovarien. L'apparition des premiers éléments de la granulosa se fait dans une partie du lit germinatif plus riche en travées conjonctives et en cellules à noyau plus ou moins étiré et dense (petites cellules interstitielles du cortex). L'accroissement de volume de l'ovocyte semble être responsable de la mise en place passive des premières cellules appliquées contre lui.

Au stade diplotène, une couronne complète est constituée : toutes les cellules sont identiques, du type petites cellules corticales. La première assise est donc simple, continuë, d'aspect homogène ; les cellules sont déjà nombreuses, assez serrées, et ont

pris, pour un ovocyte de diamètre moyen voisin de 50 μ , un aspect cubique.

II — ÉVOLUTION

1° Variations en épaisseur (fig. n° 1) :

Les mesures sont prises sur des coupes voisines de l'équateur de l'œuf (sans considération de la position du noyau qui est excentrique).

La granulosa atteint une épaisseur maximale (40 à 50 μ) pour un ovocyte de diamètre moyen d'environ 900 μ . Pour des tailles inférieures, on observe un accroissement régulier, assez rapide, de son épaisseur, dû à une multiplication cellulaire. Ensuite, la régression, d'abord rapide entre 1 000 et 3 000 μ , se ralentit quand la granulosa n'est plus réduite qu'à une seule couche de cellules qui s'aplatissent de plus en plus jusqu'au stade de la ponte ovulaire (2,5 μ environ).

2° Différenciation :

Quand l'ovocyte quitte la crête germinative (100 μ), et alors que se différencie la thèque, apparaissent les premières cellules claires (cellules de type intermédiaire) : ces cellules dérivent des cellules cubiques par augmentation des volumes cytoplasmique et nucléaire. Leur noyau est sphérique ; elles font saillie à l'extérieur et à l'intérieur, dans l'ovocyte.

Ces cellules claires apparaissent non exclusivement aux deux pôles géométriques du follicule, comme l'avait cru C.-K. HOFFMANN (1889), chez le Léopard commun. Cette disposition peut se rencontrer (AK 51), mais très vite, les cellules claires sont présentes en différents points de la couche folliculeuse (M. LOYEZ, 1905, p. 54).

Le nombre des cellules claires s'accroît : elles forment alors une couronne continue (ovocyte de diamètre : 200 μ). Les petites cellules sont refoulées à l'affrontement de 2 cellules claires (AI 26).

Certaines cellules claires prennent un aspect piriforme qui ne se rencontrerait que chez les Reptiles (M. LOYEZ, 1905) et établissent un contact avec la membrane de l'ovocyte, comme beaucoup d'auteurs l'ont signalé (M. LOYEZ, 1905 ; A. THING, 1918 ; M.-M.-M. BOYD, 1940 ; N. BONS, 1966 ; etc.).

La granulosa augmente d'épaisseur et on peut trouver, au maximum de complexité, 4 ou 5 (AK 52) couches cellulaires, soit schématiquement :

- des petites cellules externes ;
- des grandes cellules piriformes ;
- des cellules de type intermédiaire, dont une rangée externe de volumineuses cellules claires, à allure de cellules piriformes, et une rangée interne de plus petites ;

— des petites cellules internes, à certains stades tout au moins.

3° Régression :

La régression amène tout d'abord une diminution du nombre relatif des petites cellules internes et des cellules intermédiaires, en particulier des plus grosses.

La couronne des cellules piriformes présente des signes de désagrégation : elles sont moins tassées, ce qui est peut-être dû à l'augmentation de volume de l'ovocyte. Les cellules intermédiaires sont, en moyenne, assez grosses.

Ensuite, les cellules piriformes se lysent : le suc nucléaire apparaît sans chromatine ; le nucléole s'estompe (on le voit souvent accolé, aplati contre la membrane nucléaire, dans les cellules les moins dégénérées), puis il ne se révèle plus. Le cytoplasme se vacuolise et devient plus ou moins grumeleux.

Il ne subsiste plus, dès lors, qu'une seule couche de cellules à noyau elliptique, allongé tangentiellement, et à cytoplasme vacuolisé. Le stade ultime, précédant la ponte ovulaire, est représenté par une mince couche d'une seule rangée, plus ou moins discontinue, de cellules à noyau très aplati, de dimensions 8 $\mu \times 2,5$ à 2 μ .

Nous venons de voir que les diverses catégories cellulaires de la granulosa dérivent toutes du même type initial. L'étude des caractères cytologiques, et histochimiques, nous permettra de dégager leurs relations de filiation et leur valeur morphologique.

III — CARACTÈRES CYTOLOGIQUES ET HISTOCHIMIQUES

1° Petites cellules :

Ces cellules sont, pour les plus externes, soit groupées en amas, soit régulièrement espacées au voisinage du pôle distal des cellules piriformes. Les plus internes sont disséminées entre les cellules intermédiaires. Leur taille varie de 4 à 6 μ . Leur noyau est polygonal, parfois plus ou moins triangulaire, sombre, avec quelques granulations plus denses.

L'ultrastructure révèle la présence d'un petit nucléole sphérique. Le cytoplasme est réduit à une couche mince autour du noyau, et à des expansions, plus ou moins intriquées, isolant le pôle distal des cellules piriformes de la membrana propria. Il renferme quelques mitochondries de petite taille, ainsi que des formations de reticulum endoplasmique.

Ces cellules sont riches en glycogène.

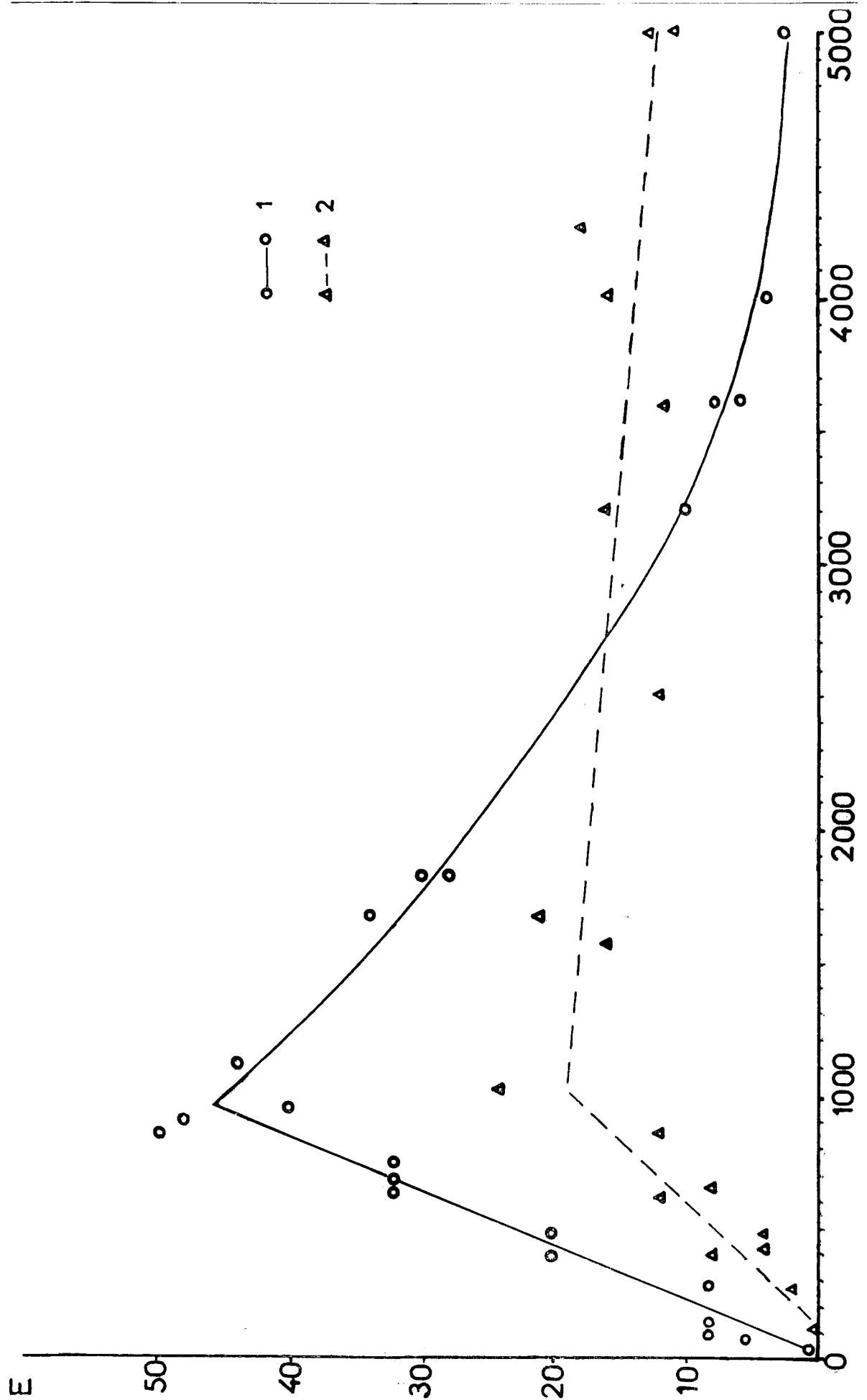


FIGURE I
 Variations d'épaisseur (E) de l'enveloppe folliculeuse en formation du diamètre moyen de l'ovocyte.
 Dimensions en μ : 1 : granulosa : 2 : thèque.

2° Cellules piriformes :— *Microscope à lumière :*

Les coupes radiales et tangentielles montrent que ces cellules constituent, typiquement, une couronne continue, autour de l'ovocyte. Leur section est hexagonale. Les dimensions moyennes sont $20 \times 16 \mu$. Le noyau est volumineux (13μ de diamètre), sphérique, ou légèrement aplati tangentiellement, situé, le plus souvent, près du pôle distal. Un gros nucléole, avec vésicules intra- et épynucléolaires, occupe une position variable. Il est parfois aplati contre la membrane nucléaire, en des points très divers. Ces cellules présentent parfois 2 nucléoles ou, très rarement, 2 noyaux situés côte à côte.

Les limites cellulaires sont bien visibles. Les plans de coupe favorables montrent que ces cellules sont prolongées par un cône qui s'étire en un long canalicule ($16 \mu \times 0,5$), plus ou moins sinueux, et prend contact avec la membrane superficielle de l'ovocyte. Le niveau de ce contact est marqué par une échancrure de la zona radiata et il se produit parfois une évagination de l'ovocyte comme l'avait déjà signalé M. LOYEZ (1905, p. 67). Cet auteur suppose que ce canalicule pourrait préexister, très mince, dans les stades antérieurs de l'évolution de ces cellules.

Dans le cytoplasme, existe toujours une calotte granuleuse, en fer à cheval, aux limites précises. Celle-ci a une position généralement proximale, entre le noyau et la base du cône, mais elle peut aussi être située au pôle distal. Dans tous les cas, elle entoure partiellement le noyau.

Cette calotte granuleuse est osmiophile, basophile, riche en ARN. Elle contient des phospholipides en fines granulations et 2 ou 3 inclusions lipidiques soudanophiles, avec des lipides à doubles liaisons conjuguées.

Epars dans le cytoplasme, on note la présence de dictyosomes osmiophiles et phospholipidiques, de 3 à 4μ de diamètre et de position variable. Lorsque l'ovocyte atteint un diamètre moyen supérieur à 600μ , il apparaît du glycogène et des protéines à groupements réducteurs. A ce moment, la calotte est colorable par le sulfate de bleu de Nil : elle contiendrait donc des lipides acidiques.

— *Microscope électronique :*

L'ultrastructure montre que la calotte granuleuse est constituée de mitochondries et de dictyosomes circulaires à vésicules peu dilatées. Le cytoplasme tend à s'enrichir en granulations (ribosomes et glycogène). Il est fréquent d'observer quelques formations de reticulum granulaire ainsi que des dictyosomes à vésicules dilatées, des vacuoles de types variés : lysosomes, vésicules lipoprotéiques (donnant des structures multilamellaires), des « yolk-spheres », du reticulum lisse et des microtubules.

3° Cellules intermédiaires :— *Microscope à lumière :*

Dans la plupart des études morphologiques sur la granulosa des Reptiles, les auteurs ont été généralement conduits à ranger les cellules n'entrant pas dans une des deux catégories précédentes dans le groupe complexe et mal délimité des « cellules intermédiaires ». Ces cellules présentent de larges variations de taille et d'aspect, et l'on rencontre les deux types extrêmes suivants :

— Des cellules à cytoplasme clair, qui occupent une position quelconque, entre les cellules piriformes et l'ovocyte I ;

— Des cellules à cytoplasme dense, granuleux, riche en glycogène et en ARN, généralement proches de la zone pellucide.

— *Microscope électronique :*

Il confirme l'existence de ces deux types cellulaires (voir Pl. III) : les granulations sont formées essentiellement de ribosomes libres et de glycogène, en accord avec nos réactions histochimiques. Dans les cellules sombres, la membrane nucléaire présente des indentations au niveau desquelles se forme un abondant reticulum lisse.

A-2 — Discussion et conclusion**I — CARACTÉRISTIQUES DE LA GRANULOSA**

Chez *Chalarodon madagascariensis*, la granulosa présente les deux caractéristiques suivantes :

1. — *Sa structure pluristratifiée* : jusqu'à 4 à 5 couches de cellules au maximum de développement. Ce caractère n'est pas constant chez les Reptiles, ni même dans le seul sous-ordre des Sauriens, ainsi que l'attestent la bibliographie et nos propres observations sur diverses espèces endémiques malgaches. Les données actuellement disponibles sont encore très insuffisantes pour faire une étude comparative.

2. — *Son polymorphisme cellulaire* : 3 catégories cellulaires sont identifiables chez *Chalarodon madagascariensis* (grandes cellules piriformes, cellules intermédiaires, petites cellules). Ces éléments avaient déjà été reconnus par T. EIMER (1872), G. TRINCI (1905) et M. LOYEZ (1905). Là encore, ces 3 constituants de la granulosa ne sont pas présents chez tous les Reptiles.

Nous avons vu la dérivation de ces cellules exclusivement à partir des petites cellules initiales. Le problème se pose donc des modalités de leur multiplication.



II — MULTIPLICATION DES CELLULES

Nous n'avons observé que quelques divisions de petites cellules externes. L'orientation du fuseau est quelconque : radiale ou tangentielle. De telles figures de mitoses ont été rapportées par divers auteurs (M. LOYEZ, 1905 ; N. BONS, 1966). M. LOYEZ (1900) avait cru que les grandes cellules étaient capables de se diviser. Elle est revenue sur cette opinion (1905), en accord avec les observations de G. TRINCI (1905). La division des grandes cellules n'a plus jamais été rapportée. Toutes les catégories cellulaires dérivent donc des petites cellules.

G. GHIARA et S. FILOSA (1966) supposent que les petites cellules migrent de la zone périphérique au contact de la zona radiata où elles entreprennent leur accroissement. Cette modalité ne nous paraît pas absolument indispensable, car M. LOYEZ (1905) signale des mitoses de petites cellules internes. Le déroulement de ces mitoses doit être relativement bref, ce qui explique leur rareté.

Nous avons examiné les progrès de cette multiplication cellulaire dans la granulosa :

| Lame | Diamètre moyen de l'ovocyte (μ) | Nombre total de cellules | Observations |
|-------|---------------------------------------|--------------------------|--|
| AK 51 | 46 | 360 | 1 couronne de cellules folliculaires (dont 2 cellules claires) ; l'ovocyte quitte le lit germinatif. |
| FG 8 | 148 | 1 300 | 1 rangée continue de cellules claires. |
| AI 29 | 840 | 70 000 | Épaisseur maximale de la granulosa. |
| AK 45 | 5 000 | 500 000 | 1 rangée de cellules aplaties. |
| E | 6 000 | 500 000 | Stade proche de la ponte ovulaire. |

Nous avons assimilé, pour simplifier des calculs très complexes, l'œuf à une sphère de rayon égal à son diamètre moyen. Les nombres obtenus sont évidemment très approximatifs, cependant, ils montrent sans ambiguïté, que la multiplication continue jusque dans les gros ovocytes, donc que la diminution d'épaisseur de la granulosa est loin de correspondre à une diminution du nombre total des cellules qui la composent. Ce nombre correspond à environ 11 divisions successives des cellules sombres initiales dont est pourvu le jeune ovocyte, au moment où il quitte le lit germinatif.

III — VALEUR MORPHOLOGIQUE DES CELLULES

Ce problème se relie directement à celui de la structure du lit germinatif que M. LOYEZ (1905, p. 55) considère comme constitué exclusivement de « cellules germinatives encore non différenciées ». Cette opinion a été reprise par D.R. BHATTACHARYA (1925) et T.-W. BETZ (1963). Dès 1877, M. BRAUN, puis C.-K. HOFFMANN (1889) et G. TRINCI (1905) avaient souligné la ressemblance des grandes cellules folliculaires avec de jeunes ovocytes. J.-P. MUNSON (1904), chez *Clemmys marmorata*, admet que dans un îlot de 8 ovogonies, la cellule centrale devient l'ovocyte et les 7 autres fournissent les premières cellules de la granulosa. La microscopie électronique a permis à A. PORTE et J.-P. ZAHND (1961) d'établir de nouveaux éléments de comparaison avec l'ovocyte, qui les amènent à conclure : « Les plus grosses des cellules de la couronne folliculeuse sont très probablement de très jeunes ovocytes. »

Par contre, L.-L. FRANCHI et COLL. (1962) considèrent que toutes les cellules de la granulosa dérivent des cellules somatiques du lit germinatif.

Nous avons vu, ci-dessus que les petites cellules du cortex paraissent devoir être considérées comme des cellules interstitielles. Or, comme toutes les cellules de la granulosa en dérivent, nous sommes réduits, en admettant qu'elles n'aient pas valeur de gonocyte, à supposer que l'ovocyte induit un développement des cellules folliculaires tel qu'elles le miment.

Nous pouvons en effet relever les éléments de comparaison suivants :

1° Noyau :

Nous n'avons jamais observé, comme M. LOYEZ (1905, p. 56, fig. IV-A) chez l'Orvet (*Anguis fragilis*) de figures chromosomiques différenciées. Le noyau des cellules claires s'accroît jusqu'à une taille de 13 μ en conservant un aspect réticulé, mal défini, légèrement colorable par le vert de méthyle et le Chèvremont et Frédéricq, variante de Lillie, non colorable par le Feulgen. Ces caractères se retrouvent dans les ovocytes au même stade réticulé. On observe, en outre, dans le noyau de ces cellules, des granulations bleues, représentant des lipides acides, pour un ovocyte d'une taille supérieure à 800 μ . Des lipides intranucléaires ont été signalés par B.-R. SESHACHAR et R.-P. NAYYAR (1963) dans les ovocytes du Poisson *Heteropneustes fossilis*.

L'évolution du nucléole est intéressante, car elle permet de paralléliser son développement avec le nucléole unique des jeunes ovocytes durant les stades préméiotiques. On observe en effet un accroissement considérable de cet organite, l'apparition de vésicules intra- puis épynucléolaires, puis sa disparition.

2° Cytoplasme :

Dans les cellules intermédiaires claires apparaît une calotte cytoplasmique à partir de la taille de 11 μ . Sa présence est constante dans les cellules piriformes. Ses réactions histochimiques sont celles d'un noyau de Balbiani. Mais nous avons noté en ultrastructure deux différences :

1. — Nous n'avons encore jamais observé de centrioles (ni, d'ailleurs, de centrosome clair au microscope à lumière); cependant R. BELLAIRS (1965) signale leur existence dans les cellules folliculeuses de l'ovocyte de Poule.

2. — Le reticulum endoplasmique n'offre pas ce riche développement de vésicules remarquable, tant chez notre Lézard, que chez le Poulet (M.-I. GREENFIELD, 1966 ; R. BELLAIRS, 1967).

3° Relations entre cellules :

Alors que les petites cellules denses présentent des séparations rectilignes, avec quelques desmosomes, les cellules piriformes et les plus grosses des cellules intermédiaires émettent des microvillosités, soit réparties sur tout le pourtour de la cellule, soit limitées à des zones de décollement séparant des portions rectilignes d'affrontement. Les microvillosités atteignent une longueur de 1 μ pour un diamètre de 0,1 μ . Elles sont flexueuses, parfois ramifiées, et présentent une intrication réciproque. Il peut se différencier à leur niveau une très mince basale (0,5 μ) rappelant la membrane vitelline de l'ovocyte.

IV — CONCLUSIONS

Il ressort de nos observations et discussion que toutes les cellules de la granulosa sont équivalentes et sont vraisemblablement des cellules interstitielles. Donc :

Le développement des plus grosses cellules folliculeuses ne fait que mimer, avec quelques différences, celui d'un jeune ovocyte durant les stades préméiotiques.

En tenant compte de l'évolution histochemique des cellules claires vers une enrichissement global en glycogène et en ARN, il est possible de dégager leurs relations phylétiques (*fig. n° 2*).

Ainsi, les cellules intermédiaires peuvent donc être, pour les unes, les précurseurs des cellules piriformes, ou des grandes cellules claires qui leur sont

Figure 2

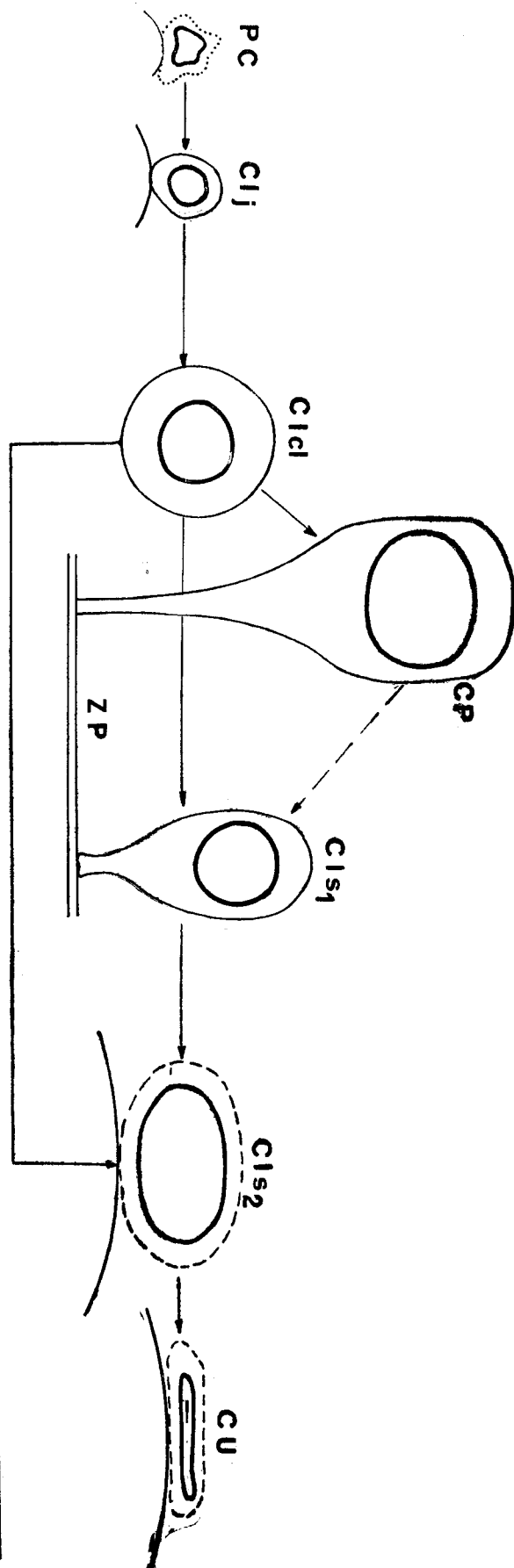


FIGURE 2

Diagramme des relations entre les différentes catégories cellulaires de la granulosa : PC : petite cellule ; CI : cellules intermédiaires ; j : jeune ; cl : claire ; s1 et 2 : sombre aux 2 stades initial et final de leur évolution ; CP : cellule piriforme ; CU : cellules ultimes de la granulosa ; ZP : zone pellucide.

très analogues à la forme prês, et pour les autres, le terme de l'évolution, soit des cellules piriformes (?) soit des grosses cellules intermédiaires claires.

Ceci s'accorde, d'une part, avec le polymorphisme de cette catégorie cellulaire aux limites imprécises (aspect du noyau et taille totale) et, d'autre part, avec leur diversité d'aspect tant en microscopie optique qu'électronique. Pour toutes ces raisons, nous maintiendrons cette « catégorie » cellulaire pour pouvoir distinguer nettement les petites cellules sombres et les cellules piriformes qui sont bien caractérisées.

Les différences histochimiques relevées entre les diverses catégories cellulaires paraissent simplement liées à des degrés différents du développement des structures internes.

B — THÈQUE

I — FORMATION

La thèque apparaît dans un ovocyte d'environ 80 à 100 μ de diamètre moyen, au moment où celui-ci quitte la partie massive de l'ovaire (ovocyte au stade des chromosomes plumeux). Elle dérive des cellules médullaires. La granulosa est alors composée d'une couche continue de cellules folliculeuses (cellules claires et petites cellules).

Les cellules médullaires tendent à entourer le jeune follicule à l'extérieur de la membrana propria, surtout du côté ventral. Les noyaux, plus ou moins polyédriques, denses, tendent à s'aplatir. Jusqu'au stade de 100 μ , la thèque reste simple et complète : 1 couche de cellules, parfois double sur des portions seulement; l'ovocyte quitte alors le lit germinatif.

Des fibres apparaissent entre les cellules de la thèque. L'ultrastructure révèle qu'il s'agit de fibres collagènes.

II — ÉVOLUTION

1° Variations en épaisseur :

La figure n° 1 précise les variations d'épaisseur totale de la thèque. Ces dimensions ne tiennent pas compte de l'épaisseur des capillaires. Le développement de la thèque est plus tardif, et plus limité (au maximum une vingtaine de microns), que celui de la granulosa. Elle tend à diminuer de moitié dans les ovocytes les plus âgés surtout, parce que les cellules deviennent plus aplaties. Elle prend alors un aspect onduleux.

2° Différenciation des deux thèques :

Le critère retenu (N. BONS, 1966), pour distinguer les deux thèques, est celui de la vascularisation : la thèque interne n'est pas vascularisée, la thèque externe est traversée par les vaisseaux sanguins, et les capillaires marquent la limite des deux thèques. La différenciation de la thèque externe apparaît dans des ovocytes de 130 μ de diamètre moyen (AK 52 : 189 \times 120 \times 84 μ).

3° Développement et régression :

Au maximum de son développement, la thèque interne comprend, de l'intérieur vers l'extérieur :

— 2 à 3 couches de cellules à noyaux aplatis ;

— 1 ou 2 couches de cellules à noyaux plus arrondis, mais leur aplatissement tangentiel reste marqué. Ces noyaux sont parfois groupés en petits amas disséminés.

La thèque externe est constituée de 1 à 2 (rarement 3) couches cellulaires à noyaux très aplatis. Son épaisseur est irrégulière.

Dans les ovocytes en cours de vitellogenèse, les noyaux de la thèque interne s'aplatissent et deviennent sinueux (6 \times 2 μ). L'irrigation est abondante et on y observe des capillaires, séparés de la membrane propria par une seule couche de cellules. Dans la thèque externe, les noyaux deviennent aussi très allongés et contournés.

Dans toute la thèque, les fibres collagènes deviennent plus nombreuses, plus serrées, plus onduleuses. Les capillaires sanguins sont bien développés.

Sur les portions distales des ovocytes, la thèque est accolée à la paroi de l'ovaire, mince (4 à 8 μ), constituée par 1 couche (rarement 2) de noyaux très aplatis, et des fibres conjonctives.

III — CARACTÈRES CYTOLOGIQUES ET HISTOCHIMIQUES

Les noyaux des fibroblastes sont denses, avec quelques granulations, situées surtout dans la zone périphérique. Le microscope électronique révèle la présence d'un abondant reticulum lisse constitué de nombreux canalicules à section claire. Les fibres collagènes sont groupées en faisceaux parallèles.

Dans les cellules de la thèque interne, à noyau plus ou moins ovoïde, la chromatine est très colorable au vert de méthyle. Le cytoplasme est peu abondant, légèrement osmiophile et basophile. Il ne contient pas de glycogène, ni de protéines à groupements réducteurs ou aminés, mais de l'ARN. La

hèque externe a des caractères histochimiques assez comparables, jusqu'à ce que l'ovocyte atteigne un diamètre moyen d'environ 600 μ (c'est-à-dire peu avant le début de la vitellogenèse).

Pour des tailles supérieures, les deux thèques contiennent des substances APS positives, mais qui ne sont pas des mucopolysaccharides acides, sauf au cours de la vitellogenèse protéique. La thèque interne en est alors la plus riche. En ce qui concerne les lipides, leur évolution est différente :

— Dans la thèque interne apparaissent des phospholipides et des lipides acidiques. Ensuite, on constate un enrichissement en protéines à groupements réducteurs, en ARN, et en phospholipides.

— Les cellules de la thèque externe se chargent de lipides soudanophiles, non acidiques. Au cours de la vitellogenèse, elles sont très riches en ARN, en protéines à groupements réducteurs et en lipides. Ces lipides ne sont pas des phospholipides, ni des lipides à doubles-liaisons conjuguées, ni des lipides acidiques.

II. RAPPORTS ENTRE L'ENVELOPPE FOLLICULEUSE ET L'OVOCYTE

A — LA ZONE PELLUCIDE

Les microscopistes anciens avaient remarqué que la membrane plasmique de l'ovocyte, d'abord simple, se différencie en une membrane vitelline externe et une zona radiata finement striée, interne. Par commodité, nous conserverons ces termes largement usités. Celui de zone pellucide sera utilisé pour désigner la paroi de l'ovocyte avant sa différenciation ou l'ensemble de ses deux composantes.

Celles-ci ont été reconnues depuis longtemps : en 1872 par T. EIMER ; plusieurs auteurs, après lui, les ont retrouvées chez divers Reptiles, et M. LOYEZ (1905) les a observées chez toutes les espèces qu'elle a étudiées. Elle retrouve aussi la membrane interne décrite par G. OSAWA (1898) chez *Hatteria* (= *Sphenodon*) *punctata*, qu'elle considère comme une différenciation interne de la zona radiata.

I — STRUCTURE HISTOLOGIQUE

Les 3 membranes des anciens auteurs sont facilement identifiables dans les stades propices chez *Chalarodon madagascariensis*.

La zone pellucide se différencie en zona radiata et membrane vitelline dans un ovocyte d'environ 700 μ . La membrane vitelline atteint son maximum de développement vers la fin de la prévitellogenèse. Elle persiste, en s'amincissant, jusqu'en fin de vitel-

logenèse. La zona radiata augmente régulièrement de hauteur pour atteindre 7-8 μ dans les gros ovocytes.

La membrane interne apparaît à la base de la zona radiata sous forme de très fines granulations, puis d'un épaissement plus sombre. Elle régresse durant la vitellogenèse. Elle s'est révélée trop fine pour une étude histochimique.

Dès que se différencie la zona radiata, la membrane vitelline apparaît striée, mais beaucoup plus grossièrement que celle-ci. Sa position et son aspect lui confèrent des caractères de basale, anhiste, sans structure apparente, séparant les cellules folliculeuses et l'ovocyte.

II — ULTRASTRUCTURE

La surface de l'ovocyte I est, chez *Chalarodon madagascariensis*, comme chez de nombreuses autres espèces, hérissée de microvillosités (Pl. I).

Ces microvillosités se développent dans un jeune ovocyte entouré d'une couronne de cellules folliculeuses claires. Elles apparaissent sur toute sa surface et non, comme chez le Poussin (M.-L. GREENFIELD, 1966 ; R. BELLAIRS, 1967), uniquement à l'affrontement de deux cellules folliculeuses, mais en général, chez *Chalarodon*, plus tôt au contact d'une cellule claire que d'une petite cellule interne à noyau dense.

Les microvillosités, d'abord flexueuses et plus ou moins groupées en amas irréguliers, deviennent plus nombreuses, parallèles, et s'orientent perpendiculairement à la surface de l'ovocyte ; elles sont parcourues, selon leur axe, par de fins microtubules. Leur extrémité distale est ennoyée dans une substance fibrillaire qui forme aussi un marchon autour des microvillosités.

M.-J. DUNNE (1965) a observé, chez *Sceloporus undulatus*, l'existence des microtubules dans les villosités et la structure fibrillaire de la substance qui constitue la membrane vitelline.

En microscopie optique, cette couche périphérique qui masque la striation due aux microvillosités, constitue la membrane vitelline. La zona radiata représente la base des microvillosités dont la striation reste visible. La longueur des microvillosités est peu inférieure à la somme de ces deux formations.

La membrane interne est constituée par un feutrage de très fins filaments, à la base des microvillosités (Pl. I, fig. n° 2).

Entre les microvillosités, formées par la membrane plasmique de l'ovocyte I, on observe parfois, avec difficulté en microscopie optique, mais avec certitude en ultrastructure, des macrovillosités issues des cellules folliculeuses qui pénètrent profondément

dans le cytoplasme cortical d'un jeune ovocyte, et sont ensuite appliquées contre la membrane plasmique à la base des microvillosités.

III — RÉACTIONS SIGNALÉTIQUES ET HISTOCHIMIQUES :

| | | Zone pellucide impaire | Membrane vitelline | Zona radiata |
|-------------------------------------|---|------------------------------|-----------------------|-----------------|
| | azan | + | +(bleue) | — |
| | Prenant | | +(verte) | — |
| Basophilie | bleu de toluidine | + | +(bleue) | — |
| Osmiophilie | | — | — | — |
| Polysaccharides | APS | — | + | — |
| Glycogène | (digestion par l'amylose) | — | — | — |
| Mucopolysaccharides acides | bleu Alcian | — | — | — |
| Lipides | noir Soudan B | — | — | — |
| | bleu de Nil | — | — | — |
| | phospholipides | — | — | — |
| Protides à groupements : réducteurs | variante de Lillie in L. Lison (1960) | + | +(bleue) | — |
| | aminés | ninhydrine-Schiff | — | — |

L'existence de composés APS positifs a été décelée tant chez les Reptiles (H. SAINT-GIRONS, 1959 ; J-P. ZAHND et A. PORTE, 1963 ; N. BONS, 1966) que dans de nombreux autres groupes. Chez les Vertébrés on y a reconnu, généralement, des mucopolysaccharides acides (S. BUSSON-MABILLOT, 1967) ; ainsi H. SAINT-GIRONS (1959) les a mis en évidence dans la zone pellucide chez *Vipera aspis*. Néanmoins, nous pouvons relever les exceptions suivantes : la Lamproie *Lampetra planeri* (S. BUSSON-MABILLOT, 1967) et parmi les Reptiles : *Acanthodactylus erythrurus lineomaculatus* (N. BONS, 1966) et *Chalarodon madagascariensis*. Remarquons que N. BONS (1966) a observé des protéines aminées chez l'Acanthodactyle, mais nous ne les avons pas retrouvées sur notre matériel. Il sera intéressant de déterminer si les groupements réducteurs que nous avons mis en évidence sont soufrés (S. BUSSON-MABILLOT, 1967).

B — RAPPORTS NUTRITIFS

Le développement, puis la régression d'une volumineuse granulosa, entourant l'ovocyte, impose

l'idée de sa participation active dans les processus de la vitellogenèse chez les Reptiles, rôle qui n'a pas échappé aux auteurs anciens : voir M. LOYEZ (1905).

Il est alors utile de s'intéresser à la dynamique du fonctionnement de la granulosa, et aux manifestations visibles des apports nutritifs.

I — VARIATIONS DU VOLUME DE LA GRANULOSA

Nous considérerons ici l'évolution du rapport : $\frac{\text{volume granulosa}}{\text{volume ovocyte}}$ (fig. n° 3), qui donne une idée beaucoup plus exacte de l'importance de la granulosa que ses simples variations d'épaisseur : cette enveloppe peut constituer plus des 2/3 du volume total du follicule, abstraction faite des thèques.

Le volume relatif de la granulosa présente deux maxima :

— Lors de sa mise en place (diamètre de l'ovocyte entre 30 et 50 μ) ;

— Lorsque la granulosa atteint son épaisseur maximale (ovocyte de diamètre moyen 800 à 900 μ).

A partir de 3.000 μ , la granulosa ne forme plus qu'une fraction faible du volume de l'ovocyte. Néanmoins, nous voyons qu'elle atteint alors son volume maximal, (fig. n° 3), ce qui traduit l'importance de son rôle. L'évolution de ces 2 volumes, relatif et réel, nous fournit donc une première indication globale sur la participation de la granulosa à la vitellogenèse dans l'ovocyte.

II — OBSERVATIONS SUR LES APPORTS NUTRITIFS DE LA GRANULOSA

1° Passage de cellules folliculeuses de l'ovocyte :

Nous avons, chez *Chalarodon madagascariensis*, noté deux périodes où la présence de cellules folliculeuses dans l'ovocyte semble beaucoup trop fréquente pour être considérée comme un artéfact dû à la coupe.

Dans le très jeune ovocyte (diamètre moyen 55 μ : Al₂₆), la granulosa est en cours d'édification, constituée par une seule couche de cellules claires. L'ovocyte s'accroît rapidement et il englobe vraisemblablement quelques cellules périphériques : on observe des noyaux sphériques de jeunes cellules claires, qui dégénèrent.

A un stade beaucoup plus tardif, quand la granulosa se réduit à une rangée de cellules de type intermédiaire, il est fréquent d'observer des noyaux dans l'ovoplasme cortical.

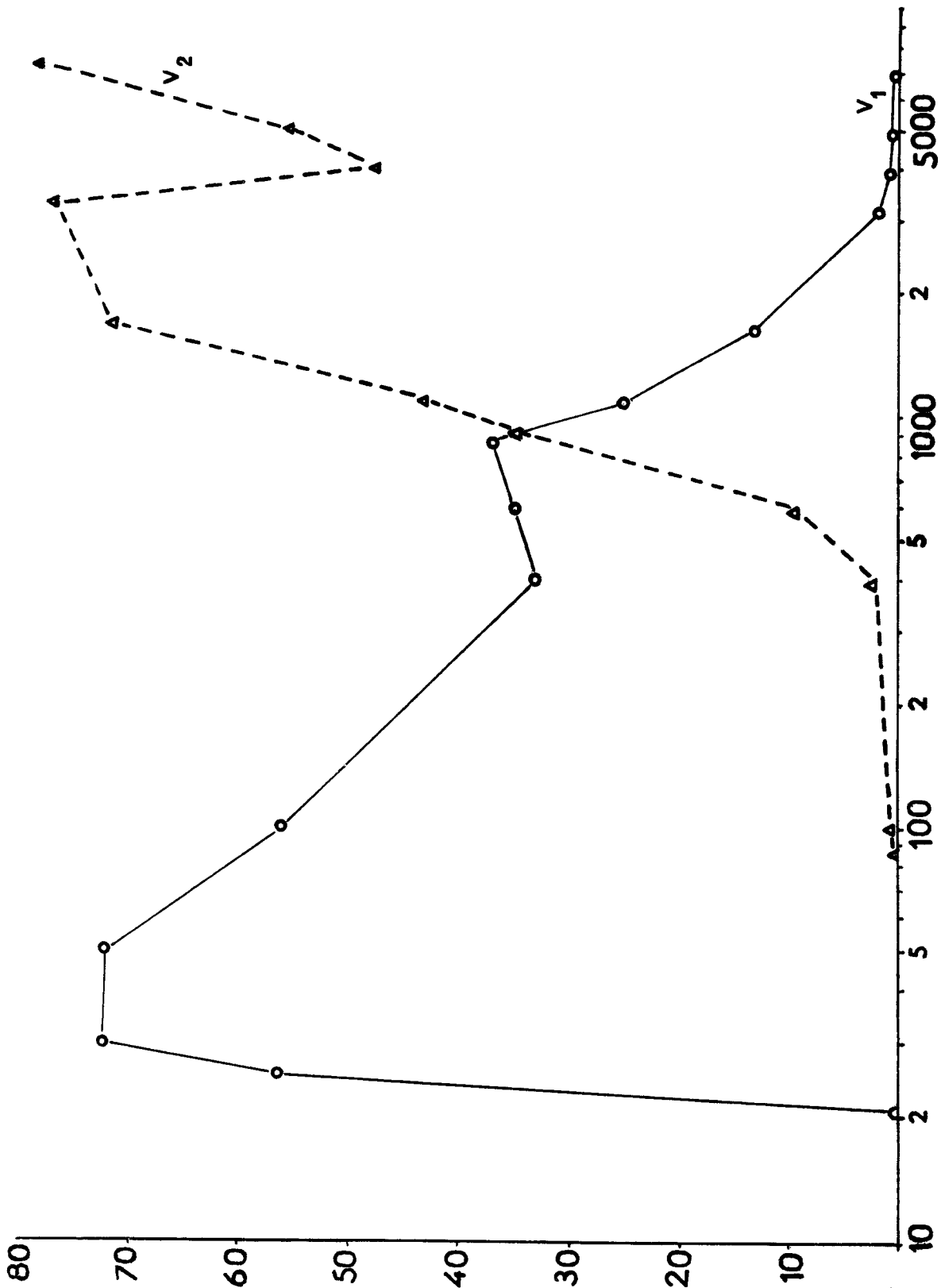


FIGURE 3

Variations du volume de la granulosa en fonction du diamètre de l'ovocyte (en μ).

V = volume relatif par rapport à l'ovocyte seul ;

$$\text{unité} = 10^2 \frac{\text{volume granulosa}}{\text{volume ovocyte}}$$

V₂ = volume réel de la granulosa ;

$$\text{unité} = 10^6 k^{-1} (\mu^3), \text{ avec } k = \frac{4\pi}{3}$$

De très nombreux auteurs, tels J.-H.-F. KOHLBRUGGE (1901), M. LOYEZ (1905), M.-M.-M. BOYD (1940), S.-S. GURAYA (1963), N. BONS (1966), etc, ont observé ce passage de cellules folliculeuses dans l'ovocyte avec des fréquences variables. N. BONS (1966) a noté une invagination de la zone pellucide au niveau du noyau d'une cellule folliculeuse. Nous avons observé aussi cette même disposition. La microscopie électronique montre le noyau d'une petite cellule sombre qui refoule les microvillosités de la zona radiata et déprime la surface de l'ovocyte.

Dans ces deux cas, le noyau passe, par invagination, dans le cytoplasme cortical de l'ovocyte. Mais nous avons observé un autre mode : dans un jeune ovocyte, à granulosa constituée par une seule rangée de cellules de type intermédiaire, le noyau d'une de ces cellules avait pénétré à demi dans l'ovocyte (comme par diapédèse), en subissant un très fort étranglement au niveau d'un orifice de 3 μ de diamètre dans la zone pellucide (AK 51).

Il semblerait que ce processus constitue un apport non négligeable dans l'ovocyte (N. BONS, 1966, a vu jusqu'à 6 noyaux sur une même coupe). Ces noyaux appartenant à de petites cellules ou à de jeunes cellules intermédiaires, entrent en pycnose.

2° Passage de fractions cellulaires dans l'ovocyte :

a. — *Substances migrant de la granulosa dans l'ovocyte :*

Nous avons remarqué les 3 types de migration suivants :

a-1. — *Ponts intercellulaires* (Pl. II, fig. n° 3 et Pl. III) :

Dans des ovocytes assez gros (850 μ de diamètre moyen), le vert de méthyle-pyronine met en évidence, dans l'ovoplasme cortical, des gouttelettes colorées en vert, mesurant 3-4 \times 5-8 μ , en relation, soit avec le débouché du canalicule d'une cellule piriforme, soit, apparemment, avec le noyau d'une cellule intermédiaire, sombre.

Ces corpuscules ont été décrits et figurés par M. LOYEZ (1905) sous le terme de « pseudo-noyaux », car elle avait remarqué leur affinité pour les colorants chromatiques, et leur structure non organisée (absence de membrane).

Il est vraisemblable que les cellules piriformes s'injectent ainsi dans l'ovocyte. On notera la présence d'une légère évagination de l'ovocyte, avec amincissement de la membrane pellucide (M. LOYEZ, 1905) au débouché d'un canalicule (pouvant laisser supposer une pression interne plus élevée dans la cellule piriforme ?). La microscopie électronique nous a permis, dans un ovocyte en prévitellogenèse, une observation comparable à celle de G. CHIARA et coll.

(1968), montrant sans ambiguïté un pont intercellulaire entre une cellule folliculeuse et un ovocyte en prévitellogenèse, mais sans la présence d'un faisceau de microtubules. Ceux-ci pourraient être simplement des organites de la cellule folliculeuse en voie d'incorporation dans l'ovocyte.

La présence de ponts intercellulaires a été signalée chez *Lacerta muralis* par R.-G. MOSELLA (1926). Selon N.-E. KEMP (1958), ils existent d'ailleurs dans toutes les classes de Vertébrés, sauf les Cyclostomes. Ce fait paraît confirmé chez les Reptiles, bien qu'il ait été mis en doute (voir revue in R. BELLAIRS, 1964).

a-2. — *Macrovillosités* (Pl. I, fig. n° 3 et Pl. II, fig. nos 1-2-4) :

Par ailleurs, nous avons vu, ci-dessus, la présence de macrovillosités émises par les cellules folliculeuses qui s'enfoncent profondément dans les jeunes ovocytes. Elles pourraient constituer un autre mode de transfert de substances des cellules folliculeuses dans l'ovocyte. Des formations analogues ont été récemment décrites chez la Poule (R. BELLAIRS, 1967).

a-3. — *Migration le long des microvillosités de la zona radiata :*

Nous avons ainsi observé, dans un ovocyte assez gros (1.300 μ) de fines granulations osmiophiles, jalonnant les microvillosités et s'accumulant dans le cytoplasme cortical.

Des substances granulaires, passant ainsi de la granulosa dans l'ovocyte, ont été décrites par de nombreux auteurs. Leur nature est variable : lipides : M. LOYEZ (1905), chez *Platydictylus muralis* ; lipides et glucides à radical glycol : N. BONS (1966) chez *Acanthodactylus erythrurus lineomaculatus* et même corpuscules golgiens : D.-R. BHATTACHARYA (1925) chez 2 tortues et 1 lézard ; D.-R. BHATTACHARYA et coll. (1929), chez *Testudo graeca* ; A.-S. SRIVASTAVA (1948) chez 5 espèces de lézards indiens. C.-P. RAVEN (1961, p. 134) indique, en outre, tous les groupes où un passage direct de substances folliculaires dans l'ovocyte a été décrit. N. BONS (1966) a observé la migration de glucides « suivant le contour des cellules piriformes », celles-ci servant de guide à ces substances. R. BELLAIRS (1965) et M.-L. GREENFIELD (1966) pensent que les structures osmiophiles identifiées comme gouttelettes lipidiques et corps de Golgi par les anciens microscopistes puissent être des corps-limitants (« lining-bodies »).

b. — *Vésicules :*

La microscopie électronique montre chez *Chalardon madagascariensis*, dès la prévitellogenèse, l'existence de petites vésicules de pinocytose à la base des microvillosités. On observe, par ailleurs, dans le cytoplasme cortical de grandes vésicules

très claires, renfermant quelques petites granulations creuses, qui apparaissent à la base des microvillosités, puis passent en profondeur.

A. PORTE et J.-P. ZAHND (1961) ; et G. GHIARA et coll. (1968) ont observé une pinocytose intense au cours de la vitellogenèse chez *Lacerta stirpium* et *L.s. sicula* ; certaines de ces vésicules ont l'aspect des corps-limitants décrits chez la Poule par R. BELLAIRS (1965).

III — ÉVOLUTION HISTOCHIMIQUE DE LA GRANULOSA ET DES THÈQUES

Nous avons mis en évidence quelques éléments de corrélation entre l'évolution histochimique de la granulosa et celle de l'ovocyte.

1^o. — Glycogène :

On observe une charge en glycogène des petites cellules de la granulosa au stade réticulé et l'apparition, au stade suivant (chromosomes plumeux), de glycogène dans l'ovoplasme cortical.

En fin de prévitellogenèse, les cellules piriformes et intermédiaires sont très riches en glycogène : au début de la vitellogenèse, le cytoplasme cortical en contient beaucoup.

2^o. — Lipides :

Dans des ovocytes de 1.000 μ à 1.800 μ de diamètre moyen, apparaissent un, puis deux anneaux concentriques lipidiques qui manifestent, surtout pour le plus externe, un gradient décroissant, très net, de l'extérieur vers l'intérieur. Corrélativement, les grosses cellules de la granulosa et les deux thèques sont riches en lipides (Pl. IV, fig. n^o 2).

3^o. — Protéines à groupements réducteurs :

Au début de la vitellogenèse, le cortex des gros ovocytes devient positif à la réaction au ferricyanure ferrique (selon LILLIE). Nous avons observé que la granulosa a manifesté, dans les stades précédents, un enrichissement en protéines à groupements réducteurs et que celles-ci, par la suite, disparaissent.

4^o. — ARN :

On observe dans des ovocytes, au cours de la vitellogenèse protéique, une couche corticale ARN positive. Or, dans les stades précédents, nous avons noté un enrichissement en ARN des cellules piriformes et, surtout, des cellules intermédiaires sombres au contact de la zone pellucide. Quand la granulosa se réduit à une seule rangée de cellules, celles-ci sont extrêmement riches en ARN, puis elles tendent à s'aplatir et leur teneur diminue.

On observe donc un certain décalage chronologique entre l'activité métabolique des cellules folliculeuses et les variations de la constitution histochimique du cytoplasme cortical de l'ovocyte I.

En outre, on constate, corrélativement, une absence de mucopolysaccharides acides et de protéines aminées dans les enveloppes et dans l'ovoplasme cortical.

CONCLUSION

Il paraît probable que l'enveloppe folliculeuse joue un rôle actif dans l'accroissement de l'ovocyte. Celui-ci se manifeste sous plusieurs aspects, dont les deux plus remarquables sont :

— Un transfert massif de matériel cytoplasmique : nous avons vérifié, sur le *Chalarodon*, que ce transfert — d'une génération à l'autre — existe chez les Reptiles comme le supposait M.-L. GREENFIELD (1966) et non seulement chez les Oiseaux qui, comme eux, ont des œufs télolécithes volumineux.

— Des échanges biochimiques entre les cellules folliculeuses et l'ovocyte I, dont nous avons mis en évidence la nature et la localisation au cours de l'évolution de l'ovocyte : apport de glycogène au début de la prévitellogenèse ; de lipides, de protides à groupements réducteurs, de glycogène et, vraisemblablement aussi d'ARN, au début de la vitellogenèse protéique. Il est probable que tous ces échanges ne se réduisent pas à de simples transferts : ainsi les protéines à groupements réducteurs ne sont pas réparties uniformément dans le cytoplasme cortical mais (C.-P. BLANC, sous presse) selon une calotte opposée au hile.

BIBLIOGRAPHIE

1. — BLANC (C.-P.). — Études sur les Iguanidae de Madagascar : — IV. — Morphologie de l'ovaire de *Chalarodon madagascariensis* Peters, 1854. — *Bull. Soc. Zool. France*, t. 94 (4), pp. 631-640 (1969).
2. — BLANC (C.-P.). — V. — Evolution de l'ovocyte intraovarien chez *Chalarodon madagascariensis* Peters, 1854 : Observations histologiques et histochimiques. *Ann. Univ. Madagascar, Science* (sous-presses).
3. — BELLAIRS (R.). — Biological aspects of the yolk of the hen's egg. In : *Advances in Morphogenesis* (M. Abercrombie et J. Brachet, édit.), t. 4, pp. 217-272. — Acad. Press. New-York ; London (1964).
4. — BELLAIRS (R.). — The relationship between oocyte and follicle in the hen's ovary as shown by electron microscopy. — *J. Embr. exp. Morph.*, t. 13 (2), pp. 215-233 (1965).
5. — BELLAIRS (R.). — Aspects of the development of yolk spheres in the hen's oocyte, studied by electron microscopy. *J. Embr. exp. Morph.*, t. 17 (2), pp. 267-281 (1967).
6. — BETZ (T.-W.). — The ovarian histology of the Diamond-backed water snake, *Natrix rhombifera*, during reproductive cycle. — *J. Morph.*, t. 113 (2), pp. 245-260.
7. — BHATTACHARYA (D.-R.). — Les inclusions cytoplasmiques dans l'ovogenèse de certains Reptiles. — Thèse Sciences Zoologie, Paris (Vigné) : 103 p., 2 fig., 12 pl. (1925).
8. — BHATTACHARYA (D.-R.). — Notes on cell organs in the oogenesis of the house gecko. — *Allahabad Univ. Studies*, t. 6 (1929).

9. — BONS (N.). — Etude du cycle sexuel d'*Acanthodactylus erythrurus lineomaculatus* Dum. et Bibr. (Sauria, Lacertidæ). — Thèse Sci. nat. Montpellier (1966).
10. — BOYD (M.-M.-M.). — The structure of the ovary and formation of the corpus luteum in *Hoplodactylus maculatus*. — *Quart. J. Micr. Sci.*, t. 82 (2), pp. 337-376 (1940).
11. — BRAUN (M.). — Das urogenital System der einheimischen Reptilien. — *Arab. a. d. zool. zoot. Inst. in Würzburg*, t. 4 (1877).
12. — BUSSON-MABILLOT (S.). — Structure ovarienne chez la Lamproie adulte *Lampetra planeri* (Bloch). — I. — La zone pellucide. Morphogenèse et constitution histochimique. — *Journ. Microscopie*, t. 6 (5), pp. 577-598 (1967).
13. — DUNNE (M.-J.). — Light and electron microscope studies on oocytes of the Lizard *Sceloporus undulatus*. — *J. Cell Biol.*, t. 27 (2), pp. 134-A (1965).
14. — EIMER (T.). — Untersuchungen über die Eier der Reptilien. — *Arch. Mikr. Anat.*, t. 8, pp. 216-243 (1872).
15. — FRANCHI (L.-L.) ; MANDL (A.M.) et ZUCKERMAN (S.). — The development of the ovary and the process of oogenesis. In : The ovary (Zuckerman, édit.), t. 1, pp. 1-88. Acad. Press. New York ; London (1962).
16. — GEGENBAUR (C.). — Ueber den Bau und die Entwicklung der Wirbeltiere mit partieller Dotterheilung. — *Arch. Anat. Physiol.*, Leipzig, p. 491 (1861).
17. — GHIARA (G.) et FILOSA (S.). — Rilievi strutturali e funzionali sull'epitelio follicolare degli ovociti in acrescimento di un Rettile. *Boll. Zool.*, t. 33 (1), pp. 133-135 (1966).
18. — GHIARA (G.) ; LIMATOLOSA E. et FILOSA (S.). — Ultrastructural aspects of nutritive process in growing oocytes of Lizard. In : Fourth European Regional Conference on Electron Microscopy, Rome, pp. 331-332 (1968).
19. — GLAUERT (A.-M.) et GLAUERT (R.-H.). — Araldite as embedding medium for electronmicroscopy. — *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, t. 4, pp. 191-194 (1958).
20. — GREENFIELD (M.-L.). — The oocyte of domestic chicken shortly after hatching studied by electron microscopy. — *J. Embr. exp. Morph.*, t. 15 (3), pp. 297-316 (1966).
21. — GURAYA (S.-S.). — Histochemical studies on the yolk nucleus in the oogenesis of Indian Reptiles. — *Anat. Rec.*, t. 146 (1), pp. 17-21 (1963).
22. — HOFFMANN (C.-K.). — Zur Entwicklungsgeschichte der urogenital Organ bei den Reptilien. — *Z. Wiss. Zool.*, t. 48 (1889).
23. — KEMP (N.-E.). — Protoplasmic bridges between oocytes and follicle cells in vertebrates. — *Anat. Rec.*, t. 130, p. 324 (1958).
24. — KOHLBRUGGE (J.-H.-F.). — Die Entwicklung des Eies von Primordialstadium bis zur Befruchtung. — *Arch. Mikr. Anat.*, t. 63 (1901).
25. — LISON (L.). — Histochimie et cytochimie animale. Principes et méthodes. 2 vol. : 842 p. — Gauthiers-Villars, édit., Paris (1960).
26. — LOYEZ (M.). — Sur la constitution du follicule ovarien des Reptiles. — *C.R. Acad. Sci. Paris.*, t. 130, pp. 48-50 (1900).
27. — LOYEZ (M.). — Recherches sur le développement ovarien des œufs méroblastiques à vitellus nutritif abondant. Thèse Fac. Sci., Paris, Masson, édit., Paris : 1-329 ; 9 pl. (1905).
28. — MOSELLA (R.-G.). — Ueber einige Veränderungen der Nucleolarkernsubstanz während des Wachstums des Ovocytes und des Eifollikels bei *Lacerta muralis*. — *Anat. Anz.*, t. 62, p. 76 (1926).
29. — MUNSON (J.-P.). — Researches on the oogenesis of the tortoise, *Clemmys marmorata*. — *Amer. J. Anat.*, t. 3, pp. 311-437 (1904).
30. — OSAWA (G.). — Nachtrag zur Lehre von den Eingeweiden der *Hatteria punctata*. Die weiblichen Geschlechtsorgane. — *Arch. Mikr. Anat.*, t. 51 (1898).
31. — PORTE (A.) et ZAHND (J.-P.). — Structure fine du follicule ovarien de *Lacerta stirpium*. — *C.R. Soc. Biol. Paris*, t. 155 (5), pp. 1058-1061 (1961).
32. — RAVEN (C.-P.). — The distribution of special cytoplasmic differentiation of the egg during early cleavage in *Limnaea stagnalis*. — *Developmental Biology*, t. 16 (5), p. 407 (1967).
33. — SAINT-GIRONS (H.). — Données histochimiques sur les glucides de l'appareil génital chez les Vipères au cours du cycle reproducteur. — *Ann. Histochim.*, t. 4 (4), pp. 235-243 (1959).
34. — SESHACHAR (B.-R.) et NAYYAR (R.-P.). — Intranuclear lipids in the early oocytes of *Heteropneustes fossilis* (Teleostei). — *Quart. J. Micr. Sci.*, t. 104 (1), pp. 67-73 (1963).
35. — SRIVASTAVA (A.-S.). — Cytological observations on the oogenesis of certain indian lizards. — I. — Infiltration of cytoplasmic inclusions from the follicle cells into the oocytes. — *Trans. Amer. Micr. Soc.*, t. 66, pp. 318-327 (1948).
36. — THING (A.). — The formation and structure of the zona pellucida in the ovarian eggs of turtles. — *Amer. J. Anat.*, t. 23, pp. 237-258 (1918).
37. — TRINCI (G.). — Osservazioni sui follicoli ovarici dei Rettili e di altri Vertebrati, con speciale riguardo alla struttura e funzione della granulosa. — *Arch. Anat. Embriol.*, t. 4, pp. 1-44 (1905).
38. — WALDEYER (W.). — Eierstock und Ei. — Leipzig (1870).
39. — ZAHND (J.-P.) et PORTE (A.). — Sur une structure particulière rencontrée dans l'ovocyte de la tortue terrestre : *Testudo ermania ermania*. — *C.R. Soc. Biol. Paris*, t. 157 (7), pp. 1490-1491 (1963).

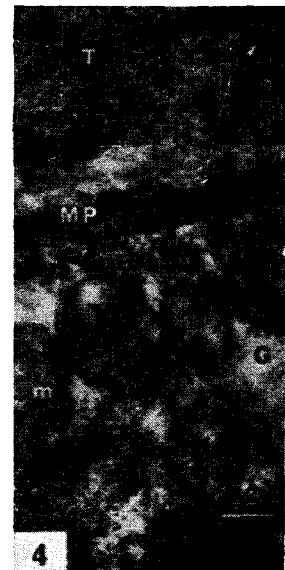
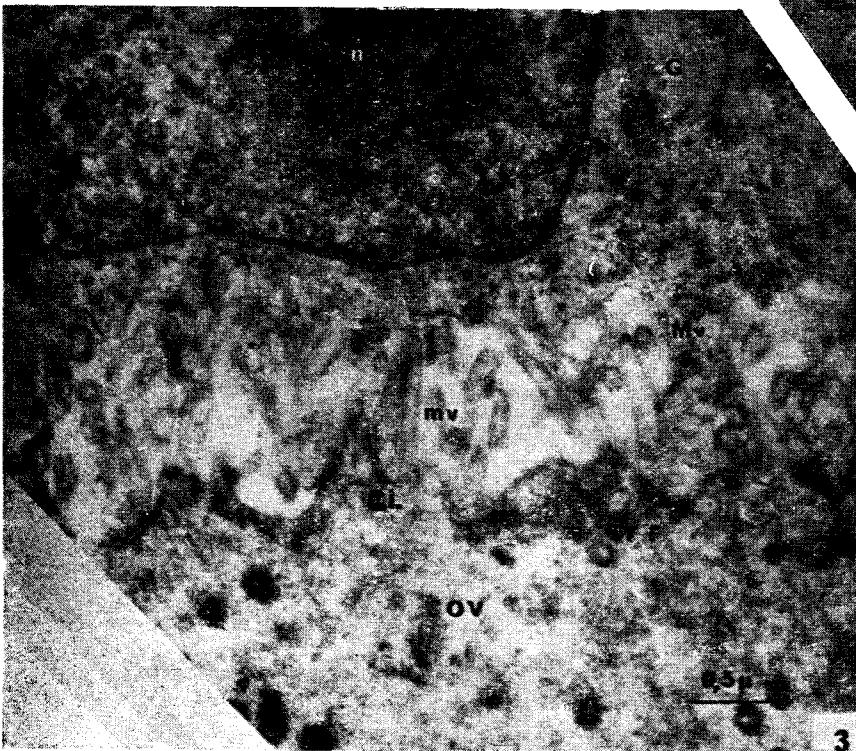
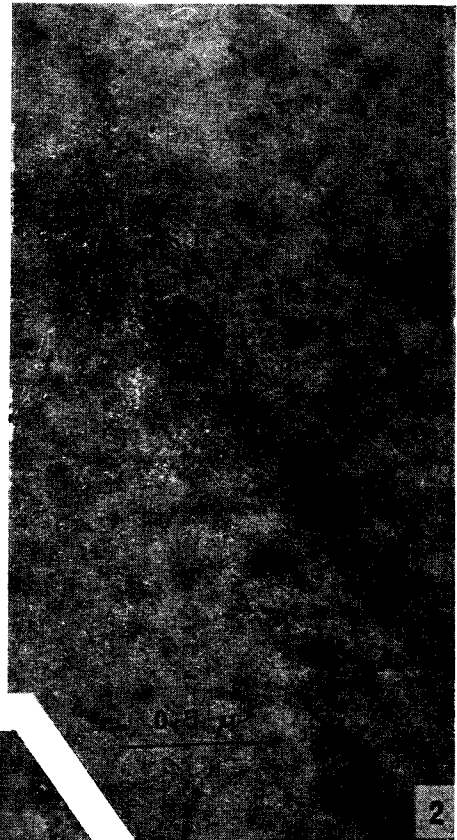


PLANCHE I

Figure 1 : Détail de la zone pellucide montrant l'orientation parallèle des microvillosités, la structure fibreuse de la membrane vitelline (MV) à leur extrémité distale et les tonofilaments (TF) à leur base.

Figure 2 : Tonofilaments (TF) : détail de leur structure.

Figure 3 : Existence de macrovillosités (MV), émises par les cellules folliculeuses, entre les microvillosités (mv) à la base desquelles on observe de nombreux « corps-limitants » (CL). Les tonofilaments (TF) se différencient.

Figure 4 : Détail montrant la structure fibrillaire de la membrana propria.

Fixations : 1-3-4 : glutaraldéhyde — Sorensen

2 : acide osmique-Palade.

ABRÉVIATIONS

CL : corps-limitants
D : dictyosome
G : granulosa
GC : granules corticaux

L : lipides
m : mitochondrie
MP : membrana propria
MV : membrane vitelline

Mv : macrovillosité
mv : microvillosité
N : noyau
n : nucléole

OV : ovocyte
T : thèque
TF : tonofilaments
ZP : zone pellucide
ZR : zona radiata

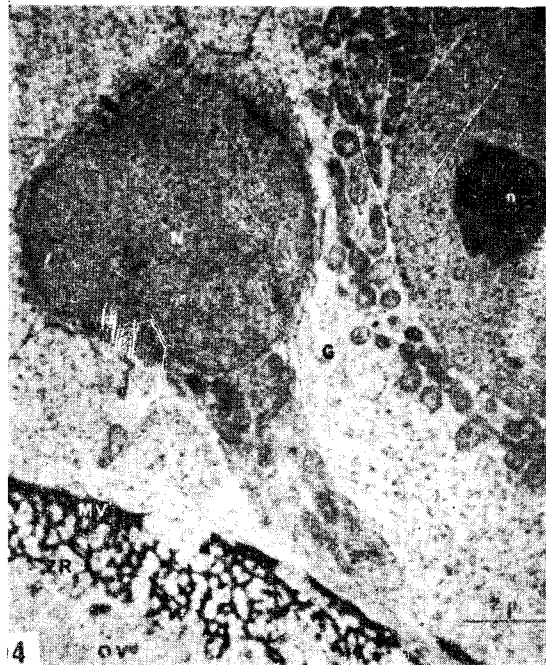
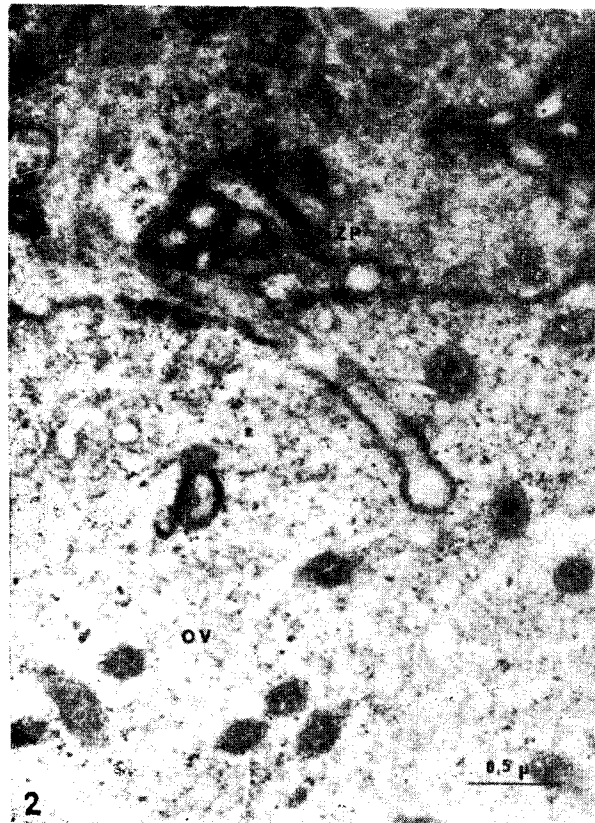
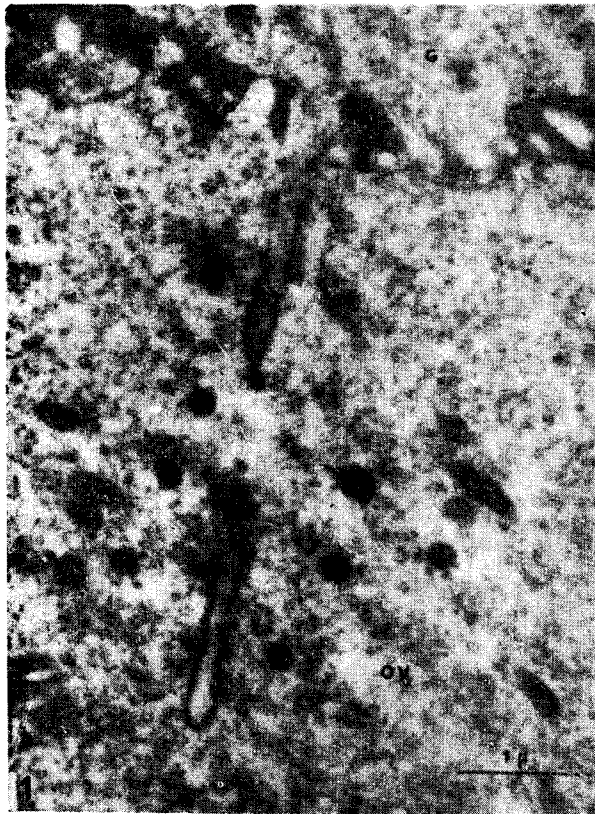


PLANCHE II

Figures 1 - 2 : Macrovillosités pénétrant dans un ovocyte jeune.

Figure 3 : Pont intercellulaire (flèche) au niveau de la membrane vitelline (MV) dans un ovocyte plus âgé : on observe un dictyosome en rosette (D) dans le cytoplasme cortical.

Figure 4 : Cellule sombre de la granulosa étirée en un cône pénétrant entre les microvillosités d'un ovocyte.

Fixations : 1 - 2 : glutaraldéhyde — Palade ;
3 : glutaraldéhyde — collidine ;
4 : acide osmique — Palade.

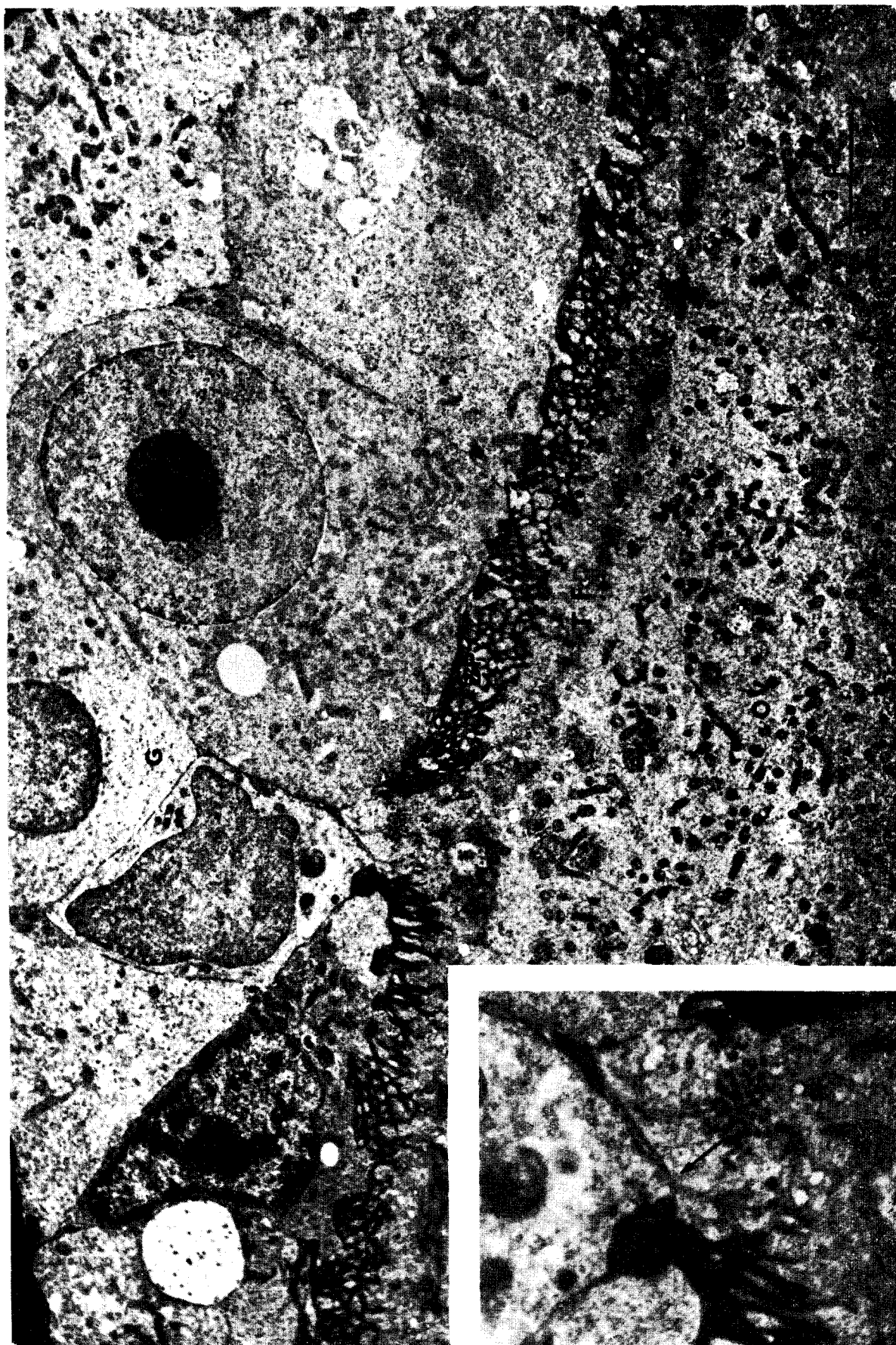


PLANCHE III

Formation probable d'un pont intercellulaire par étirement des membranes plasmiques (voir détail : flèche), entre la granulosa (G) et l'ovocyte (OV).

Fixation : glutaraldéhyde — collidine

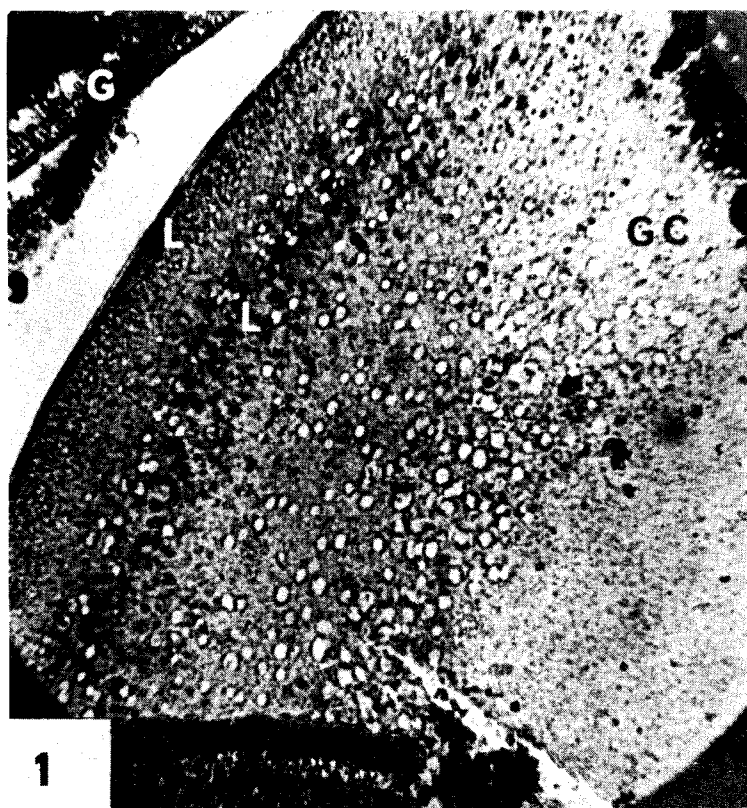


PLANCHE IV

Figure 1 : Ovocyte (GO_1) au stade du développement des granules corticaux (GC) (diamètre $1\ 600\ \mu$) ; lipides (L) périphériques et en 2 couches concentriques.

Figure 2 : Aspect de l'enveloppe folliculeuse de ce même ovocyte : les lipides sont particulièrement abondants dans la thèque (T).

Préfixation : formol — calcium ;
Coloration : bleu de Nil.

SOMMAIRE

| | Pages |
|---|-------|
| INTRODUCTION | 205 |
| MATÉRIEL ET MÉTHODES | 205 |
| I. — <i>ENVELOPPE FOLLICULEUSE</i> | 206 |
| A. — GRANULOSA | 206 |
| A-1 : <i>Observations</i> | 206 |
| I. — Formation | 206 |
| II. — Evolution | 207 |
| III. — Caractères cytologiques et histochimiques | 207 |
| A-2 : <i>Discussion et Conclusion</i> | 209 |
| I. — Caractéristiques de la granulosa | 209 |
| II. — Multiplication des cellules | 210 |
| III. — Valeur morphologique des cellules | 210 |
| IV. — Conclusions | 211 |
| B. — THÈQUE | 212 |
| I. — Formation | 212 |
| II. — Evolution | 212 |
| III. — Caractères cytologiques et histochimiques | 212 |
| II. — <i>RAPPORTS ENTRE L'ENVELOPPE FOLLICULEUSE ET L'OVOCYTE</i> | 213 |
| A. — ZONE PELLUCIDE | 213 |
| I. — Structure histologique | 213 |
| II. — Ultrastructure | 213 |
| III. — Réactions signalétiques et histochimiques | 214 |
| B. — RAPPORTS NUTRITIFS | 214 |
| I. — Variations du volume de la granulosa | 214 |
| II. — Observations sur les apports nutritifs de la granulosa | 214 |
| III. — Evolution histochimique de la granulosa et des thèques | 217 |
| CONCLUSION | 217 |
| BIBLIOGRAPHIE | 217 |
| PLANCHES | 219 |
| SOMMAIRE | 223 |