

## LA VITELLOGENESE CHEZ *PATELLA COERUELAE* LMK (MOLLUSCA, GASTEROPODA). APPROCHE ULTRASTRUCTURALE

BENMERADI N.

*Laboratoire de Biologie et Ecologie Marine de l'Institut des Sciences de la nature USTHB, BP n°9 Dar El Beida, ALGER, Algérie.*

**RESUME :** L'observation microscopique de l'ovaire de *Patella coerulea* révèle en période de reproduction, la présence d'ovogonies regroupées en nids noyées dans la trame conjonctive, des ovocytes prévitellogéniques qui se détachent progressivement du tissu conjonctif et des ovocytes vitellogéniques complètement isolés dans la lumière de l'acinus. Dès les premiers stades de la prévitellogenèse, on note une activité nucléolaire en forme de nuages ou nématosomes. A la fin de cette étape, l'ovocyte s'enrichit en organites, mitochondries, réticulum endoplasmique rugueux et des structures de Golgi. On note également l'apparition des premières plaquettes vitellines. C'est au cours de la vitellogenèse qu'apparaissent dans l'ordre suivant : du vitellus lipidique sombre qui semble provenir de la transformation des mitochondries, du vitellus protéique clair toujours associé à des tubes ergastoplasmiques et des lamelles annelées, des granules corticaux renfermant un matériel fibreux en position périphérique, de nature mucopolysaccharide.

**Mots clés :** vitellogenèse, ultrastructure, mollusque gastéropode marin

## VITELLOGENESIS ULTRASTRUCTURAL STUDY IN *PATELLA COERULAE* LMK (MOLLUSCA, GASTEROPODA)

**ABSTRACT :** During the reproductive periode, the microscopical observation of *Patella coerulea*'s ovary shows some ovogonies forming neets, supported by a conjonctive network, previtellogenic oocytes which leave gradually the conjonctive tissue and vitellogenic oocytes isolated in the acinus lumen. In early stages of previtellogenesis, an important nucleolar activity, characterised by cloud-shaped or nematosomes and ribonucleoproteinic extrusions in cytoplasm compartment can be observed. At the end of this stage, the oocyte becomes richer in organites, mitochondria, granular endoplasmic reticulum and Golgi. We futher notice the outcome of the first vitellin platelets. Production of vitellus is higher as three kinds of vitellus are observed in the following order : dark lipidic vitellus which seems to be a consequence of mitochondrial transformation, light proteinic vitellus, always associated with ergastoplasmic structure and annulated lamellae, cortical granule, which contain peripheral fibrous material of mucopolysaccharide nature.

**Keys words :** vitellogenesis, ultrastructure, marine gasteropode

## INTRODUCTION

La vitellogenèse demeure un sujet de recherche d'actualité et suscite l'intérêt de nombreux auteurs car elle reste mal connue. La complexité de ce phénomène réside dans la diversité des structures vitellines ainsi que leur origine. La terminologie également utilisée pour décrire ces structures vitellines, reste confuse et parfois même fantaisiste.

Lors de notre étude, nous essayerons de décrire les structures vitellines présentes chez Patella coerulea par l'examen microscopique (photonique et électronique), de définir leur nature chimique (cytochimie et histochimie) et de comprendre leur mode probable de formation. L'oeuf de Patella coerulea a déjà été étudié par Bolognari (1958, 1960a) et Bolognari et coll (1959) par l'examen microscopique sans pour autant bien définir les structures cytologiques en relation avec la synthèse vitelline.

## Matériel et Méthodes

L'ovaire de Patella coerulea a été fixé à 4°C par la technique de fixation en un temps donné par Hirsh et Fedorko (1968) adaptée aux Mollusques marins (Mouëza, 1979). Les concentrations de glutaraldehyde (1%) et de tétroxyde d'osmium (1%) ont été modifiées dans les proportions préconisées par Glauert (1975). L'osmolarité du fixateur a été ajustée à 1300 milliosmoles et le pH à 6,8. Après un lavage en solution saline de NaCl à 1300 mosm, le contraste des pièces à l'acétate d'uranyle en solution aqueuse à 2% a été de 30mn. L'inclusion de pièces a été effectuée en araldite (Durcupan, ACM), après une imprégnation par trois bains de une heure à 45°C à l'étuve sous vide. Les coupes ont été réalisées à l'ultratome LKB III et recueillies sur grilles de mesh 100, revêtues de collodion à 4%. Elles ont été contrastées par le citrate de plomb (Reynolds, 1963) et observées au microscope électronique à transmission HU12.

## Résultats

Chez Patella coerulea, la prévitellogenèse est une étape préparatoire à la synthèse du vitellus, elle permet de mettre en place une "machine" de synthèse, puisque les organites dans les jeunes cellules germinales sont rares sinon inexistantes. Par contre, en vitellogenèse, les synthèses débutent et se matérialisent par l'apparition des premières plaquettes vitellines qui caractérisent les ovocytes vitellogéniques.

Lors de cette étude, nous exposerons l'évolution des structures cytologiques en rapport avec la vitellogenèse.

### 1- Les ovogonies (fig n°3)

Ce sont les plus petites cellules germinales, de forme ovulaire ne dépassant jamais la taille de 6 µm. Leur noyau, volumineux, comporte des filaments grêles. Des amas finement grenus de ribonucléoprotéines (RNP) constituent le nucléole. On retrouve également dans le compartiment cytoplasmique, des amas de RNP sous forme de nuages passant à travers une enveloppe nucléaire munie de nombreux pores. Le cytoplasme est réduit à une étroite frange cytoplasmique presque dépourvue de tout organite. A ce stade, les cellules folliculaires ne sont pas encore organisées autour de l'ovogonie.

### 2- Les ovocytes prévitellogéniques (fig n° 2)

A ce stade, l'ovocyte contient un accroissement important puisque son noyau atteint 70 µm de diamètre. L'ovocyte se libère de plus en plus de la trame conjonctive pour ne rester à la fin rattaché que par une extrémité cytoplasmique allongée en forme de pédoncule. Il est appelé ovocyte pédonculé (fig n° 1).

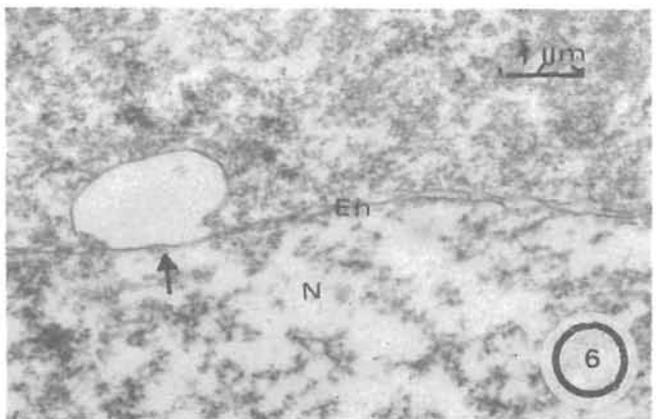
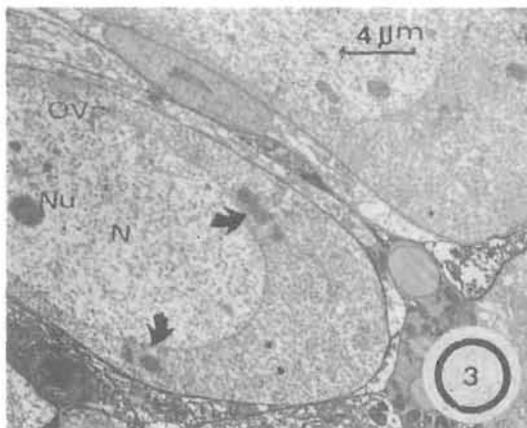
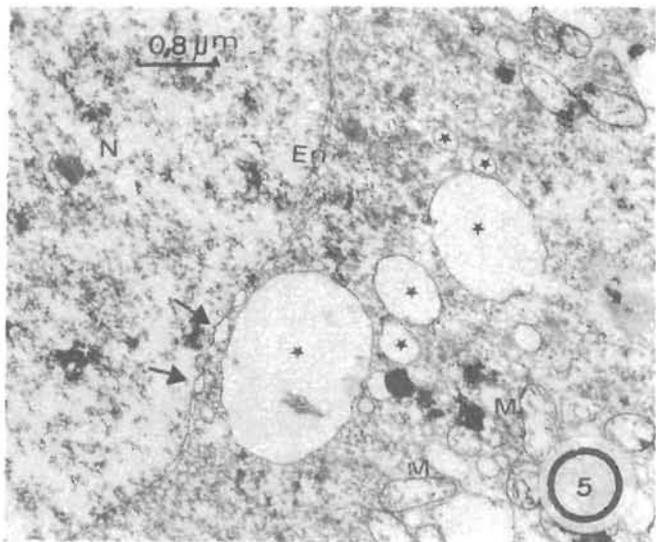
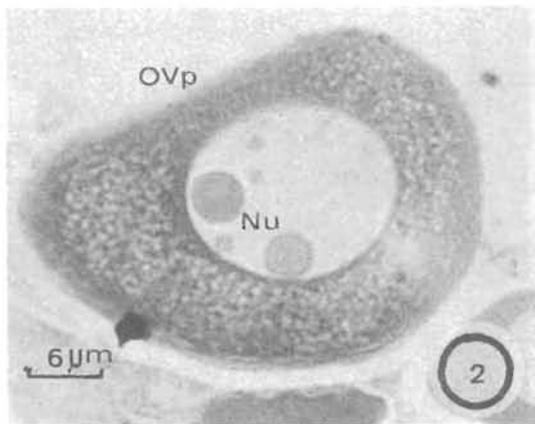
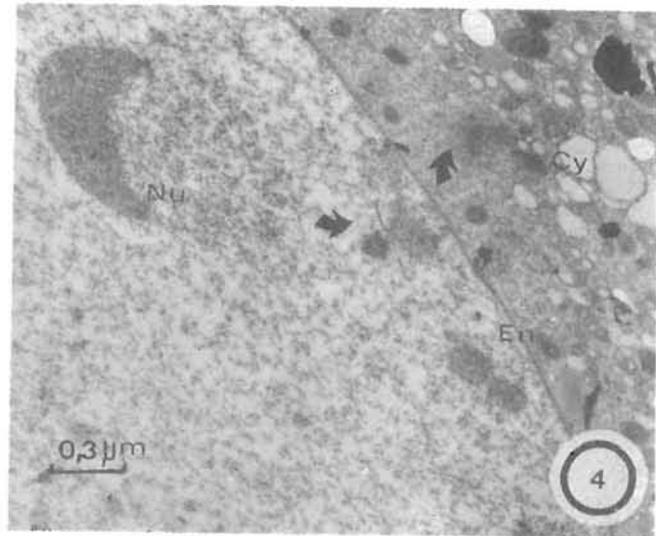
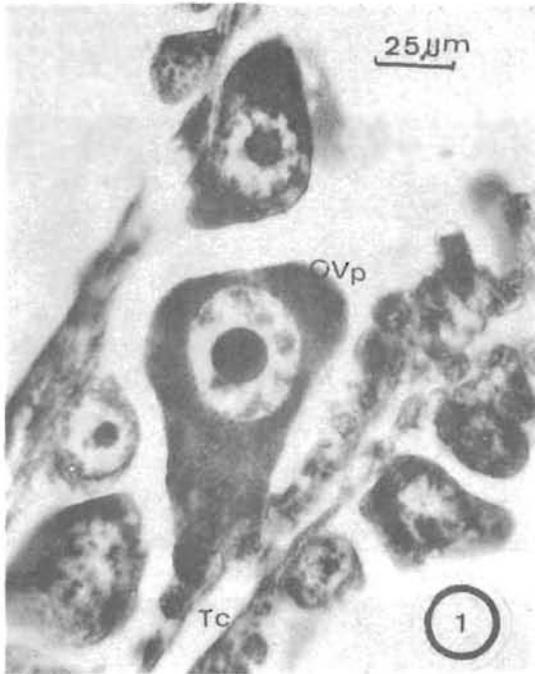
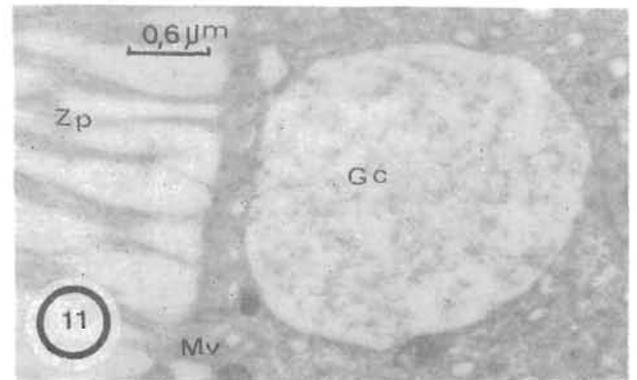
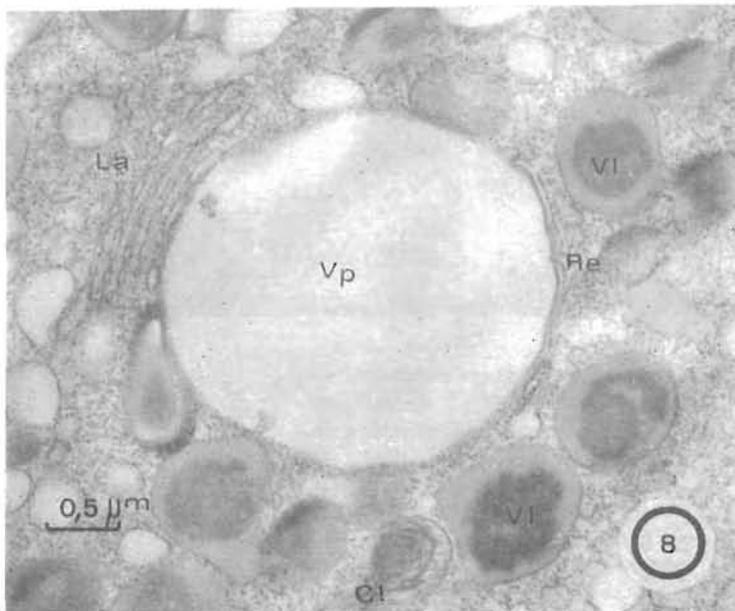
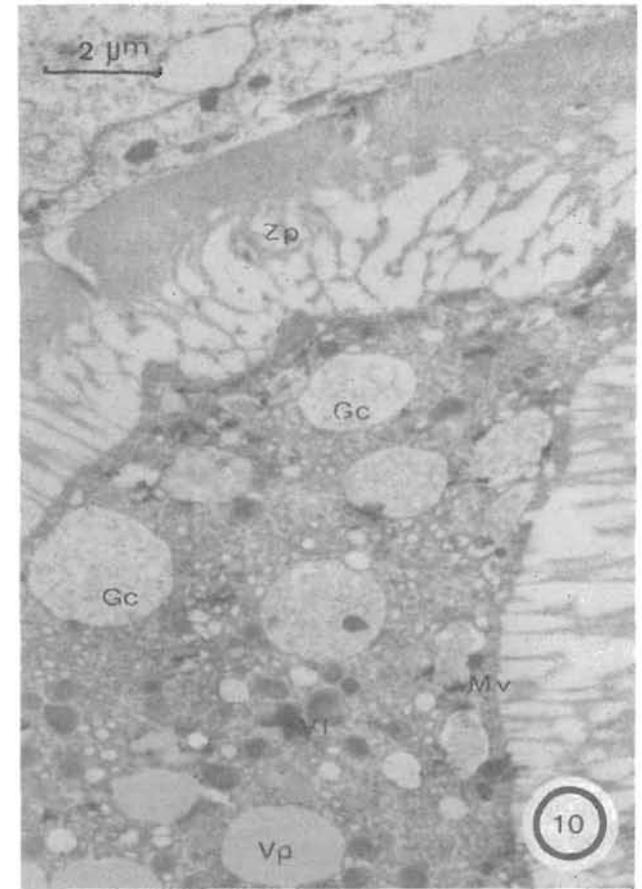
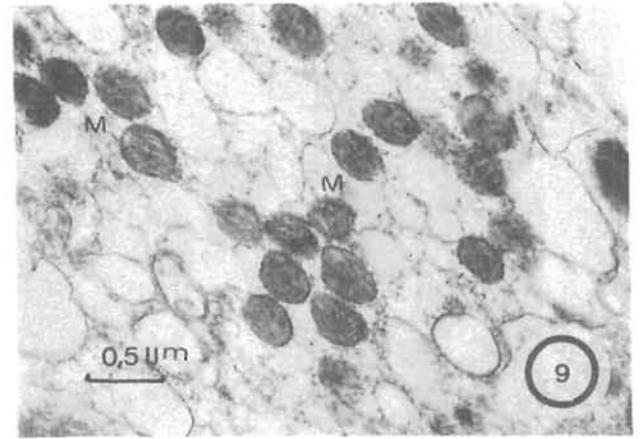
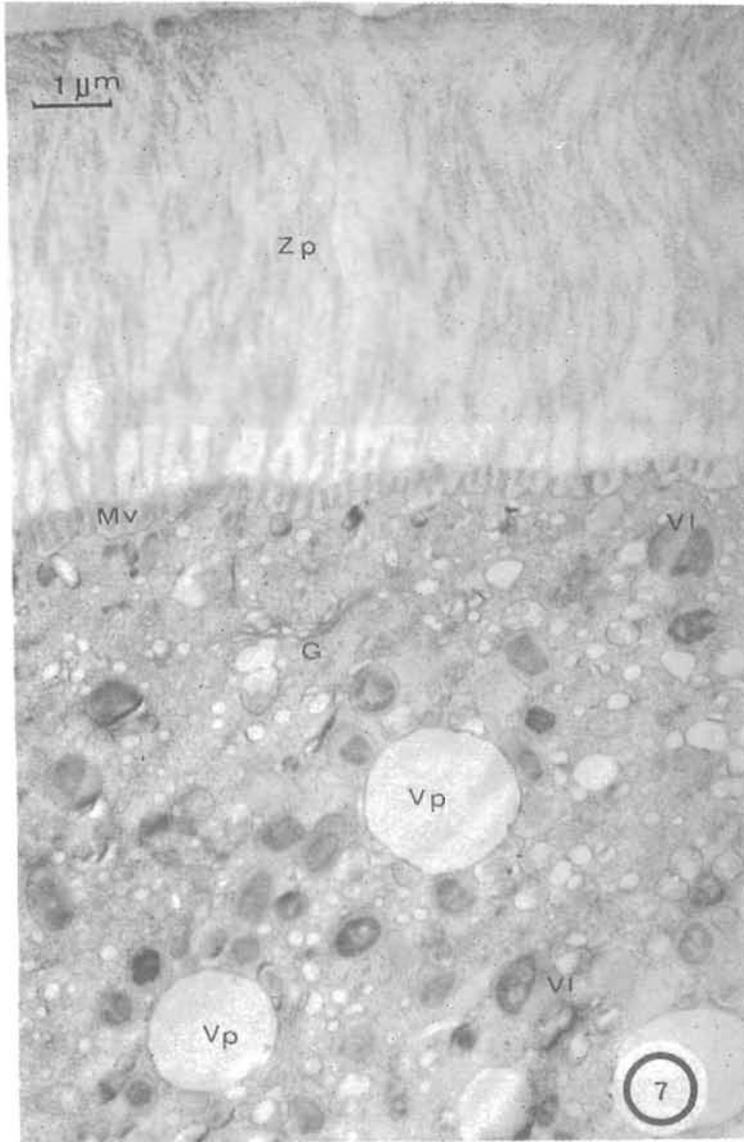


Fig.1 : Ovocyte prévitellogénique (OVP) pédonculé à la trame conjonctive. Coupe semi fine. - Fig.2 : Ovocyte prévitellogénique (OVP) montre une ségrégation nucléolaire (Nu) preuve d'une grande activité de synthèse de R.N.P., coupe semi fine. - Fig.3 : Ovocyte prévitellogénique (OVP). On remarque des extrusions (→) de matériel nucléolaire dans le compartiment cytoplasmique. - Fig.4 : le nucléole (Nu) participe à la formation des ribonucléoprotéines (RNP) (→) qui transitent par l'enveloppe nucléaire (En) pour passer dans le cytoplasme (Cy). (M.E.T.) - Fig.5 : Dilatation (→) de l'enveloppe nucléaire (En) formant des blebs, puis des vésicules (\*) qui contribuent à former du réticulum de forme vésiculaire. (M.E.T.) - Fig.6 : Détail d'une dilatation (→) de l'espace intermembranaire au niveau de l'enveloppe nucléaire (En). (M.E.T.)



Le noyau est peu chromophile, son nucléole connaît une forte activité marquée par :

- \* la multiplication du nombre de pores par unité de surface
- \* une forte activité d'échange existe entre le noyau et le cytoplasme , par le passage de ribonucléoprotéines (RNP).

Effectivement, la coloration de Mann Dominici faite sur coupes semi fines après extraction de la résine par un mélange d'alcool éthylique et de soude, nous a permis de mettre en évidence des amas cytoplasmiques fortement basophiles (fig n° 2). Cette basophilie, d'abord localisée en quelques zones du cytoplasme ovocytaire, devient plus homogène et permet d'observer sur les coupes fines de nombreux ribosomes libres.

Le réticulum endoplasmique n'apparaît qu'en fin de prévitellogenèse. Il est de forme vésiculaire et semble provenir des dilatations de l'enveloppe nucléaire connues dans la littérature scientifique sous le nom de "Blebs" Kessel (1965) ; Dhainaut (1966) et Norrevang (1968) (fig 5 et 6). En fin de prévitellogenèse apparaissent également de nombreux dictyosomes de formes diverses. Les saccules golgiens se dilatent et donnent par bourgeonnement des vésicules allant de 0,15 à 0,35 µm de diamètre. Ces dictyosomes se positionnent en général dans la région corticale ovocytaire. Le nombre de mitochondries se multiplie durant ce stade. Elles ont une matrice claire et un nombre réduit de crêtes . Tout au long de ce stade ,les cellules folliculaires périphériques en nombre de 5 à 6 s'aplatissent au cours de l'accroissement ovocytaire.

### 3 - Les ovocytes vitellogéniques

Durant la vitellogenèse , l'ovocyte accumule de nombreuses enclaves vitellines. Les coupes semi fines révèlent que le cytoplasme ovocytaire devient graduellement acidophile. Il atteint une taille moyenne de 130 à 180 µm et perd tout contact avec le tissu conjonctif interstitiel se trouvant par là ,libre dans la lumière de l'acinus ovarien.

Le noyau, de forme très irrégulière, présente de nombreuses dépressions, l'activité génératrice du nucléole est ralentie . Dans le cytoplasme s'accumulent trois types d'inclusions d'aspect , d'origine et de nature différents. Les premières apparues sont lipidiques,puis protéiques et enfin les granules corticaux.

#### a) vitellus lipidique

En fin de prévitellogenèse et se continue en vitellogenèse, un processus complexe de transformation des mitochondries en grains vitellins lipidiques. Après que le nombre de crêtes augmente et que la matrice soit devenue dense , les membranes mitochondriales (externes et internes) ne deviennent plus visibles (fig 9). Ces lipochondries gonflent légèrement pour devenir en fin de vitellogenèse des enclaves vitellines d'une taille maximale de 0,8 µm de forme sphéroïde, non limitées par une membrane dont la région centrale est nettement plus dense que la périphérie (fig 7 et 8).

*Fig.7 : Vue d'ensemble d'une portion du cytoplasme d'un ovocyte vitellogénique, montrant l'accumulation du vitellus protéique (Vp) et vitellus lipidique (VI) et l'appareil de Golgi (G). Sa membrane plasmique forme des microvillosités (Mv). On note une zone pellucide (Zp) épaisse. (M.E.T.) - Fig.8 : Détail du vitellus protéique (Vp) en relation avec le réticulum endoplasmique (Re) et les lamelles annelées (La ). Présence de vitellus lipidique (VI).(M.E.T.) - Fig.9 : Transformation des mitochondries (M) en grains vitellins (M.E.T.) - Fig.10 : Partie corticale d'un ovocyte juste avant la ponte, ayant une zone pellucide (Zp) épaisse et des granules corticaux (Gc). (M.E.T.). - Fig 11 : Détail d'un granule cortical (Gc) à proximité des microvillosités (Mv). M.E.T.)*

La coloration des coupes semi fines montre la présence d'inclusions soudanophiles de tailles identiques aux inclusions vitellines que nous venons de décrire en ultrastructure, ce qui confirmerait que ces inclusions vitellines sont de nature lipidique.

#### b) vitellus protéique

Ce n'est qu'en fin de vitellogenèse qu'apparaissent dans le cytoplasme de nombreuses et volumineuses inclusions de 2 à 3 um de diamètre, délimitées par une membrane unitaire. Ces inclusions sont toujours bordées par une ou plusieurs lamelles ergastoplasmiques, ainsi que des lamelles annelées (fig 7 et 8)

Les coupes semi fines, soumises à la coloration acide périodique -Schiff et après le test de Mc Manus, confirment que ces inclusions vitellines sont de nature protéique. L'examen des inclusions vitellines protéiques montre qu'elles sont d'aspect clair, nettement plus volumineuses que les inclusions vitellines lipidiques et sont réparties de façon homogène dans le cytoplasme (fig 7).

#### c) Granules corticaux

Les granules corticaux sont caractéristiques de l'ovocyte mûr, prêt à être pondue. Ils occupent toujours une position périphérique à proximité de la membrane plasmique ovocytaire. Ce sont les dernières inclusions vitellines à apparaître. Elles sont délimitées par une membrane unitaire et peuvent atteindre la taille de 3 um. Chez P. coerulea les granules corticaux renferment un matériel filamenteux, peu dense. Ces granules semblent provenir des dictyosomes situés dans la région corticale et toujours orientés vers la membrane plasmique (fig 7-10 et 11). L'examen des coupes semi fines, après coloration P.A.S et soumises au test de Mc Manus, révèle leur nature mucopolysaccharidique.

### DISCUSSION

La prévitellogenèse est une phase essentiellement nucléaire. C'est pour cela que l'ovocyte prévitellogénique de P. coerulea est caractérisé par les phénomènes suivants:

- augmentation du volume nucléaire
- multiplication des nucléoles
- apparition d'extrusions nucléolaires (R.N.P)
- affinité du cytoplasme aux colorants basophiles.

Gabe et Prenant (1949) ont déjà fait ressortir chez les Polyplacophores, le synchronisme des modifications cytoplasmiques et nucléaires. Ils ont remarqué que l'augmentation de la taille du nucléole s'accompagne d'une basophilie cytoplasmique. Ces mêmes observations ont été faites par Franc (1950 et 1951) chez d'autres Mollusques. Chez Patella coerulea, la basophilie cytoplasmique s'accroît tout au long de la prévitellogenèse, mais elle est répartie de manière hétérogène, puisqu'on note des plages plus basophiles que d'autres. Effectivement, les observations de microscopie électronique nous ont permis de mettre en évidence des extrusions nucléolaires à travers l'enveloppe nucléaire munie d'un grand nombre de pores. Ces extrusions restent regroupées en nuages denses, dans le compartiment cytoplasmique. Dans son étude bibliographique Norrevang (1968) décrit l'existence de ces nuages de RNP cytoplasmiques pour de nombreuses espèces de Mollusques ou d'autres invertébrés ainsi que chez les vertébrés.

Weakley (1976) avance même que ces nuages de RNP sont des structures universelles des cellules germinales. Généralement ces nuages de RNP sont associés à des mitochondries par de nombreux auteurs . Bazzo (1982); Bruslé (1980); Durfort (1983) et Azevedo (1984) suggèrent que ces nuages permettraient le regroupement de plusieurs mitochondries , devenant un véritable "ciment intermitochondrial". Ce ciment activerait la multiplication des mitochondries. Chez P. coerulea , nos constatations sont différentes puisque les nuages de RNP ne sont jamais associés aux mitochondries, ce qui n'empêche pas les mitochondries de se multiplier tout au long de la prévitellogenèse.

Au cours de la vitellogenèse de P. coerulea , on observe trois types de structures vitellines : lipidiques, protéiques et granules corticaux (MPS).

Le vitellus lipidique de P. coerulea semble provenir de la transformation des mitochondries. Dès 1962, Humphreys signale l'intervention des mitochondries dans la formation du vitellus lipidique chez la moule Mytilus edulis. L'aspect de ce vitellus paraît différent d'une espèce à une autre puisque chez la Patelle, il apparaît constitué d'une zone centrale dense, entourée par une zone périphérique claire. Par contre Busson - Mobillot (1969) le décrit chez un grand nombre d'espèces avec une partie périphérique plus dense.

Le vitellus protéique apparaît chez P. coerulea comme un corps clair limité par une membrane unitaire associée toujours à l'ergastoplasme et parfois à des lamelles annelées. Chez les Mollusques , Anderson (1965) et Griffond (1980) décrivent des vésicules vitellines homogènes denses et limitées par une membrane unitaire.

Les granules corticaux présentent des aspects ultrastructuraux très divers dans le règne animal. Ces organites sont toujours limités par une membrane. Ils sont de forme ovoïde ou sphérique Dhainaut (1966). Dans le groupe des Mollusques les résultats sont peu nombreux . Pasteels et De Harven (1962) pour Barnea candida et Humphreys (1962) pour Mytilus edulis , décrivent des granules corticaux limités par une membrane nette contenant un matériel finement grenu, très comparable à ceux observés chez P. coerulea.

---

**Anderson E.** ,1965 - Events associated with differentiating oocytes in two species of amphineurans (Mollusca) . Mopalia mucosa and Chaetopleura apiculata. J. Cell Biol.,(27),5A.

**Azevedo C.** , 1984 - Development and ultrasructural autoradiographic studies of nucleolus - like bodies in oocytes of a viviparus teleost Xiphophorus helleri. Cell Tissue Res. , (238) : 121 - 128

**Bazzo M.G.** , 1982 - Estudi ultrastructural dels processos oogenetic i espermatogenic de Terebratula vitrea (Gmelin ) . Tesi Doctor en Biologie , Barcelona.

**Bolognari A.**,1958 - Caratteri ultrastructurali dell'apparate nucleolare degli ovociti di Patella coerulea L. durante il loro accrescimento . Società Pelvritane di scienze fisiche materariche e naturali, IV , Fasc III-IV: 367-375.

**Bolognari A.** ,1960a Yolk formation in oocytes of Patella coerulea L. and Aplysia depilans L. observed in the electron microscope . Nature , 186: 490-491.

**Busson-Mobillot S.** 1969 - Données récentes sur la vitellogenèse . L'année Biologique , VIII, Fasc. 3-4 : 199 - 222.

**Dhalnaut A.** , 1966 - Etude ultrastructurale de l'évolution cytoplasmique au cours des premiers stades de l'ovogenèse chez Nereis pelagica L. ( Annelide polychète). C.R. Acad. SCI. , Paris , 262 : 2616 - 2619

**Durfort M.** , 1980 - La vitellogenesis en Cyclops strenuus Fischer ( Crust. Copepoda) I- fasc Endogena o Primaria . Bol. R. Soc. Espanola Hist. Nat. Biol., 78 : 437- 447.

**Durfort M.** , 1983 - El cos Cromatoïde o nematosoma en els oocits de crustacis. Biol. del Desenvolupament , I: 107-114

**Franc A.** , 1950 - Structure et particularités histochimiques du nucléole des ovocytes de Mollusques Prosobranches . C.R. Acad. Sci. , Paris.

**Franc A.** , 1951 - Ovogenèse et évolution nucléolaire chez les Gastéropodes Prosobranches. Ann. Sci. Nat. B Zool. , XIII, Fasc - I: 135-142.

**Gabe M. et Prenant M.** , 1949 - Contribution à l'histologie de l'ovogenèse chez les Polyplacophores. la cellule , 53 : 99-116

**Glauert A.** , 1975 - Practical methods in electron microscopy . Elsevier Publ. ,207p.

**Griffond B.** , 1980 - la vitellogenèse chez la paludine Viviparus viviparus L. (Moll. Gast. Prosobr. ) Bull. Soc. Zool. Fr. , 105 (3): 401 - 407.

**Hirsch J. G. et Federko M.A.** , 1968 - Ultrastrucutre of human leucocytes after simultaneous fixation with glutaraldehyde and osmium tetroxyde and post - fixation in uranyl acetate. J. Cell Biol. , 38 : 615-627.

**Humphrey W. J.** , 1962 - Electron microscope studies on eggs of Mytilus edulis . J. Ultrastruct. Res. , 7 : 467-487.

**Kessel R. G.** , 1965 - Cytodifferentiation in ascidian oocytes . Anat. Rec. , 151 : 371 -382.

**Mouëza M,** 1979 - La fixation de Hirsch et Federko : méthode de routine méconnue . Bull. Soc. Hist. Nat. , Afrique du Nord, 70 : 73-79.

**Norrevang A.** , 1968 - Electron microscope morphology of oogenesis. Int. Rev. Cytol. ,23 : 113-186.

**Pasteel J. J. et De Harven E.** , 1962 - Etude au microscope electronique du cortex de l'ouf de Barnea candida et son évolution au moment de la fécondation , de la maturation et de la ségmentation . Arch. Biol. , 73 : 465-490

**Reynolds E.S.** , 1963 - Contraste des coupes fines au citrate de plombs . J. Cell Biol., 17:208-212

**Weakley B.S.** , 1976 - Variation in mitochondrial size and ultrastructure during germ cell development. Cell Tissue Res. 169 : 531-550