

structure. In any case, however, the staining pattern must provide some information on the local packing relations of the molecules in the filament. For studying the substructure of paramyosin filaments, the freeze-substituted preparations have advantages over the isolated filaments, since here not only the surface but their interior composition can also be revealed. Moreover, it is also possible by this technique to get various views from the same filament by examining serially sectioned or tilted filaments. A model of the three dimensional reconstruction of the paramyosin filaments, employing these techniques will be presented shortly (HEUMANN, in preparation).

Zusammenfassung. In den Paramyosinfilamenten des Byssusretraktors von *Mytilus edulis* wurde eine komplizierte Substruktur beobachtet, wenn das Gewebe nicht fixiert, sondern gefriersubstituiert wurde. Längsgetroffene Filamente zeigen ein netzartiges oder quergebändertes Aussehen, quergeschnittene Filamente weisen häufig eine scheibenartige Struktur auf.

H.-G. HEUMANN

*Lehrstuhl für Zellenlehre der Universität,
Berliner-Strasse 15, D-69 Heidelberg (Germany),
18 September 1972.*

La synthèse de l'ADN prémitotique et préméiotique dans les cellules germinales de l'embryon femelle de la caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*)

Dans des travaux précédents^{1,2} nous avons étudié la synthèse de l'ADN préméiotique dans les cellules germinales de l'ovaire embryonnaire de poulet. Nous avons effectué une étude semblable chez la caille japonaise. La différentiation sexuelle de la gonade gauche y devient visible sous la loupe binoculaire à peu près 6 jours après le début de l'incubation. Dans des œufs fécondés de caille japonaise (type sauvage), incubés pendant 6 à 12 jours à une température de 39,5°C, on découpe une petite fenêtre dans la coquille, au niveau de la chambre à air. Les œufs sont fixés en position verticale avec la fenêtre dirigée vers le haut. Sur la membrane de la poche à air 10 μ Ci d'une solution aqueuse de thymidine-³H (10 Ci/mM, 1mCi/ml) sont déposés. Après 2 h ou après 24 h, les ovaires gauches des embryons femelles sont fixés dans l'alcool acétique (3 v:1 v) pendant 1 h. Les ovaires sont inclus dans la paraffine et coupés à 5 μ m. Après déparaffinage les coupes sont colorées par la réaction nucléale de Feulgen et contre-colorées au «fastgreen». Pour l'étude cytologique préautoradiographique des régions du cortex de l'ovaire sont photographiées avec l'objectif à immersion ($\times 63$) de l'ultraphot Zeiss. Une iconographie aussi complète que possible de certaines parties des coupes est faite à l'aide de diapositives en couleurs et de dessins avec un maximum de détails cytologiques. Alors la lame couvre-object est enlevée et les coupes sont rehydratées. Elles sont enfin émulsionnées par immersion. L'émulsion nucléaire employée est du type L4 de Ilford. Après exposition d'à peu près un mois et le développement de l'émulsion, les coupes sont recolorées à l'hématoxylène-éosine.

Résultats. Chez l'embryon de 6 jours on voit dans l'ovaire des cellules germinales encore peu nombreuses. Leur noyau contient de nombreux petits granules de chromatine Feulgen positifs, liés par des filaments très fins. Chez l'embryon âgé de 7 à 8 jours on voit dans la

partie centrale du cortex ovarien des oogonies en mitose. On observe aussi des oogonies en interphase avec un gros nucléole central et dans son voisinage immédiat quelques amas arrondis de chromatine Feulgen positive (Figure 1). Chez l'embryon de 8 jours à 9 jours on voit apparaître dans la partie centrale du cortex un nouveau type de cellule germinale. Son nucléoplasme est beaucoup plus clair que celui de l'oogonie. Sa chromatine est condensée en quelques volumineux amas Feulgen positifs paranucléolaires. La membrane nucléaire est très fine mais nettement tranchée (Figure 3). Le noyau contient un gros nucléole central coloré en vert par le «fastgreen». Quelques très fins granules chromatiniens se trouvent appliqués contre la partie interne de la membrane nucléaire. Des filaments très fins colorés en vert par le «fastgreen» relient le nucléole ou les masses paranucléolaires Feulgen positives avec la membrane nucléaire. Ce dernier type de cellule germinale présente donc une certaine analogie avec la cellule germinale à noyau réticulé^{3,4} de l'embryon de poulet. Le nucléole et surtout les amas de chromatine sont au contraire beaucoup plus volumineux que chez le poulet. Chez l'embryon de caille de 9 jours on voit apparaître dans la partie centrale du cortex ovarien entre les cellules germinales du type précédent les premières cellules germinales au stade préleptotène (Figure 4). Chez ces préméiotocytes la membrane nucléaire est invisible ou a disparu comme il en est le cas chez le poulet. Des masses de chromatine Feulgen-positives de forme et de volume

¹ M. CALLEBAUT, J. Embryol. exp. Morph. 18, 299 (1967).

² M. CALLEBAUT et J. BERNHEIM, Experientia 25, 978 (1969).

³ F. D'HOLLANDER, Archs Anat. microsc. 7, 117 (1904).

⁴ M. CALLEBAUT et R. DUBOIS, C.r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris 261, 12 (1965).

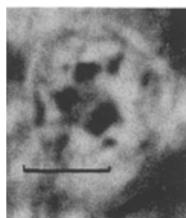


Fig. 1. Aspect d'une oogonie de caille japonaise en phase S prémitotique colorée au Feulgen «fastgreen», avant autoradiographie (échelle: 5 μ m).

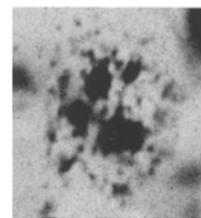


Fig. 2. L'oogonie de la Figure 1 après autoradiographie.

irréguliers se trouvent dispersées dans l'aire nucléaire et forment un groupe plus ou moins sphérique, appliquée contre la paroi interne de la partie la plus large du cytoplasme (ou se trouve la sphère d'attraction). La partie de l'aire nucléaire qui y est diamétralement opposée est vide et n'est que partiellement entourée d'une mince bande de cytoplasme. Souvent on voit des filaments très fins Feulgen positifs qui semblent prendre origine dans les masses de chromatine. Un nucléole massif souvent disposé d'une façon excentrique est visible parmi les masses de chromatine. Chez l'embryon de caille de 10 jours le nombre de cellules germinales en prémiéose (stade préleptotène)

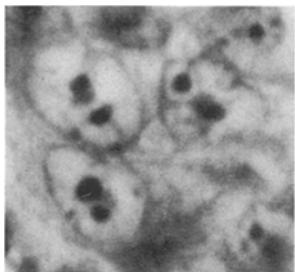


Fig. 3. Groupe de 3 oocytes à noyau réticulé de caille japonaise (Feulgen-«fastgreen», même agrandissement que la Figure 1).



Fig. 4. 2 Oocytes au stade préleptogène avant autoradiographie (Feulgen-«fastgreen», même agrandissement que la Figure 1).

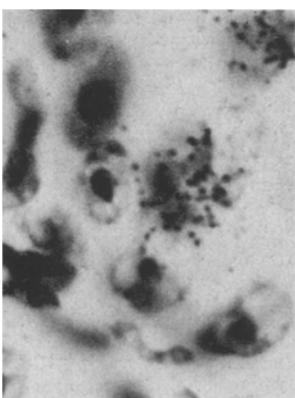


Fig. 5. Oocytes de la Figure 4 après autoradiographie.

augmente considérablement et déjà quelques méiocytes (stade leptotène) font leur apparition. Chez l'embryon de 11 jours un nombre croissant de cellules germinales de ce dernier type est visible. Chez ces cellules au stade leptotène la paroi nucléaire est toujours invisible comme au stade préleptotène. Toutefois le nucléole est rudimentaire ou absent. Les chromosomes très fins forment un peleton irrégulier, appliquée contre la partie interne de la partie la plus large de l'ooplasme. Souvent les chromosomes s'orientent plus ou moins parallèlement vers cette région de l'ooplasme et se terminent par un épaissement en forme de masse.

Chez l'embryon de 10 jours ou plus on ne trouve plus de cellules germinales en division (oogonies) dans la partie centrale du cortex de l'ovaire. Les oogonies se trouvent alors exclusivement dans les parties plus périphériques de l'ovaire. Même jusque quelques jours après l'éclosion (survenant après 17 jours de vie embryonnaire) il y a toujours un petit foyer d'oogonies dans les bords du cortex. La comparaison des documents photographiques réalisés avant le traitement autoradiographique avec les coupes après autoradiographie, nous a permis de repérer exactement la structure des cellules germinales qui synthétisent de l'ADN. Certaines oogonies (Figure 1) incorporent intensément la thymidine tritiée (Figure 2), ce qui indique qu'elles passent par la phase S prémitotique. Les concentrations de grains au-dessus des masses de chromatine Feulgen positives sont souvent si considérables qu'elles mêmes ne peuvent plus être vues, mais l'emplacement des grains reproduit exactement leur forme et localisation. Dans la partie centrale du cortex d'un embryon de 10 jours ou plus on trouve seulement de l'incorporation de thymidine tritiée (Figure 5) dans les cellules germinales au stade préleptotène (Figure 4).

Les cellules germinales correspondant au stade noyau réticulé (comparable au stade G_1 d'un cycle cellulaire régulier) ou au stade leptotène n'incorporent jamais ce précurseur du DNA. Dans les ovaires d'embryons fixés 24 h après l'application de thymidine- 3 H on trouve des méiocytes (surtout leptotènes) marqués sur leur chromosomes ce qui indique qu'ils étaient en phase S prémiéotique au moment de l'application. Dans ces derniers ovaires on ne trouve pas de cellules germinales marquées au stade préleptotène.

Conclusion. La synthèse de l'ADN prémiéotique de l'embryon femelle de la caille japonaise commence après 9 jours d'incubation. Les cellules germinales qui effectuent cette synthèse ont un aspect caractéristique rappelant celui que nous avons décrit chez le poulet.

Summary. The premeiotic DNA synthesis of the female Japanese quail embryo begins after 9 days incubation. The germ cells in premeiotic S phase present a particular structure different from the structure found in germ cells during premitotic S phase. They are the precursors of the meiocytes in leptotene stage.

M. CALLEBAUT⁵

*Laboratoire d'Anatomie et d'Embryologie Humaines,
Rijksuniversitair Centrum,
Groenenborgerlaan, 171, B 2020 – Antwerpen (Belgique),
4 Septembre 1972.*

⁵ L'auteur remercie vivement le Professeur L. VAKAET (R.U.C.A., Anvers) pour ses suggestions très valables.