

nerves¹⁰. The action of oxypertine on serotonin stores is accepted by some authors¹¹. A previous work of our laboratory¹⁰ indicates that ZIO 4-2 reactive material does not correspond to noradrenaline in the pineal nerves of the rat.

With these considerations in mind, the hypothesis may be formulated that in the matrix of the granulated vesicles of the pineal nerves of the rat, ZIO may reveal different substances according to the schedule used and that they are related in some way with the different transmitter substances stored in these vesicles. The action of *p*-CPA here described would indicate that ZIO 4-2 reactive material is related with serotonin. The nature of this material is uncertain at the present time. The presence of serotonin demonstrated in the core with the histochemical technique of Wood² could not be revealed in the matrix. If this does not preclude the presence of serotonin in the matrix, it strongly suggests that ZIO 4-2 reactive material correspond to some other component of the vesicle also affected by *p*-CPA. This possibility has been discussed elsewhere⁷.

Resumen. Se demuestra que la reserpina depleciona los componentes de las vesículas sinápticas de los nervios

pineales de la rata revelables por la mezcla de yoduro de zinc-tetróxido de osmio a 4°C durante dos horas y a 20°C durante 15 h mientras que la *p*-CPA sólo depleciona los componentes revelables a 4°C durante 2 h.

AMANDA PELLEGRINO DE IRALDI and D. LETZEN¹²⁻¹⁴

*Instituto de Anatomía General y Embriología,
Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Buenos
Aires, Paraguay 2155, Buenos Aires (Argentina),
5 February 1973.*

¹⁰ A. PELLEGRINO DE IRALDI and A. M. SUBIRO, Eur. J. Pharmac. 19, 251 (1972).

¹¹ K. FUXE, H. GROBECKER, T. HÖKFELT, J. JONSSON and T. MALMFORS, Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmac. 256, 450 (1967).

¹² Fellow from the Instituto Nacional de Farmacología, Argentina.

¹³ This work has been supported by grants from the Universidad Nacional de Buenos Aires, the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina and the National Institutes of Health (Nas. 2 ROI NS 06953-07 NEUA), USA.

¹⁴ We are grateful to Miss M. LÓPEZ for her skillful technical assistance.

Marquage intense de la couche des «wedge granules» dans les oocytes en prématuration de la Caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*) après injection de L-leucine-³H

Dans la cicatricule d'oocytes de la pigeonne en période finale de grand accroissement, BARTELMEZ¹ a décrit la présence d'une couche cunéiforme («wedge granules layer»). VAN DURME² a retrouvé cette couche dans les oocytes de plusieurs espèces d'oiseaux. Elle est constituée de granules vitellins plus intensément colorables que les granules vitellins environnants du disque germinatif. A son bord interne (vers la vésicule germinative) la couche cunéiforme déverse dans un lit de granules extrêmement fins également très colorables («polar granules» de BARTELMEZ¹) qui se glissent en dessous du pôle profond de la vésicule germinative.

Matériel et méthode. Des cailles japonaises en période de ponte régulière, maintenues à une température constante de 22°C avec illumination continue, ont été utilisées. Les animaux ont été soumis à une injection par voie i.p. de 1 mCi de L-leucine-4, 5-³H (1 mCi/ml, 58 Ci/mM, Amersham Radiochemical Centre); 3 jours après cette injection, les cailles ont été tuées par décapitation. Après ouverture de

l'abdomen, les plus grands oocytes intrafolliculaires pédonculés sont prélevés et fixés dans l'alcool acétique (3:1 vol) pendant 4 h. La cicatricule est marquée au charbon de bois, car, après fixation, l'emplacement de la vésicule germinative devient presque invisible. Pendant leur passage dans les alcools le disque germinatif de ces oocytes est séparé de la plus grande partie du jaune sous-jacent. Après enrobage à la paraffine la cicatricule des oocytes est débitée en coupes séries de 7 µm d'épaisseur, parallèles à l'axe qui relie le pôle nucléaire à l'antipôle. Les coupes sont ensuite émulsionnées par l'émulsion nucléaire L 4 de Ilford (England). Après une exposition de 1 mois et le développement de l'émulsion, les coupes sont colorées à l'hématoxyline ferrique de Groat et contre-colorées à l'éosine. Des coupes d'oocytes de cailles n'ayant reçu aucune injection de précurseur radioactif ont subi un traitement autoradiographique identique (coupes témoin).

Résultats. Sur les autoradiographies des plus grands oocytes on constate un marquage intense au niveau de la couche des «wedge granules». L'incorporation est si intense qu'elle est facilement visible au microscope avec les objectifs les plus faibles (Figure 1). On voit nettement que le marquage se prolonge jusque dans la profondeur de la masse vitelline sous-jacente. Les bords de la couche marquée sont recourbés vers la colonne vitelline reliant le latebra de PURKINJE³ au noyau de PANDER⁴.

Cette dernière structure, entièrement circonscrite par la couche fortement marquée, se présente ainsi exactement comme la coiffe d'un champignon. A l'encontre de sa couche envelopante, intensément marquée, le noyau de Pander présente peu ou pas d'incorporation (Figure 2).

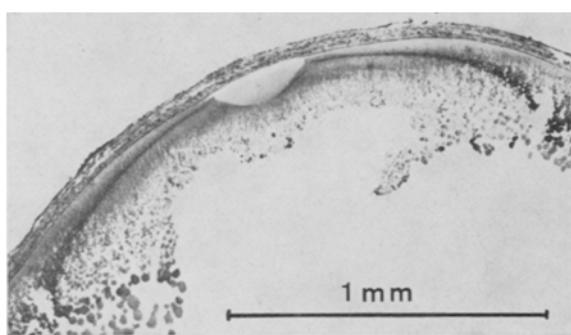


Fig. 1. Autoradiographie d'une coupe d'oocyte (diamètre 14 mm) de caille, 3 jours après une injection i.p. de L-leucine-³H. Malgré le grossissement très faible la couche fortement marquée est facilement visible.

¹ G. W. BARTELMEZ, J. Morph. 23, 269 (1912).

² M. VAN DURME, Archs Biol., Liège 29, 71 (1914).

³ J. E. PURKINJE, *Symbolae ad ovi avium historiam ante incubationem* (Lipsiae, Leopoldi Vossii, Bratislavia 1830).

⁴ C. PANDER, *Historiam Metamorphoseos quam ovum incubatum prioribus quinque diebus subit* (Würzburg 1817).

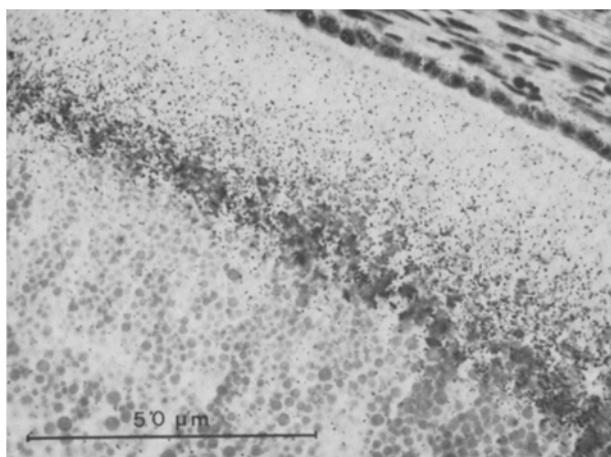


Fig. 2. Partie de l'autoradiographie de la Figure 1, à fort agrandissement. On voit la couche cunéiforme intensément marquée, au-dessus d'une partie du noyau de PANDER, faiblement marquée. L'ooplasme périphérique présente un marquage diffus.

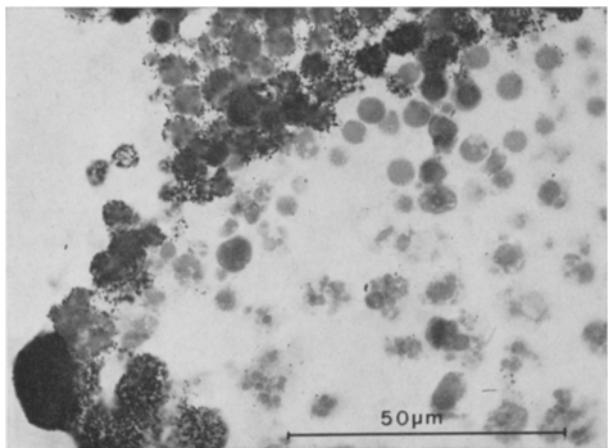


Fig. 3. Partie de l'autoradiographie de la Figure 1, à fort agrandissement. Le bord de la couche à incorporation intense se replie vers l'axe de l'œuf et entoure le noyau de PANDER, non marqué.

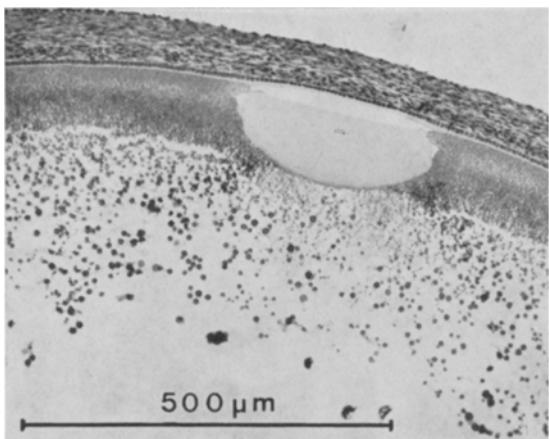


Fig. 4. Autradiographie d'une coupe d'œuf (diamètre 6 mm) de caille, 3 jours après une injection i.p. de L-leucine-³H. Du pourtour du pôle nucléaire profond une couche fortement marquée qui entoure l'ébauche du noyau de PANDER, s'enfonce dans la profondeur du vitellus.

Les parties de l'œuf à l'extérieur de la couche à incorporation intense présentent un marquage diffus. L'assise des granules polaires au pourtour du pôle nucléaire profond est aussi fortement marquée. Les granules polaires et la couche cunéiforme, ensemble avec ses bords repliés vers l'axe de l'œuf, ont des affinités biochimiques identiques et semblent donc former une seule structure. L'autoradiographie après injection de leucine-³H nous offre donc le moyen de mettre en évidence la couche sur toute son étendue là où l'histologie n'en révèle qu'une partie. Ainsi VAN DURME² croyait que la couche cunéiforme se terminait en-dessous de la surface de l'œuf. Le marquage dans la couche à incorporation intense est visible au niveau du tissu intervitellin mais aussi sur les globules de vitellus. Comme l'avaient déjà constaté BARTELMEZ¹ et VAN DURME² les globules de la couche cunéiforme sont de plus en plus grands quand on s'éloigne de l'axe de l'œuf. Vers le bord externe de la couche fortement marquée, là où elle se replie vers l'axe, son vitellus se présente sous forme de masses polygonales (Figure 3) avec inclusions granuleuses plus grosses que le vitellus jaune environnant. Dans les œufs un peu moins développés (Figure 4) on aperçoit aussi une couche fortement marquée, probablement analogue, mais dont la localisation est beaucoup plus profonde. Cette couche part aussi du pourtour du pôle nucléaire profond et circonscrit l'ébauche du noyau de Pander, dans lequel le marquage est faible.

Discussion. L'incorporation intense dans la couche des «wedge granules» après application de leucine-³H, semble donc offrir un moyen adéquat pour en étudier l'origine et peut-être même le rôle dans l'embryogenèse précoce de la caille. En effet, la couche décrite par BARTELMEZ se trouve tout près ou peut-être même dans la région où se développera le futur blastoderme. Elle se situe entre la zone où ont évolué les organites cytoplasmiques subcorticaux⁵ que nous avons décrits plus en surface, et la zone plus centrale du noyau de PANDER, dans laquelle des expériences préliminaires nous ont permis de démontrer une synthèse d'ARN précoce. Elle constitue dès lors une zone de contact entre deux plasmes où une synthèse d'ARN a pu être mise à jour pendant l'ovogenèse. Jusqu'à présent, nous ne pouvons nous prononcer sur la nature exacte des substances marquées dans cette couche après l'application de leucine-³H. S'agit-il d'une synthèse active de protéines destinées à entrer dans la composition du blastoderme ou y a-t-il simplement accumulation de leucine radioactive? Dans ce dernier cas la leucine-³H serait solidement liée à des molécules qui résistent au processus autoradiographique.

Summary. After an i.p. injection of L-leucine-³H in regularly laying Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) and autoradiographic study of their premature oocytes, the wedge granules layer and polar granules are found to be heavily labelled.

M. CALLEBAUT⁶

*Laboratoire d'Anatomie et d'Embryologie,
Rijksuniversitair Centrum, Groenenborgerlaan 171,
B-2020 Antwerpen (Belgique),
18 janvier 1973.*

⁵ M. CALLEBAUT, *Experientia* 28, 62 (1972).

⁶ L'auteur remercie vivement le Professeur L. VAKAET (R.U.C.A.) pour ses suggestions.