

Ultrastructures d'un rotifère: *Notommata copeus*

I. La cellule-flamme. Hypothèses physiologiques

PIERRE CLEMENT

Service d'Histologie et de Biologie tissulaire et Centre de Microscopie Electronique appliquée à la Biologie (Dir.: Prof. Dr. MAX PAVANS DE CECCATTY) Faculté des Sciences de Lyon (France)

Reçue le 29 Décembre 1967

Ultrastructure of the Flame-cell of Notommata copeus (Rotifera)

Summary. The ultrastructure of the flame-cell of a Rotifera, *Notommata copeus*, is described.

The tube-like cell is provided with a thin wall containing the nucleus. One of the ends of this tube has the shape of a flattened fan-like ampulla, the flame bulb. A cap on the top-end of this ampulla, contains numerous mitochondria. Near the central cavity of the bulb, the cap is limited by a dense plate on which more than a hundred cilia are inserted. These cilia are linked together by means of cytoplasmic bonds, and form the vibratil flame which beats constantly inside the ampulla.

The wall of this ampulla is made of fine tubules which prolong the cytoplasm of the cap at the top, and the thin but compact wall of the capillary tube at the base. These tubules appear as two parallel and superposed crates: — a first crate near the cellular duct, is formed by the pillars (2000 Å in diameter), the substance of which has a dense aspect; — a second crate near the pseudocoel shows a greater number of small columns (700 Å in diameter) with a clearer appearance. Two thicker columns form the two lateral cytoplasmic posts of the bulb and include mitochondria.

These vertical bars support two kinds of membranes: the intercolumnal membranes (120 to 150 Å thick) and, between the pillars and the columns, the radiating "membranes" (20 to 50 Å thick). A third type should be mentioned: the basal membrane which covers the side of the cell facing the pseudocoel.

Some hypotheses are offered concerning the possible physiological role played by the membranes if their structures are compared with that of the filtering membranes of the Malpighian glomerule in the kidney of Vertebrates. This comparison has been extended to the filtering agents themselves, emphasis being drawn on the function of the flame-cell in Rotifera.

Résumé. L'ultrastructure de la cellule-flamme d'un Rotifère, *Notommata copeus*, est décrite en détail.

La cellule est formée d'un long tube capillaire, à paroi fine contenant le noyau, et dont une extrémité est dilatée en une ampoule aplatie en forme d'éventail.

Au sommet de cette ampoule, le capuchon contient de nombreuses mitochondries et, vers la lumière cellulaire, une plaque dense sur laquelle sont insérés tous les cils (plus de cent), réunis par des ponts cytoplasmiques, formant la flamme vibratile qui bat en permanence à l'intérieur de l'ampoule.

La paroi de cette dernière est très différenciée en de fins tubules, prolongeant au sommet le cytoplasme du capuchon, à la base celui de la paroi mince mais compacte qui formera le tube capillaire. Ils se présentent sous la forme de deux grilles parallèles et superposées: — les piliers (2000 Å de diamètre), au contenu dense, vers la lumière cellulaire; — les colonnettes (700 Å de diamètre), plus nombreuses, au contenu moins dense, vers le pseudocoel. Deux colonnettes sont élargies en montants cytoplasmiques latéraux contenant les mitochondries.

Ces barreaux verticaux sous-tendent des membranes filtrantes de deux types, auxquelles il faut rajouter, vers le pseudocoel, la fine membrane basale qui enveloppe la cellule: les membranes intercolonnettes (120 à 150 Å d'épaisseur) et, entre les piliers et les colonnettes, des «membranes» rayonnantes (de 20 à 50 Å d'épaisseur).

Quelques hypothèses sont émises quant au rôle physiologique possible de ces membranes, en comparant leur structure à celle des membranes filtrantes du glomérule Malpighien du rein de Vertèbre. Nous avons poussé cette comparaison jusqu'aux facteurs entraînant la filtration, insistant en particulier sur le rôle très probable de la flamme vibratile chez les Rotifères.

Introduction

Les Rotifères représentent un matériel de choix pour les histologistes: en moins d'un quart de millimètre cube sont concentrés des systèmes digestif, excréteur et génital complets, des muscles lisses ou striés, un mastax complexe, un système nerveux centralisé avec cerveau à l'avant, des cellules locomotrices ciliées, des organes des sens très rudimentaires ou très évolués, etc... Outre la constance des structures et l'eutélie qui facilitent les reconstitutions anatomiques, l'existence de syncytiums — généralement admise dans la littérature — accroît l'intérêt de ce groupe.

La microscopie optique avait permis, depuis la fin du XIX^{ème} siècle, plusieurs descriptions histologiques d'une étonnante précision.

Mais il a fallu attendre ces toutes dernières années pour voir la multiplication de travaux utilisant les Rotifères comme matériel d'étude en microscopie électronique.

Si pour certains auteurs les Rotifères ne représentent qu'un matériel occasionnel (SCHOLTYSECK et DANEEL, 1962, pour les cils de *Brachionus*; EAKIN et WESTPHALL, 1964, pour l'œil d'*Asplanchna*; BRAUN, KUMMEL et MANGOS, 1966, pour la protonéphridie d'*Asplanchna*), ils furent à l'origine de plusieurs publications pour d'autres chercheurs (LANSING, 1961a et b, 1964, sur *Philodina*; DICKSON 1965, 1966, sur *Philodina*; KOEHLER, 1964, 1965, 1966, sur *Asplanchna*). Ont principalement été décrits les épidermes externe et digestif, les cils, la glande pédieuse, et l'appareil génital. Notons aussi les rapides «brief notes» de MATTERN et DANIEL (1966) pour l'intestin et la cellule-flamme de *Philodina*.

Dans un tel contexte, l'étude que nous avons entreprise est motivée par deux types des préoccupations:

1. Faire progresser les connaissances sur les Rotifères, en envisageant leurs ultrastructures sous un angle fonctionnel et évolutif.
2. Aborder certains problèmes d'histologie générale soulevés par les ultrastructures de Rotifère.

Ainsi les premières publications de cette série sur l'ultrastructure de *Notommata copeus* traiteront de l'appareil protonéphridien vu sous des angles différents.

Tout d'abord, la comparaison de cette formation avec des organes analogues bien décrits dans quelques Embranchements (en particulier chez les Vertèbres où le rôle de chaque ultrastructure commence à être connu) conduit à concevoir des hypothèses physiologiques. C'est l'objet de ce travail sur la cellule-flamme, et d'un prochain sur le tube protonéphridien.

Des premières observations sur l'ultrastructure de l'estomac, l'intestin, l'épiderme etc. ... permettront ensuite de situer la place de l'appareil protonéphridien parmi tous les tissus osmorégulateurs de *Notommata copeus*.

Enfin, c'est aux organes homologues, ou supposés tels, de plusieurs groupes, considérés comme proches des Rotifères, que sera comparée la cellule-flamme de Rotifère, en se basant toujours sur les ultrastructures. Il sera alors possible de

formuler certaines conceptions d'ordre phylogénétique (CLEMENT et BRANDENBURG, en préparation).

Matériel et techniques

I. Choix d'un genre et techniques d'élevage

Les buts poursuivis, physiologiques et phylogénétiques, nous ont amenés à choisir un Rotifère d'une part assez gros, donc plus facilement utilisable pour nos manipulations histologiques, et pour d'éventuelles expériences futures; d'autre part, le plus primitif possible, de façon à donner un début de réponse aux problèmes soulevés par la phylogenèse de ce groupe.

Notommata copeus (Classe des Rotifères; Sous-Classe des *Monogononta*; Ordre des Pseudotroques, qui correspond en grande partie aux anciens Ploïmes; Famille des *Notommatidae*; selon la récente classification de DE BEAUCHAMP, 1965), répondait à ces deux exigences: sa taille de 1 millimètre environ en fait un des plus grands Rotifères; et les investigations phylogénétiques de DE BEAUCHAMP (1909) le placent parmi les plus primitifs des Rotifères (il est au moins à la base des *Ploïma*: REMANE, 1929—1933).

Cette espèce cumule en outre d'autres avantages. Elle n'a jamais été étudiée en microscopie électronique, et de plus, les techniques d'élevage ont été mises au point par POURRIOT¹ qui suit plusieurs souches de *Notommata copeus* à Gif-sur-Yvette depuis quelques années déjà (POURRIOT, 1963—1965a et b).

Les individus dont les ultrastructures sont décrites plus loin ont donc été élevés selon les techniques décrites par POURRIOT (1965a et b) et proviennent de ce qu'il a appelé sa première souche de *Notommata copeus* (1965b). Le milieu utilisé est celui appelé B + S, soit un milieu minéral synthétique² auquel on ajoute 5% d'extrait de *Sphagnum*.

II. Microscopie électronique

Les opérations ont été les suivantes:

— anesthésie par la cocaïne à 2%: deux gouttes sont ajoutées toutes les 5 minutes dans une saïère presque pleine du liquide B + S, contenant une dizaine de *Notommata copeus*; ceux-ci sont généralement endormis, en extension, après 20 ou 30 minutes.

— fixation à l'acide osmique 1% tamponné selon PALADE (1952), 1 heure à 0°C.

— inclusion à l'épon, parfois à l'araldite.

— coupes au verre ou au diamant sur ultramicrotome Leitz.

— double «coloration» acétate d'uranyle (15 minutes) et citrate de plomb (10 minutes).

(Les colorations au permanganate, après inclusions dans l'araldite ne nous ont encore fourni aucune image utilisable).

— observation au microscope électronique Hitachi HU 11 A, sous 75 kV.

Description de la cellule-flamme

I. Introduction

Chez les Rotifères, deux protonéphridies typiques latérales débouchent, à l'arrière de l'animal, dans le cloaque médian et ventral par l'intermédiaire d'une vessie, confondue avec le cloaque chez certaines espèces, dont *Notommata copeus*.

Ces protonéphridies sont situées dans le pseudocoel, et composées de trois parties chacune:

a) Les cellules-flammes

ou organes terminaux, sont des ampoules creuses, aplaties en éventail chez *Notommata copeus* et dont la lumière se prolonge vers la base par le canal capillaire.

¹ Nous tenons à remercier M. R. POURRIOT pour la gentillesse avec laquelle il nous a enseigné à Gif-sur-Yvette ses techniques d'élevage et nous a fourni, à chaque appel, souches d'Algues et de Rotifères et renseignements pratiques nécessaires pour nos propres travaux.

² Sa composition exacte est: KNO₃ 33 mg; Ca(NO₃)₂ 13 mg; K₂HPO₄ 13 mg; MgSO₄ 10 mg; Fe₃Cl₆ traces; H₂O bidistillée 1000 ml. Soude q.s. pour pH = 7,6.

b) *Le tube capillaire*

possède une paroi mince, et son parcours est rectiligne ou à courbures douces.

c) *Le tube glandulaire*

où débouchent les tubes capillaires, s'ouvre lui-même dans la vessie. La lumière de ce tube semble être creusée dans un tissu massif, et a un parcours très sinueux.

L'organe terminal est donc creux et aplati en un éventail large de 12 à 15 μ vers son sommet très dense nommé *capuchon*. Sa hauteur est difficile à évaluer précisément (de 15 à 20 μ environ), car sa base est prolongée directement par le canal capillaire. Sa *paroi* est réduite à de très fins ponts cytoplasmiques longitudinaux; deux colonnes cytoplasmiques, situées le long des *montants* les plus externes de l'éventail, établissent une continuité plus nette entre le capuchon et la paroi cytoplasmique, fine mais compacte, de la base.

La caractéristique de cet organe terminal est donc d'avoir une paroi transformée en une sorte de claie formant deux grandes fenêtres qui occupent en vis-à-vis l'essentiel de ses deux grandes faces parallèles. Ces fenêtres grillagées séparent le pseudocoel de la lumière de la cellule-flamme au cœur de laquelle bat en permanence une flamme vibratile insérée sur le capuchon.

Dès 1886, des rayures longitudinales avaient été observées sur la paroi des cellules-flammes de Rotifères (PLATE, 1886, sur *Euchlanis dilatata*); leur présence avait ensuite été signalée par plusieurs chercheurs; mais leur signification demeurait inconnue (REMANE, 1929—1933, et les autres traités généraux sur les Rotifères, même les plus récents qui, souvent, ne les mentionnent même pas).

PONTIN (1964) montre que c'est à ce niveau que le liquide pseudocoelomique passe dans la cavité de la cellule-flamme, et suggère l'étude en microscopie électronique de cette paroi aux striations énigmatiques.

C'est ce que nous avons entrepris avec le genre *Notommata*, et notre travail complètera largement les intéressantes mais rapides descriptions de BRAUN et Coll. (1966) sur le genre *Asplanchna*.

1. La zone grillagée (Fig. 1, 3—5, 8, 13, 14)

Elle s'étend sur environ $\frac{1}{3}$ de la hauteur de la cellule-flamme mais en fait représente de $\frac{1}{2}$ à $\frac{3}{4}$ de sa surface externe. L'épaisseur de chacune des fenêtres comprend deux grilles longitudinales superposées, qui entourent sans discontinuité la cellule-flamme, les montants cytoplasmiques latéraux étant insérés sur un seul barreau de la grille la plus externe.

Ainsi on distingue (Fig. 1, 1a, 5, 14):

a) *Une quarantaine de piliers*

cylindriques compacts d'environ 2000 à 2200 Å de diamètre, formant la grille interne en contact avec la lumière de la cellule-flamme. Ils sont séparés par un intervalle variable, en général supérieur à leur diamètre. Un fort grossissement montre que leur contenu, opaque aux électrons, est entouré d'une double membrane (Fig. 8).

b) *A l'extérieur, une seconde grille est formée d'environ 200 colonnettes*

ayant de 650 à 850 Å de diamètre, séparées par des intervalles de 500 à 600 Å. Cette nouvelle palissade s'étend comme un carton ondulé régulièrement, l'axe de

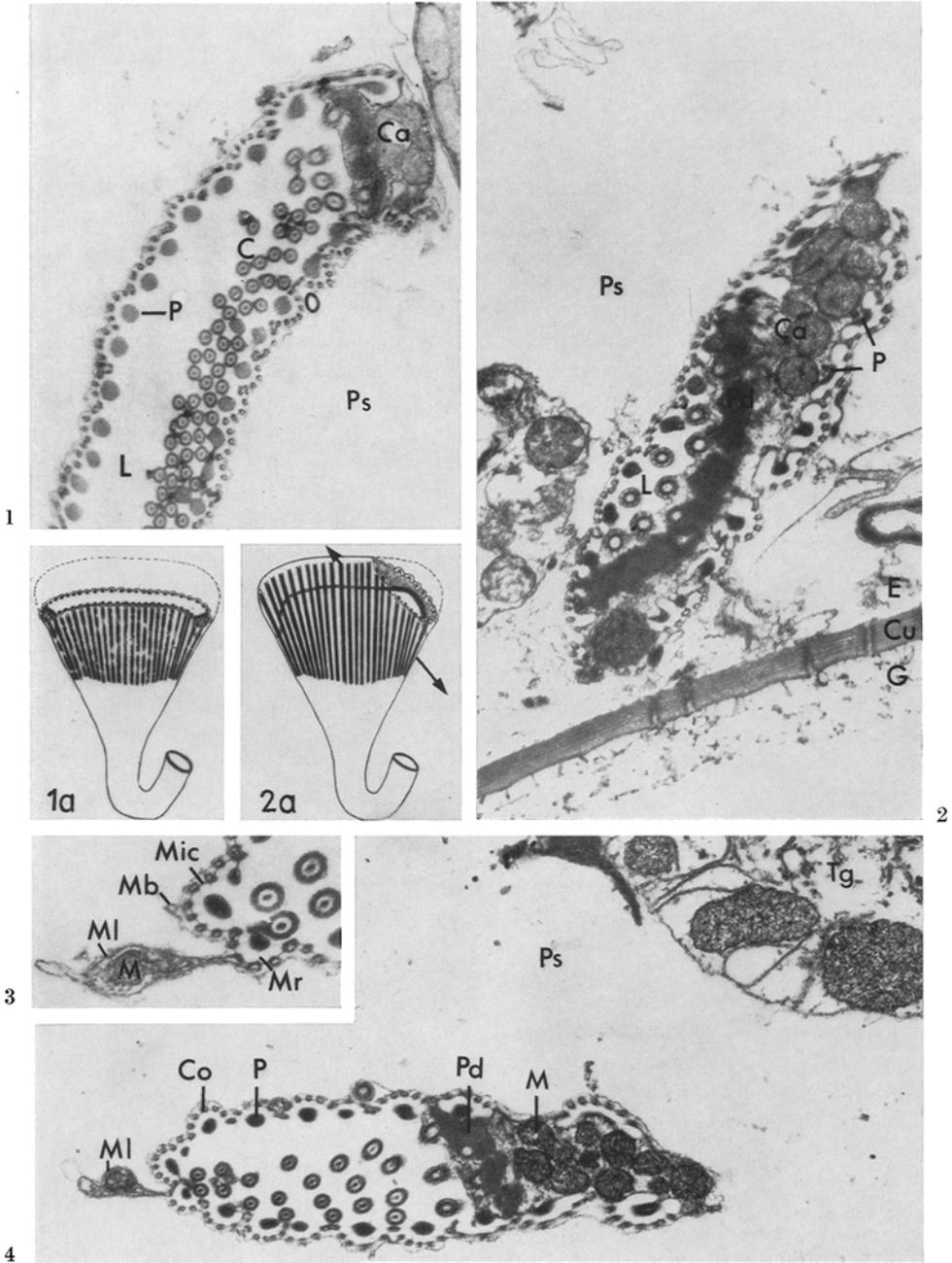


Fig. 1¹. Partie de coupe transversale horizontale de l'ampoule terminale, montrant la nasse et le prolongement latéral du capuchon sur un côté (voir schéma 1 a). G. $\times 12000$. C cil; Ca capuchon; Co colonnette; Cu partie dense de l'épiderme; E épiderme; G couche gélatineuse à l'extérieur de l'épiderme; L lumière de l'ampoule terminale; M mitochondrie; Mb membrane basale; Mic membrane intercolonnète; Ml montant latéral; Mr «membrane» rayonnante; P pilier; Pd plaque dense; Ps pseudocoele; Tg paroi du tube glandulaire

¹ [Pour les Fig. 1 à 13 (*Notommata copeus*); inclusion à l'épon. Coloration mixte acétate d'uranyle-Reynolds].

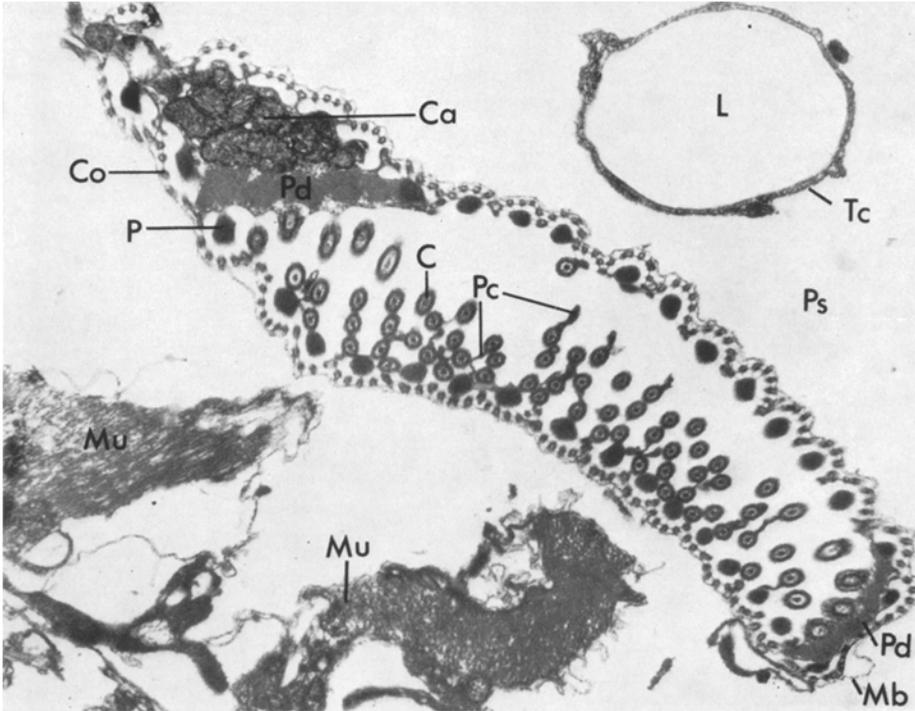


Fig. 5. Coupe transversale légèrement oblique, intéressant le haut du capuchon d'un côté, sa base latérale de l'autre; et le tube capillaire. G. $\times 12000$. Co colonnette; C cil; Ca capuchon; L lumière de la cellule-flamme; Mu muscle squelettique; Mb membrane basale; P pilier; Pc pont cytoplasmique; Pd plaque dense; Ps pseudocoel; Tc paroi du tube capillaire

chaque ondulation étant occupé par un des gros piliers de la grille sous-jacente précédemment décrite. En coupe transversale, les ondulations correspondent à des demi-cercles adjacents et jointifs au niveau des dépressions qui sont situées sur le même plan que les axes des piliers internes. A fort grossissement, le contenu des colonnettes apparaît transparent aux électrons, et leur membrane double, le feuillet interne étant épaissi par du matériel dense, surtout sur la face de la colonnette tournée vers la lumière cellulaire (Fig. 8, 15B).

c) Chacun des deux montants cytoplasmiques latéraux

naît d'une colonnette dont la moitié interne garde sa forme caractéristique, la moitié externe se renflant progressivement en une colonne qui a jusqu'à 1μ de diamètre, et contient quelques mitochondries (de $0,7 \mu$ de diamètre) (Fig. 3, 4); entre ces dernières, le montant peut s'aplatir, son contenu cytoplasmique restant dense, en ribosomes surtout (Fig. 13).

Fig. 2. Coupe oblique presque tangentielle par rapport à la partie supérieure de l'ampoule terminale (voir schéma 2a). G. $\times 12000$

Fig. 3. Détail de la photo 2. Nasse et montant latéral. G. $\times 44000$

Fig. 4. Coupe oblique montrant le capuchon, la nasse et le montant latéral (voir la flèche du schéma 2a, indiquant l'inclinaison de cette coupe dans un plan vertical). G. $\times 12000$

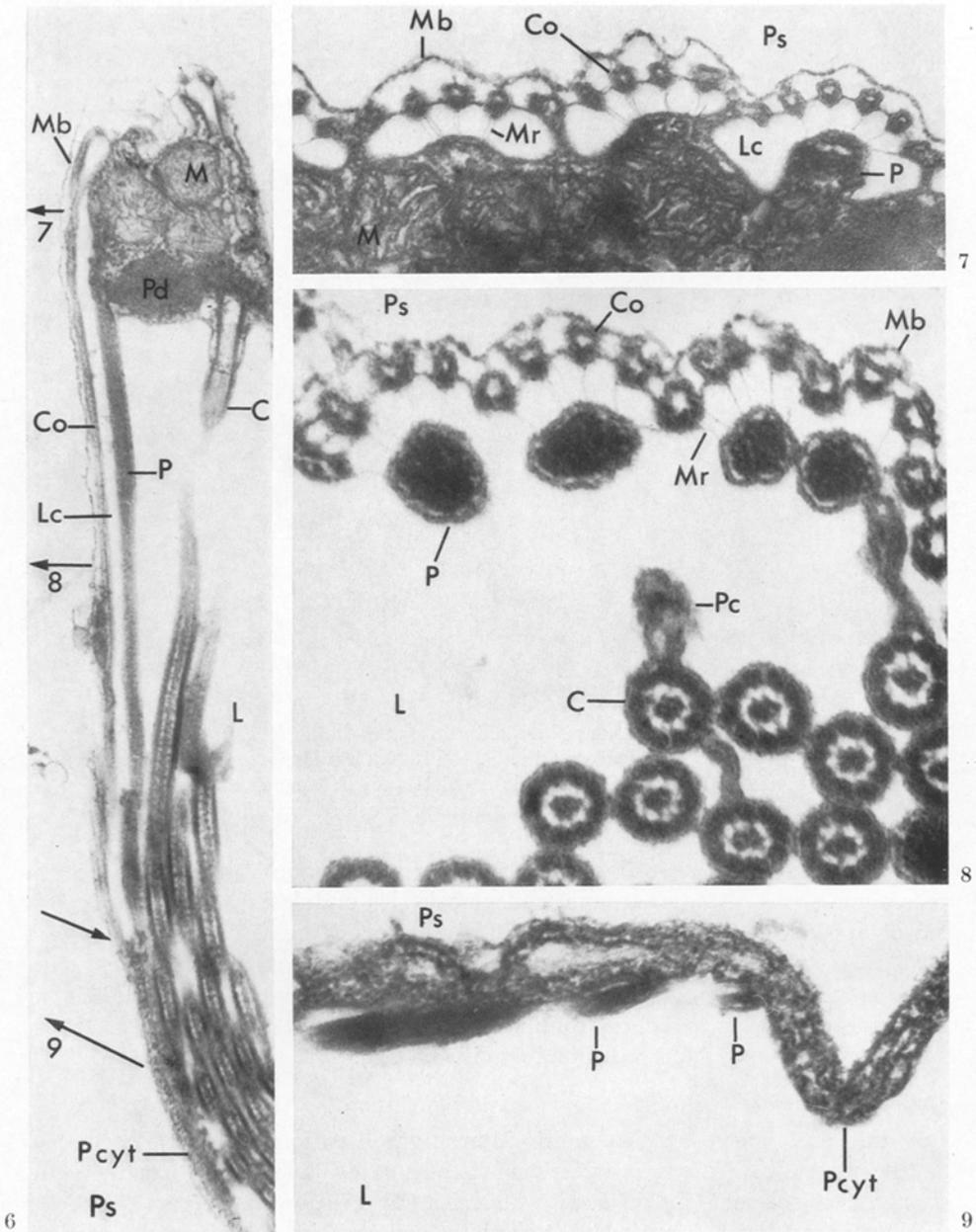


Fig. 6. Coupe longitudinale passant par l'axe d'un pilier (*P*) et d'une colonnette (*Co*). La flèche isolée indique la base de la grille-colonnettes, à laquelle succède la paroi cytoplasmique. Trois flèches indiquent les plans de coupe des photos 7 à 9. *G.* $\times 24000$. *Co* colonnette; *C* cil; *L* lumière de l'organe terminal; *Lc* lumière des cavités limitées par les membranes « rayonnantes » et une membrane intercolonnette; *M* mitochondrie; *Mb* membrane basale; *Mic* membrane intercolonnette; *Mr* « membrane » rayonnante; *P* pilier; *Pc* ponts cytoplasmiques; *Ps* pseudocoele

d) *Une membrane basale*

non structurée, ayant de 80 à 350 Å d'épaisseur, épouse vers l'extérieur la forme ondulée de la deuxième grille; elle est légèrement décollée par rapport à celle-ci. Elle semble formée d'un feutrage de fins filaments plus ou moins agglomérés suivant les endroits (Fig. 7, 8). Sa surface totale, au niveau de la grille, est de 130 à 180 μ^2 .

e) *Les membranes intercolonnettes,*

nettes et denses, de 120 à 150 Å d'épaisseur, relient entre elles les colonnettes. A fort grossissement, elles semblent formées par un feuillet unique, opaque aux électrons. Elles ne sont en contact qu'avec les feuillets externes des membranes formant les colonnettes, bien qu'étant plus épaisses que ces feuillets qu'elles doublent parfois, sur une petite distance, aux points de contact situés sur les faces des colonnettes en vis-à-vis des piliers (Fig. 3, 8, 15 B). La surface membranaire de chaque espace séparant deux colonnettes est d'environ 0,25 μ^2 , soit une surface de 50 à 70 μ^2 de membrane intercolonnette pour chaque cellule-flamme.

f) *Les «membranes» rayonnantes,*

enfin, irradient de chaque pilier, vers les colonnettes qui l'entourent, en une série de traits fins (20 à 50 Å d'épaisseur), qui sont visibles sur nos photographies de coupes transversales. Il y en a de 1 à 3 par colonnette (Fig. 4, 8). Ces membranes ne sont peut-être pas continues: les coupes longitudinales suggéreraient plutôt qu'elles sont formées de ponts transversaux très fins, situés dans chaque plan axe du pilier-colonnette (Fig. 11 par exemple). La régularité de leur présence et de leur disposition sur les coupes transversales ou légèrement obliques justifie cependant le terme de «membrane» que nous emploierons dans ce travail pour les désigner. Chacune a une surface de 0,6 à 0,7 μ^2 , soit au total plus de 200 μ^2 de membranes rayonnantes par cellule-flamme.

2. Le capuchon et les cils (Fig. 1, 2, 4—7, 10—14)

a) *La paroi du capuchon montre la naissance des structures que nous venons de décrire; elle permet ainsi souvent de les interpréter;*

— Un *pilier* a pour origine, vers le sommet de la cellule-flamme, une ondulation légère de la membrane cytoplasmique du capuchon; en s'accroissant, l'ondulation devient évagination, isolant un cylindre de cytoplasme relié au capuchon sur toute la longueur d'une génératrice avant de s'en séparer totalement. C'est au sein de ce cytoplasme qu'on observe, du sommet vers la base du capuchon, un dépôt croissant du matériel opaque qui constituera la quasi totalité du contenu du pilier isolé décrit plus haut (Fig. 2, 7, 10, 11, 14). La membrane double du pilier est donc un prolongement de la membrane cytoplasmique du capuchon.

Fig. 7. Coupe transversale de la paroi au niveau du capuchon, avec trois stades de formation du pilier. G. $\times 44000$

Fig. 8. Coupe transversale au niveau de la nasse: grille-colonnettes et grille-piliers. G. $\times 44000$

Fig. 9. Coupe oblique vers la base de l'organe terminal. A gauche, la grille-piliers est doublée par la paroi cytoplasmique; à droite (plus bas), il n'y a plus que la paroi cytoplasmique. G. $\times 44000$

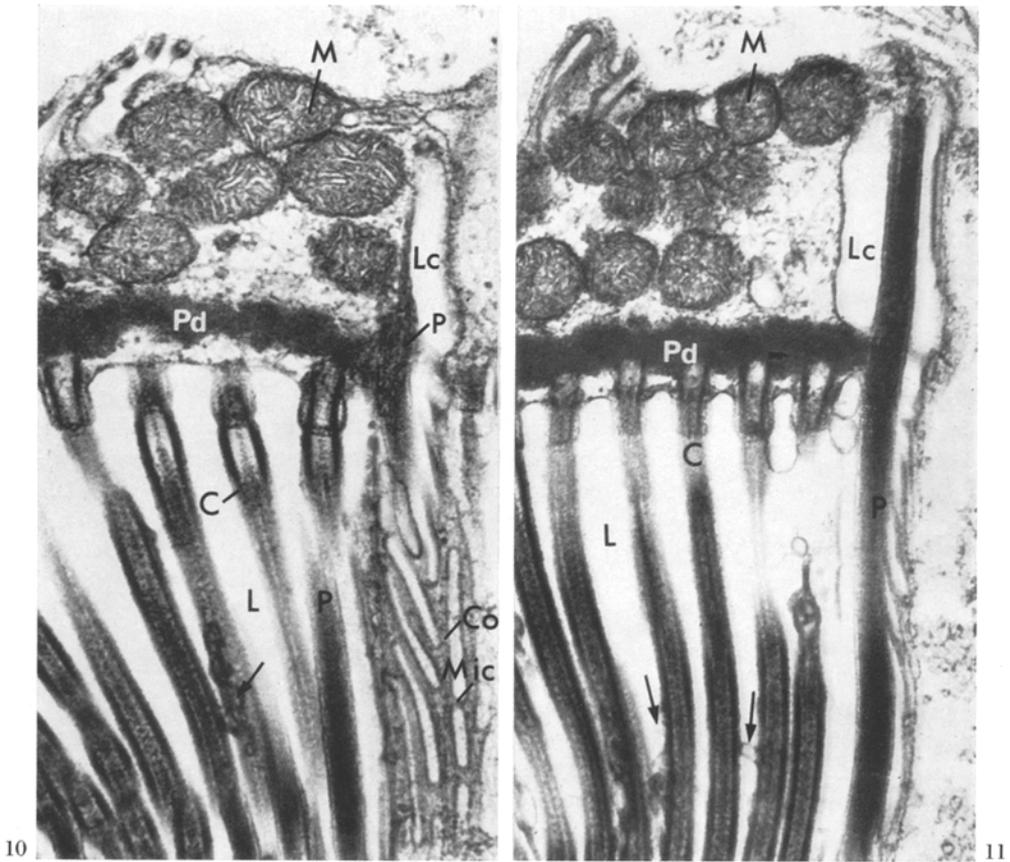


Fig. 10 et 11. Coupes séries transversales et presque verticales de l'organe terminal. L'une (Fig. 10) passe par l'axe du pilier, mais à côté du cytoplasme qui relie le pilier au capuchon; l'autre (Fig. 11) passe par ce mur cytoplasmique, mais est plus tangentielle par rapport au pilier. *Co* colonnette; *C* cil; *Lc* lumière des cavités limitées par les membranes intercolonnettes et rayonnantes; *L* lumière de l'organe terminal; *M* mitochondrie; *Mic* membrane intercolonnette; *P* pilier; *Pd* plaque dense. (Les flèches indiquent les ponts cytoplasmiques interciliaires)

— L'origine des *colonnettes* est identique (Fig. 6), bien qu'il n'y ait pas de dépôt de matériel dense à l'intérieur de celles-ci. Cette convergence est très nette en ce qui concerne les colonnettes des dépressions; elles ne s'isolent totalement du cytoplasme du capuchon que vers la base de ce dernier. Les autres s'isolent plus haut, dès le sommet de la cellule-flamme, avant même le début de la formation du pilier. *La double membrane des colonnettes est donc, comme celle des piliers, un prolongement de la membrane cytoplasmique du capuchon.*

— *Les membranes intercolonnettes* peuvent être interprétées différemment: soit comme un prolongement épaissi par du matériel dense, soit comme entièrement formées par ce matériel dense dont la nature reste à préciser.

Les «membranes» rayonnantes existent dès le sommet de l'organe terminal, dans les cavités sous-jacentes aux colonnettes les plus externes; elles relient ces

colonnettes déjà formées (et les digitations qui seront à l'origine des colonnettes qui s'isoleront plus bas) à la membrane cytoplasmique du capuchon qui plus bas s'évaginera pour donner naissance au pilier (Fig. 7). Elles ont déjà 20 à 50 Å d'épaisseur, et sont en continuité avec la seule couche externe de la membrane cellulaire du capuchon ou de ses digitations (piliers et colonnettes).

b) Le capuchon contient de nombreuses mitochondries, et une structure particulière d'insertion des cils;

— Les mitochondries, aux nombreuses crêtes, occupent l'essentiel de son volume. Le reste du cytoplasme est plus ou moins dense (ribosomes, quelques vacuoles ...). Il contient aussi une partie caractéristique, opaque aux électrons: une *plaque dense* continue, épaisse de 4 à 6000 Å, qui occupe toute sa base et en épouse la forme. Elle s'incurve vers le bas de chaque côté de la cellule-flamme, si bien que nous la retrouvons sur la plupart de nos coupes. C'est sur elle que sont insérés tous les cils de la flamme vibratile.

— Les cils ont une structure classique, semblable à celle décrite par LANSING et LAMY (1961) et SCHOLTYSECK et DANNEEL (1962) pour les cils de la couronne de Rotifères. Mais ici, outre leur lien par la plaque dense, ils sont reliés entre eux par des ponts cytoplasmiques à différents niveaux (Fig. 5, 8, 13: coupes transversales et Fig. 10 et 11: coupes longitudinales). Il y a plus de 120 cils par cellule-flamme; groupés, ils n'occupent que la moitié environ du volume de la lumière de la cellule-flamme (Fig. 1, 5, 12, 13).

3. La base de l'organe terminal et le tube capillaire (Fig. 6, 9, 12, 14)

Leur paroi cytoplasmique fine débute là où se termine la grille-colonnettes, et elle double la base de la grille-piliers: Nous distinguerons donc trois zones: (Fig. 12, 14): de la base de la grille externe à la base de la grille interne, de cette dernière à la base de l'organe terminal, enfin le tube capillaire dont le départ se situe approximativement quand la lumière devient cylindrique, et ne contient plus les cils de la flamme vibratile.

a) La grille externe

haute de 5 à 6 μ , se continue vers le bas par une paroi cytoplasmique mince (1500 à 4000 Å), épaissie aux deux endroits qui prolongent les montants cytoplasmiques latéraux; c'est là qu'on rencontre quelques mitochondries, le reste du cytoplasme de cette paroi étant assez dense (ergastoplasme plutôt dilaté, nombreux ribosomes ...) (Fig. 9, 12). Les doubles membranes limitant cette paroi, tant vers le pseudocoel que vers la lumière de la cellule-flamme, s'unissent aux doubles membranes des colonnettes (Fig. 6, 12).

b) La grille interne

descend plus bas dans la cellule-flamme; sa hauteur, à partir de la plaque dense, est de 6 à 8 μ (Fig. 12, 14); elle est donc doublée vers l'extérieur, sur les 2 à 4 μ de sa partie basse, par la paroi continue que nous venons de décrire au pied de

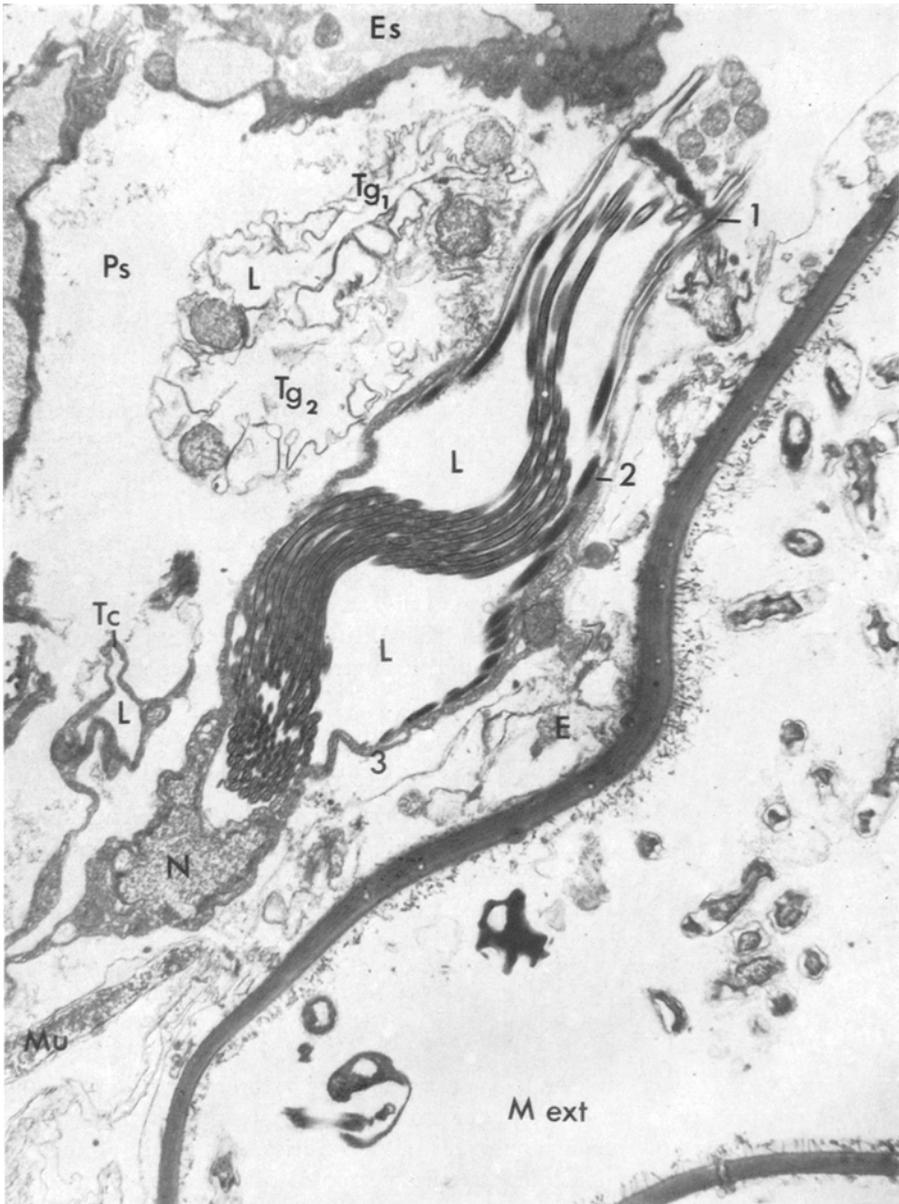


Fig. 12. Coupe transversale presque verticale de l'organe terminal, passant par le noyau ici situé entre l'ampoule terminale et le tube capillaire. G. $\times 8800$. *E* épiderme; *Es* estomac; *L* lumière de la cellule-flamme et du tube glandulaire; *Mu* muscle squelettique; *M. ext.* milieu extérieur; *N* noyau de la cellule-flamme; *Ps* pseudocoel; *Tc* tube capillaire; *Tg* paroi du tube glandulaire (*Tg*₁: paroi mince; *Tg*₂: paroi épaisse); 1 base du capuchon; 2 base de la grille colonnette et début de la paroi cytoplasmique; 3 base de la grille piliers

la grille externe (Fig. 9, 12). Elle fusionne enfin avec cette paroi dont la double membrane interne semble être en continuité avec celle des piliers.

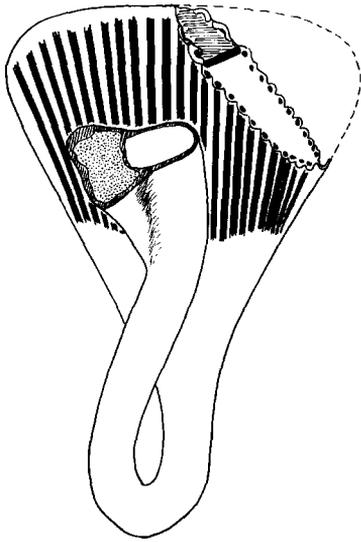


Fig. 13. Coupe oblique intéressant le capuchon, la nasse, le montant latéral et le tube capillaire qui contient le noyau de l'ensemble cellulaire à ce niveau (voir schéma). G. $\times 12000$. *Ca* capuchon; *E* épiderme; *L* lumière de la cellule-flamme; *Mu* muscle squelettique; *MI* montant latéral cytoplasmique; *N* noyau de la cellule-flamme; *Ps* pseudocoele; *Tc* paroi du tube capillaire

c) Le tube capillaire

prolonge le bas de la cellule-flamme, dont il n'est séparé par aucune limite cellulaire. Sa paroi a les mêmes caractéristiques: contenu assez dense, faible épaisseur, très peu de mitochondries; les épaissements prolongeant les montants cytoplasmiques latéraux de la cellule-flamme ont disparu. Cette paroi mince est approximativement cylindrique (Fig. 5). Le parcours de ce tube est assez rectiligne.

La cellule-flamme et le tube capillaire font donc partie d'une cellule unique³. L'emplacement du noyau est variable: de la base de l'ampoule terminale (Fig. 12) à un niveau quelconque du tube capillaire (Fig. 13). Le noyau provoque une

³ Le terme de « cellule-flamme », tel qu'il est consacré par l'usage, ne désigne donc en fait qu'une partie de la cellule: l'ampoule terminale. Nous l'emploierons désormais pour désigner la cellule entière, c'est-à-dire l'ensemble ampoule terminale et tube capillaire.

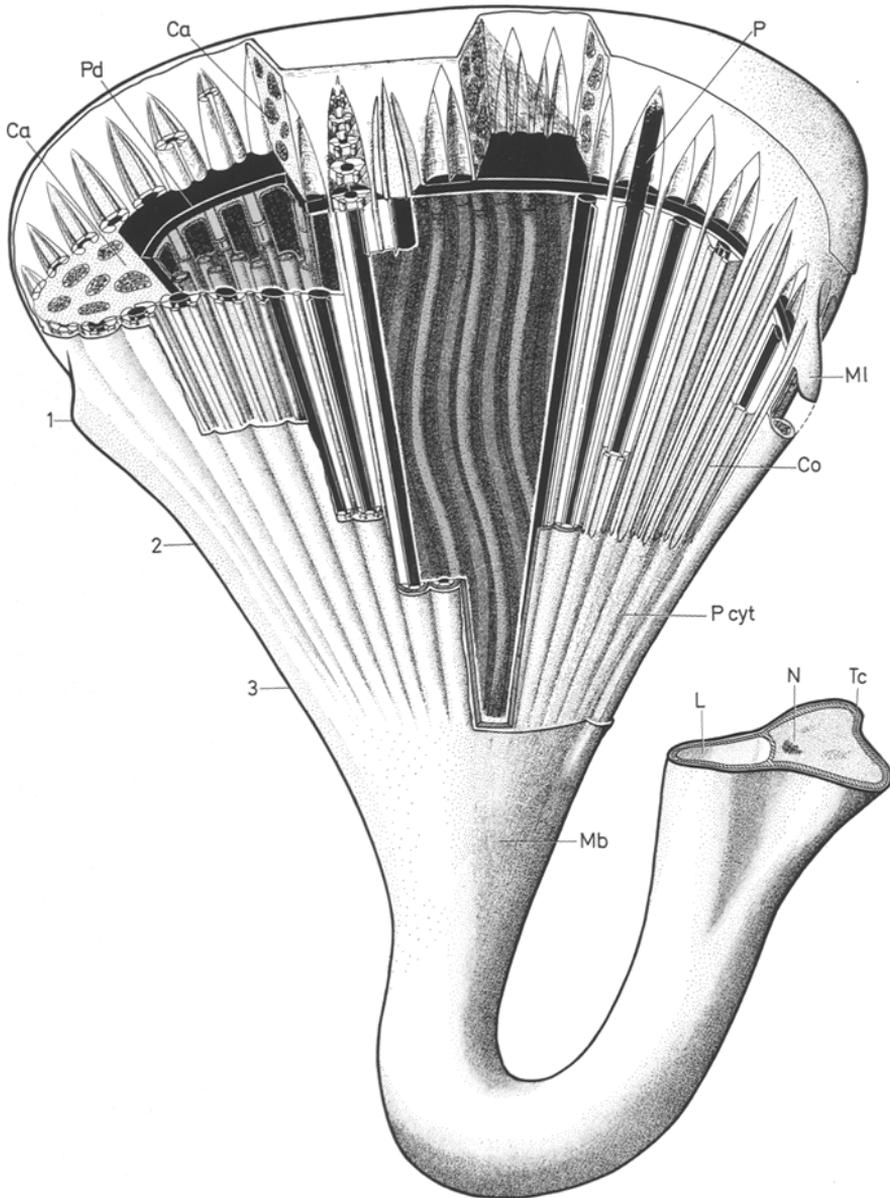


Fig. 14. Schéma de la cellule-flamme reconstituée à partir des photographies de microscopie électronique. À chaque escalier de la moitié gauche du dessin correspond la suppression d'une membrane, de l'extérieur vers l'intérieur, en allant de la gauche vers le centre de la cellule: la membrane basale (*Mb*), puis les membranes intercolonnettes et les colonnettes (à l'exception des plus internes), et enfin les «membranes» rayonnantes et piliers: la lumière de la cellule, contenant les cils de la flamme vibratile et limitée vers le haut par la plaque dense, est alors visible au centre du dessin. — Dans la moitié droite, la membrane basale (*Mb*) est supprimée: sont donc visibles; vers le bas, la partie externe de la paroi cytoplasmique (*P cyt.*), et, vers le haut, les colonnettes (*Co*) et membranes intercolonnettes; ce dernier ensemble est supprimé autour de certains piliers (*P*), qui sont alors visibles ainsi que leurs «membranes»

protubérance de la paroi cytoplasmique; sa taille est faible: 1,2 à 2 μ de longueur; son contenu est légèrement moins dense que celui de la couche cytoplasmique qui l'entoure; il contient parfois un petit nucléole.

II. Conclusion (Fig. 14, 15A)

Les membranes intercolonnettes et les membranes rayonnantes sont donc tendues sur toute la surface d'ouvertures allongées, creusées dans la paroi de la cellule-flamme: ouvertures entre les colonnettes d'une part, entre les colonnettes et les piliers d'autre part.

Les cavités polyédriques limitées par une membrane intercolonnette, deux portions de colonnettes, deux «membranes» rayonnantes et une portion de pilier, ne communiquent ni entre elles, ni avec la lumière principale de la cellule-flamme.

Tout liquide traversant la paroi de la cellule-flamme au niveau de la zone grillagée devra donc obligatoirement traverser dans l'ordre:

la membrane basale,

la membrane intercolonnette,

une ou généralement plusieurs «membranes» rayonnantes.

Discussion

On peut considérer comme acquis le fait que les ampoules terminales des protonéphridies de Rotifère sont le lieu de filtration du liquide pseudocoelomique, donnant ainsi naissance à la préurine qui circulera dans le tube néphridien.

BRAUN et Coll. (1966) prouvèrent en effet le passage d'un liquide à partir du pseudocoelome jusqu'à la lumière interne de ce tube qui débouche dans le milieu extérieur par la vessie: de l'inuline marquée au C 14 et injectée dans le pseudocoelome se retrouve dans l'urine prélevée au niveau de la vessie.

D'autre part, PONTIN (1964), montra que l'essentiel au moins de ce passage se fait au niveau des parois des ampoules terminales: quand la cavité générale d'un Rotifère (*Asplanchna*) contient des bactéries, celles-ci sont attirées par ces parois et plaquées contre elles.

Restent donc à déterminer les facteurs entraînant la filtration, et la nature de cette filtration (Fig. 15A—C).

rayonnantes. Ce nouvel ensemble est à son tour coupé au-dessous de la plaque dense (*Pd*), que l'on peut ainsi suivre sur presque toute sa longueur. Au-dessus de la plaque dense (*Pd*) le capuchon (*Ca*) contient de nombreuses mitochondries; il descend assez bas de chaque côté, où il se prolonge par chacun des deux montants latéraux (*Ml*). Des coupes horizontales à différents niveaux, montrent comment la membrane externe du capuchon se prolonge en colonnettes et piliers. Cette membrane est vue de l'intérieur là où le contenu du capuchon a été enlevé (entre deux plans verticaux au centre, et, à gauche, un plan vertical et un horizontal). A gauche toujours, une partie de la plaque dense a été supprimée afin de montrer l'insertion des cils sur celle-ci. La base de la cellule, enveloppée dans la membrane basale (*Mb*), est formée par le tube capillaire (*Tc*); celui-ci est coupé horizontalement au niveau où il porte le noyau (*N*) de l'ensemble cellulaire. 1 fin de la plaque dense (*Pd*), base du capuchon (*Ca*), et de chaque côté, départ du montant latéral (*Ml*). 2 base de la grille formée par les colonnettes (*Co*), et qui se prolonge vers le bas par la paroi cytoplasmique (*P cyt*). 3 base de la grille formée par les piliers (*P*). *L* lumière de la cellule-flamme

1. Facteurs provoquant la filtration

Interprétant les observations de PONTIN (1964) que nous venons de rappeler, BRAUN et Coll. (1966) disent qu'un tel processus est dû à une différence de pressions hydrostatiques entre la cavité pseudocoelomique et la lumière protonéphridienne, ceci quelle que soit la nature de la filtration au niveau des parois des organes terminaux.

Comment cette différence de pressions est-elle créée ?

PONTIN (1964, 1966) a montré, sur le g. *Asplanchna*, que le rythme de l'expulsion d'urine par la vessie est proportionnel à celui du battement de la flamme vibratile. BRAUN et Coll. (1966) en déduisent: ... « bien que l'activité de la flamme vibratile apparaisse être liée au processus de filtration, on ne peut encore trancher pour savoir si ce lien est ce qui anime ou ce qui est animé par le fluide filtré à travers la paroi de l'organe terminal ».

Les ultrastructures décrites chez *Notommata* apportent quelques données pour ce débat qui concerne les différences de pression rendant compte de la filtration:

a) Les classiques (9 + 1) paires de filaments des cils, que l'on retrouve ici, sont de plus en plus considérées comme des éléments contractiles responsables des mouvements ciliaires (PROSSER, 1961; DE ROBERTIS et Coll., 1965).

b) Les nombreuses et denses mitochondries du capuchon peuvent fournir l'énergie nécessaire à ces mouvements ciliaires.

c) La plaque dense unique et les ponts cytoplasmiques interciliaires expliquent la coordination parfaite des battements ciliaires.

d) Le mouvement du cil est actuellement considéré comme automatique (PROSSER, 1961), la base du cil jouant le rôle d'un pace-maker entraînant la contraction des filaments ciliaires (DE ROBERTIS et Coll., 1965, et SLEIGH, 1966). Ceci explique les battements rythmiques de la flamme vibratile. Les problèmes soulevés par le contrôle de ce rythme seront envisagés par ailleurs.

A cause de leur spontanéité, *les mouvements de la flamme vibratile semblent donc en grande partie responsables de l'existence d'une différence de pression entre le pseudocoel et la lumière d'une cellule-flamme.*

Les contractions rythmiques de la vessie soulèvent le même type de problème: ou bien elles ne sont provoquées que par les remplissages successifs de la vessie, ou bien elles sont autonomes (pace-maker), créant alors à l'intérieur de la protonéphridie une pression négative permettant la circulation de la préurine et aidant ainsi à sa filtration au niveau des organes terminaux.

De nombreux autres facteurs peuvent intervenir pour expliquer cette différence de pression; certaines particularités ultra-structurales nous ont permis d'insister sur le rôle de la flamme vibratile et de démontrer ainsi le mécanisme de son intervention:

Des « pace-maker » (les bases des cils, réunies par la plaque dense) provoquent la contraction d'un système contractile (la flamme vibratile, formée des cils réunis par des ponts cytoplasmiques) qui, par des mouvements rythmiques, interviendrait dans la création de la différence de pression de part et d'autre du système de filtration.

Ce schéma est très général. Il nous rappelle par exemple les mouvements rythmiques du cœur de Vertébré, déclenchés par l'activité spontanée du tissu nodal,

et dont une des conséquences est aussi la création d'une différence de pression de part et d'autre des membranes filtrantes du glomérule rénal.

Mais c'est surtout pour la nature de cette filtration que nous allons comparer la cellule-flamme de Rotifère au glomérule Malpighien de Vertébré.

2. Nature de la filtration (Fig. 15 A, B)

PROSSER (1961, p. 50) remarque que le liquide extrait initialement du fluide du corps, soit par les néphrostomes des néphridies chez les Annélides, soit par le coelomosac et le labyrinthe chez l'Ecrevisse, soit par les tubes de Malpighi, chez les Insectes, ou le glomérule du rein chez les Vertébrés, est isosmotique par rapport à ce fluide.

BRAUN et Coll. (1966) supposent la même équivalence, sans la prouver, chez le Rotifère *Asplanchna*.

Les ultrastructures décrites chez *Notommata* ne nous renseignent sur ce problème que par comparaison avec les Vertébrés où les études, tant morphologiques que physiologiques, sont le plus poussées.

a) Chez les Vertébrés (Fig. 15C)

La Fig. 15C schématise le trajet du liquide: pour aller de la lumière des capillaires à celle du tube néphridien, ce liquide doit traverser dans l'ordre: la paroi fenestrée du capillaire sanguin, la membrane basale, et la paroi des podocytes.

α) *Les capillaires sanguins*. C'est RHODIN (1962) qui montra l'existence d'un diaphragme sur toute la surface des fenêtres, jusqu'ici considérées comme des ouvertures. ELFVIN (1965) en précisa la structure: 500 Å de diamètre, 20 à 30 Å d'épaisseur, continuité avec la seule couche externe de la double membrane des cellules endothéliales; ces velums, entièrement constitués de protéines et de polysaccharides, correspondraient aux surfaces spécialisées qui, d'après PAPPENHEIMER (1953) faciliteraient le passage de l'eau et de certaines substances hydrosolubles. En outre, au centre de ces fenêtres, une structure en anneau (de 200 Å de diamètre externe et de 50 à 100 Å de diamètre interne) s'identifierait aux pores (60—90 Å) suggérés par PAPPENHEIMER (1953) pour expliquer ensuite la perméabilité aux grandes molécules non liposolubles.

β) *Les podocytes*. C'est aussi RHODIN (1962) qui rapprocha la structure des membranes joignant les pédicelles des podocytes de Vertébrés («slitpores») à la conformation des fenêtres des capillaires que nous venons de décrire. L'existence de ces membranes phréniques a été montrée par PEASE et YAMADA, indépendamment, dès 1955; puis plus tard par divers auteurs. Ce diaphragme a aussi une épaisseur d'environ 50 Å et possède un épaissement médian, linéaire, appelé «fine intermediate line» par FARQUHAR et Coll. (1961). et dont la coupe transversale rappelle celle de la structure en anneau de fenêtres des capillaires sanguins (RHODIN, 1962).

TRUMP et BENDITT (1962) ne considèrent pas que l'existence d'une membrane continue entre les pédicelles de podocytes soit encore prouvée. Nous reviendrons plus loin sur leurs suggestions.

γ) *La membrane basale*. Toujours dans le glomérule des Vertébrés, la membrane basale, située entre les deux types membranaires dont nous venons de

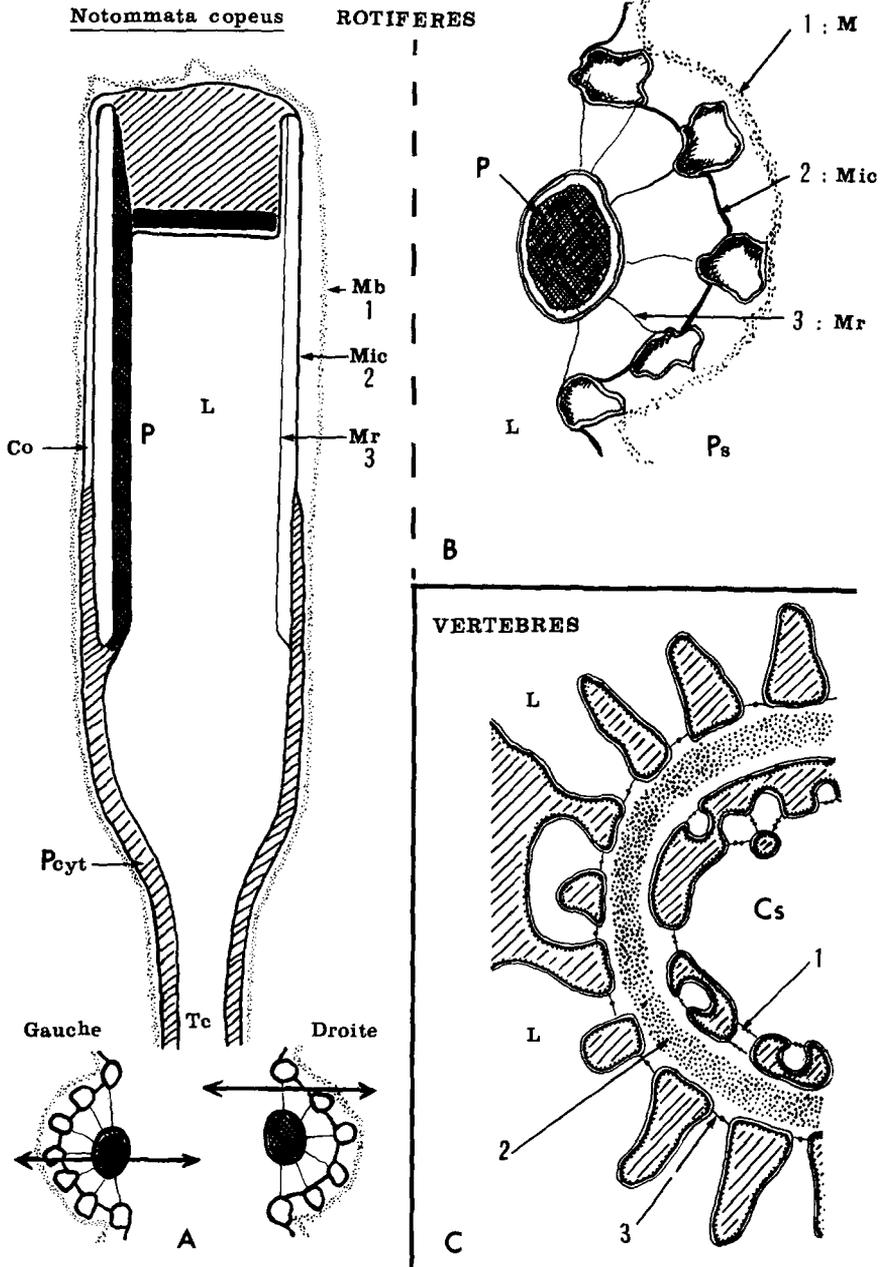


Fig. 15 A—C. Comparaison entre les membranes filtrantes du glomérule Malpighien du rein de Vertébré et de la cellule-flamme de Rotifère. — A. Rotifère: schéma d'une coupe longitudinale de cellule-flamme, passant par l'axe d'un pilier (*P*) et d'une colonnette (*Co*) à gauche (système de soutien), et par les membranes filtrantes à droite (système de filtration). Le liquide pseudocoelomique doit donc traverser, dans l'ordre: 1 la membrane basale (*Mb*); 2 la membrane intercolonne (*Mic*); 3 la (ou les) « membrane(s) » rayonnante(s) (*Mr*). — B. Rotifère: schéma détaillant la structure de la paroi filtrante de la cellule-flamme (en coupe

parler, a été décrite par de nombreux auteurs depuis 1955 (RHODIN, 1955; YAMADA, 1955, etc.) qui y reconnaissent trois zones: la *lamina densa*, centrale, est entourée de deux couches moins denses, les *laminae rarae interna et externa*. KURTZ (1961) affirme que: «cette *lamina densa* est probablement l'ultrafiltre du glomérule et est pour une grande part responsable du caractère de l'ultrafiltrat gloméculaire, tant normal que pathologique». De nombreux travaux ont confirmé cette affirmation (SPIRO, 1967 a, et déjà en 1959, il avait noté que «la base structurale de la protéinurie est une altération de la membrane basale»).

On retrouve deux sortes de composants dans cette membrane basale:

1. des composants fibrillaires, de 30 à 40 Å, surtout visibles après coloration à l'acide phosphotungstique (SPIRO, 1959; KURTZ, 1961; YAMADA, 1955).

2. une matière amorphe, toujours visible, dense aux électrons. C'est surtout son épaissement que l'on note dans les cas pathologiques ou lors du vieillissement (KURTZ, 1964; MOVAT et Coll., 1962 etc. ...).

La composition chimique de la membrane basale gloméculaire a été précisée par plusieurs travaux récents. SPIRO (1967 a et b) détaille les proportions des composants de la partie carbohydratée (di- et polysaccharides) et de la partie peptidique (haute teneur en glycine, importantes fractions d'hydroxyproline, hydroxylysine ...); cette dernière suggère donc la présence de collagène, ce que semble cependant contredire l'absence de périodicité, la proportion de carbohydrates et des différences relatives aux acides aminés (SPIRO, 1967 a). Pour MISRA et BERMAN (1966), 60% de l'azote provient du collagène et le reste de la fraction protéique des glycoprotéines.

b) Chez les Rotifères (Fig. 14, 15 A, B)

α) Les «membranes» rayonnantes. Si elles sont continues, elles rappellent par leur épaisseur et leur surface les diaphragmes des slitpores de podocytes (ainsi que les fenêtres, qui seraient très allongées ici, des capillaires sanguins glomérulaires); bien qu'elles ne possèdent pas les épaissements en ligne ou en anneau de ces diaphragmes, elles pourraient jouer un rôle presque semblable au cours de la filtration-rappelons que ce rôle est mal connu chez les Vertébrés, où il est négligé par rapport à celui de la membrane basale.

Si ces membranes sont faites de fins ponts juxtaposés, elles n'ont qu'un rôle purement mécanique, de jonction entre piliers et colonnettes, et n'interviennent pas au cours de la filtration. Cette interprétation physiologique semble de toute façon assez probable.

β) Les membranes intercolonnettes. TRUMP et BENDITT (1962) ont aussi appelé «desmosome spécialisé» les membranes des slitpores (entre les digitations d'une même cellule) qui sont sûrement, elles, des membranes continues. Nous serions donc en présence, entre les colonnettes, d'un phénomène semblable: un desmosome

transversale). *L* lumière de la cellule-flamme; *P* pilier; *Ps* pseudocoel; *P cyt* paroi cytoplasmique de la cellule-flamme; *Tc* tube capillaire. — C. Vertébré: schéma des parois séparant la lumière du capillaire sanguin (*Cs*) de celle du tube néphridien (*L*), en coupe transversale. Le plasma doit donc traverser dans l'ordre: 1 le ou les diaphragmes des fenêtres des capillaires sanguins (schématisés ici d'après ELFVIN, 1965); 2 la membrane basale; 3 la membrane des slitpores

spécialisé en une membrane filtrante. Nous avons décrit sa structure en feuillet simple légèrement épaissi par du matériel dense aux électrons: pour préciser son rôle, il nous faudrait connaître sa nature chimique. Nous devons nous limiter à des suppositions: une comparaison avec les propositions d'ELFVIN (1965) sur les diaphragmes des capillaires glomérulaires nous amènerait à suggérer la nature polysaccharidique de cette membrane ...

γ) *La membrane basale*. Elle diffère beaucoup de celle des Vertébrés: elle est plus mince et semble être de nature uniquement fibrillaire, en un réseau plus dense que celui des Vertébrés. Il serait évidemment fondamental de connaître sa nature chimique; même s'il est impossible d'espérer actuellement l'isoler comme ceci a été fait pour les glomérules du rein de Vertébré, il doit être possible d'éluider dès maintenant certains points, par l'action de la collagénase par exemple.

c) Conclusions

Malgré l'imprécision de nos connaissances, certaines remarques sont néanmoins possibles. Nous constatons une nette convergence entre la nature des membranes filtrantes d'une cellule-flamme de Rotifère et d'un glomérule Malpighien de Vertébré: d'une part une membrane basale, d'autre part ce que nous avons appelé des desmosomes spécialisés en membranes simples joignant des digitations d'une même cellule.

Nous ignorons encore, chez les Vertébrés, quels sont les éléments qui, dans ces membranes, contrôlent la filtration; ils semblent surtout concentrés dans chaque membrane basale, dont on connaît à présent la composition chimique.

La membrane basale de *Notommata* a, nous l'avons vu, un aspect bien différent. Nous pouvons certes supposer que l'épaississement dense des membranes inter-colonnettes (ou la totalité de ces membranes) joue un rôle proche de celui de la partie amorphe de la membrane basale glomérulaire; nous pourrions alors nous attendre à une similitude presque totale des phénomènes de filtration à ce niveau chez Vertébrés et Rotifères! Mais ceci reste très hypothétique.

Nous venons donc de voir qu'une étude comparative des ultrastructures des membranes filtrantes de la cellule-flamme de Rotifère et du glomérule rénal de Vertébré ne suffit pas pour discerner le rôle de ces membranes. Des analyses chimiques détaillant leur composition (histochimiques du moins chez les Rotifères), ainsi que d'autres observations (autoradiographie par exemple) sont pour cela nécessaires.

Bibliographie

- BEAUCHAMP, P. DE: Classe des Rotifères. In: *Traité de zoologie, anatomie, systématique, biologie* (P. P. GRASSE). IV. Nématelminthes-Kinorhynques, fasc. 3, vol. 4, p. 1225—1379 (1965).
- BRAUN, G., G. KUMMEL, and J. A. MANGOS: Studies on the ultrastructure and function of a primitive excretory organ the protonephridium of the Rotifer *Asplanchna priodonta* Pflügers Arch. ges. Physiol. **289**, 141—154 (1966).
- CLEMENT, P., et BRANDENBURG: Microscopie électronique et phylogénèse des Rotifères. Etude comparée des cyrtocytes (cellules-flammes et solénocytes). En préparation (1968).
- DICKSON, M. R.: A spiral sleeve in Rotifer cilia tips. *J. Cell Sci.* **1**, 4—9 (1966).
- , and E. H. MERCER: Fine structure of the pedial gland of *Philodina roseola* (Rotifera). *J. Microscopie* **5**, 81—90 (1966).

- EAKIN, R. M., and J. A. WESTPHALL: Ultrastructure of the eye of the Rotifer *Asplanchna brightwelli*. J. Ultrastruct. Res. **12**, 46—62 (1964).
- ELFVIN, L. G.: The ultrastructure of the capillary fenestrae in the adrenal medulla of the Rat. J. Ultrastruct. Res. **12**, 687—704 (1965).
- FARQUHAR, M. G., S. L. WISSIG, and G. E. PALADE: Glomerular permeability. I. Ferritin transfer across the normal glomerular capillary wall. J. exp. Med. **113**, 47—66 (1961).
- KOEHLER, J. K.: A fine structure study of the rotifer integument. J. Ultrastruct. Res. **12**, 113—134 (1964).
- An electron microscope study of the dimorphic spermatozoa of *Asplanchna* (Rotifera). I. The adult testis. Z. Zellforsch. **67**, 57—76 (1965).
- Some comparative fine structure relationships of the Rotifer integument. J. exp. Zool. **162**, 231—243 (1966).
- KURTZ, S. M.: The fine structure of the lamina densa. Lab. Invest. **10**, 1189—1208 (1961).
- The kidney. In: Electron microscopic anatomy, ed. by S. M. KURTZ, vol. 10, p. 239—264. New York and London: Academic Press 1964.
- LANSING, A. I.: Age variations in cortical membranes of rotifers. J. Cell Biol. **23**, 403—421 (1964).
- , and F. LAMY: Fine structure of the cilia of Rotifers. J. biophys. biochem. Cytol. **9**, 498—518 (1961a).
- MATTERN, C. F. T., and W. A. DANIEL: The stomach cell of Rotifer. Electron microscope observations of the terminal web. J. Cell Biol. **29**, 547—551 (1966a).
- — The flame cell of Rotifer. Electron microscope observations of supporting rootlet structures. J. Cell Biol. **29**, 552—554 (1966b).
- MISRA, R. P., and L. B. BERMAN: Studies on glomerular basement membrane. I. Isolation and chemical analysis of normal glomerular membrane. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **122**, 705—710 (1966).
- MOVAT, H. Z., J. W. STEINER, and D. HUHN: The fine structure of the glomerulus in acute glomerulonephritis. Lab. Invest. **12**, 117—135 (1962).
- PALADE, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. J. exp. Med. **95**, 285—298 (1952).
- PAPPENHEIMER, J. R.: Passage of molecular through capillary walls. Physiol. Rev. **33**, 387—423 (1953).
- PEASE, D. C.: Electron microscopy of vascular bed of the kidney cortex. Anat. Rec. **121**, 701—721 (1955).
- PONTIN, R. M.: A comparative account of the protonephridia of *Asplanchna* (rotifera) with special reference to the flame bulbs. Proc. zool. Soc. Lond. **142**, 511—525 (1964).
- The osmoregulatory function of the vibratile flames and the contractile vesicle of *Asplanchna* (Rotifera). Comp. Biochem. Physiol. **17**, 1111—1126 (1966).
- POURRIOT, R.: Influence du rythme nyctéméral sur le cycle sexuel de quelques Rotifères. C. R. Acad. Sci. (Paris) **256**, 5216—5219 (1963).
- Recherches sur l'écologie des Rotifères. Vie et Milieu, Suppl. **21**, 224 p. (1965a).
- Sur le déterminisme du mode de reproduction chez les Rotifères. Schweiz. Z. Hydrologie **27**, 76—87 (1965b).
- PROSSER, C. L.: Comparative animal physiology. II. Water osmotic balance (C. L. PROSSER and F. A. BROWN jr.), second ed., p. 6—56. Philadelphia and London: W. B. Saunders 1961.
- REMANE, A.: Rotatoria. In: Dr. H. G. Bronn's Klassen und Ordnungen des Tier-Reichs, 4 (Vermes), 2 (Aschelminthes), vol. 1 (Rotatorien, Gastrotrichen und Kinorhynchen), p. 289—448 (1929—1933).
- RHODIN, J. A. G.: The diaphragm of capillary endothelial fenestrations. J. Ultrastruct. Res. **6**, 171—185 (1962).
- ROBERTS, E. D. P. DE, W. W. NOWINSKI, and F. A. SAEZ: Cell Biology. Mechanical activity and cell motion. Fourth ed. of general cytology, vol. **21**, p. 377—404. Philadelphia and London: W. B. Saunders Co. 1965.
- SCHOLTYSECK, E., u. R. DANEEL: Die Feinstruktur des Wimperapparates von *Brachionus urceolaris* (Rotatoria). Protoplasma (Wien) **56**, 99—108 (1962).
- SLEIGH, M. A.: The coordination and control of cilia. Nervous and hormonal mechanisms of integration. XX. Symposium of Exp. Biol., p. 11—31. St Andrew's: Cambridge University Press 1966.

- SPIRO, D.: The ultrastructural basis of proteinuria in man. Electron microscopic studies in renal specimens from patients with lipid nephrosis, amyloidosis, and subacute and chronic glomerulonephritis. *Amer. J. Path.* **35**, 47—73 (1959).
- SPIRO, R. G.: Studies on the renal glomerular basement membrane. Preparation and chemical composition. *J. biol. Chem.* **242**, 1915—1922 (1967a).
- Studies on the renal glomerular basement membrane. Nature of the carbohydrate units and their attachments to the peptide portion. *J. biol. Chem.* **242**, 1923—1932 (1967b).
- TRUMP, B. F., and E. P. BENDITT: Electron microscopic studies of human renal disease observations of normal visceral glomerular epithelium and its modifications in disease. *Lab. Invest.* **11**, 753—781 (1962).
- YAMADA, E.: The fine structure of the renal glomerulus of the mouse. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 551—566 (1955).

Dr. PIERRE CLEMENT
Service d'Histologie et de Biologie tissulaire
et Centre de Microscopie électronique appliquée
à la Biologie, Faculté des Sciences
Lyon, France