

## VITELLOGÉNÈSE ET FORMATION CUTICULAIRE CHEZ L'ŒUF D'*ORNITHODORUS MOUBATA* MURRAY. (IXODOIDEA : ARGASIDAE) ÉTUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

A. AESCHLIMANN<sup>1</sup> et H. HECKER<sup>2</sup>.

*Institut Tropical Suisse, Socinstrasse 57, 4000 Bâle.*

### *Introduction.*

Dans le cadre d'un travail sur la reproduction de la tique *Ornithodoros moubata*, nous avons eu l'occasion d'étudier l'ultrastructure des ovocytes en développement. La formation du vitellus a été, ces dernières années, le centre de la curiosité de nombreux chercheurs. On considère aujourd'hui le problème résolu chez les Insectes : les protéines du vitellus, présentes dans l'hémolymphe, pénètrent dans l'œuf par micropinocytose (Litt. chez TELFER, 1965). Chez ces Arthropodes, le vitellus se forme donc à partir de facteurs exogènes. Par contre, chez d'autres animaux, (Tuniciers : KESSEL, 1966 a, KESSEL et KEMP, 1962 ; Echinodermes : KESSEL, 1966 b et 1968 ; Poissons : KORFSMEIER, 1966), on soupçonne aujourd'hui que la formation d'une partie des protéines vitellines a lieu à l'intérieur même de l'ovocyte. Plusieurs organites de la cellule y prennent part et l'on parle de synthèse endogène. Cette possibilité n'exclut cependant pas l'arrivée à l'œuf, chez ces mêmes animaux, de protéines extracellulaires. L'apparition du vitellus est alors tributaire d'au moins deux sources, une endogène et une exogène. Il apparaît que cela soit également le cas pour l'Arthropode *Limulus polyphemus* (DUMONT & ANDERSON, 1967).

Les Ixodoïdes n'ont fait encore l'objet d'aucune étude à ce sujet. Seules quelques observations éparses existent. Ainsi LEES et BEAMENT (1948) ont montré que les enveloppes de l'œuf d'*O. moubata* sont perméables à diverses substances. Nous-

1. Ce travail a été réalisé en partie grâce à l'appui financier de la Lalor Foundation, Wilmington, Delaware, USA.

2. Nous remercions M<sup>lles</sup> M. J. BURCKHARDT, R. M. RYHINER et S. STOLLER pour leur précieuse collaboration technique.

mêmes (AESCHLIMANN et HECKER, 1967), avons admis que des protéines pénétraient par micropinocytose dans les ovocytes de cette même espèce de tique.

Le présent travail est un apport d'observations nouvelles qui font suite à notre étude préliminaire de 1967. Il comprend une discussion envisageant les modes possibles de la formation du vitellus chez *O. moubata*.

Rappelons brièvement que la vitellogénèse chez les tiques ne se déclenche qu'à

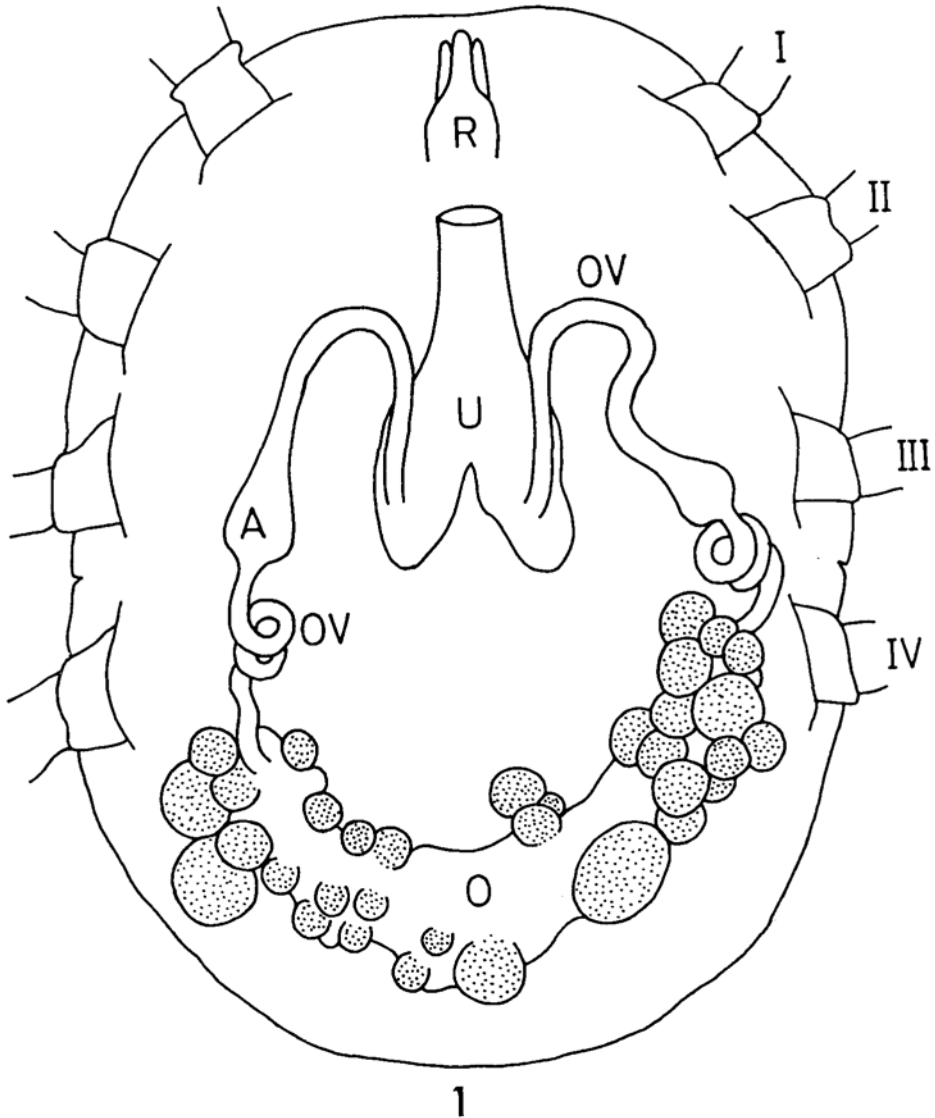


FIG. 1 : Schéma montrant la position de l'appareil génital ♀ dans le corps d'*O. moubata*. U : utérus ; OV : oviducte ; A : ampoule ; O : ovaire avec ovocytes à différents stades de leur développement ; R : rostre ; I, II, III, IV : pattes.

la suite d'un repas de sang. Elle est activée par la copulation (AESCHLIMANN, 1968). Aux conditions de température et d'humidité favorables (27° et 80 %), les femelles fécondées d'*O. moubata* pondent leurs premiers œufs 10 jours après s'être gorgées.

Il est aisé de disséquer les tiques afin d'examiner leurs organes génitaux. L'appareil génital est orienté d'arrière en avant. Chez la femelle, il se compose d'un utérus puissant, de deux longs oviductes et d'un ovaire en fer à cheval logé dans l'abdomen (Fig. 1-3). L'ouverture génitale se trouve à l'avant du corps, à la hauteur de la première paire de pattes. Les ovocytes des femelles à jeun et vierges sont blanchâtres et font légèrement saillie à la surface de l'ovaire (Fig. 2 et 4). Les ovocytes des femelles nourries prennent rapidement une teinte brunâtre. Leur taille augmente ; ils se détachent nettement à la surface de l'ovaire, comme des grains de raisin (Fig. 3 et 5). Une coupe histologique montre les grains de vitellus dont ils sont chargés. L'ovocyte n'est rattaché au tissu ovarien sous-jacent que par un court funicule. A la périphérie de l'œuf, situé à la hauteur du funicule, on découvre le noyau (Fig. 5). La position des ovocytes à la surface de l'ovaire favorise un étroit contact avec l'hémolymphe. Aucune couche de cellules folliculaires n'isole les œufs du milieu ambiant. Une *lamina basilaris* enferme l'ovaire entier et épouse étroitement le contour des œufs. Elle n'est pas un obstacle à la pénétration de substances nutritives (RAMAMURTY, 1964).

#### Méthodes.

Pour la dissection des tiques, nous renvoyons le lecteur au livre de GEIGY & HERBIG, 1955. Pour l'observation en microscopie optique, les ovaires ont été fixés dans les mélanges de Bouin-Dubosq, Carnoy et Lieson. Après déshydratation et trois passages dans de l'alcool butylique, on a procédé à l'inclusion dans de la paraffine (60°). Colorations : Haemalun/Eosine, Feulgen, PAS.

Pour la microscopie électronique, on a procédé aux fixations suivantes :

1) Dissection des ovaires et préfixation dans une solution froide (0° — 4° C) d'aldéhyde glutarique à 2,5 %, en tampon phosphate de pH 7,2. Laver l'aldéhyde

FIG. 2 : Ovaire d'*O. moubata* à jeun. U : utérus ; Ov : oviducte ; O : jeunes ovocytes sans vitellus 36 ×.

FIG. 3 : Ovaire d'*O. moubata* gorgé depuis 7 jours. U : utérus ; Ov : oviducte ; O : ovocytes avec vitellus. 36 ×.

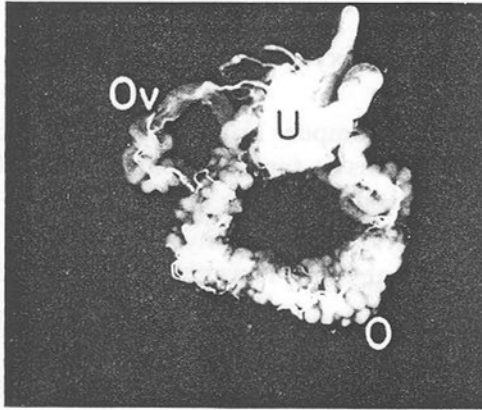
FIG. 4 : Coupe d'un ovaire d'*O. moubata* à jeun. O : ovocyte sans vitellus. 50 ×.

FIG. 5 : Coupe d'un ovaire d'*O. moubata* nourri depuis 7 jours. O : ovocyte avec grains de vitellus. F : funicule. Remarquer le noyau de l'ovocyte près du funicule. 50 ×.

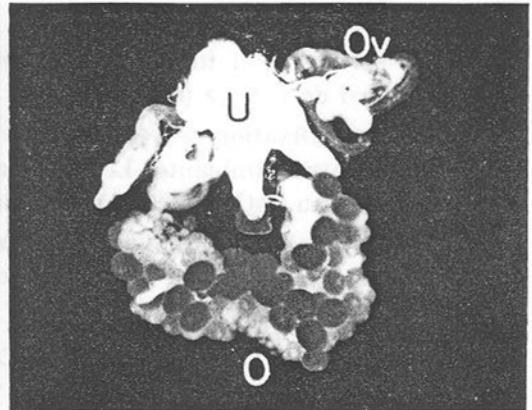
FIG. 6 : Photographie d'un ovocyte de femelle à jeun. N : noyau avec nucléole ; C : cytoplasme avec mitochondries périphériques (M) ; V : vésicules de l'ergastoplasme ; S : symbiotes ; LB : lamina basilaris. 4 500 ×.

FIG. 7 : Noyau (N) d'un jeune ovocyte. MN : membrane nucléaire ; → : concentration d'ARN dans le caryoplasme. }→ : ARN dans le cytoplasme ayant passé par les pores des membranes nucléaires. 18 000 ×.

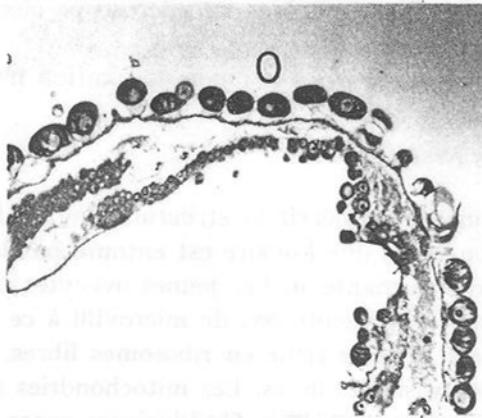
FIG. 8 : Même légende que pour la fig. 7. P : pore du noyau. 61 500 ×.



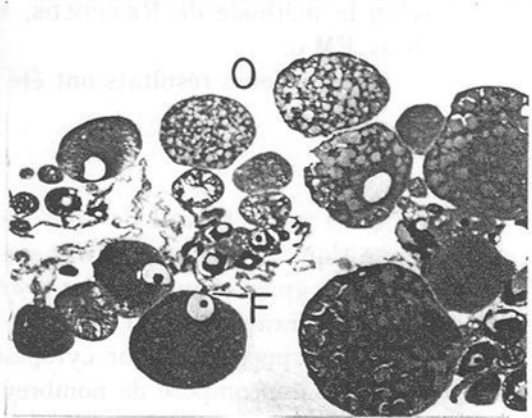
2



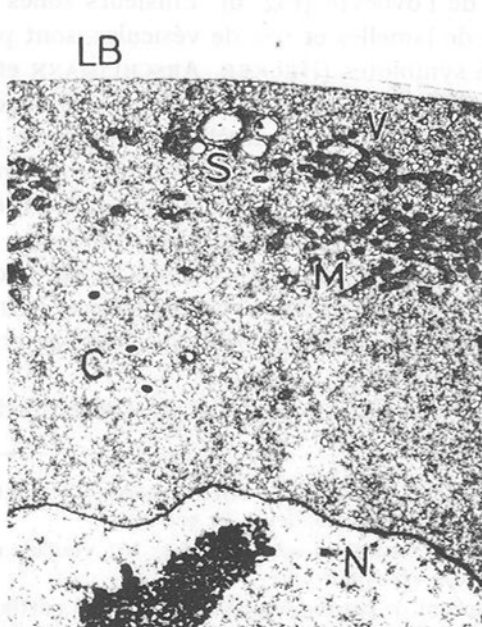
3



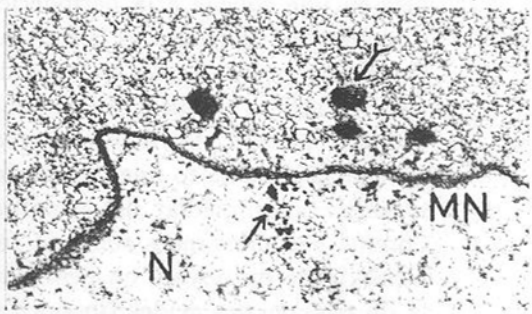
4



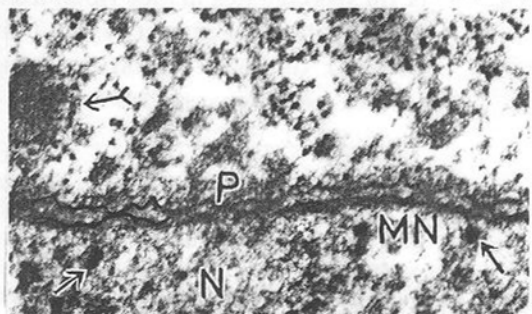
5



6



7



8

dans le tampon froid. Postfixation au tétraoxyde d'osmium à 1 %, en tampon véronal de pH 7,2 (0° — 4° C).

2) Préfixation à l'acroléine 10 %, en tampon Na-cacodylate de pH 7,2, à température ambiante. Laver l'acroléine dans le tampon froid (0° — 4° C). Postfixation au OsO<sub>4</sub> à 2 %, en tampon Na-cacodylate pH 7,2 (0° — 4° C).

3) Dissection des ovaires dans une solution de NaCl physiologique à 0° — 4° C. Fixation au OsO<sub>4</sub> à 1 %, en tampon véronal, selon KELLENGERGER et al. (1958).

La déshydratation a toujours été effectuée dans de l'acétone et l'inclusion dans de l'Araldite ou de l'Epon. Coupe à l'Ultrotome I LKB ou Reichert OmU 2. Contraste à l'acétate d'uranyle 5 % en solution aqueuse et au citrate de plomb selon la méthode de REYNOLDS, 1963. Photographies au microscope électronique Zeiss EM 9.

Les meilleurs résultats ont été obtenus d'après le mode de fixation n° 1.

### Résultats.

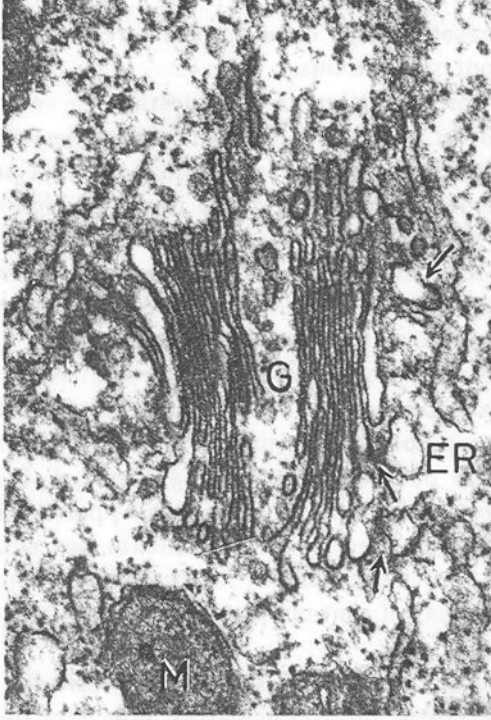
Dans notre travail de 1967, nous avons décrit la structure fine de l'ovocyte d'une tique non nourrie. Ainsi savons-nous que l'ovaire est entouré par la *lamina basilaris*, appelée aussi *tunica propria* ou manteau. Les jeunes ovocytes possèdent une membrane propre, l'*oolemma*, qui ne présente pas de microvilli à ce stade de leur développement. Leur cytoplasme est très riche en ribosomes libres. L'ergastoplasme est composé de nombreuses vésicules lisses. Les mitochondries sont réunies en une couche à la périphérie de l'ovocyte (Fig. 6). Plusieurs zones de Golgi discrètement développées, avec peu de lamelles et peu de vésicules, sont présentes. On observe ça et là des groupes de symbiotes (HECKER, AESCHLIMANN et BURCKHARDT, 1968). L'aspect du noyau dénonce une intense activité. Le nucléole est toujours présent. Dans le caryoplasme, où l'on ne décèle aucune trace d'hétérochromatine, on note une accumulation de substances opaques aux électrons dans le voisinage immédiat des membranes nucléaires. Celles-ci sont percées de pores. Comme ces substances sombres se retrouvent aussi dans le cytoplasme, toujours à proximité du noyau, on peut admettre, à la suite de KESSEL (1968), qu'il s'agit là du passage des acides ribonucléiques. Ceux-ci donneront naissance, entre autres, aux ribosomes (Fig. 7 et 8). La haute basophilie du cytoplasme est d'ailleurs démontrée par diverses colorations histologiques.

Les nombreux ribosomes, les diverses zones de Golgi et l'activité du noyau

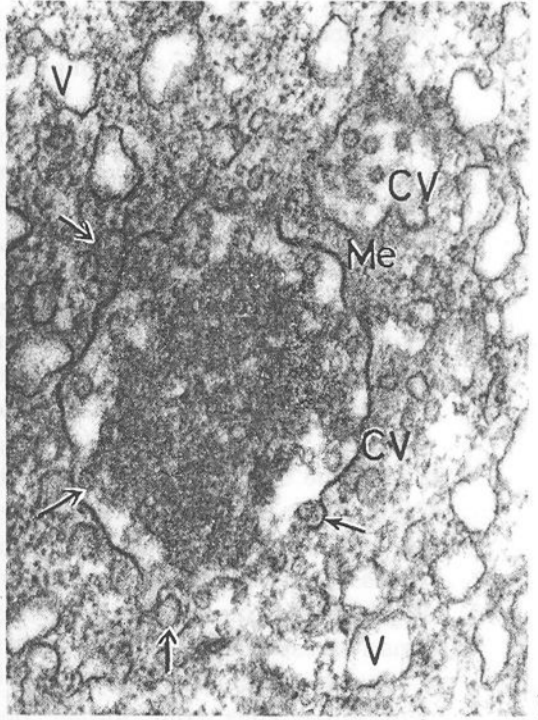
FIG. 9 : Zone de Golgi (G) dans un ovocyte au début de la vitellogénèse. → : contact étroit entre le Golgi et l'ergastoplasme (ER). M : mitochondries. 61 500 ×.

FIG. 10 : Corps vésiculaire (CV) entouré d'une jeune membrane (Me) ; V : vésicule de l'ergastoplasme. → : vésicules formant le corps vésiculaire. 61 500 ×.

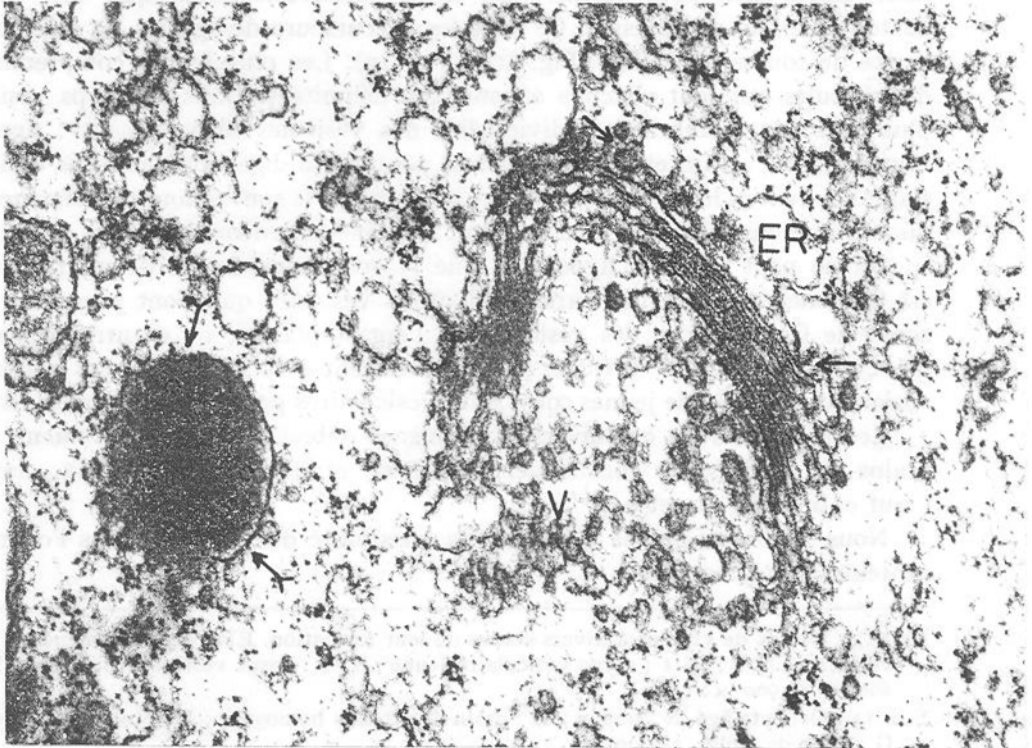
FIG. 11 : De l'ergastoplasme (ER) se détachent de petites ampoules (→) vers la partie lamellaire du Golgi. V : vésicules du Golgi remplies d'une substance sombre. >→ : Fusion de vésicules. 51 200 ×.



9



10



11

confirment que nous sommes en présence d'un ovocyte prêt à recevoir et à synthétiser les protéines qui composeront son vitellus.

Durant les trois premiers jours après le début de la digestion du sang ingéré, on enregistre diverses modifications du nombre et des structures des organites.

Le nombre des zones de Golgi augmente alors que celles qui sont déjà présentes dans la cellule se développent activement. On assiste à une multiplication de leurs lamelles et de leurs vésicules (Fig. 9, 11 et 18). Cette prolifération des zones de Golgi, l'enrichissement de leurs structures, comme aussi leurs contacts avec les vésicules de l'ergastoplasme laissent supposer qu'une synthèse endogène des protéines a débuté. En effet, les très nombreux ribosomes sont responsables de la synthèse de protéines à partir d'acides aminés. Ces protéines sont vraisemblablement transportées par les vésicules de l'ergastoplasme. Il n'est pas rare de voir de telles vésicules, au contenu floconneux, s'accoler à la partie convexe des lamelles d'une zone de Golgi, en produisant de petites ampoules (Fig. 9 et 11). L'ergastoplasme livre ainsi aux Golgi les substances qu'il véhicule. Les appareils de Golgi peuvent alors condenser, voire combiner avec d'autres éléments, les substances reçues. Celles-ci, une fois modifiées, sont alors rendues au cytoplasme sous forme de petites vésicules opaques aux électrons, au contenu plus sombre que celui observé dans l'ergastoplasme (Fig. 11).

On peut admettre, au vu de nos Photographies, que ces vésicules fusionnent entre elles pour former des corps multivésiculaires que l'on rencontre partout dans le cytoplasme. Ce sont les précurseurs des grains de vitellus. Il en existe de toutes les tailles (Fig. 10, 11 et 12). Les plus jeunes comprennent peu de vésicules qui sont chacune encore bien délimitées. Dans les corps vésiculaires plus âgés, les membranes individuelles des vésicules disparaissent : une fusion s'opère. Ainsi, au fur et à mesure que se poursuit la digestion, les corps vésiculaires s'agrandissent et leur contenu devient homogène. Ils sont entourés d'une membrane discontinue, au contour irrégulier, dont l'origine est encore obscure.

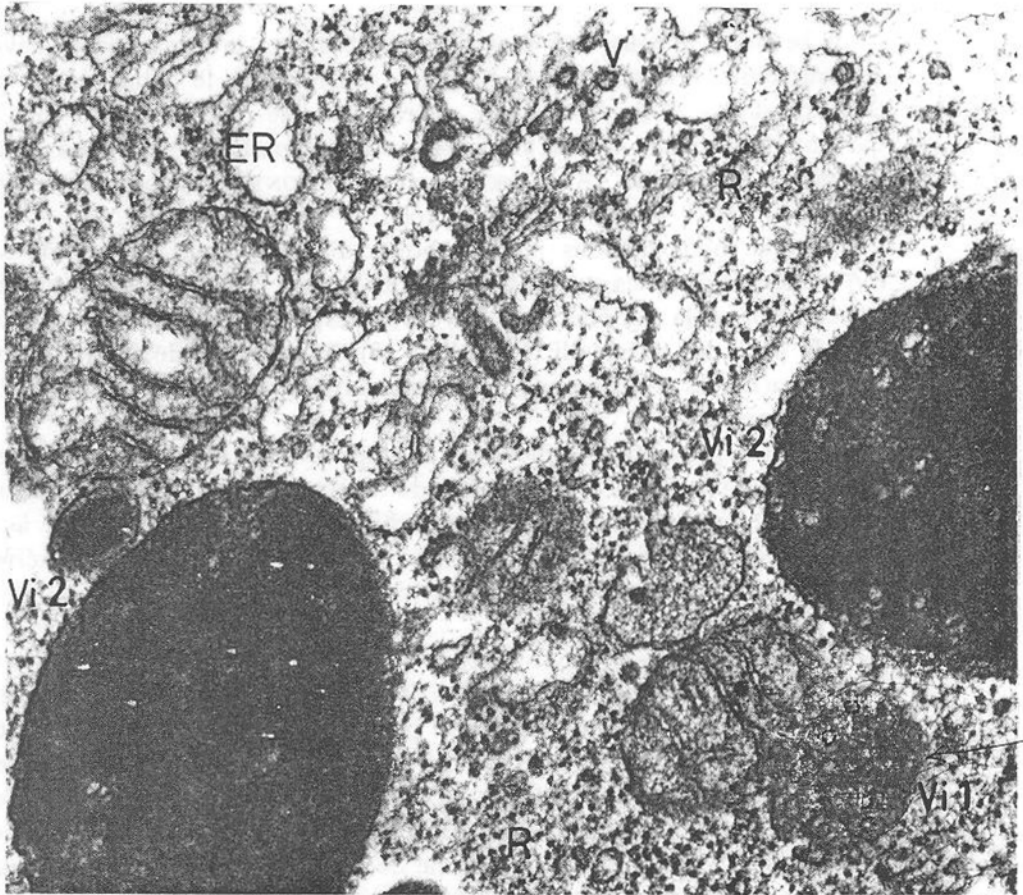
On ne peut écarter l'hypothèse que la croissance des corps multivésiculaires est également assurée par l'arrivée d'autres vésicules qui n'ont pas passé par les zones de Golgi. Ainsi, des vésicules de l'ergastoplasme, ou d'autres issues de la pinocytose, pourraient prendre part directement à la formation des corps multivésiculaires. Enfin, de jeunes corps multivésiculaires pourraient fusionner entre eux.

Le stade final de ces divers phénomènes débouche sur l'achèvement de gros grains de vitellus, de consistance homogène et qui, très nombreux, emplissent l'œuf entier (Fig. 13 et 14).

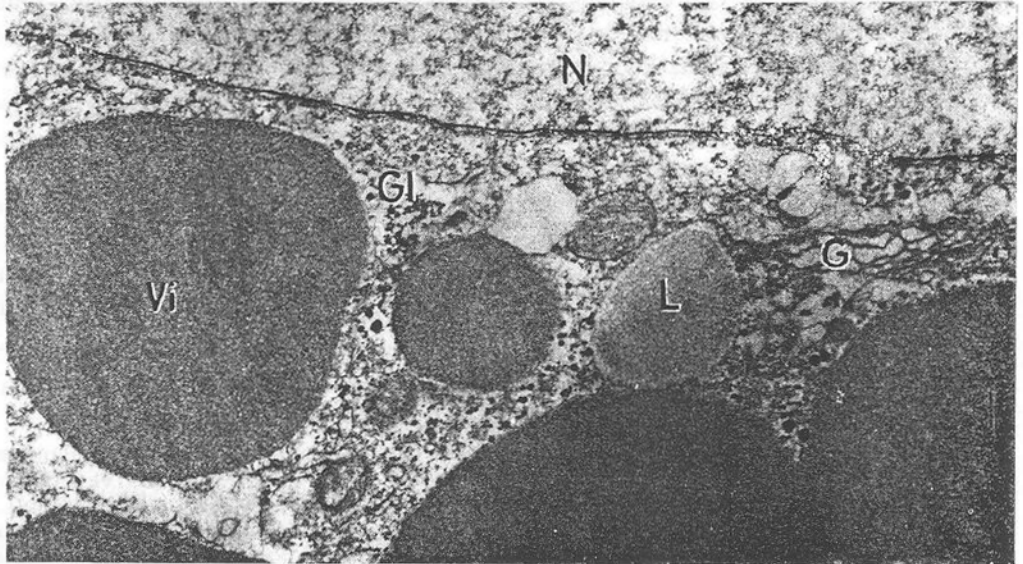
Nous venons ci-dessus d'évoquer la possibilité de l'arrivée, dans l'ovocyte, de protéines par pinocytose.

FIG. 12 : Grains de vitellus à divers stades de leur formation. ER : ergastoplasme ; V : petites vésicules libres ; Vi 1 : corps vésiculaire jeune ; Vi 2 : corps vésiculaires denses ; R : ribosomes. 18 000  $\times$ .

FIG. 13 : Ovocyte âgé. N : noyau ; Vi : grain de vitellus homogène ; L : lipide ; Gl : glycogène ; G : zone de Golgi. 18 000  $\times$ .



12



13

A ce sujet, il nous faut tout d'abord souligner le remarquable développement des microvilli à la surface de l'ovocyte, et cela dès le début de la vitellogénèse (Fig. 16 et 17). Cette bordure de microvilli a été rencontrée par tous les auteurs qui ont décrit, chez les Arthropodes, la participation de protéines exogènes à la formation du vitellus (ANDERSON, 1964 ; DUMONT & ANDERSON, 1967 ; KESSEL & BEANS, 1963 ; ROTH & PORTER, 1964).

Quoique nous n'ayons jamais obtenu d'images aussi péremptoires que celles d'ANDERSON (publiées par FAWCETT, 1966), nous rencontrons néanmoins des vésicules sombre à la périphérie de l'ovocyte, lesquelles sont parfois en étroit contact avec la base des microvilli (Fig. 17 et 18). Modeste au début de la vitellogénèse, le nombre de ces vésicules augmente pour atteindre son maximum 5 à 6 jours après le repas sanguin.

Une des principales difficultés, en microscopie électronique, est d'établir la « direction de la flèche », c'est-à-dire de déterminer le sens du déplacement de certains organites dans la cellule. Cette difficulté existe précisément à propos des vésicules décrites ci-dessus. Leur plus grand nombre, à la périphérie de l'œuf, coïncide en effet avec l'apparition, entre les microvilli, des prémices de la cuticule (Fig. 18).

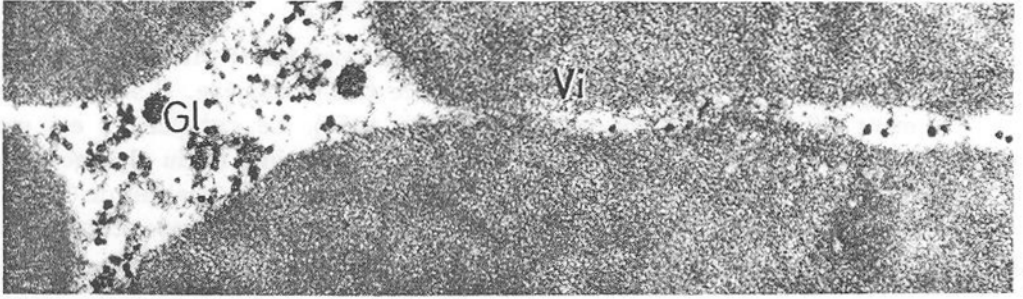
C'est un fait admis depuis longtemps que la « coque » de l'œuf chez *O. moubata* est un produit de l'ovocyte (LEES & BEAMENT, 1948 ; AESCHLIMANN, 1958). C'est pourquoi on parle de cuticule et non pas de chorion. Déjà dans notre travail préliminaire (AESCHLIMANN & HECKER, 1967), nous avons admis que des vésicules remplies d'une substance opaque aux électrons, en provenance du cytoplasme de l'ovocyte, venaient déverser leur contenu à la base des microvilli, assurant ainsi la formation d'une importante couche de protéines, la cuticule de l'œuf (Fig. 19). L'origine de ces vésicules est encore inconnue quoiqu'on pourrait rendre l'ergastoplasme et les zones de Golgi responsables de leur formation (Fig. 18). Il est donc possible que nous ayons dans le cortex de l'ovocyte, vers le milieu de la période de vitellogénèse, des vésicules de deux ordres : les unes serviraient à la formation de la cuticule, les autres, dérivant de la micropinocytose, prendraient part à l'élaboration du vitellus.

La cuticule, d'abord répartie irrégulièrement à la surface de l'ovocyte (Fig. 19), acquiert rapidement un aspect continu. Elle supprime les microvilli (Fig. 20). Ceux-ci finissent par disparaître, comme noyés dans cette couche puissante et homogène. L'œuf mûr d'*O. moubata*, tel qu'il apparaît par exemple dans l'utérus,

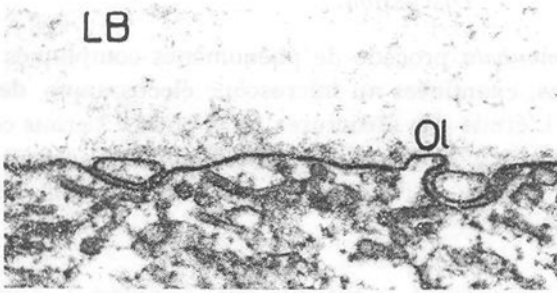
FIG. 14 : Œuf mûr. Vi : vitellus. Gl : Glycogène sous ses deux formes  $\alpha$  et  $\beta$ . 54 000  $\times$ .

FIG. 15-20 : Formation de la cuticule.

15. — Jeune ovocyte. LB : lamina basilaris. Ol : oolemma avec projections tubulaires. 61 500  $\times$ .  
 16. — Formation des microvilli (Mv). 21 000  $\times$ . 17. — Microvilli (Mv) et petites vésicules(→). 18 000  $\times$ . 18. — Premiers dépôts de la cuticule (Cu) entre les microvilli (Mv). G : zone de Golgi. → : vésicules sombres. 14 000  $\times$ . 19. — Cuticule (Cu) en pleine formation. Les microvilli (Mv) disparaissent. → : vésicules sombres. 21 000  $\times$ . 20. — Œuf mûr dans l'utérus. Cu : cuticule homogène. Les microvilli ont disparu. Vi : vitellus. 18 000  $\times$ .



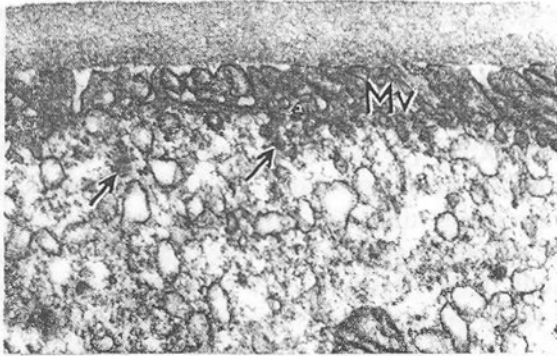
14



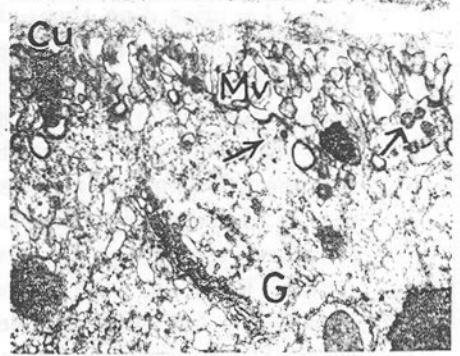
15



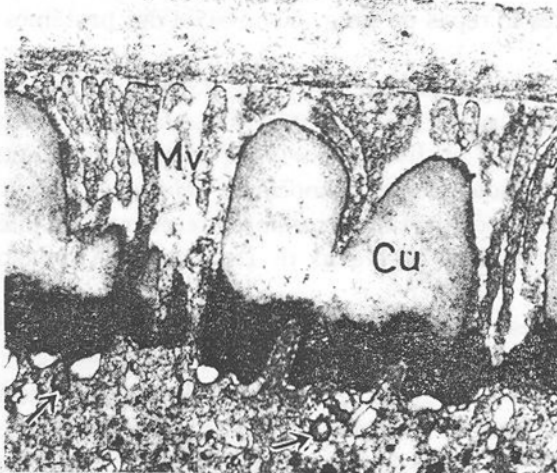
16



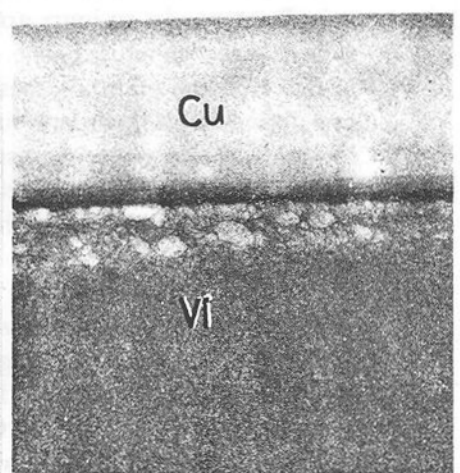
17



18



19



20

se compose essentiellement d'une masse de sphérules vitellines. Au microscope électronique, le vitellus a une consistance très homogène. Il s'agit vraisemblablement d'hémo-lipo-glycoprotéines (DIEHL, 1969). Le cytoplasme est maintenant pauvre en ribosomes. Il contient des gouttes de lipides et du glycogène sous forme de granules  $\alpha$  et  $\beta$  (Fig. 13 et 14). Les mitochondries, les appareils de Golgi et l'ergastoplasme ont disparu. La cuticule entoure l'œuf d'une enveloppe protectrice (Fig. 20).

#### *Discussion.*

La vitellogénèse chez *O. moubata* procède de phénomènes compliqués dont les manifestations morphologiques, examinées au microscope électronique, demandent une interprétation prudente. L'étude des structures fines nous a permis cependant de dresser diverses hypothèses. Pour jeter une plus grande lumière sur ce problème, il faudra adjoindre aux méthodes de la microscopie électronique, celles de l'autoradiographie et de l'immunofluorescence.

Mais résumons ce que nous avons observé.

Les sources des protéines composant le vitellus ont, semble-t-il, diverses origines. La prise d'un repas de sang est évidemment obligatoire pour permettre le déclenchement de la vitellogénèse. De récentes expériences (GALUN et WARBURG, 1967 ; AESCHLIMANN, 1968) ont montré que la copulation favorise et accélère la préparation et l'arrivée aux ovocytes des substances de base nécessaires à la formation du vitellus. Il est vraisemblable que des protéines, présentes dans l'hémolymphe à la suite du repas sanguin, pénètrent dans l'œuf. DIEHL (1969) a montré que la concentration de ces protéines diminue dans l'hémolymphe alors qu'elle augmente dans l'œuf. On peut admettre que ces protéines gagnent l'œuf par pinocytose. L'existence de microvilli bien développés et la présence de nombreuses vésicules à la périphérie de l'ovocyte appuient cette hypothèse. La pinocytose serait particulièrement active vers le cinquième jour de la vitellogénèse, l'œuf mûr étant pondu 10 jours après le repas de sang. Une partie des protéines de l'œuf a donc une origine exogène.

La richesse en ribosomes du cytoplasme des jeunes ovocytes laissent prévoir une active synthèse de protéines à partir d'acides aminés. Les zones de Golgi condenseraient les protéines transportées et livrées par l'ergastoplasme. L'activité des Golgi et leur contact avec les vacuoles de l'ergastoplasme débutent très tôt après le repas sanguin. Ainsi la synthèse endogène des protéines précéderait les phénomènes de pinocytose. Ces résultats coïncident avec ceux de DUMONT et ANDERSON (1968) chez *Limulus polyphemus*.

Une autre fonction des zones de Golgi et de l'ergastoplasme consisterait en la production de vésicules chargées des protéines cuticulaires. Il nous est pour l'instant impossible de différencier les vésicules de pinocytose de celles contribuant à la formation de la cuticule. On doit se borner à constater que le grand nombre de vésicules sombres observées à la périphérie de l'œuf coïncide avec l'apparition des premiers dépôts de la cuticule dans la zone des microvilli. Quant aux grains

de vitellus de l'œuf mûr, leur formation est due à la fusion de vésicules d'origine diverses. Les vacuoles de l'ergastoplasme, les vésicules de pinocytose et les vésicules livrées par les zones de Golgi assurent l'apparition et l'accroissement — d'abord sous forme de corps multivésiculaires — puis l'élaboration définitive des grains de vitellus.

#### BIBLIOGRAPHIE

- AESCHLIMANN (A.), 1958. — Développement embryonnaire d'*Ornithodoros moubata* (Murray) et transmission transovarienne de *B. duttoni*. — Acta trop., **15** : 15-64.
- AESCHLIMANN (A.), 1968. — La ponte chez *Ornithodoros moubata*, Murray (*Ixodoidea* : *Argasidae*). — Rev. suisse Zool., **75** : 1033-1039
- AESCHLIMANN (A.) & HECKER (H.), 1967. — Observations préliminaires sur l'ultrastructure de l'ovocyte en développement chez *Ornithodoros moubata*, Murray (*Ixodoidea* : *Argasidae*). — Acta trop., **24** : 225-243.
- ANDERSON (E.), 1964. — Oocyte differentiation and vitellogenesis in the roach *Periplaneta americana*. — J. Cell Biol., **20** : 131-155.
- DIEHL (P. A.), 1969. — Haemolymph-Proteine und Vitellogenese bei *Ornithodoros moubata*, Murray (*Ixodoidea* : *Argasidae*). — Bull. Soc. ent. suisse, **42** : 117-125.
- DUMONT (J. N.) & ANDERSON (E.), 1967. — Vitellogenesis in the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. — J. Microscopie, **6** : 791-806.
- FAWCETT (Don W.), 1966. — The cell. An atlas of fine structure. — Philadelphia, London : W. B. Saunder, 448 pp.
- GALUN (R.) & WARBURG (M.), 1967. — Studies on the reproductive physiology of the tick *Ornithodoros tholozani* (Laboulbène et Mégnin) : the effect of mating on oogenesis. — Vestn. spol. Zool., **31** : 329-334.
- GEIGY (R.) & HERBIG (A.), 1955. — Erreger und Ueberträger tropischer Krankheiten. — Basel, Verlag für Recht und Gesellschaft, 472 pp. (Acta trop. Suppl. 6).
- HECKER (H.), AESCHLIMANN (A.) & BURCKHARDT (M. J.), 1968. — Contribution à la connaissance des symbiotes chez *Ornithodoros moubata* (*Ixodoidea*). — Étude au microscope électronique. — Acta trop., **25** : 256-262.
- KELLENBERGER (E.), RYTHÉ (A.) & SECHAUD (J.), 1958. — Electron microscope study of DNA-containing plasms. — II. Vegetative and mature phage DNA as compared with normal bacterial nucleoids in different physiological states. — Biophys. Biochem. Cytol., **4** : 671-678.
- KESSEL (R. G.), 1966 a. — An electron microscope study of nuclear-cytoplasmic exchange in oocytes of *Ciona intestinalis*. — J. Ultrastr. Res., **15** : 181-196.
- KESSEL (R. G.), 1966 b. — Some observations on the ultrastructure of the oocyte of *Thyone briareus* with special reference to the relationship of the Golgi complex and endoplasmic reticulum in the formation of yolk. — J. Ultrastr. Res., **16** : 305-319.
- KESSEL (R. G.), 1968. — An electron microscope study of differentiation and growth in oocytes of *Ophioderma panamensis*. — J. Ultrastr. Res., **22** : 63-89.
- KESSEL (R. G.) & BEAMS (H. W.), 1963. — Micropinocytosis and yolk formation in oocytes of the small milkweed bug. — Exp. Cell Res., **30** : 440-443.

- KESSEL (R. G.) & KEMP (N. E.), 1962. — An electron microscope study on the oocyte, test cells and follicular envelope of the tunicate, *Molgula manhattensis*. — J. Ultrastr. Res., **6** : 57-76.
- KORFSMEIER (K. H.), 1966. — Zur Genese des Dottersystems in der Oocyte von *Brachydanio rerio*. — Z. Zellf., **71** : 283-296.
- LEES (A. D.) & BEAMENT (J. W. L.), 1948. — An egg-waxing organ in ticks. — Quart. J. microscop. Sci., **89** : 291-333.
- RAMAMURTY (P. S.), 1964. — On the contribution of the follicle epithelium of the deposition of yolk in the oocyte of *Panorpa communis* (Mecoptera). — Exp. Cell Res., **33** : 601-605.
- REYNOLDS (E. S.), 1963. — The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. — Exp. Cell Biol., **17** : 208.
- ROTH (T. F.) & PORTER (K. R.), 1964. — Yolk protein uptake in the oocyte of the mosquito *Aedes aegypti* L. — J. Cell. Biol., **20** : 313-332.
- TELFER (W. H.), 1965. — The mechanism and control of yolk formation. — Ann. Rev. Entomol., **10** : 161-184.