

# Bolletino di zoologia



ISSN: 0373-4137 (Print) (Online) Journal homepage: http://www.tandfonline.com/loi/tizo19

# Correspondance Ultrastructurale Entre La Bourse Gutturale Du Rhinoderma Darwini Et Le Tegument Des Larves

O. Garrido, E. Pugin & B. Jorquera

**To cite this article:** O. Garrido , E. Pugin & B. Jorquera (1975) Correspondence Ultrastructurale Entre La Bourse Gutturale Du Rhinoderma Darwini Et Le Tegument Des Larves, Bolletino di zoologia, 42:2-3, 133-144, DOI: 10.1080/11250007509431421

To link to this article: <a href="http://dx.doi.org/10.1080/11250007509431421">http://dx.doi.org/10.1080/11250007509431421</a>

<u></u>	Copyright Taylor and Francis Group, LLC
	Published online: 14 Sep 2009.
	Submit your article to this journal 🗗
lılı	Article views: 58
Q	View related articles ☑
4	Citing articles: 2 View citing articles 🗷

Full Terms & Conditions of access and use can be found at http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tizo20

CORRESPONDANCE ULTRASTRUCTURALE ENTRE LA BOURSE GUTTURALE DU RHINODERMA DARWINI ET LE TEGUMENT DES LARVES

> O. GARRIDO, E. PUGIN et B. JORQUERA Institut d'Embriologie de l'Université Australe du Chili Cas. 567. Valdivia Chili.

> > (received June 6, 1975)

### INTRODUCTION

Le Rhinoderma darwini (D. et B., 1841) est un petit amphibien anoure découvert par Darwin en 1835 à Valdivia (Chilí) et décrit par DUMÉRIL et BIBRON en 1841. On a établi ensuite qu'il vit au sud du Chili de Nuble jusqu'à Chiloé. Sa position taxinomique est encore controversée (GRIFFITS, 1959; CEI, 1962; LYNCH, 1971; BARRIO et RINALDI, 1971; DÍAZ et al., 1972).

GAY (1848); ESPADA (1872); Howes (1888); BURGER (1905); BARROS (1918); WILHELM (1927 et 1932); PFLAUMER (1934); Noble (1954) et CEI (1962), font état d'une façon très générale des conditions d'habitat du Rhinoderma et de son développement à l'intérieur de la bourse gutturale du mâle; ce dernier phénomène est connu comme « néomélie ».

JORQUERA et al. (1972), étudient le développement normal de cet amphibien, avec un matériel récolté dans la province de Valdivia (Chili). Le développement a été divisé en périodes embryonnaire et de métamorphose, proposant comme limite entre les deux, l'apparition des ébauches des membres postérieurs.

La période embryonnaire, subdivisée en 11 stades, commence après la fécondation, en milieu externe, milieu dans lequel les embryons demeurent jusqu'au stade de réponse musculaire (stade 10). À ce moment les embryons sont incorporés par le mâle à l'intérieur de la bourse gutturale, où ils continuent à se développer jusqu'à la fin de la métamorphose.

La période de métamorphose est subdivisée en 15 stades au bout desquels les jeunes entièrement transformés sont évacués à l'extérieur, en condition de subsistance autonome.

Les observations sur le développement embryonnaire et la métamorphose des embryons du Rhinoderma darwini révèlent certaines particularités qu'on peut considérer comme des adaptations à la condition normale de dépendance paternelle en milieu non aquatique: 1) absence de branchies externes, 2) absence de spiraculum, 3) absence de bec et de denticules cornés péribuccaux, 4) absence de ventouse, 5) présence d'une nageoire caudale réduite, 6) présence d'une dilatation cloacale très vascularisée, 7) peau fine et vascularisée.

D'autre part, des groupes de larves développées en dehors de la bourse gutturale du mâle, dans la solution de Holtfreter, présentent un développement beaucoup plus lent et meurent avant la fin de la métamorphose.

Ces données permettent d'envisager la possibilité d'une relation trophique et peut-être respiratoire entre la bourse gutturale du mâle et la peau des larves.

### MATERIEL ET METHODES

On a utilisé des mâles adultes de Rhinoderma darwini récoltés dans la Province de Valdivia (Chili), les uns avec des larves à l'intérieur de la bourse gutturale, les autres sans.

Après anesthésie à l'éther, on a prélevé des échantillons de bourse gutturale de mâles sans larves, et de la bourse gutturale et de la peau des larves des mâles porteurs de larves. Ces larves correspondaient au stade 4 de la métamorphose (Jorquera et al., 1972). On a fixé les échantillons par immersion dans une solution isotonique d'osmium à 1% pendant 3 heures. On a ensuite procédé à la déshidratation par l'éthanolacétone et à l'imprégnation dans une solution à 50% de mélange complet d'araldite et d'acétone pendant 4 heures. Finalement, on les a inclus dans un mélange complet d'araldite à 100%, maintenu à température ambiante durant 3 heures et à 55°C. entre 24 et 48 heures (GLAUERT et GLAUERT, 1958; LUFT, 1961).

Des coupes minces de 0,5 à 1 micron d'épaisseur, colorées au bleu de toluidineborax, ont été utilisées pour les études préliminaires au microscope photonique. Pour le microscope électronique, on a étalé sur des grilles de cuivre, des coupes de 80 à 100 nm colorées a l'acétate d'uranyl et au citrate de plomb (GLAUERT, 1965).

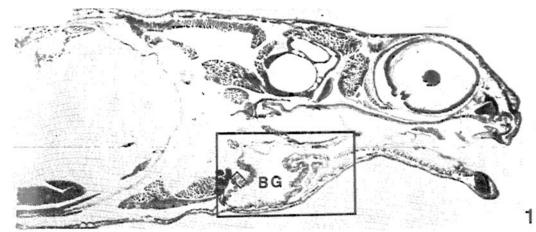
Les observations d'ultrastructure cellulaire ont été faites au microscope électronique Philips E. M. 300.

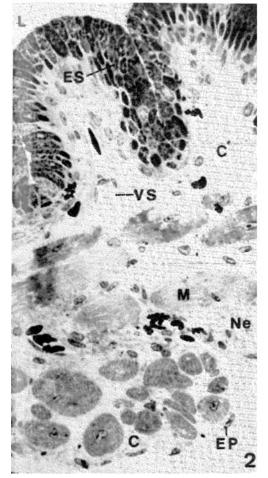
#### RESULTATS

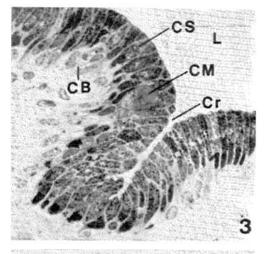
### I. - BOURSE GUTTURALE

### A) Bourse gutturale sans larves

La bourse gutturale vide se présente comme un petit diverticule en forme de croissant, réfléchi sur les sacs lymphatiques sous-maxillaire et pectoral, et en communication avec le fond de la cavité buccale au moyen de deux fentes latérales (Pl. I, fig. 1).







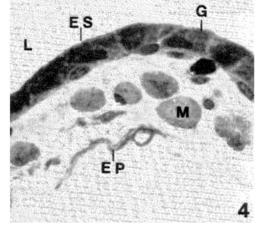


PLANCHE I - Microscopie photonique de la bourse gutturale de Rhinoderma darwini.

- 1. Coupe parasagittale de mâle adulte de *Rhinoderma darwini*. Dans le grand encadrement, la bourse gutturale (BG). Pour le petit encadrement voir la fig. 2 à plus fort grossissement. (5 ×)
- 2. La parois de la bourse gutturale possède un épithélium sécréteur (ES), du tissu conjonctif (C), du muscle strié (M), des nerfs (Ne), et un épithélium plat (EP). L, cavité. (1700 ×)
- 3. L'épithélium de la bourse gutturale sans larves présente des cryptes (Cr), et contient cellules sécrétrices (CS), cellules basales (CB), et quelques cellules caliciformes muqueuses (CM). L, cavité. (2000 ×)
- 4. La paroi de la bourse gutturale avec larves présente un épithélium aplati (ES). Les cellules superficielles de cet épithélium contiennent, dans la région apicale, des granules de sécrétion (G). EP, épithélium plat; L, cavité; M, fibre musculaire. (2000 ×)

Les coupes des figs. 2, 3 et 4 sont d'un micron d'épaisseur et colorées au bleu de toluidine-borax.

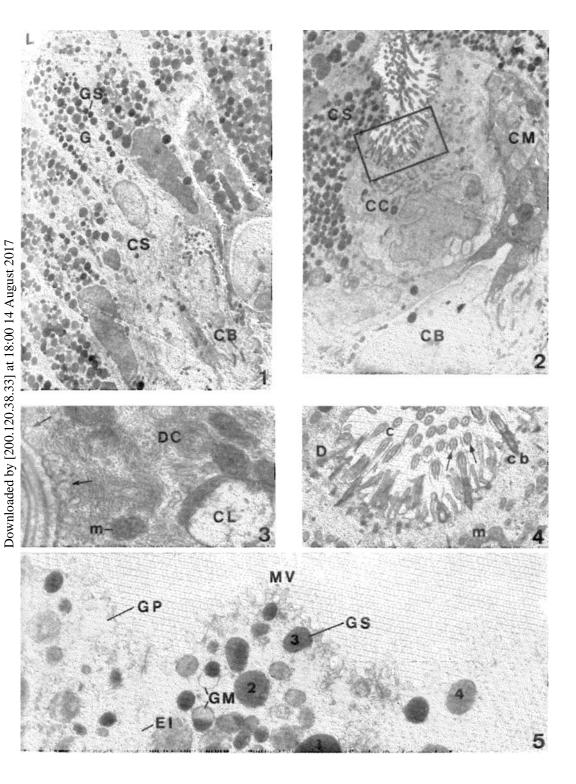


PLANCHE II - Ultrastructure de l'épithélium de la bourse gutturale sans larves.

(GS). L, cavité. (4600 × )

(flèches). (25000 ×)

- 1. L'épithélium de type pseudo-stratifié, est constitué de cellules superficielles cylindriques (CS) et de cellules basales arrondies (CB). Noter dans les cellules cylindriques le complexe de Golgi (G), très développé et le grand nombre de granules de sécrétion
- L'épithélium pseudo-stratifié contient en plus des cellules basales (CB) et superficielles cylindriques (CS), cellules muqueuses (CM) et cellules ciliées (CC). Encadrement, voir, à plus fort grossissement, la fig. 4. (5800 ×)
- 3. Le cytoplasme des cellules basales est riche en deltacytomembranes (DC), corps multilaminaires (CL) et mitochondries (m). Dans la membrane plasmatique contactant la lame basale, on observe de nombreuses cavéoles et vacuoles de pinocytose
- 4. Les cellules ciliées possèdent des cils typiques (c), avec complexe axiale (flèches) et corpuscule basal (cb). Elles s'unissent à les cellules voisines au moyen de desmosomes (D) et par des replis dans leur membrane. (14500 ×).
- 5. Les cellules cylindriques présentent au sommet granules de sécrétion denses (GP), granules mixtes (GM) et granules de faible densité électronique (GP). Les granules multilaminaires (CL) et mitochondries (m). Dans la membrane plasmatique contactant avec elle (4). EI, espace intercellulaire; MV, microvillosité. (18000 ×)

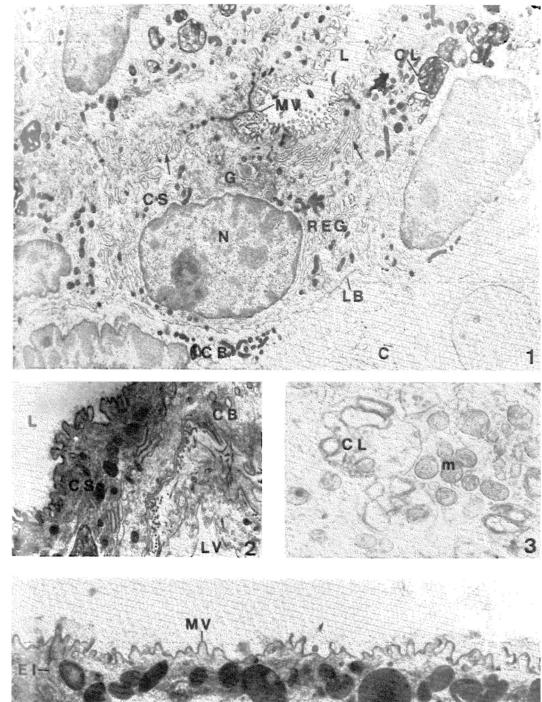


PLANCHE III - Ultrastructure de l'épithélium de la bourse gutturale avec larves.

- 1. Les cellules cylindriques présentent au sommet granules de sécrétion denses (GS), avec d'abondantes microvillosités (MV) et un espace intercellulaire tortueux (flèche). C, conjonctif; CB, cellule basale; CL, corps multilaminaires; G, complexe de Golgi,
- LB, lâme basale; N, noyau; REG, réticulum endoplasmique granulaire. (6300 ×)

  2. Dans le voisinage des vaisseaux sanguins (LV) l'épithélium s'applatit, en compromettant les cellules basales (CB) et superficielles (CS). L, cavité. (10200 ×)
- 3. Dans le cytoplasme des cellules superficielles se retrouvent d'abondants corps multilaminaires (CL) et mitochondries (m). (26000 ×)
- Les granules de sécrétion se concentrent dans le cytoplasme apicale des cellules superficielles. EI, espace intercellulaire; MV, microvillosité. (16000 x)

PLANCHE IV - Microscopie photonique et électronique de la peau des larves.

- Coupe transversale de la queue d'une larve en stade 4 de la métamorphose. C, conjonctif; CB, cellule basale; CS, cellule superficielle; MB, membrane basale; N, nucléole. (2000 ×)
- 2. Dans les cellules superficielles (CS) de l'épiderme existent des vacuoles de phagocytose (flèches) à contenu dense. CB, cellule basale, CV, cellule avec des vacuoles intracytoplasmatiques, EI, espace intercellulaire; MB, membrane basale; N, noyau; Nu, nucléole; REG, réticulum endoplasmique granulaire. (7400 ×)
- 3. Détail de la zone d'union entre deux cellules superficielles. VPh, vacuoles de phagocytose; VP, petite vacuole; D, desmosome; m, mitochondrie; MPh, matériel qui pourrait être phagocité. (13000 ×)
- 4. Les cellules basales sont en relation étroite avec la lame basale (LB), présentant hemi-desmosomes (flèches). D, desmosome; EI, espace intercellulaire; MB, membrane basale; REG, réticulum endoplasmique granulaire; TF, tonofibrilles. (13000 ×)

### 1. Microscopie photonique.

La paroi de la bourse gutturale a une épaisseur variant entre 500 et  $1000 \mu m$  et présente une structure bien définie: a) épithélium cylindrique pseudostratifié, b) couche de tissu conjonctif sous-épithélial, c) couche de fibres musculaires, d) couche de tissu conjonctif sous-musculaire et e) épithélium plat (Pl. I, fig. 2).

- a) Epithélium cylindrique pseudostratifié: Il forme des replis semblables à des cryptes à l'intérieur du tissu conjonctif sous-épithélial, sans compromettre la couche musculaire. Son épaisseur varie de 18 à 33 microns. Il se compose de deux types de cellules; cellules superficielles cylindriques et cellules basales sphériques. Les cellules cylindriques sont hautes, avec un noyau en forme de coin placé vers la base, avec chromatine périphérique et nucléole proéminent. Dans leur cytoplasme on peut observer d'abondants granules denses en position supra-nucléaire et, dans certaines zones, des cellules au cytoplasme plein de vacuoles muqueuses, qui font saillie dans la cavité (Pl. I, fig. 3). Les cellules basales présentent en général un aspect sphérique avec un noyau central de contour irrégulier et plus pâle que celui des cellules cylindriques, avec nucléole proéminent et cytoplasme clair et homogène (Pl. I, figs. 2 et 3).
- b) Tissu conjonctif sous-épithélial: Il présente une substance fondamentale amorphe contenant des éléments fibreux et des noyaux; on y remarque également des vaisseaux sanguins de calibre variable, situés de préférence au voisinage de l'épithélium.
- c) Couche musculaire striée: Les fibres musculaires, bien que leur orientation ne soit pas très régulière, ont tendance a se disposer en deux strates, l'une interne circulaire, l'autre externe longitudinale. Les fibres musclaires présentent des stries transversales et des noyaux clairs, centraux ou périphériques (Pl. I, fig. 2).
- d) Tissu conjonctif sous-musculaire: Il forme une couche mince entre le tissue musculaire et l'épithélium plat, et contient en plus des éléments propres au tissu conjonctif, des axones myéliniques à distribution assez régulière.
- e) Epithélium plat: On observe seulement des noyaux allongés et une lame ténue de cytoplasme.

# Ultrastructure de la bourse gutturale sans larves.

Comme le but de ce travail est d'apporter des faits morphologiques à l'appui d'une relation trophique paterno-larvaire, nous nous sommes limités à l'observation de l'épithélium interne de la bourse gutturale, lequel présente les variations les plus marquées dans les différents états fonctionnels.

Dans cet épithélium interne, on peut trouver quatre types de cellules: a) cellules cylindriques avec des granules denses, b) cellules sphériques basales, c) cellules ciliées du fond et de la paroi des cryptes et d) cellules muqueuses.

a) Cellules cylindriques: ce sont des cellules hautes, en contact avec la lame basale au moyen de minces prolongements cytoplasmiques pénétrant dans les cellules basales sphériques (Pl. II, fig. 1). Le noyau en forme de coin et de contour irrégulier se trouve près de la paroi basale et présente de la chromatine en distribution homogène et un nucléole peu proéminent. Le cytoplasme contient un très grand nombre de granules en position supranucléaire, des mitochondries, un appareil réticulaire de Golgi, un réticulum endoplasmique et quelques corps multilaminaires (Pl. II, figs. 1, 2 et 5). Les granules mesurent de 0,5 a 1 µm de diamètre et sont entourés par une unité membrane. Ils contiennent des sous-unités de 5 nm approximativement. La distribution de ces sous-unités peut être homogène, présentant des granules en densité électronique plus ou moins grande selon sa concentration, ou localisés, donnant des granules avec des accumulations denses. De plus, la dimension des granules varie; il y a des cellules qui présentent de gros granules de densité intermédiaire, et d'autres, de petits granules très foncés (Pl. II, figs. 1, 2 et 5).

Le complexe de Golgi est très développé avec des citernes étagées en couches aplaties et vacuoles (de 1 à 3 µm de diamètre pour les grandes et de 0,2 à 0,5 µm de diamètre les petites) (Pl. II, figs. 1 et 2). Dans le réticulum endoplasmique peu développé, on observe quelques citernes avec distribution périnucléaire. Les corps multilaminaires, peu nombreux et en étroite relation avec le complexe de Golgi, se situent au voisinage du noyau (Pl. II, fig. 3). Les mitochondries sont filamenteuses et présentent une quantité modérée de crêtes mitochondriales.

A la surface libre des cellules, apparaissent de nombreuses microvillosités digitiformes réparties uniformément, d'une longueur de 0,3 à 0,5 μm et de 0,1 à 0,01 μm de diamètre approximativement (Pl. II, figs. 1, 2, 4 et 5).

L'espace intercellulaire est étroit et ne dépasse pas 20 nm. Dans certaines zones, il est tres irrégulier et forme des replis entre les cellules adjacentes.

b) Cellules basales: Elles sont de forme arrondie et se situent entre la lame basale et les cellules cylindriques, sans atteindre la cavité de la bourse gutturale. Le noyau peut présenter une forme sphérique à contour légèrement irrégulier, ou allongé en forme de coin. Le nuclèole est proéminent, la chromatine distribuée de façon homogène. Le cytoplasme est clair et relativement pauvre en organites. Les mitochondries, en nombre modéré, ont tendance à se distribuer uniformément dans le cytoplasme (Pl. II, figs. 1 et 2).

Un grossissement plus important permet de voir des structures formées par des tonofilaments et des membranes parallèles d'environ 5 nm enroulées en spirale et ressemblant à des empreintes digitales, et aussi quelques corps multi-laminaires typiques (Pl. II, fig. 3). La membrane plasmatique reliée à la lame basale présente d'abondante cavéoles et vacuoles de 0,1 a 0,2 µm de diamètre. L'espace intercellulaire maintient une séparation de 20 nm, mais il présente quelques sinuosités. Dans certaines micrographies on peut observer des desmosomes unissant les cellules cylindriques entre elles ou les cellules cylindriques aux cellules basales, et des hemidesmosomes unissant les cellules basales à la lame basale.

- c) Cellules muqueuses: Ce sont des cellules muqueuses typiques, très semblables aux cellules caliciformes de l'appareil digestif. Elles présentent un cytoplasme richement garni de vacuoles claires de 1 a 3,5 µm de diamètre, séparées entre elles par une mince lame de cytoplasme (Pl. II, fig. 2).
- d) Cellules ciliées: Ces cellules se situent au fond et sur la paroi des cryptes. Les cellules du fond ont la forme d'une coupe et s'unissent aux cellules cylindriques au moyen de complexes de jonction dans lesquels apparaissent clairement les desmosomes (Pl. II, fig. 4). Le noyau est clair, échancré, avec un nucléole proéminent. Dans le cytoplasme, de faible densité électronique et pauvre en organites, seules sont nettement visibles les mitochondries concentrées dans la région supranucléaire. La surface présente des cils de 0,2 a 0,3 μm de diamètre et d'une longueur difficile a préciser, avec un corpuscule basal et un complexe axile typique; elle présente aussi quelques microvillosités de 0,4 à 1 μm de longueur et de 0,2 à 0,9 μm de diamètre, disposées entre les cils (Pl. II, fig. 4).

#### B. Bourse gutturale avec larves

La présence des larves distend notablement la bourse gutturale qui se projette latéralement et caudalement aux dépens des sacs lymphatiques.

# 1. Microscopie photonique.

La paroi de la bourse gutturale distendue présente la même structure que la bourse gutturale vide, mais son épaisseur varie entre 30 et 100 µm.

a) Epithélium interne: L'épithélium interne décroit à un tiers de sa hauteur en prenant une forme cubique, et au voisinage des vaisseaux sanguins il se réduit a un épithélium plat. Les noyaux des cellules superficielles en position basale présentent une forme ovoide. Le cytoplasme, de densité homogène, contient des granulations concentrèes dans la région

apicale. Les cellules basales ont un noyau allongé et un cytoplasme clair (Pl. I, fig. 4).

- b) Tissu conjonctif sous-épithélial: Il est bien développé et présente dans certaines zones d'abondants vaisseaux sanguins.
- c) Couche musculaire striée: Elle décroit nettement d'épaisseur mais maintient ses couches circulaire interne et longitudinale externe. Cette disposition pouvant être interrompue par la présence de gros vaisseaux sanguins.
- d) Tissu conjonctif sous-musculaire: Il est réduit a une couche très mince.
  - e) Epithélium plat: sans variation appréciable.

### 2. Ultrastructure de la bourse gutturale avec larves.

De même que pour la bourse gutturale sans larves, nous nous limiterons à l'étude de l'épithélium interne et de ses variations. Les autres couches tissulaires, bien qu'ayant diminué d'épaisseur, ne présentent pas de variations structurales appréciables par rapport à l'ultrastructure classique.

L'épithélium cubique présente seulement deux types de cellules:

- a) cellules superficielles et b) cellules basales.
- a) Cellules superficielles: La hauteur de ces cellules varie de 2 à 12 µm. Le noyau central, sphérique et au bord légerement irrégulier, montre de la chromatine périphérique et un nucléole proéminent. Dans le cytoplasme riche en organites on trouve des mitochondries filamenteuses abondamment garnies de crêtes mitochondriales, ainsi qu'un appareil réticulaire de Golgi bien développé, présentant des citernes paralleles et des vacuoles de dimensions variables. On remarque également un réticulum endoplasmique granulaire en position perinucléaire, et des corps multilaminaires (Pl. III, figs. 1, 2 et 3). L'espace intercellulaire forme de nombreux replis entre les cellules adjacentes, mais il maintient une séparation régulière d'environ 20 nm. Le sommet des cellules épithéliales adjacentes est relié par des complexes de jonction intercellulaire, parmi lesquels sont spécialement abondants les desmosomes. Ces derniers se retrouvent dans d'autres zones, unissant les cellules superficielles et basales (Pl. III, fig. 1). La surface libre des cellules montre une grande quantité de microvillosités qui arrivent à se présenter comme une trame réticulaire. De nombreuses cellules superficielles montrent dans leur cytoplasme apical, un grand nombre de granules de sécrétion de densités et tailles variées (Pl. III, fig. 4).
- b) Cellules basales: Elles maintiennent les mêmes relations que dans la bourse vide mais se présentent plus aplaties sur la lame basale (Pl. III, figs. 1 et 2). Le noyau est de contour quelque peu irrégulier,

avec de la chromatine périphérique et un nucléole proéminent. Le cytoplasme est clair et pauvre en organites avec quelques mitochondries situées près du noyau et quelques citernes du réticulum endoplasmique (Pl. III, figs. 1 et 2).

Sur la membrane qui délimite la lame basale se trouvent de nombreaux vacuoles et cavéoles de pinocytose (Pl. II, fig. 2). L'espace intercellulaire qui limite les cellules basales et superficielles est sinueux et présente des desmosomes. La lame basale est assez régulière, avec une épaisseur d'environ 15 nm.

### II. - PEAU DES LARVES

### 1. Microscopie photonique.

L'épiderme est formé par un épithelium bistratifié, avec deux types de cellules: a) cellules superficielles aplaties et b) cellules basales arrondies.

- a) Cellules superficielles aplaties: Ce sont des cellules de forme triangulaire allongée et de cytoplasme dense. Le noyau est allongé avec un nucléole peu proéminent. Dans la surface libre on observe une ligne de petites vacuoles.
- b) Cellules basales: Ce sont des cellules arrondies avec un noyau clair, un nucléole évident et un cytoplasme homogène. Ces cellules s'appuient sur une membrane basale de 5 à 10 μm d'épaisseur qui les sépare du tissu conjonctif sous-jacent.

# 2. Ultrastructure de l'épiderme des larves.

L'ultrastructure de l'épiderme des larves montre une série de spécialisations en rapport avec le processus d'absorption cutanée.

a) Cellules superficielles: Le noyau, allongé dans le sens du plus grand diamètre cellulaire, occupe une grande partie du cytoplasme, et présente de la chromatine de distribution homogène et un nucléole peu proéminent (Pl. IV, fig. 2). Dans le cytoplasme, on trouve un réticulum endoplasmique granulaire très développé, situé dans la région périnucléaire avec une plus grande concentration vers les extrémités du noyau, et formé par des citernes parallèles. Les mitochondries, en quantité régulière situés de préférence au voisinage du noyau, présentent une forme arrondie et d'abondantes crêtes mitochondriales. L'appareil de Golgi est très peu développé. On retrouve aussi des polyribosomes libres et du matériel microfilamenteux homogène (Pl. IV, figs. 2 et 3). Dans la matrice cytoplasmique, vers la surface libre de la cellule, existent des vacuoles de dimensions

variées: grosses de 0,5 à 2 µm de diamètre et petites de 0,1 à 0,2 µm de diamètre; les plus grosses présentent un contenu homogène ou réticulaire (Pl. IV, fig. 3); les plus petites ressemblent à des lysosomes et sont adossées aux parois des plus grosses, soit isolées, soit en groupes. D'autre part le cytoplasme apical émet quelques prolongements pseudopodiques qui englobent du matériel externe (Pl. IV, fig. 3).

Les cellules superficielles se trouvent en contact à leur sommet grâce à des complexes de junction, parmi lesquels se détachent un ou deux desmosomes et deux projections marginales (Pl. IV, fig. 3). Vers l'intérieur, l'espace intercellulaire présente des élargissements périodiques de 0,5 à 1 µm, séparés par des zones plus étroites (avec une séparation inférieure à 30 nm), et par des complexes de jonction. Cet aspect de l'espace intercellulaire se retrouve dans la limite entre les cellules superficielles et entre les cellules superficielles et basales (Pl. IV, figs. 2, 3 et 4).

b) Cellules basales: Ce sont des cellules globuleuses, avec leur partie centrale située sous la zone d'union de deux cellules superficielles. Le noyau, central, légèrement ovale et de chromatine homogène, possède un nucléole visible. Leur cytoplasme périnucléaire est riche en organites et présente des mitochondries avec d'abondantes crêtes mitochondriales, un réticulum endoplasmique bien développé et un appareil de Golgi peu développé. Le cytoplasme périphérique est pauvre en organites, mais plein de tonofilaments de 5 nm de diamètre approximativement (Pl. IV, figs. 2 et 4), disposés plus ou moins parallèlement et convergent vers les desmosomes voisins. Les tonofilaments sont particulièrement abondants dans le cytoplasme basal. Des hemidesmosomes unissent la paroi basale des cellules à la lame basale (Pl. IV, fig. 4).

La lame basale est mince, de 50 nm d'épaisseur environ, et possède deux couches, l'une circulaire interne et l'autre longitudinale externe, formées de fines fibrilles collagènes disposées parallèlement dans une matrice homogène de densité moyenne (Pl. IV, fig. 4).

Dans le tissu conjonctif sous-jacent à la membrane basale, on remarque la présence de cellules avec d'abondantes vacuoles intracytoplasmatiques (Pl. IV, fig. 2).

### DISCUSSION

Dans la bourse gutturale sans larves, les cellules superficielles présentent dans leur cytoplasme, des grains de sécrétion dont le contenu se vide dans la lumière de la bourse par un mécanisme de sécrétion correspondant au type IV de Kurosumi (1961) (mérocrine), au moyen duquel seul le produit de la sécrétion passe dans la lumière, sans perte d'autres composants cytoplasmiques, ni de la membrane plasmatique.

On constate des différences significatives dans la dimension des granules des cellules adjacentes. Certaines montrent une majorité de granules denses et petits et d'autres une majorité de granules gros et plus clairs; nous pensons que ces différences pourraient être dues à des phases de maturation différentes des granules de sécrétion, d'autant plus que, sur une même cellule, on trouve quelquefois des granules petits et denses et des granules gros et clairs, ainsi qu'une grande variété de formes de transition.

En relation avec d'autres types de sécrétion, on trouve également des cellules caliciformes à sécrétion muqueuse, correspondant au type II de Kurosumi (1961) (apocrine), dans laquelle se dégage toute la partie apicale de la cellule vers la cavité de la bourse. Ce processus a été décrit par divers auteurs, parmi eux, Freeman (1962).

Les cellules ciliées auraient pour fonction de remuer le matériel de sécrétion du fond des cryptes.

Les cellules basales à cause de la grande quantité de tonofilaments nous font supposer qu'elles sont en rapport avec quelque mode de transport actif et qu'en plus elles pourraient être les cellules qui maintiennent la capacité de multiplication pour repeupler le reste de l'épithélium.

L'aspect morpho-fonctionnel de cet épithélium correspond à un stade pré-fonctionnel de la bourse gutturale chez les mâles récoltés dans une période de grande activité reproductrice.

Dans la bourse gutturale avec larves, une série de modifications indiqueraient un stade fonctionnel distinct: 1) l'épithélium décroit en hauteur, 2) la surface libre des cellules superficielles est très irrégulière, 3) la quantité de granules de sécrétion est réduite, 4) les corps multilaminaires sont plus nombreux.

Tous ces changements démontreraient une plus grande activité sécrétoire de l'épithélium. L'aplatissement de l'épithélium, la diminution des granules de sécrétion et la limite irrégulière de la surface externe font supposer un passage important de matériel de sécrétion vers la cavité de la bourse. L'augmentation des corps multilaminaires signifierait un accroissement de la sécrétion de mucopolysaccharides (SCHULZ et PAOLA, 1958).

L'aplatissement de l'épithélium au voisinage des vaisseaux sanguins, outre à favoriser la fonction secrétoire des cellules, pourrait aussi être consideré comme une adaptation morphologique facilitant la respiration des larves.

L'épiderme de la peau des larves présente des vacuoles de phagocytose qui se forment à partir de prolongements pseudopodiques superficiels et qui représentent des spécialisations pour l'absorption directe du matériel du milieu externe au milieu interne. Adossées aux vacuoles de phagocytose, se trouvent d'autres vacuoles plus petites qu'on pourrait interpréter comme des lysosomes. Le contenu des vacuoles de phagocytose se présente, soit comme un gros réticulum, soit comme un réticulum fin, soit homogène, ce qui correspondrait à des phases différentes de la digestion du matériel phagocyté.

Quant au transport de matériel à l'intérieur des cellules, nous avons observé que les vacuoles contenant du matériel homogène communiquent avec le réticulum endoplasmique lisse et qu'en plus, dans l'espace intercellulaire, se produisent des dilatations périodiques, ce qui n'est certainement pas un artifice technique puisqu'elles se maintiennent constantes dans des fixateurs différents.

Par ailleurs, chez les embryons de Characodon eiseni (Téléosten vivipare) existent des processus vasculaires péri-anaux, liés à l'absorption (MENDOZA, 1972). Dans l'épithélium de ces processus apparaissent également des espaces cellulaires dilatés. Nous avons signalé d'autre part, l'existence de grandes vacuoles intra-cytoplasmatiques, dans le conjonctif sous épithélial.

Tout celà indiquerait une absorption superficielle du matériel externe, une digestion à l'intérieur des vacuoles de phagocytose, un transport intracytoplasmique, un passage à l'espace intercellulaire et un stockage dans le conjonctif sous-épithélial.

Cette absorption superficielle épidermique n'exclut pas la possibilité d'une incorporation par voie buccale, telle qu'elle a été signalée chez le *Nectophrynoides occidentalis*, un amphibien anoure vivipare (LAMOTTE et XAVIER, 1972) \*.

### RESUMÉ

La table du développement normal du Rhinoderma darwini (JORQUERA et al., 1972) a apporté des données qui justifient la réalisation d'une analyse de la structure et de la fonction de la bourse gutturale du mâle, au moyen de laquelle on pourrait établir l'existence d'une importante relation trophique, et peut-être respiratoire, avec les embryons qui se développent dans sa cavité.

<sup>\*</sup> Recherche subventionnée par le Rectorat de Recherches de l'Université Australe de Chili.

On a procédé à l'examen, au microscope photonique et au microscope électronique, d'échantillons de la bourse gutturale des mâles adultes à des différents stades fonctionnels, et de la peau des larves au stade 4 de la métamorphose.

L'épithélium interne de la bourse gutturale est un épithélium sécréteur, qui présente les caractéristiques des types II et IV de Kurosumi (1961). Sur cet épithélium on observe d'importantes modifications morphologiques suivant le stade fonctionnel de la bourse, et du voisinage des vaisseaux sanguins sous-épithéliaux.

La peau des larves possède un épithélium bi-stratifié dont la couche externe est formée de cellules qui présentent à leur surface libre une notable activité pinocytosique, avec la formation de deux types de vésicules.

Ces observations suggérent l'existence d'un mécanisme trophique paterno-embryonnaire, entre un épithélium activement sécréteur d'une part, et un épithélium à grande capacité d'absorption d'autre part.

#### SUMMARY

The table of normal development of *Rhinoderma darwini* (JORQUERA et al., 1972) has provided the basis for an analysis of the structure and function of the male guttural pouch through which an important trophic and even respiratory relationship can be established with the larvae that develop inside the pouch.

Samples of the guttural pouch in adult males in different functional stages were studied by means of light and electron microscopy, together with samples of the skin of larvae in stage 4 of the metamorphosis.

The internal epithelium of the guttural pouch is a secretory one with characteristics of the II and IV types of Kurosumi (1961), in which important morphological modifications are observed according to the functional state of the pouch and to the closeness to numerous vascular elements which are located under the epithelium.

The skin of the larvae has a bistratified epithelium, whose external layer consists in cells that show a noticeable activity of pinocitosis with formation of two types of vesicles in their free surface.

These observations suggest a trophic mechanism between the male adult and the embryos in which an actively secretory epithelium takes part on the one hand and an epithelium with a remarkable capacity of absorption on the other.

### **BIBLIOGRAPHIE**

- Barrio A. y Rinaldi P., 1971 Contribución al esclarecimiento de la posición taxofilética de algunos batracios Patagónicos de la familia Leptodactylidae mediante el análisis cariotípico. Physis, 30: 673-685.
- BARROS R., 1918 Notas sobre el sapito vaquero (Rhinoderma darwini). Rev. Chil. Hist. Nat., 22: 71-75.
- BURGER O., 1905 La neomelia de la Rhinoderma darwinii D. & B. Santiago. Chile. Imprenta Cervantes.
- CEI J. M., 1962 Batracios de Chile. Santiago, Chile. Ediciones de la Universidad de Chile. Díaz N., Veloso R., y Galleguillos R., 1972 - El cariotipo de Rhinoderma darwini. Primeras Jornadas Reunión Regional de Valparaiso. Soc. Biol. Chile.

- DUMERIL A. M. C. et BIBRON G., 1841 Hist. Nat. Rpt. 8: 659.
- ESPADA J. M., 1872 Sobre la reproducción de Rhinoderma darwini. Anales de la Soc. Esp. de Hist. Nat., 1: 139-151.
- Freeman J. A., 1962 Fine structure of globlett cell mucus secretory process. Anat. Rec., 144: 341-357.
- GAY CL., 1848 Historia Física y Política de Chile. Zoología, 2: Paris.
- GLAUERT A. M. and GLAUERT R. H., 1958 Araldite as an embedding for electron microscopy. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4: 191-194.
- GLAUERT A. M., 1965 Section staining, cytology, autoradiography and immunochemistry for biological specimens. En «Techniques for electron microscopy», B. KAY ed. Oxford & Edinburgh: 254-310.
- GRIFFITHS I., 1959 The phylogeny of Sminthillus limbatus and the state of the Brachycephalidae (Amphibia Salientia). Proc. Zool. Soc. London, 132: 457-487.
- Howe E. G., 1888 Notes on the brood-pouch of Rhinoderma darwini. Proc. Zool. Soc. London: 231-237.
- JORQUERA B., PUGIN E., y GOICOECHEA O., 1972 Tabla de desarollo normal de Rhinoderma darwini. Arch. de Med. Vet., 4: 5-19.
- KUROSUMI K., 1961 Electron microscopic analysis of the secretion mechanism. Int. Rev. Cytol., 11: 1-124.
- LAMOTTE M. et XAVIER F., 1972 Recherches sur le développement embryonnaire de Nectophrynoides occidentalis Angel, amphibien anoure vivipare. I. Les principaux traits morphologiques et biométriques du développement. Ann. Embr. Morph., 4: 315-340.
- LYNCH J. D., 1971 Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of leptodactyloid frogs. Misc. publ. Mus. nat. Hist. Univ. Kansas, 53: 1-238.
- LUFT J. P., 1961 Improvement in epoxy resin embedding methods. J. Cell. Biol., 9: 409.
- Mendoza G., 1972 The fine structure of an absorptive epithelium in a viviparous Teleost. J. Morph., 136: 109-130.
- Noble G., 1957 The biology of the amphibians. New York. Dower Pub. Inc., pp. 71, 74, 411, 507.
- PFLAUMER C., 1935 Observaciones biológicas acerca de la Rhinoderma darwinii D. & B. Rev. Chil. Hist. Nat., 39: 28-30.
- Schulz H. and Paola D. D., 1958 (Cité par Kurosumi, 1961).
- WILHELM O., 1927 La Rhinoderma darwinii D. & B. Bol. Soc. Biol. Concepción (Chile), 1: 11-39.
- WILHELM O., 1932 Nuevas observaciones acerca de la neomelia de la Rhinoderma darwinii. Rev. Chil. Hist. Nat., 36: 166-170.