

*QUELQUES DONNÉES NOUVELLES SUR LA STRUCTURE DE
TONOFIBRILLES D'INSERTION MUSCULAIRE CHEZ
CARCINUS MAENAS L.*

par ROGER LAVALLARD

Département de Physiologie Générale et Animale, et
Section de Microscopie Électronique de l'Université de
São Paulo. São Paulo — Brésil.

(4 Planches)

INTRODUCTION

Les modalités d'attache des muscles au squelette au cuticulaire des Crustacés ont donné lieu à de nombreuses observations, portant principalement sur les structures rencontrées au niveau de l'épithélium tégumentaire. Une revue de ces travaux est incluse dans la monographie de RICHARDS (1) sur le tégument des Arthropodes.

Un point commun à la majorité des descriptions d'insertions musculaires chez les Crustacés, concerne l'existence, dans l'épithélium, de fibrilles non striées transversalement, les tonofibrilles, qui joignent les myofibrilles à la cuticule. Étant donnée leur situation intermédiaire, ces tonofibrilles sont depuis longtemps le sujet de certaines controverses, notamment à propos de leur origine et de leurs relations avec les cellules épithéliales (cf. 1). Considérant la diversité des types d'attaches musculaires chez les Crustacés (cf. 2), le présent travail ne prétend pas apporter de réponses définitives et générales à ces vieilles questions. Il se limite à relater quelques observations préliminaires effectuées, chez un Crustacé Décapode, sur un type particulier de tonofibrilles d'insertion musculaire, relativement favorable à l'utilisation du microscope électronique. Il tente aussi d'établir dans quelle mesure ces observations peuvent être situées dans le cadre des résultats et des discussions de la cytologie classique.

Chez les Crustacés Décapodes, la principale difficulté de l'étude des tonofibrilles d'insertion musculaire, en microscopie électronique, réside dans la grande proximité d'un tégument dur, souvent fortement calcifié, qui s'oppose à la réalisation de coupes ultrafines par destruction irrémédiable du fragile couteau de verre. Le matériel utilisé ici est favorable en ce sens qu'il comporte un ensemble de cellules épithéliales et de tonofibrilles très allongées, en contact avec des apodèmes peu développés et relativement mous. Ces derniers ne sont pas un obstacle à un passage convenable du couteau de verre, si l'on prend la précaution d'en éliminer la plus grande partie de la surface de coupe. Il a ainsi été possible d'obtenir un certain nombre d'électromicrographies, dont les principaux caractères sont indiqués dans les planches illustrant ce texte.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel étudié provient des troisièmes maxillipèdes du Crabe enragé, *Carcinus maenas* L. Chaque maxillipède comporte un exopodite terminé par un fouet animé de battements rapides. Deux apodèmes antagonistes partent de la base du fouet, sur lesquels viennent s'attacher les muscles moteurs des battements. Ce sont les tonofibrilles intermédiaires entre les muscles et les apodèmes qui font l'objet des observations suivantes.

En ce qui concerne la microscopie optique, les pièces sont fixées par les liquides de BOUIN, de HELLY ou de HALMI (3) et décalcifiées, soit par le propre fixateur (Halmi), soit par une solution à 5% d'acide trichloracétique. Afin d'obtenir un certain ramollissement du tégument décalcifié, après déshydratation jusqu'à l'alcool à 95°, les pièces sont maintenues quelques jours dans l'alcool butylique renouvelé. Les inclusions sont faites selon le procédé mixte à la celloidine-paraffine de PETERFI et les blocs obtenus sont débités en coupes de 5 μ d'épaisseur. Les coupes sont ensuite traitées, soit par des colorations au bleu d'aniline (trichrome de MASSON ou Azan), soit par l'hémalum-picro-indigocarmin (4), soit par la réaction de MAC MANUS (5).

Pour la microscopie électronique, les fixations ont lieu pendant une heure à température ambiante, dans une solution de tétr oxyde

d'osmium à 3%, tamponnée à pH 7,4-7,6 d'après la méthode de PALADE (6). Après déshydratation par la série des alcools, l'inclusion des pièces est faite dans un mélange de 9 parties de méthacrylate de n-butyle avec une partie de méthacrylate de n-méthyle, dont la polymérisation est assurée par 1% de Luperco C D B, à 60°C. Les coupes sont effectuées au microtome PORTER-BLUM, et observées aux grossissements originaux de 2.000 à 15.000, avec un microscope R C A, modèle E M U.

RÉSULTATS

Généralités

Les micrographies optiques des Figs. 1 et 2 donnent une vue d'ensemble, en coupe longitudinale, de l'attache de muscles sur un apodème du fouet de l'exopodite. Les principaux constituants d'une zone d'insertion musculaire quelconque de Crustacé s'y trouvent représentés: le squelette tégumentaire, qui est ici un apodème (Ap.), les muscles formés par les fibres musculaires (F.m.) renfermant les faisceaux de myofibrilles (Mf.), l'épithélium (Ep.) et les tonofibrilles (Tf.).

Les plus souvent chez les Crustacés, par exemple dans le cas de nombreux muscles des appendices locomoteurs, chaque fibre musculaire, possédant un diamètre constant sur toute sa longueur, offre une surface d'insertion sensiblement égale à sa surface de section transversale. Les myofibrilles arrivent parallèlement les unes aux autres au contact de l'épithélium. Une particularité apparaît donc ici avec le phénomène de convergence des faisceaux de myofibrilles à proximité de l'épithélium, de telle sorte que les fibres musculaires présentent une extrémité fusiforme (F.m., Fig. 2). Cette disposition peut s'interpréter en replaçant les muscles dans l'article qui les contient. En raison du profil triangulaire de ce dernier, l'ensemble des deux muscles antagonistes a la forme d'un cône allongé, dont le sommet correspond à l'attache distale des fibres musculaires sur les apodèmes très courts du fouet. Comme chaque muscle comprend le même nombre de fibres musculaires sur toute sa longueur, la surface disponible pour l'insertion de ces fibres sera bien moindre au sommet qu'à la base du cône musculaire. Il en résulte, au niveau de l'insertion distale,

cet aspect de concentration du matériel myofibrillaire sur la faible surface offerte par les apodèmes.

La partie de l'insertion musculaire examinée au microscope électronique comprend seulement les tonofibrilles, l'épithélium et la zone la plus interne de la cuticule. L'ultrastructure des fibres musculaires à déjà été rapportée dans un travail précédent (7); la région importante de jonction des myofibrilles avec les tonofibrilles est en cours d'étude. Les micrographies optiques des trois premières figures, de grandissements croissants, sont destinées à localiser, à l'échelle de l'histologie classique, les zones où sont observées les ultrastructures des autres planches. A cet effet, la Fig. 4, électromicrographie de faible grandissement, permet de faire la relation, en particulier par les noyaux allongés et les tonofibrilles, entre la Fig. 3 et les autres micrographies électroniques. Il faut remarquer que, dans cette Fig. 4, apparaît un nouveau constituant, le complexe des membranes plasmiques (m.p.) qui peut être un facteur important d'interprétation pour les relations entre les différentes parties de l'insertion.

Cuticule

La partie cuticulaire de l'insertion musculaire ici considérée, comporte les deux apodèmes qui partent de la base du fouet de l'exopodite. L'étude de coupes longitudinales sériées montre que ce sont bien des apodèmes, selon les termes de la définition (1), car ils apparaissent comme des replis tégumentaires invaginés, avec cavité centrale et épicuticule acidophile bordant la procuticule basophile. Chaque apodème présente un élargissement terminal déprimé dans sa partie centrale, l'ensemble évoquant le profil d'une ventouse pédiculée en coupe longitudinale. Dans le pédicule, la cavité de l'invagination est virtuelle et les épicuticules sont appliquées l'une contre l'autre; l'épaisseur de l'ensemble de la cuticule est faible: 4 à 6 μ ; la structure classique de la procuticule, en lamelles superposées, y est parfaitement conservée. Au contraire, dans la partie terminale élargie, la cavité centrale est bien développée; la cuticule de la dépression médiane, où viennent s'insérer les fibres musculaires, est beaucoup plus épaisse: 30 à 40 μ et la lamellation de la procuticule n'y est plus discernable. L'apodème Ap. de la Fig. 1 montre cette zone cuticulaire épaisse sans lamellation; par contre, la cavité de l'invagination n'y

est pas visible parce que le plan de coupe est passé très latéralement, sur le bord de la dilatation terminale de l'apodème.

L'attache des fibres musculaires par l'intermédiaire de tonofibrilles sur les apodèmes du fouet de l'exopodite semble donc corrélative d'un épaissement du tégument et d'une disparition de la structure en lamelles de la procuticule. Dans cette dernière, on ne distingue plus que des faisceaux de fibrilles (F.c., Figs. 1 et 2), plus ou moins bien individualisés parce qu'empâtés dans une substance fondamentale; ils sont orientés de façon prédominante dans le prolongement des tonofibrilles, c'est-à-dire selon la direction des forces de traction des fibres musculaires. En effet, étant donnée la forme des apodèmes, les fibres musculaires et les tonofibrilles qui les prolongent ne peuvent toutes entrer en contact avec le tégument selon le même angle d'incidence; certaines sont disposées perpendiculairement à la surface de l'apodème, d'autres au contraire très obliquement (Fig. 1). Il est ainsi possible de constater que l'orientation des faisceaux de fibrilles de la procuticule des apodèmes est en relation avec l'incidence des tonofibrilles.

Toutes les observations précédentes sont faites en microscopie optique, car avec le microscope électronique, la plus grande partie de l'apodème étant éliminée de la surface de coupe, on examine seulement la zone la plus interne de la cuticule, c'est-à-dire celle qui correspond à la couche membraneuse non calcifiée. Au microscope électronique, la zone de cuticule située à proximité de l'épithélium (Ap., Figs. 5, 9 et 10) apparaît comme formée de filaments fins (F.c. 1), beaucoup moins osmiophiles que les tonofilaments voisins et aussi moins individualisés, probablement parce que noyés dans la substance fondamentale cuticulaire. Leur diamètre se situe entre 150 et 250 Å., cette mesure étant approximative en raison du manque de précision dans les contours. Les filaments sont disposés par faisceaux suivant un parcours légèrement ondulé, mais qui reste parallèle à la surface tégumentaire. Les groupes de filaments sont interrompus à intervalles irréguliers par des taches de forte densité (Figs. 9 et 10, F.c. 2); d'un développement inégal selon les cas, certaines sont très allongées et l'on peut y distinguer alors un autre type de filaments encore moins nettement délimité, mais d'une osmiophilie plus forte. L'orientation de ces filaments denses est dif-

férente, de telle sorte qu'ils forment avec le premier système de filaments, un angle sensiblement voisin de celui formé par les tonofibrilles avec la surface cuticulaire.

Il faut encore signaler, dans la cuticule proximale de l'apodème, des accumulations très denses d'osmium (0., Figs. 5 et 9), de contour subcirculaire, d'un diamètre variant de 0,3 à 0,4 μ . Certaines zones de la cuticule proximale en sont complètement dépourvues; quand elles apparaissent, elles se trouvent alors à une distance les unes des autres allant de 2 à 5 μ . Ces formations sont sans doute en relation avec les structures verticales de la cuticule.

L'épithélium

DRACH (8) a montré qu'il fallait distinguer, sur la face interne du tégument, des zones musculaires, correspondant aux zones d'insertion des muscles, et des surfaces cuticulaires banales, correspondant au tégument localisé entre les zones d'insertion de deux muscles voisins. Cette distinction est valable pour tous les articles des appendices et pour les sternites thoraciques.

Une subdivision analogue a été établie (9), non plus au niveau du muscle, mais à celui des fibres musculaires: à l'intérieur d'une même zone musculaire, il existe toujours, entre les zones d'insertion de fibres musculaires voisines, une surface cuticulaire banale. A ces deux types de surface tégumentaire interne correspondent deux types de cellules épithéliales: les cellules épithéliales d'insertion musculaire, comprises à l'intérieur de la surface d'insertion d'une fibre musculaire, à contenu obscurci par le passage des tonofibrilles, et les cellules épithéliales banales, à cytoplasme clair, sans tonofibrilles, localisées entre les surfaces d'insertion des fibres musculaires.

Dans le type d'insertion musculaire ici considéré, en dépit de la grande densité des myofibrilles et de la surface réduite des apodèmes, les cellules épithéliales banales sont présentes entre les groupes de cellules épithéliales à tonofibrilles situées en face de l'insertion des fibres musculaires (Ep. 1, Fig. 2). Elles se distinguent de leurs voisines, au microscope optique, par leur cytoplasme clair, leur noyau arrondi ou ovoïde et leurs dimensions: 40 à 60 μ de long, 6 à 8 μ de large. Les largeurs des cellules épithéliales sont toujours mesurées au niveau de leur contact avec la cuticule; le plus souvent, en effet,

le profil de l'empreinte de la cellule dans le tégument est perceptible, ce qui offre l'avantage de mesurer sur des limites rigides, non susceptibles de variation en fonction de la fixation ou de l'étirement provoqué par les muscles, dans le cas des cellules à tonofibrilles. La membrane basale, (m.b., Fig. 2), occupe la position habituelle, le long de la face interne des cellules épithéliales.

La longueur des cellules à tonofibrilles (Ep. 2, Fig. 2) est plus grande et également plus variable: de 100 à 500 μ , parfois davantage. Il est remarquable que les cellules à tonofibrilles les plus courtes soient orientées perpendiculairement à la surface de l'apodème. D'une façon générale, elles sont d'autant plus longues qu'elles arrivent plus obliquement au contact de la cuticule (Fig. 1), et cette particularité a pour résultat d'établir une certaine compensation aux différences éventuelles de longueur des fibres musculaires en relation avec la forme de l'apodème. Leur largeur au niveau de la cuticule est du même ordre de grandeur que celle des cellules épithéliales banales, mais à une certaine distance du support rigide tégumentaire, elles paraissent d'autant plus étroites qu'elles sont plus allongées, comme si l'augmentation de leur plus grande dimension provenait, dans une certaine mesure, d'un phénomène d'étirement. Elles dépassent donc de beaucoup, du côté interne, la couche des cellules épithéliales banales. Or la membrane basale épithéliale est ici aussi en continuité avec le revêtement conjonctif du sarcolemme des fibres musculaires, comme cela a été observé pour beaucoup d'Arthropodes (cf. 1). En conséquence, à la périphérie de l'insertion d'une fibre musculaire, la membrane basale sous-jacente aux cellules épithéliales banales, s'infléchit et se dispose le long des faces latérales externes des cellules épithéliales à tonofibrilles, avant de se continuer par le sarcolemme.

Le contenu des cellules épithéliales à tonofibrilles est principalement caractérisé par une abondance très grande de tonofibrilles, organisées en faisceaux denses qui laissent peu de place pour le cytoplasme et les autres organites cellulaires. L'étirement de ces cellules, ajouté au faible volume cytoplasmique, se traduit par un allongement des noyaux qui se disposent parallèlement aux tonofibrilles. La micrographie optique de la Fig. 3 met en évidence deux cellules épithéliales voisines avec leur faisceau dense de tonofibrilles et leur noyau allongé, dans un cytoplasme réduit à une fine couche, le long des mem-

branes intercellulaires. Les noyaux des cellules épithéliales à tonofibrilles sont en général localisés à proximité de la cuticule.

L'influence de l'abondance et de l'étirement des tonofibrilles sur l'organisation des cellules épithéliales de l'insertion musculaire se retrouve en microscopie électronique. Très souvent, les structures sont serrées les unes contre les autres, comprimées entre les tonofibrilles et il devient difficile d'analyser les aspects obtenus sur les micrographies électroniques. La Fig. 8 montre une coupe longitudinale ultramince dans l'épithélium à tonofibrilles; trois noyaux allongés indiquent l'existence de trois cellules voisines qui sont donc particulièrement étroites à ce niveau et dont il est difficile de distinguer les limites et les ultrastructures. Il est quelquefois plus avantageux d'utiliser des préparations mal fixées, en condition d'hypotonie, comme c'est le cas dans la Fig. 4, parce qu'il se produit alors un certain gonflement de la cellule et une dispersion corrélative des structures qui les rend plus facilement reconnaissables.

Avec le microscope électronique, on rencontre donc de nouveau les noyaux allongés, orientés parallèlement aux tonofibrilles et localisés à proximité de la cuticule. Ces noyaux montrent l'ultrastructure habituelle (10) avec une chromatine diffuse, plus densément distribuée à la périphérie, une double membrane nucléaire et un ou plusieurs nucléoles très osmiophiles (Figs. 5, 6, 8 et 9).

Les mitochondries présentent également une dimension prédominante orientée selon les tonofibrilles. Elles sont de proportion nettement inférieures à celles des mitochondries rencontrées dans les fibres musculaires de l'exopodite (7); leur diamètre atteint au maximum $0,25\mu$ et leur longueur dépasse rarement 2μ . Elles montrent une ultrastructure classique (11) avec des invaginations plus ou moins en forme de lamelles à partir de la membrane mitochondriale interne.

Un caractère nouveau et important des cellules épithéliales à tonofibrilles est mis en évidence par le microscope électronique. Il concerne l'existence de doubles membranes plasmiques continues qui traversent, plus ou moins parallèlement entre elles, le cytoplasme des cellules épithéliales entre les tonofibrilles (m.p., Figs. 4 à 13). Ce système de membranes plasmiques sera décrit dans un paragraphe particulier et commenté dans la discussion.

Tonofibrilles

Les relations entre les myofibrilles et les tonofibrilles ont donné lieu anciennement (cf. 1), surtout chez les Insectes, à deux séries d'observations bien différentes. Certains auteurs décrivaient une prolongation des myofibrilles par les tonofibrilles, d'autres affirmaient une solution de continuité entre les deux types de fibrilles, au niveau de la membrane basale. Il semble maintenant, que la notion d'une liaison fibrillaire continue, entre la cuticule et les myofibrilles, soit généralement admise. Il ne sera pas traité en détail ici, de la jonction entre myofibrilles et tonofibrilles ni du contact entre fibres musculaires et cellules épithéliales, car l'étude des ultrastructures de cette zone est en cours et fera l'objet d'une note ultérieure. Cependant, il est déjà possible d'affirmer, uniquement par les micrographies optiques, que dans les insertions musculaires du fouet de l'exopodite, les faisceaux de tonofibrilles se montrent bien en continuité avec les faisceaux de myofibrilles. L'observation est aisée dans le cas présent, car le sarcoplasme périphérique abondant de la fibre musculaire maintient la membrane basale à distance de l'extrémité des myofibrilles, ce qui laisse apparaître clairement la zone de transition entre myofibrilles et tonofibrilles, (Fig. 2). Les faisceaux de tonofibrilles sont d'autant plus longs et plus denses qu'ils arrivent plus obliquement au contact de la surface de l'apodème.

Il est possible d'évaluer approximativement la concentration du matériel fibrillaire au niveau de l'épithélium, en comparant le diamètre d'un faisceau de myofibrilles parallèles, à une certaine distance de l'apodème, avec le diamètre du faisceau de tonofibrilles correspondant. Quand l'insertion est très oblique, il est fréquent de constater que le diamètre du faisceau de tonofibrilles atteint seulement le quart de celui du faisceau de myofibrilles. La concentration du matériel fibrillaire est telle qu'il n'est pas possible ici, de discerner les tonofibrilles les une des autres au microscope optique, au contraire du cas des insertions larges comme celles des fibres musculaires sur le tégument des appendices locomoteurs. L'existence des tonofibrilles se traduit seulement par une fine striation longitudinale du matériel dense qui relie les myofibrilles à la cuticule (Tf., Fig. 3); seules les coupes ultrafines, examinées au microscope électronique, permettent de les individualiser.

Le microscope électronique permet non seulement la mise en évidence de tonofibrilles isolées, mais encore il révèle que chaque tonofibrille est elle-même un faisceau de filaments submicroscopiques de 100 Å. de diamètre, avec des intervalles de 100 à 200 Å. (cf., Figs. 5 à 13). En considération du terme adopté par SELBY (12) pour les constituants submicroscopiques des tonofibrilles de cellules épidermiques chez l'Homme, ces filaments sont également désignés ici sous le nom de tonofilaments. Toutefois les observations de la microscopie électronique semblent montrer que tonofibrilles d'insertion musculaire des Arthropodes et tonofibrilles de cellules épidermiques des Mammifères sont des structures complètement différentes.

La subdivision des tonofibrilles en tonofilaments rappelle l'organisation des myofibrilles en faisceaux de myofilaments (13). Comme dans le cas de ces dernières, le diamètre des tonofibrilles est très variable et est surtout fonction du nombre de tonofilaments qui entrent dans leur constitution. Cependant, tandis que les myofibrilles des muscles de l'exopodite restent isolées et de même épaisseur sur toute leur longueur (7), il est fréquent d'observer la fusion de faisceaux voisins de tonofilaments en une seule tonofibrille plus volumineuse. Par ailleurs, dans les muscles de l'exopodite, les myofilaments demeurent équidistants les uns des autres sur toute la longueur de la myofibrille. Au contraire, dans les tonofibrilles, il y a de façon irrégulière, des espaces internes produits par écartement des tonofilaments, occupés par du cytoplasme et même des mitochondries allongées (Cp., Fig. 8). La surface d'insertion d'une tonofibrille est beaucoup plus grande que sa surface de coupe transversale (Figs. 9 et 10). Ceci est attribuable à deux raisons principales: d'une part l'orientation oblique de la tonofibrille par rapport à la surface cuticulaire, d'autre part l'élargissement du faisceau des tonofilaments qui s'écartent légèrement les uns des autres avant de se joindre à la cuticule.

L'absence de striation transversale des tonofibrilles signalée depuis longtemps chez tous les Arthropodes (cf. 1) se remarque bien sur la Fig. 2, qui montre le passage d'un faisceau de myofibrilles typiquement striées (zones isotrope I et anisotrope A, ligne Z, disque de Hansen H) à un faisceau de tonofibrilles dépourvu de toute zo-

ration transversale. Ce caractère est confirmé par le microscope électronique (Figs. 6 à 13), tant à l'échelle de la tonofibrille que du tonofilament.

Membranes plasmiques longitudinales

Sur toutes les coupes ultrafines passant par les cellules épithéliales à tonofibrilles, le microscope électronique met en évidence un système de membranes plasmiques doubles qui traversent longitudinalement l'épithélium. Quand les tonofibrilles sont densément distribuées (Fig. 8), il est nécessaire d'utiliser de forts grossissements pour distinguer ces membranes, serrées et plus ou moins dissimulées par les tonofilaments. Ces doubles membranes ne sont pas toujours rectilignes; elles décrivent souvent de légères ondulations et parfois, de fortes sinuosités (Fig. 5). Cependant par leur orientation générale, elles sont parallèles entre elles selon la grande dimension des cellules, donc parallèles aux tonofibrilles. L'épaisseur de chaque membrane se situe aux environs de 50 Å.; elles sont séparées l'une de l'autre par une distance assez peu variable, de l'ordre de 100 à 150 Å.

Ces membranes plasmiques doubles sont continues sur toute leur longueur. Il a été observé la bifurcation d'une double membrane, indiquée par la flèche sur la Fig. 13, mais vis-à-vis du nombre d'électromicrographies considérées, ce phénomène n'est pas fréquent. A aucun des niveaux observés, les doubles membranes ne montrent de solution de continuité ni de fenestration multiple en un réseau du type réticulum endoplasmique. On peut le constater par la régularité des lignes denses qui figurent les membranes plasmiques, lorsqu'elles sont coupées transversalement; ceci se vérifie encore par la disparition quasi totale des membranes lorsqu'elles sont orientées tangentiellement au plan de coupe (Fig. 7). S'il s'agissait d'un réseau, ses mailles devraient alors apparaître de face.

Dans les zones cytoplasmiques comprises entre les doubles membranes, de nombreux profils d'endomembranes correspondent au réticulum endoplasmique. Ce sont surtout des vésicules de formes et de dimensions variables, distribuées irrégulièrement, sans apparence d'organisation déterminée. Elles sont très souvent appuyées contre les membranes plasmiques doubles, mais les préparations obtenues

jusqu'alors ne permettent pas d'affirmer de relation de continuité entre les deux formations.

Avec les seules micrographies électroniques de coupes longitudinales, il est possible de déduire que les membranes plasmiques doubles situées au voisinage d'une tonofibrille, forment autour de cette dernière, une enveloppe subcylindrique. — Il y a toujours une double membrane de chaque côté d'une tonofibrille, soit deux doubles membranes entre deux tonofibrilles voisines (Figs. 4, 6, 7, 10, 12 et 13). — Les doubles membranes sont situées à une distance relativement constante de la périphérie de la tonofibrille, comme si elles accompagnaient régulièrement son contour. En effet, plus le plan de coupe est latéral dans la tonofibrille plus celle-ci semble fine et plus les doubles membranes sont rapprochées l'une de l'autre (Figs. 10 et 11). Il arrive qu'il ne reste plus que quelques tonofilaments ($\times 1$, Fig. 10), et même dans certains cas limites, le plan de coupe n'intéresse plus que les deux doubles membranes qui sont alors très voisines ($\times 2$, Fig. 7). — Enfin, sur coupe oblique, en avant de l'extrémité de la tonofibrille, les doubles membranes latérales se rejoignent ($\times 3$, Fig. 4); ceci indique qu'elles appartiennent à une même formation continue enveloppant la tonofibrille.

Il faut considérer un autre type de membranes plasmiques doubles longitudinales, sans relations directes avec les tonofibrilles, puisqu'il correspond à la juxtaposition des membranes cytoplasmiques de deux cellules épithéliales mitoyennes. On peut le reconnaître, sur coupe longitudinale, car il n'est pas en général à grande proximité d'une tonofibrille, mais c'est seulement par son passage entre deux noyaux voisins qu'on peut le distinguer avec certitude des membranes qui entourent les tonofibrilles. La Fig. 6 met en évidence les deux catégories de membranes plasmiques doubles: d'une part, les membranes plasmiques cellulaires (m.p. 1) passant entre les deux noyaux, d'autre part, l'enveloppe plasmique double d'une tonofibrille (m.p. 2). Il faut encore remarquer que les régions entre deux doubles membranes voisines, comme celles situées entre une double membrane et une tonofibrille, sont des zones cellulaires avec cytoplasme et réticulum endoplasmique. Seul le très faible espace localisé entre les deux membranes plasmiques correspond à l'espace extracellulaire.

Les deux catégories de membranes plasmiques doubles longitudinales se prolongent jusqu'au tégument. A proximité des premières couches cuticulaires, elles modifient leur parcours et commencent à décrire un système de sinuosités profondes, formant en coupe, des séries de boucles allongées plus ou moins mélangées les une aux autres (Figs. 9, 10 et 11). Le cytoplasme renferme alors des profils d'endomembranes plus nombreux et plus développés que dans les zones éloignées du tégument. Cette partie très contournée des doubles membranes sépare de la cuticule, la fraction cytoplasmique qui contient les noyaux allongés et qui appartient donc aux cellules épithéliales. Au contraire, les tonofibrilles entrent librement en contact avec la cuticule (Figs. 9 et 10), c'est-à-dire que le cytoplasme qui les contient vient s'appliquer directement contre la cuticule sans qu'il soit possible, dans la mesure des préparations, d'en discerner une limite figurée.

DISCUSSION

Chez divers Arthropodes, de nombreuses observations avec le microscope optique (cf. 1) on montré que les tonofibrilles se continuent dans la procuticule. Cette donnée se constate principalement dans le cas de surfaces d'insertions larges, où les myofibrilles et les tonofibrilles sont relativement en petit nombre. De ce fait, l'individualité des tonofibrilles est perceptible dans l'épithélium, de même que leur prolongement dans la procuticule. Dans le cas présent, il n'est pas possible d'individualiser des structures analogues aux tonofibrilles dans la procuticule de l'apodème. Mais il est également impossible d'individualiser les tonofibrilles dans les cellules épithéliales, tellement elles y sont nombreuses et densément réparties, cela en conséquence de la concentration des myofibrilles sur la surface réduite des apodèmes. De même que l'on constate seulement la présence de faisceaux de tonofibrilles dans l'épithélium, de même dans l'apodème, on voit seulement des faisceaux de fibrilles qui, orientés selon la direction des tonofibrilles, représentent probablement leur continuation dans la procuticule.

Un argument supplémentaire est apporté par l'épaississement du tégument au niveau de l'insertion musculaire, là où précisément apparaissent dans la procuticule ces faisceaux de fibrilles orientés dans le prolongement des faisceaux de tonofibrilles. Cette augmentation

peut multiplier jusqu'à sept ou huit fois l'épaisseur habituelle des zones de l'apodème où n'arrive pas de tonofibrille. On peut donc considérer que cette augmentation d'épaisseur serait en relation avec un apport important de matériel fibrillaire, constitué en l'occurrence par le prolongement des faisceaux de tonofibrilles qui vient se mêler et s'ajouter au matériel cuticulaire banal. Ceci paraît d'autant plus vraisemblable que l'épaississement de la cuticule ne correspond en rien à un renforcement de l'apodème. En effet, la partie proximale de l'apodème qui transmet au fouet de l'exopodite la somme de toutes les forces de traction du muscle, présente la cuticule la plus fine avec une lamellation typique.

La disparition de la structure typique en lamelles de la cuticule, en face de l'insertion des faisceaux de tonofibrilles, peut s'interpréter de la même façon, comme la conséquence d'un apport considérable de matériel fibrillaire qui va se mêler aux fibrilles cuticulaires des lamelles. Il en résulte que ces dernières sont comme camouflées par les prolongements des tonofibrilles, plus nombreux et surtout d'une orientation bien différente. Il est remarquable que dans les zones où, en relation avec les irrégularités de contour de l'apodème, il n'y a pas d'insertion de tonofibrilles, la lamellation de la cuticule réapparaît et son épaisseur diminue.

L'interprétation précédente est établie d'après les observations de la microscopie optique. Les données de la microscopie électronique ne sont pas en contradiction avec cette hypothèse de la sommation de deux systèmes de fibrilles: l'un, universel; qui correspond aux fibrilles des lamelles cuticulaires, l'autre, au niveau des insertions, provenant du prolongement des tonofibrilles dans la cuticule. Il faut rappeler que le microscope électronique n'a permis d'observer ici que les premières couches de la partie non calcifiée de la cuticule (= couche membraneuse) pour laquelle le schéma de la structure lamellaire donné par DRACH (14) n'est pas valable. Pourtant, il est probable que les filaments peu osmiophiles, parallèles à la surface de l'apodème, soient ces formations très voisines des fibrilles horizontales des lamelles. Les zones à filaments osmiophiles, allongées selon la direction des tonofibrilles, pourraient être considérées comme le prolongement des tonofilaments entre les fibrilles de la couche membraneuse. Leur orientation et leur densité correspondent bien à celles des tonofilaments; sur

La Fig. 9, qui montre le contact d'une tonofibrille avec la cuticule, cette correspondance est particulièrement nette. Le développement inégal de ces zones osmiophiles ne peut être attribué qu'à une orientation variable de leurs faisceaux de filaments denses par rapport au plan de la coupe (ces zones sont d'autant plus allongées que le grand axe des filaments se rapproche du plan de coupe et vice-versa), ce qui traduit une certaine ondulation du parcours des filaments denses dans la cuticule.

Avec le microscope optique, chaque faisceau de tonofibrilles semble être contenu dans une cellule épithéliale dont il occuperait la majeure partie du volume; au niveau de l'apodème, son insertion se localise à l'intérieur de la surface de contact de la face externe de la cellule épithéliale avec la cuticule. Le microscope électronique met en évidence les membranes plasmiques qui permettent d'établir des limites cellulaires nouvelles. C'est le cas de la zone de cytoplasme qui enveloppe chaque tonofibrille et qui est séparée du cytoplasme de la cellule épithéliale par une double membrane plasmique. Cette zone cytoplasmique à tonofibrille pourrait s'interpréter comme de nature épithéliale en considérant que, du fait d'un contour irrégulier et interpénétré des faces latérales des cellules épithéliales, elle représente chaque fois la coupe d'une expansion latérale de la cellule épithéliale voisine. Mais cette hypothèse est difficilement acceptable, d'une part à cause de la présence constante des doubles membranes autour de chaque tonofibrille, d'autre part en raison de l'accès direct des tonofibrilles à la cuticule. Au contraire, les zones de cytoplasme contenant les royaux, considérées comme appartenant aux cellules épithéliales, sont séparées de la cuticule par le complexe sinueux des membranes plasmiques. Cela conduit alors au concept d'une cellule épithéliale criblée par des prolongements d'un cytoplasme d'une autre nature, renfermant chacun une tonofibrille et des mitochondries. Il reste à prouver si ces prolongements traversent effectivement les cellules épithéliales ou bien s'ils se localisent entre les cellules épithéliales. Dans ce dernier cas, il faut revenir encore à la notion de faces latérales des cellules épithéliales à profil très contourné, avec des dépressions longitudinales dans lesquelles pourraient être localisés les prolongements à tonofibrilles, donc en position intercellulaire. Une autre question se pose également sur la nature des membranes plasmiques qui entourent les

tonofibrilles. La membrane externe, par rapport à la tonofibrille, représente certainement la limite plasmique de la cellule épithéliale. Par contre, la membrane plasmique délimitant le prolongement cytoplasmique de la tonofibrille ne peut être identifiée qu'en mettant en évidence son origine. Naturellement, l'hypothèse la plus offerte rejoint les vues des cytologistes (cf. 1) qui regardaient les tonofibrilles comme des prolongements des myofibrilles à travers l'épithélium, et l'on est tenté de penser que la fibre musculaire accompagne les tonofibrilles jusqu'à la cuticule par des prolongements de sarcoplasme. Une étude plus avancée, avec des coupes longitudinales et transversales de la région de transition entre le muscle et l'épithélium, permettra sans doute d'obtenir des conclusions pour ces diverses suggestions. Quant à la grande abondance de replis dans les membranes plasmiques au contact de l'apodème, comme il s'agit d'un phénomène d'augmentation considérable des surfaces juxtaposées, il faudrait considérer ces aspects aux différentes phases du cycle d'intermue pour voir s'il y a des variations en relation avec la sécrétion de la cuticule, ou s'il s'agit de caractères structuraux permanents.

Quelles que soient leurs relations avec l'épithélium, les tonofibrilles exercent, par leur passage ou leur proximité, une grande influence sur la constitution de la cellule épithéliale d'insertion musculaire: allongement et orientation générale de la cellule, adaptation de la forme cellulaire au passage des tonofibrilles, réduction de l'espace disponible dans la cellule et déformation des organites (noyaux et mitochondries) dans le sens d'un allongement parallèle aux tonofibrilles. Cette influence est finalement en relation avec la traction que les fibres musculaires exercent sur les tonofibrilles, et il est possible qu'un certain nombre de caractères d'orientation des structures selon les forces de traction des muscles, soit déterminé au cours de la mue pendant la phase non calcifiée des téguments. En effet, il a été montré par WOLFE (15), chez les Insectes, que les tonofibrilles ne sont pas attaquées par le liquide de mue au cours de la résorption de l'ancien tégument, c'est-à-dire qu'elles sont présentes dès la formation des premières strates de la procuticule. Par leur intermédiaire, les muscles peuvent exercer des forces de traction orientées très tôt sur les éléments d'un ensemble tégumentaire en formation, le phénomène se continuant et s'augmentant à mesure de l'ac-

croissement transversal des fibres musculaires, impliquant selon MUNS-CHEID (16), la formation de nouvelles tonofibrilles dans l'épithélium et la procuticule. Au sujet de cette croissance transversale des muscles, il faut encore mentionner que l'augmentation de taille du faisceau de tonofibrilles, par la formation de nouvelles tonofibrilles dans l'épithélium, peut se faire selon plusieurs processus: par formation de nouveaux tonofilaments qui viennent grossir les tonofibrilles déjà existantes, par formation de nouvelles tonofibrilles dans les cellules épithéliales qui en contenaient déjà, par formation de nouvelles cellules épithéliales qui viendraient augmenter la surface de l'épithélium d'insertion musculaire, par apparition de tonofibrilles dans les cellules épithéliales banales, transformant celles-ci en cellules épithéliales à tonofibrilles annexées par l'insertion de la fibre musculaire. Ce problème apparaît donc comme assez complexe et ne pourra vraiment se résoudre qu'avec la confirmation des relations exactes entre les tonofibrilles et les cellules épithéliales.

Les tonofibrilles ne présentent pas les mêmes caractères d'individualité que les myofibrilles, en ce sens que les tonofilaments ne forment pas un seul faisceau continu et régulier sur toute leur longueur. Il a été signalé, en effet, que des regroupements de petits faisceaux en tonofibrilles plus grosses pouvaient se produire, de même qu'il pouvait apparaître, par endroits, à l'intérieur d'une même tonofibrille, une large zone de cytoplasme avec des mitochondries, subdivisant le faisceau de tonofilaments. Les tonofilaments semblent donc pouvoir se séparer les uns des autres ou se regrouper à n'importe quel niveau de leur longueur. Ceci est peut-être en relation avec l'absence de striation transversale et surtout de liaisons latérales à intervalle régulier entre les myofilaments, comme celles décrites par HODGE (17) dans un muscle d'insecte. Cependant, le nombre de tonofilaments est limité par l'enveloppe des doubles membranes plasmiques; c'est seulement à l'intérieur de cette limite qu'ils peuvent se grouper en un ou plusieurs faisceaux. On pourrait donc considérer cette quantité de tonofilaments, comprise à l'intérieur d'un prolongement cytoplasmique à travers l'épithélium, comme représentant l'unité tonofibrille. Quant à la continuation d'une myofibrille par une tonofibrille, la correspondance semble peu probable dans le type d'insertion étudiée ici, étant donnée l'irrégularité même des faisceaux de tonofilaments. Pour rencontrer

une équivalence entre les deux formations, il faudra sans doute considérer la continuation au niveau de l'unité filament: myofilament continué par tonofilament.

Un aspect controversé des insertions musculaires de Crustacés reste celui de l'existence de tendons entre certains muscles et le tégument. Cette notion même de tendon est assez variable selon les auteurs. RICHARDS (1) estime, pour l'ensemble des Arthropodes, qu'il y a un passage graduel des tonofibrilles aux tendons et des tendons aux apodèmes et aux apophyses. Au contraire DEBAISIEUX (2) oppose nettement tendons et apodèmes; pour cet auteur, les tendons sont des condensations de "substance interstitielle", principalement d'origine mésenchymateuse, sans chitine, donc complètement différents des apodèmes du squelette épidermique chitineux. MAYRAT (18) décrit un cas d'insertion musculaire par l'intermédiaire d'un long tendon n'ayant rien à voir avec une invagination de la cuticule, puisque ne participant jamais à l'exuviation et ne présentant pas d'épithélium sur son pourtour. WOLFE (15) a également montré que les tonofibrilles ne sont pas altérées par le liquide de mue. Il semble donc justifié de distinguer, d'une part, tonofibrilles et tendons non affectés par l'exuviation, d'autre part, apodèmes et apophyses renouvelés à chaque mue. Dans le cas de l'insertion musculaire du fouet de l'exopodite, on peut se demander si l'allongement important des cellules épithéliales et des tonofibrilles, la concentration des myofibrilles sur des faisceaux denses de tonofibrilles, la réduction de l'espace disponible pour les organites dans la cellule épithéliale, ne représentent pas une étape vers la formation de tendons. L'absence d'épithélium sur le pourtour, généralement observée, pourrait correspondre au fait que le tendon comporte dans sa constitution, des cellules épithéliales, mais tellement déformées, allongées et remplies de matériel tonofibrillaire, qu'il devient difficile d'en discerner les limites et les organites, sur toute sa longueur, avec le microscope optique.

RÉSUMÉ

Ce travail rapporte quelques observations nouvelles d'histologie et de microscopie électronique sur un type particulier d'attache musculaire chez un Crustacé Décapode, *Carcinus maenas* L. De nombreux faisceaux de myofibrilles viennent s'insérer, de façon convergente, sur

un apodème de surface réduite, par l'intermédiaire de faisceaux denses de tonofibrilles très allongées. La jonction des tonofibrilles avec le tégument semble corrélative d'un épaissement de la procuticule et d'une disparition de la structure en lamelles de cette dernière. On observe alors dans la procuticule, des faisceaux de fibrilles mal délimités, qui sont orientés suivant le prolongement des tonofibrilles. Au microscope électronique est examinée seulement la zone la plus interne non calcifiée de la cuticule, où des groupes de filaments denses, orientés suivant le prolongement des tonofilaments, recourent une autre catégorie de filaments, moins osmiophiles, sensiblement parallèles à la surface tégumentaire. Dans les cellules épithéliales d'insertion musculaire, beaucoup plus longues que les cellules épithéliales banales, les tonofibrilles laissent peu d'espace pour le cytoplasme et les organites cellulaires; les noyaux et les mitochondries sont ainsi déformés et allongés selon la direction des forces de traction musculaire. Les tonofibrilles apparaissent, au microscope électronique, comme formées par des faisceaux de tonofilaments dépourvus de toute striation transversale. Traversant longitudinalement l'épithélium, une membrane plasmique double semble isoler une zone de cytoplasme autour de chaque tonofibrille. Quelques hypothèses émises dans la discussion tentent d'interpréter ces observations dans le cadre des problèmes soulevés par la cytologie classique, concernant d'une part, les relations des tonofibrilles avec la procuticule et les cellules épithéliales d'insertion musculaire, d'autre part, l'existence des tendons chez les Crustacés.

RESUMO

Este trabalho relata algumas observações novas sobre a histologia e a microscopia eletrônica de um tipo particular de inserção muscular em um Crustáceo Decápodo, *Carcinus maenas* L. Numerosos feixes de miofibrilas chegam de modo convergente até um apodema de superfície reduzida, a que se ligam por meio de feixes densos de tonofibrilas muito alongadas. A junção das tonofibrilas com o tégumento parece correlacionar-se com um aumento da espessura da procutícula e com um desaparecimento da estrutura lamelar desta última. Observam-se então, na procutícula, feixes de fibrilas mal individualizadas e orientadas segundo o prolongamento das tonofibrilas.

Com o microscópio eletrônico, examinou-se somente a zona mais interna não calcificada da cutícula, onde grupos de filamentos densos, orientados segundo o prolongamento dos tonofilamentos, cruzam outra categoria de filamentos, menos osmiofílicos, sensivelmente paralelos à superfície tegumentar. Nas células epiteliais de inserção muscular, bem mais compridas do que as células epiteliais comuns, as tonofibrilas deixam pouco espaço para o citoplasma e os orgânulos celulares; os núcleos e as mitocôndrias são assim deformados e alongados paralelamente à direção das forças de tração muscular. Ao microscópio eletrônico, as tonofibrilas aparecem constituídas por feixes de tonofilamentos sem qualquer estriação transversal. Uma membrana plásmica dupla atravessa longitudinalmente o epitélio e parece isolar uma zona de citoplasma ao redor de cada tonofibrila. Algumas hipóteses emitidas na discussão, tentam interpretar essas observações em função dos problemas suscitados pela citologia clássica sobre, de um lado, as relações das tonofibrilas com a procutícula e as células epiteliais de inserção muscular e, do outro, a existência de tendões nos Crustáceos.



Pour toutes les facilités qui nous sont constamment offertes, nous exprimons nos remerciements au Docteur Helena de SOUZA SANTOS, au Docteur Persio de SOUZA SANTOS, au Professeur Paulo SAWAYA et au Professeur Paulo RIBEIRO de ARRUDA. Ce travail a pu être réalisé grâce à l'aide du Conseil National de Recherches du Brésil et de l'Université de São Paulo.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 — RICHARDS, A. G. — The Integument of Arthropods, Univ. Minnesota Press, 1951.
- 2 — DEBAISIEUX, P. — La Cellule, 1954, 56, 265.
- 3 — HALMI, N. S. — Stain Tech., 1952, 27, 61.
- 4 — GABE, M. — Bull. Biol. France et Belgique, 1946, 80, 53.
- 5 — MAC MANUS, J. F. A. — Nature, 1946, 158, 202.
- 6 — PALADE, G. E. — J. Exptl. Med., 1952, 95, 285.
- 7 — LAVALLARD, R., SOUZA SANTOS, H., SOUZA SANTOS, P., et SAWAYA, P. — Ciência e Cultura, 1959, 11, 25.

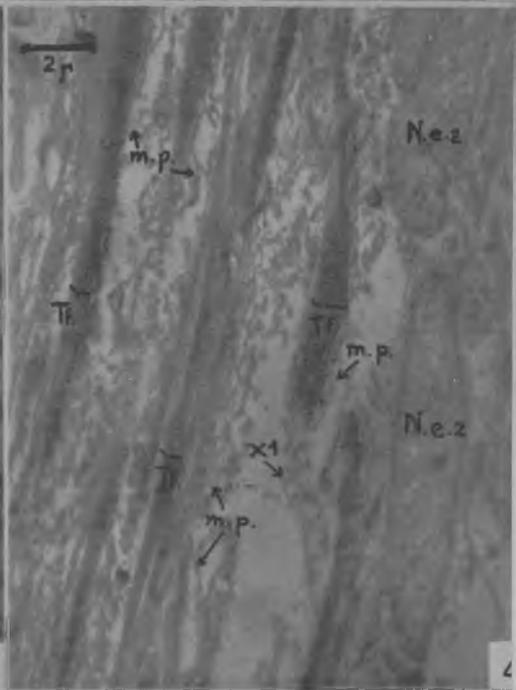
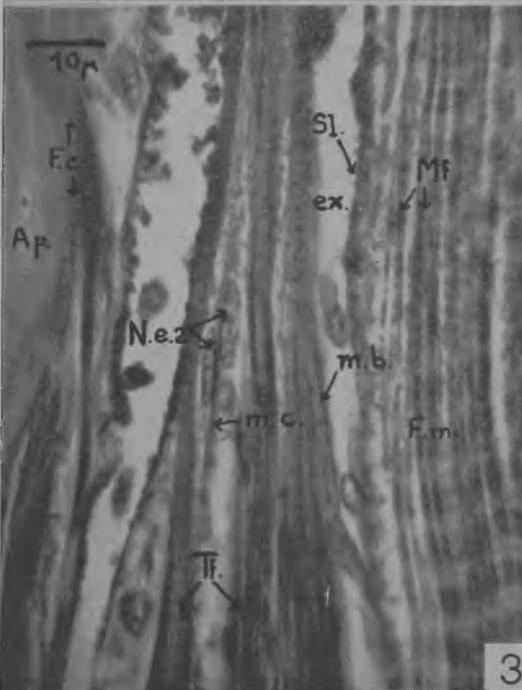
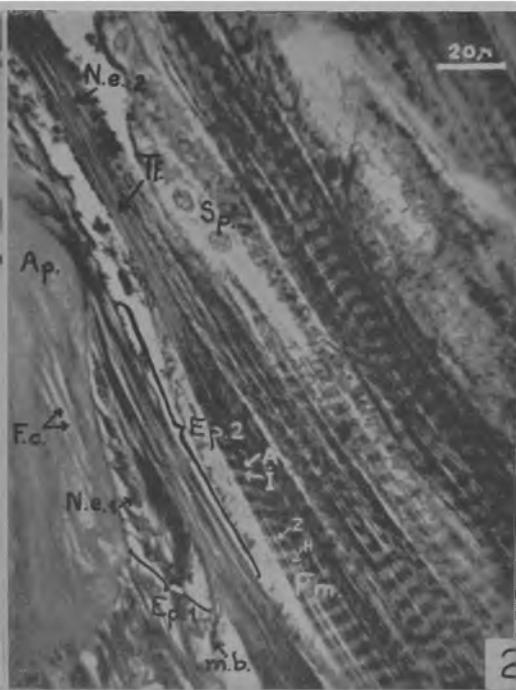
- 8 — DRACH, P. — Ann. Inst. Océanog. (Paris), 1939, 19, 103.
 9 — LAVALLARD, R. — D. E. S., Fac. Sci. Paris, Nov. 1954.
 10 — WATSON, M. L. — J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 1955, 1, 257.
 11 — PALADE, G. E. — Anat. Rec., 1952, 114, 427.
 12 — SELBY, C. C. — J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 1955, 1, 429.
 13 — HALL, C. E., JAKUS, M. A., and SCHMITT, F. O. — Biol. Bull., 1946, 90, 32.
 14 — DRACH, P. — C. R. Acad. Sci., Paris, 1953, 237, 1772
 15 — WOLFE, L. S. — Quart. J. Microsc. Sci., 1954, 95, 49.
 16 — MUNSCHHEID, L. — Z. Wiss. Zool. 1933, 143, 201.
 17 — HODGE, A. J. — J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 1955, 1, 361
 18 — MAYRAT, A. — Bull. Soc. Zool. France, 1955, 80, 81.

LÉGENDES

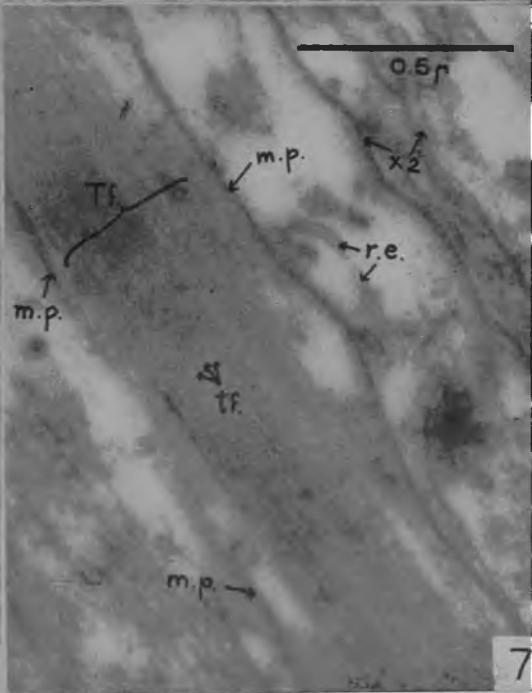
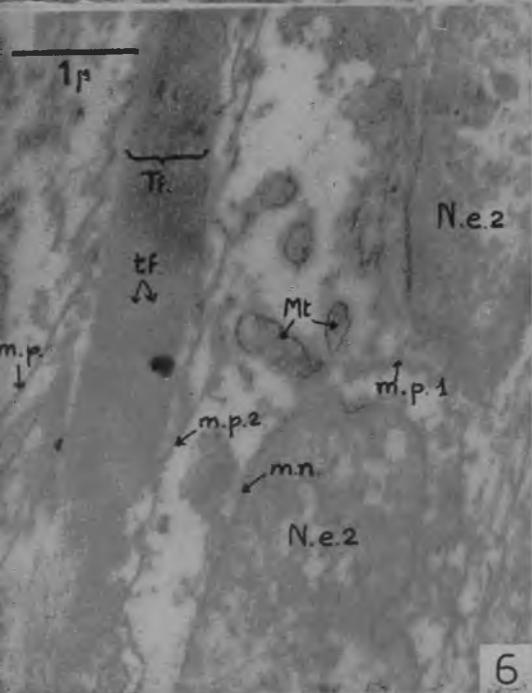
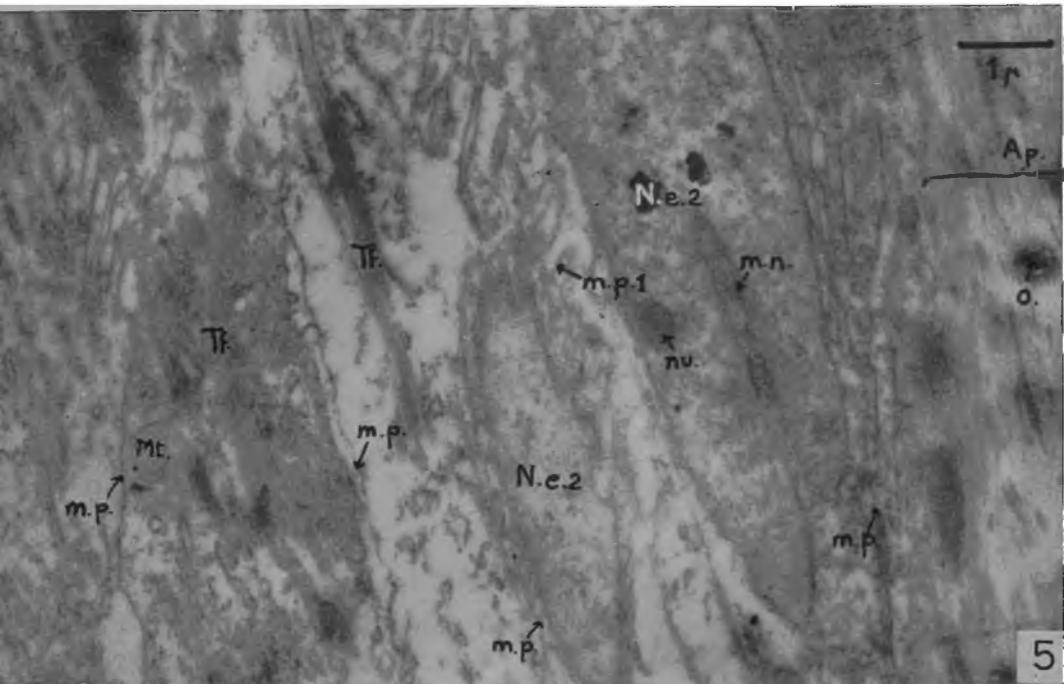
A: zone anisotrope; Ap.: apodème; Cp.: zones cytoplasmiques situées à l'intérieur des tonofibrilles, pouvant contenir des mitochondries allongées; Ep.: épithélium; Ep. 1: cellules épithéliales banales; Ep. 2: cellules épithéliales à tonofibrilles d'insertion musculaire; ex.: espaces extracellulaires; F.c.: fibrilles cuticulaires; f.c. 1: filaments cuticulaires parallèles à la surface tégumentaire; f.c. 2: filaments cuticulaires denses, orientés dans le prolongement des tonofilaments; F.m.: fibre musculaire; H: disque de Hansen; I: zone isotrope; m.b.: membrane basale; m.c.: membrane cellulaire; Mf.: myofibrilles; m.n.: membrane nucléaire double; m.p.: membrane plasmique longitudinale; m.p. 1: membrane plasmique double provenant de la juxtaposition des membranes cytoplasmiques de deux cellules épithéliales moyennes; m.p. 2: membrane plasmique double entourant une tonofibrille; Mt.: mitochondrie; N.e. 1: noyau des cellules épithéliales banales; N.e. 2: noyau des cellules épithéliales à tonofibrilles; nu.: nucléole; O.: dépôts d'Osmium de contour subcirculaire, peut-être en relation avec les pores cuticulaires; Sl.: sarcolemme; Sp.: sarcoplasme; Tf.: tonofibrilles; tf.: tonofilaments; xl.: coupe très latérale dans une tonofibrille, avec seulement quelques tonofilaments entre les deux membranes plasmiques doubles; x2: coupe longitudinale passant entre la tonofibrille et son enveloppe plasmique double qui, seule, est alors intéressée par la section; x3: les doubles membranes plasmiques latérales se rejoignent en avant d'une tonofibrille coupée obliquement; Z: ligne Z.

EXPLICATION DES PLANCHES

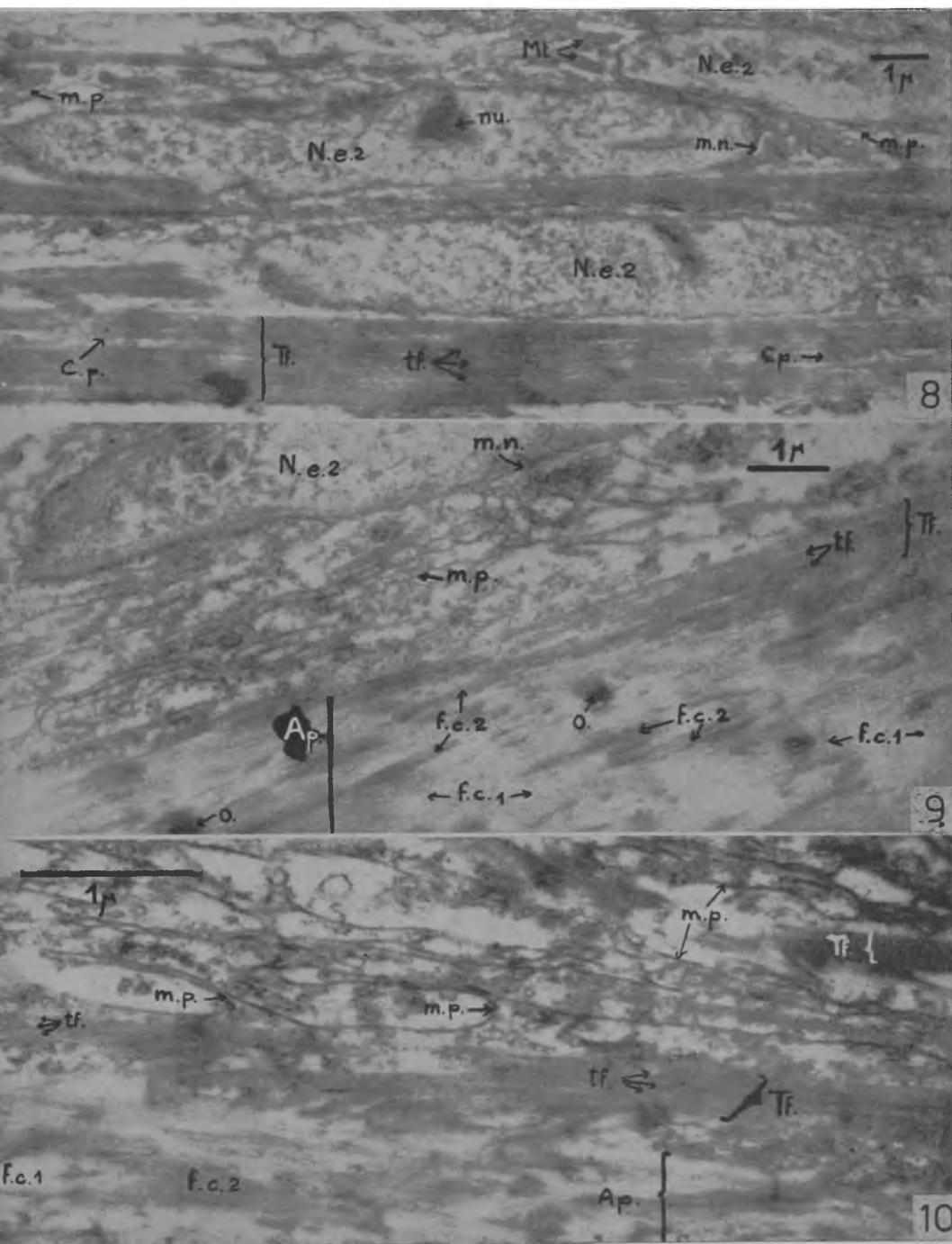
- Fig. 1 — Micrographie optique de l'ensemble des insertions musculaires sur un apodème du fouet, en coupe longitudinale, dans l'exopodite du troisième maxillipède — x 170.
- Fig. 2 — Micrographie optique de l'insertion de fibres musculaires sur la cuticule d'un apodème, en coupe longitudinale, même matériel — x 450.
- Fig. 3 — Micrographie optique des cellules épithéliales d'insertions avec les faisceaux de tonofibrilles, en coupe longitudinale — x 1000.
- Fig. 4 — Électromicrographie à faible grandissement d'une coupe oblique dans la région de l'épithélium à tonofibrilles d'insertion musculaire — x 5000.



- Fig. 5 — Micrographie électronique d'une coupe oblique dans des cellules épithéliales à tonofibrilles au voisinage de l'apodème — x 12.500.
- Fig. 6 — Électromicrographie d'une coupe sublongitudinale qui permet la distinction entre les membranes plasmiques de deux cellules épithéliales voisines et l'enveloppe plasmique double d'une tonofibrille — x 16.500.
- Fig. 7 — Détails des membranes plasmiques doubles longitudinales et du réticulum endoplasmique au voisinage d'une tonofibrille — x 58.000.



- Fig. 8 — Micrographie électronique d'une coupe longitudinale dans trois cellules voisines de l'épithélium à tonofibrilles — x 8.500.
- Fig. 9 — Électromicrographie d'une coupe longitudinale dans la zone de jonction d'une tonofibrille avec la cuticule — 12.000.
- Fig. 10 — Micrographie électronique montrant les boucles profondes formés par une membrane plasmique double longitudinale à proximité de la cuticule — x 25.000.



- Fig. 11 — Même coupe longitudinale que dans la Fig. précédente, avec un grandissement plus fort pour la région des boucles de la membrane plasmique double au voisinage de la cuticle — x 57.000.
- Fig. 12 — Micrographie électronique d'une coupe sublongitudinale dans un faisceau dense de tonofibrilles — x 54.000.
- Fig. 13 — Électromicrographie d'une tonofibrille avec son enveloppe plasmique double, en coupe longitudinale — x 31.000.

