



**HAL**  
open science

# CARACTÉRISATION DES PIGMENTS ET STRUCTURE FINE DE PROTOPERIDINIUM OVATUM POUCHET (DINOFLAGELLATA)

Jacques Neveux, Marie-Odile Soyer

► **To cite this version:**

Jacques Neveux, Marie-Odile Soyer. CARACTÉRISATION DES PIGMENTS ET STRUCTURE FINE DE PROTOPERIDINIUM OVATUM POUCHET (DINOFLAGELLATA). *Vie et Milieu*, 1976, XXVI, pp.175 - 199. hal-02989605

**HAL Id: hal-02989605**

**<https://hal.science/hal-02989605>**

Submitted on 5 Nov 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**CARACTÉRISATION DES PIGMENTS  
ET STRUCTURE FINE  
DE *PROTOPERIDINIUM OVATUM* POUCHET  
(DINOFLAGELLATA)\***

par Jacques NEVEUX et Marie-Odile SOYER

*Laboratoire Arago, 66 650 Banyuls-sur-Mer,  
et Laboratoire de Microscopie Electronique du C.N.R.S., Paris*

**ABSTRACT**

A red-pink Dinoflagellate "bloom", in which *Protoperidinium ovatum* was the most representative species, has yielded an abundant material for a pigment analysis and an ultrastructural study.

Most of the characterized pigments are carotenoïds. These carotenoïds, when elutriated with acetone-petroleum ether mixtures, form four fractions. Absorption spectra are characteristic of xanthophylls with one or several carbonyl groups, conjugated with all the double bounds of the polyene chain. The  $\text{Na BH}_4$  reaction reveals the presence of one or several aldehydes; the HCl-test shows that there is no 5-6 epoxyde group.

All the cells, most of which was dividing, have a typical dinoflagellate nucleus, with highly condensed chromosomes and a folded nuclear envelope.

The archoplasmic spheres, located near the nucleus, have many golgi apparatuses. The cytoplasm contains many large lipid droplets. A large number of fibrous trichocysts with numerous trichocystoid filaments and some kind of vacuoles are also present. Not a single plastid was observed.

Pigment analysis (carotenoïds) and ultrastructural morphology (no plastid, many lipid droplets) thus reveal a new category of non-photosynthetic Dinoflagellates that synthetize many aldehydic carotenoids.

\* Avec la collaboration technique de Mesdames Françoise DE BILLY et Marie ALBERT que nous tenons à remercier ici pour leur aide efficace.

## I. — INTRODUCTION

Parmi les sept espèces de *Protoberidinium* récoltées au large de Banyuls-sur-Mer au cours du printemps 1975 et qui formaient la composante majeure d'une importante phytoexplosion, l'espèce *Protoberidinium ovatum* Pouchet 1883 (= *P. ovatum symmetricum* Dangeard) se trouvait numériquement la plus représentée (pour la systématique, voir BALECH, 1976). Cette espèce se rencontre d'ailleurs fréquemment dans le phytoplancton de la région mais à de faibles densités.

L'abondante quantité du matériel recueilli nous permet donc de déterminer les pigments de la phytoexplosion, puis plus spécialement ceux de *Protoberidinium ovatum* et d'effectuer une approche de son étude photonique et ultrastructurale. En effet, ces cellules, enveloppées d'une thèque particulièrement épaisse, n'ont que difficilement permis la pénétration des agents fixateurs.

## II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. MICROSCOPIE PHOTONIQUE ET ÉLECTRONIQUE.

L'espèce qui nous intéressait a été sélectionnée sous la loupe après fixation en masse des composants de la « marée rouge » (plus exactement rose saumon), par le fixateur de KARNOVSKY (1967) et lavage des culots de centrifugation dans un tampon phosphate 0,2 M. Les cellules ont été ensuite postosmiées dans un mélange à parties égales de tétr oxyde d'osmium à 4 % dans le même tampon, puis incluses dans l'épon après une déshydratation visant à la conservation des lipides sans passage à l'oxyde de propylène (IDELMAN, 1964). Les coupes semi-fines (2  $\mu$ ) destinées à la microscopie photonique ont été colorées à l'azur II — bleu de méthylène, au Giemsa ou au vert de méthyle-pyronine. Certaines cellules ont été fixées *in toto* au formol neutre avant leur observation au contraste de phase interférentiel. Toutes les photographies ont été faites à l'aide d'un microscope orthoplan-orthomat Leitz équipé du système interférentiel T. L'épaisseur considérable de la thèque a été non seulement un obstacle au passage des fixateurs mais a rendu difficile la réalisation des coupes (Ultrotome III LKB et couteau de Diamant Dehmer). Les coupes ultrafines ont été contrastées pendant 2 heures par l'acétate d'uranyle alcoolique puis

5 minutes dans le citrate de plomb selon REYNOLDS (1963). Les observations ultrastructurales ont été réalisées soit sur Philips EM 300 du Laboratoire de Microscopie Electronique Appliquée à la Biologie, du C.N.R.S., soit sur Hitachi HU 11 A du Laboratoire Arago.

## 2. TECHNIQUES D'ÉTUDE DES PIGMENTS.

### a) *Extraction.*

Une partie du matériel récolté sur filtres en fibres de verre GF/C Whatman a été traitée immédiatement et le reste congelé à -20 °C. L'extraction des pigments par l'éthanol absolu ou l'acétone a été accélérée par un broyage des filtres à l'aide d'une baguette de verre ou d'un broyeur Virtis.

### b) *Séparation.*

Les pigments en solution acétonique, obtenus à partir du matériel congelé ont été transférés dans l'éther de pétrole (60°-80 °C) par partition avec une solution de NaCl à 10 %. L'épiphase éthéropétrolique a été séchée sur Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> anhydre et évaporée à sec sous azote. Les pigments, repris par l'acétone à 80 %, ont été fractionnés par chromatographie sur colonne de polyéthylène (Pro-labo). Les solvants d'élution étaient successivement des mélanges acétone-eau (80-20 ; 90-10 ; 95-5 ; 100-0), puis des mélanges éther de pétrole (40-60 °C) — acétone (10-90 ; 15-85 ; 20-80 ; 30-70). Chacune des huit fractions obtenues a été transférée dans l'éther de pétrole (60-80 °C), séchée, évaporée sous azote et reprise par quelques millilitres d'éther de pétrole (60-80 °C). 20 µl des différentes solutions ont été chromatographiés sur couches minces de cellulose avec le système de développement : 3 % n-propanol dans l'éther de pétrole (60-80 °C).

## III. — RÉSULTATS

### 1. PIGMENTS.

Les quatre premières fractions obtenues sont composées en totalité des pigments habituellement rencontrés dans les chloroplastes de dinophycées photosynthétiques : ils n'ont pas fait ici l'objet d'une attention particulière.

Les quatre autres fractions sont constituées de pigments caroténoïdes rouges, très abondants, qui, de toute évidence semblent

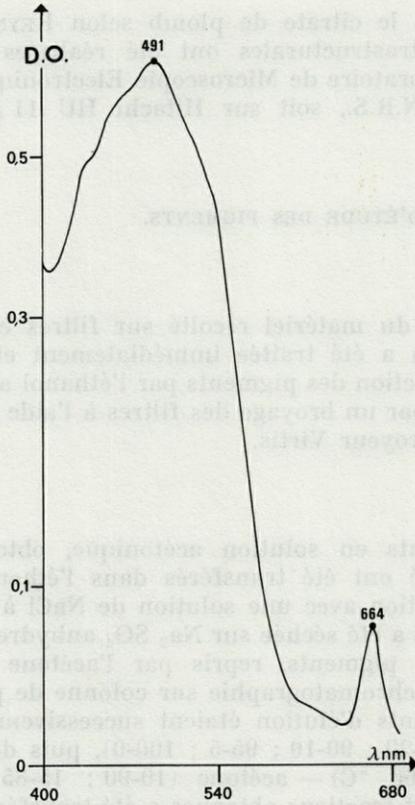


FIG. 1. — Spectre d'absorption de l'extrait total des pigments de la phyto-explosion dans l'acétone à 90 %.

liés à la présence d'importantes gouttelettes lipidiques portées par l'espèce dominante de la phytoexplosion, *Proto-peridinium ovatum*.

Nous avons tenté de les caractériser par leurs spectres d'absorption entre 380 et 580 nm (spectrophotomètre double faisceau Safas 1800), dans divers solvants (éther de pétrole 40-60 °C ; éthanol) et par quelques réactions chimiques effectuées sur solutions éthanoliques des pigments :

- a) action de HCl 10 % : détection des époxydes ;
- b) action de  $\text{NaBH}_4$  : réduction des carbonyles ;
- c) test de stabilité aux alcalis (addition d'un volume de potasse à 15 %, égal au 1/5 du volume de la solution de pigments).

Le spectre d'absorption de l'extrait acétonique des pigments, obtenu à partir de matériel frais (Fig. 1), présente un maximum

inhabituel pour des communautés de phytoplancton (490 nm) et un pic chlorophyllien réduit à 664 nm. En outre, après extraction préalable des pigments chloroplastiques dans l'éthanol et centrifugation, apparaît un culot contenant les pigments rouges qui peuvent être dissous dans l'acétone.

Cette extraction sélective n'est possible que sur du matériel frais, la rupture de la thèque de *P. ovatum* (Pl. III, Fig. 1) après congélation ne gênant plus l'action du solvant.

L'analyse chromatographique sur colonne de polyéthylène réalisée à partir du matériel congelé permet de séparer les pigments chloroplastiques de l'ensemble des pigments rouges ; la périidine,

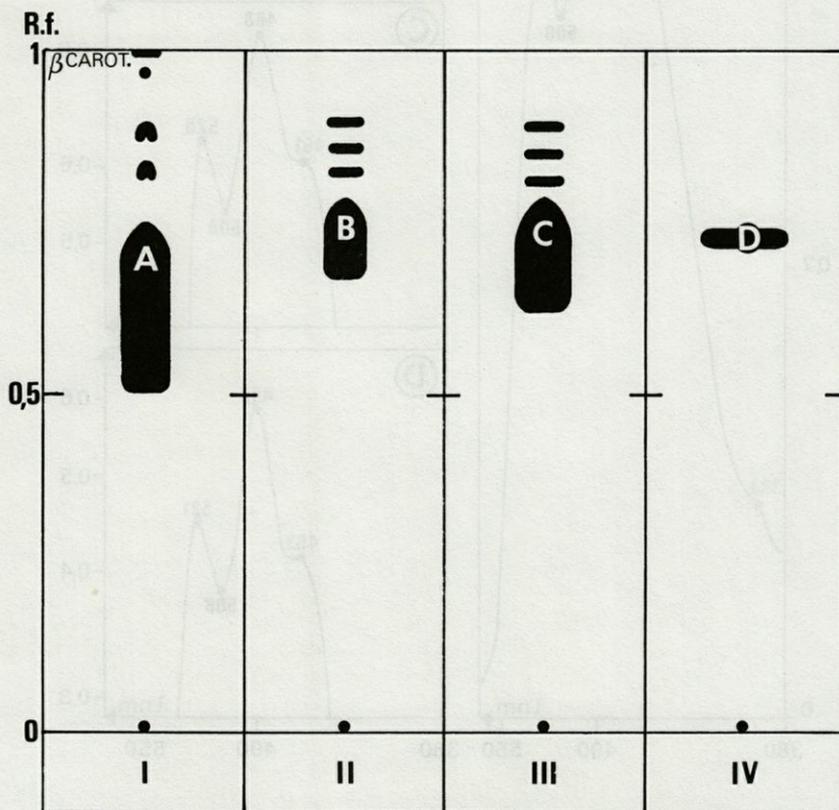


FIG. 2. — Chromatogramme des pigments des fractions I, II, III, IV, sur couche mince de cellulose. Solvant de développement : 3 % n-propanol dans l'éther de pétrole (60-80° C).

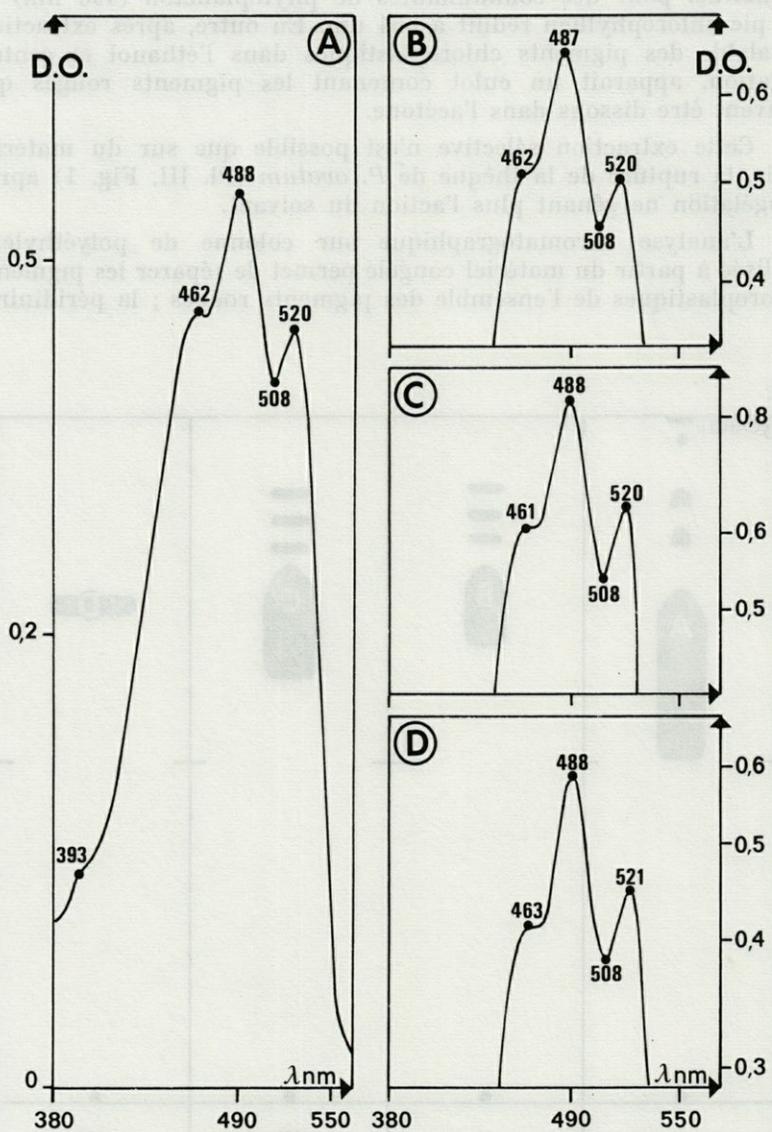


FIG. 3. — Spectres d'absorption dans l'éther de pétrole (40-60° C) des pigments A, B, C, D.

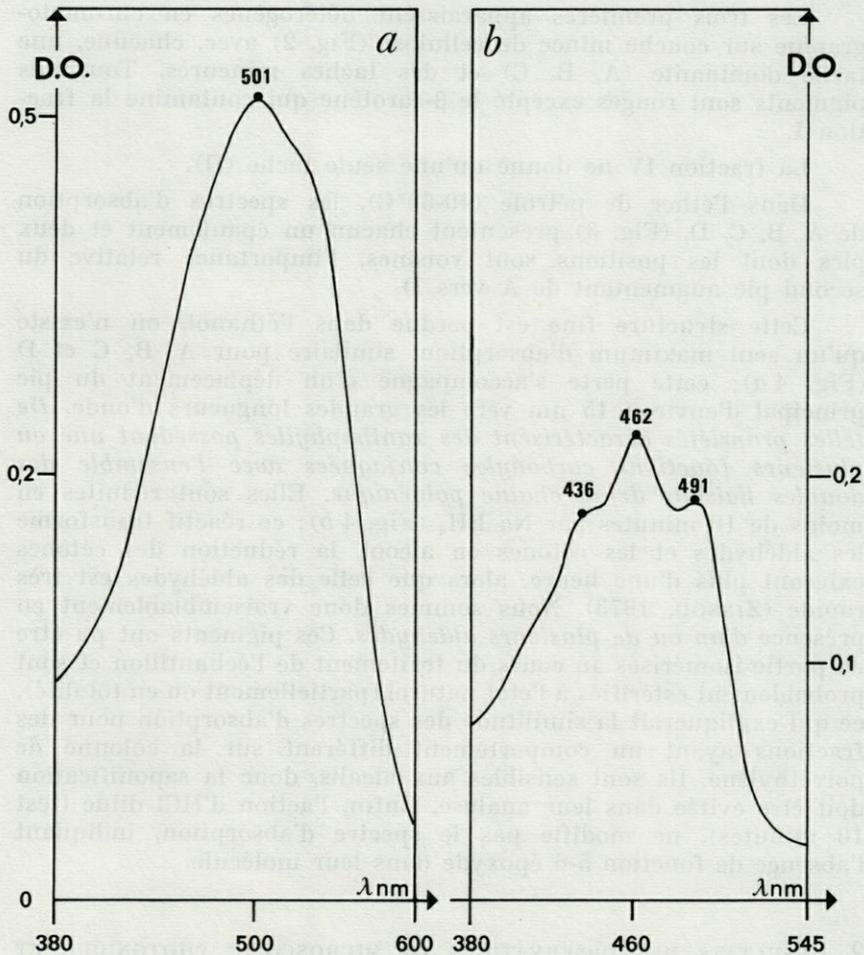


FIG. 4. — Spectres d'absorption dans l'éthanol : a) de C ; b) de son produit de réduction par  $\text{Na BH}_4$ .

éluée avec les pigments chloroplastiques ne représente qu'une très faible fraction des caroténoïdes de l'échantillon.

Les caroténoïdes, élués par les mélanges acétone-éther de pétrole (40-60 °C), ne sont pas nettement séparés sur la colonne ; aussi, le changement de solvant d'éluion est-il conditionné par une diminution marquée de la coloration de l'éluat. Nous obtenons ainsi quatre fractions (I, II, III, IV).

Les trois premières apparaissent hétérogènes en chromatographie sur couche mince de cellulose (Fig. 2) avec, chacune, une tache dominante (A, B, C) et des taches mineures. Tous ces pigments sont rouges excepté le  $\beta$ -carotène qui contamine la fraction I.

La fraction IV ne donne qu'une seule tache (D).

Dans l'éther de pétrole (40-60°C), les spectres d'absorption de A, B, C, D, (Fig. 3) présentent chacun un épaulement et deux pics dont les positions sont voisines, l'importance relative du second pic augmentant de A vers D.

Cette structure fine est perdue dans l'éthanol, où n'existe qu'un seul maximum d'absorption, similaire pour A, B, C et D (Fig. 4 a); cette perte s'accompagne d'un déplacement du pic principal d'environ 15 nm vers les grandes longueurs d'onde. *De telles propriétés caractérisent des xanthophylles possédant une ou plusieurs fonctions carbonyles conjuguées avec l'ensemble des doubles liaisons de la chaîne polyénique.* Elles sont réduites en moins de 10 minutes par  $\text{Na BH}_4$  (Fig. 4 b); ce réactif transforme les aldéhydes et les cétones en alcool, la réduction des cétones exigeant plus d'une heure, alors que celle des aldéhydes est très rapide (ZINSOU, 1973). Nous sommes donc vraisemblablement en présence d'un ou de plusieurs aldéhydes. Ces pigments ont pu être en partie isomérisés au cours du traitement de l'échantillon et sont probablement estérifiés à l'état naturel (partiellement ou en totalité), ce qui expliquerait la similitude des spectres d'absorption pour des fractions ayant un comportement différent sur la colonne de polyéthylène. Ils sont sensibles aux alcalis, donc la saponification doit être évitée dans leur analyse. Enfin, l'action d'HCl dilué (test 10 minutes), ne modifie pas le spectre d'absorption, indiquant l'absence de fonction 5-6 époxyde dans leur molécule.

## 2. RÉSULTATS DES OBSERVATIONS EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE ET ÉLECTRONIQUE.

### a) Microscopie photonique.

Presque toutes les cellules recueillies au cours de la marée rouge qui se produisait à Banyuls au printemps 1975 étaient en voie ou en cours de division nucléaire de type binaire. La méthode de fixation et de déshydratation ayant été conduite de façon à protéger au maximum les lipides (IDELMAN, 1964), on peut facilement observer sur coupes semi-fines (Planche II, Fig. 1 à 6) de grosses gouttelettes cytoplasmiques très osmiophiles (réduction du tétr oxyde d'osmium) dont la caractérisation du type lipidique a

été confirmée par une nette pyroninophilie et par une réaction positive au noir Soudan B après fixation au formol à 10 % dans l'eau de mer (LISON, 1934), ces mêmes échantillons ayant servi à la détermination spécifique (Pl. 1, Fig. 1 à 3).

D'autre part, sur le vivant, la couleur des cellules est d'un rose tirant sur le saumon, cette couleur étant localisée aux flaques lipidiques, qui virent au brun sous l'action du Lugol.

Il est aisé d'observer également en microscopie photonique, les sphères archoplasmiques, tout à fait adjacentes au noyau, sphères dont le rôle est de polariser le sens de la division nucléaire suivant un certain axe (Pl. II, Fig. 4, 5, 6 et SOYER, 1971, Fig. 5, a-e). Déjà, au niveau des coupes semi-fines, il est possible d'observer la présence de l'enveloppe du noyau en cours de division, ce qui est une caractéristique supplémentaire de dinoflagellé typique.

De très nombreux trichocystes fibreux (Pl. II, Fig. 4, 5, 6) à localisation rayonnée sont présents à la périphérie interne de la cellule.

#### b) Microscopie électronique.

— *La thèque*, de type G, selon DODGE (1973), forme une sorte de cuirasse, très épaisse, percée de pores (Pl. III, Fig. 1) avec une membrane externe, et une membrane interne séparées par une couche intermédiaire dont la structure à fort grossissement révèle la présence de nombreuses microfibrilles inorganisées, osmiophiles, de nature probablement cellulosique (Pl. III, Fig. 2 et SWEENEY, 1976). Aucun microtubule n'est visible sous la membrane interne de la thèque.

Cette thèque rend difficile le passage des agents fixateurs, préservant moins bien en particulier les structures désoxyribonucléiques, que les structures ribonucléiques (nucléoles et ribosomes sont bien conservés).

— *Le noyau* possède une enveloppe à deux feuillets, formant de multiples replis (Pl. IV) et lui donnant un aspect épaissi. Les chromosomes, bien visibles dans un nucléoplasme clair, sont généralement très condensés mais présentent également des figures plus étendues à arceaux caractéristiques. Un nucléole de grande taille, arrondi, est généralement visible.

— *Le cytoplasme* renferme des mitochondries allongées, à crêtes tubulaires, voisinant avec des vésicules d'origine golgienne, des trichocystes fibreux, entre lesquels s'intercalent d'abondants ribosomes, un ergastoplasme lisse, des vacuoles de type myélinique (Pl. V) et de véritables flaques lipidiques à aspect homogène.

Les nombreux trichocystes fibreux à corps paracristallin sont généralement prolongés par des poches de 1,5 sur 0,5  $\mu$ , parfois plus grosses, cernées par une double membrane discontinue et garnies de microfilaments souples, organisés parallèlement les uns aux autres, et dont l'ensemble est probablement contourné en spirale plus ou moins régulière (Pl. VI, Fig. 1). Chez *Protoperidinium ovatum*, ces vacuoles à filaments peuvent être très abondantes, tassées les unes contre les autres, ou intercalées avec les paracristsaux de trichocystes voisins (Pl. VI, Fig. 1). Les filaments trichocystoïdes ont régulièrement 22,6 nanomètres de diamètre (Pl. VI, Fig. 2-3) ; les coupes longitudinales offrent un aspect strié qui peut être dû au fait qu'il s'agit des sous-unités protéiques composantes.

*En aucune place on ne rencontre de formation de type plastidial.*

### 3. DISCUSSION ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

La thèque très épaisse se rapproche du type G, défini par DODGE (1973, Fig. 2-4, p. 26) ; sa structure est proche de celle des *Ceratium* ou de certains *Peridinium* sp. mais sans microtubules sous-jacents. Il ne s'agit pas là d'un mur cellulaire tout à fait comparable à celui qui entoure les cystes de *Pyrocystis* (Dinoflagellata), espèce qui possède des couches très élaborées de cellulose, parallèles entre elles. Ici les microfibrilles de cellulose ne semblent pas organisées. D'autre part, toutes les cellules étaient en cours de division binaire et il ne s'agit donc pas de formes enkystées. Il n'est pas improbable toutefois que, de par leur structure, ces formes soient morphologiquement capables de s'enkyster. Il serait intéressant alors, de vérifier si la théorie de Von StOSCH (1973) cherchant à expliquer l'origine des phytoexplosions est justifiée. Des hypnozygotes enkystés (dormance dans les sédiments benthiques) seraient libérés lorsque sont réalisées certaines conditions physico-chimiques (température en particulier) favorisant alors une multiplication active. *C'est d'ailleurs la première fois qu'une phytoexplosion à Protoperidinium ovatum est signalée.*

Les points particulièrement intéressants de la description cytoplasmique sont :

- 1) l'abondance particulière de trichocystes fibreux et de poches à filaments trichocystoïdes adjacentes ;
- 2) l'absence de chloroplastes ;
- 3) la présence d'abondantes flaques lipidiques.

La structure fine et l'ontogénèse des trichocystes fibreux à structure typiquement périodienne sont maintenant bien connues

(BOUCK et SWEENEY, 1966 ; SOYER, 1968, 1970 a, b ; MESSER G. et BEN-SHAUL, 1971 ; HOVASSE et MIGNOT, 1975). Qu'il s'agisse de Dinoflagellés libres ou parasites (ex : *Syndinium*, *Blastodinium*), photosynthétiques ou non photosynthétiques (exemple, *Noctiluca miliaris*, ou *P. ovatum*), la présence de ces formations est toujours constatée, en plus ou moins grande abondance. Cependant, malgré plusieurs théories concernant leur rôle éventuel (capture des proies, rôle osmo-régulateur, etc.) aucune réponse satisfaisante n'a encore été fournie.

Il est toutefois intéressant de noter que chez *Noctiluca miliaris* (= *N. scintillans* Mc Cartney) qui, tout comme *P. ovatum* n'est pas photosynthétique mais possède des moyens hétérotrophes, on observe la présence d'abondants trichocystes fibreux dont les poches à filaments trichocystoïdes sont également très développées ce qui n'excluerait donc pas un rôle protractile lié à la capture de proies, les filaments trichocystoïdes pouvant être assimilés à des néma-desmes, moins bien organisés cependant que ceux des Ciliés (KINK, 1976).

La comparaison avec les Noctiluques ne s'arrête d'ailleurs pas là, puisque les pigments colorés sont également liés aux flaque lipidiques abondantes contenues dans les trabécules cytoplasmiques (SOYER, 1970 b). L'étude analytique de ces pigments est à l'heure actuelle en cours.

On peut lier directement les deux derniers points (2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup>), concernant les observations intracytoplasmiques, aux résultats de l'analyse globale des pigments :

— l'ensemble des observations tend à démontrer que les pigments rouges ont une localisation différente de celle des pigments photosynthétiques. La présence de nombreuses gouttelettes lipidiques rose saumon et l'absence constatée au microscope électronique, de chloroplaste chez *P. ovatum* montrent que ces pigments appartiennent principalement à cette espèce qui, de toute évidence n'est pas photosynthétique.

Jusqu'à présent, les informations concernant les pigments des *Dinoflagellés non photosynthétiques* sont rares. La pigmentation d'espèces photosynthétiques a, par contre, fait l'objet de travaux plus approfondis. Les travaux de JOHANSEN et al. (1974), JEFFREY et al. (1975) ont permis de distinguer les péridiniens contenant de la péridinine et ceux qui contiennent de la fucoxanthine. TUTTLE et LOEBLICH, (1973) étudiant *Cryptothecodinium cohnii* (espèce non photosynthétique) y découvraient du  $\beta$ -carotène et du  $\gamma$ -carotène, ce même  $\gamma$ -carotène qui paraît constituer une partie importante des pigments extraplastidiaux de certains péridiniens autotrophes (WITHERS et HAXO, 1975). Plus récemment, LOEBLICH (1976) établit

la liste de distribution des caroténoïdes caractérisés dans une trentaine d'espèces de Dinoflagellés photosynthétiques et non photosynthétiques (*Crypthecodinium cohnii*).

Notre travail a permis de mettre en évidence une nouvelle catégorie de *Péridiniens non photosynthétiques*, qui synthétisent des caroténoïdes en grande abondance. Ces pigments n'ont pu être identifiés à des aldéhydes déjà connus chez d'autres groupes d'êtres vivants. Une étude plus détaillée, indispensable, pourra être effectuée après une mise en culture de *Proto-peridinium ovatum* ; des tentatives dans ce but sont actuellement en cours au Laboratoire Arago.

### RÉSUMÉ

Une phytoexplosion planctonique dont l'espèce *Proto-peridinium ovatum* constituait l'élément majeur a fourni un matériel abondant pour analyser les pigments présents et effectuer une approche morphologique ultrastructurale.

La majorité des pigments rouges présents est du type caroténoïde. Ces caroténoïdes, élués par les mélanges acétone-éther de pétrole se séparent en quatre fractions. L'analyse de leur spectre d'absorption permet de caractériser des xanthophylles possédant une ou plusieurs fonctions carbonyles, conjuguées avec l'ensemble des doubles liaisons de la chaîne polyénique. L'action de  $\text{NaBH}_4$  permet de mettre en évidence la présence d'un ou plusieurs aldéhydes et le test à l' $\text{HCl}$ , l'absence de fonction 5-6 époxyde.

Les cellules, presque toutes en cours de division, montrent un noyau typique de Dinoflagellés, à chromosomes très condensés, entourées par une enveloppe nucléaire munie de replis. Les sphères archoplasmiques qui polarisent la division, sont riches en corps de Golgi ; le cytoplasme possède des inclusions lipidiques abondantes et de grande taille, des trichocystes fibreux à nombreux filaments trichocystoïdes et des vacuoles diverses. Aucune formation de type plastidial n'a été observée.

L'analyse des pigments (caroténoïdes) complétée par l'étude ultrastructurale (absence de plastes, lipides abondants) permet donc de mettre en évidence une nouvelle catégorie de Dinoflagellés non photosynthétiques, qui synthétisent des caroténoïdes aldéhydiques en grande abondance.

## ZUSAMMENFASSUNG

Eine Phytoplankton-Blüte, in der *Protooperidinium ovatum* vorherrschte, hat ein reiches Material für eine Pigmentanalyse und für ultrastrukturelle Untersuchungen geliefert.

Die Mehrzahl der untersuchten roten Pigmente gehört zum Typus der Karotinoide. In Aceton-Petroleumäther-Mischung ergeben diese Karotinoide vier Fraktionen. Die Analyse ihres Absorptionsspektrums lässt Xanthophylle erkennen, die eine oder mehrere Carbonyl-Gruppen zusammen mit den Doppelbindungen der Polyenkette aufweisen.

Die Wirkung von  $\text{Na BH}_4$  zeigt, dass ein oder mehrere Aldehyde vorhanden sind, und der HCl-Test beweist das Fehlen einer 5-6-Epoxyd-funktion.

Die fast durchwegs in Teilung begriffenen Zellen zeigen den für Dinoflagellaten typischen Kern, mit stark verdichteten Chromosomen, umgeben von einer faltigen Kernmembran. Die Archoplasmakugeln, die die Teilung polarisieren, sind reich an Golgikörpern; das Cytoplasma weist zahlreiche voluminöse Lipideinschlüsse auf, sowie fibröse Trichocysten mit zahlreichen trichocystoiden Filamenten, ausserdem verschiedenartige Vakuolen. Es wurde keinerlei Plastidenbildung beobachtet.

Die Pigmentanalyse (Karotinoide), ergänzt durch die ultrastrukturelle Untersuchung (Fehlen von Plastiden, grosse Lipidmenge), belegt den Nachweis einer neuen Kategorie von nicht photosynthetisierenden Dinoflagellaten, die aldehydische Karotinoide in grossen Mengen synthetisieren.

## BIBLIOGRAPHIE

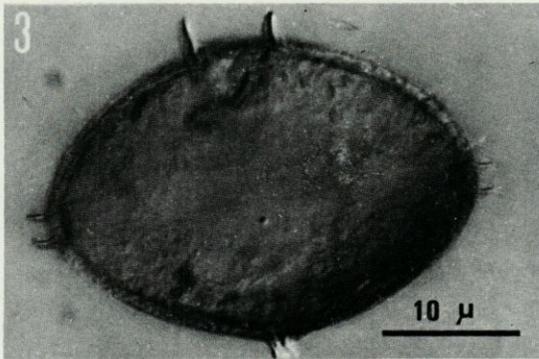
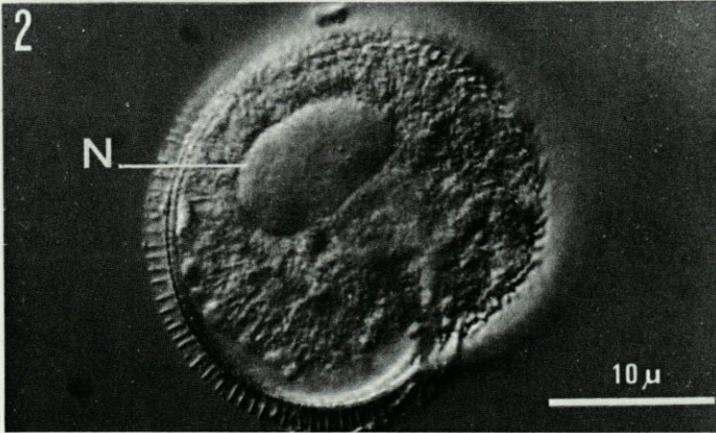
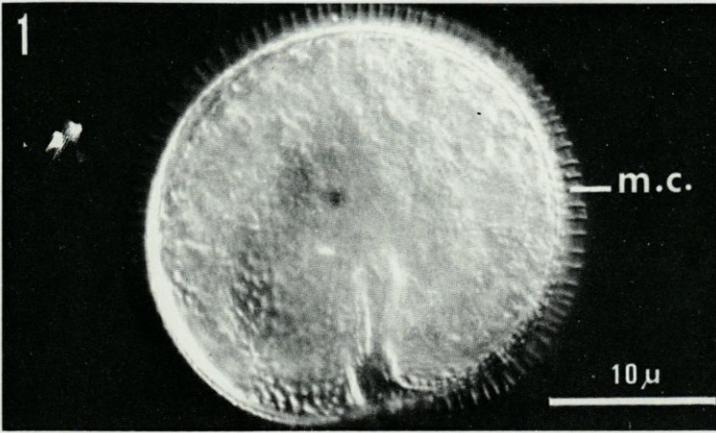
- BALECH E., 1976. Sur quelques *Protooperidinium* (Dinoflagellata) du Golfe du Lion. *Vie Milieu*, **26** (1 B) : 27-46.
- BOUCK B.J. & B.M. SWEENEY, 1966. The fine structure and ontogeny of trichocysts in marine Dinoflagellates. *Protoplasma*, **51** (1-2) : 205-223.
- DODGE J.D., 1973. The fine structure of Algal Cells. Academic Press Inc. London, 261 p.
- HOVASSE R. & J.P. MIGNOT, 1975. Trichocystes et organites analogues chez les Protistes. *Annl. Biol.*, **14** (9-10) : 397-422.
- IDELMAN S., 1964. Conservation des lipides en microscopie électronique. *Jnl. Microscopie*, **3** : 715-718.
- JEFFREY S.W., M. SIELICKI & F.T. HAXO, 1975. Chloroplast pigment patterns in Dinoflagellates. *J. Phycol.*, **11** : 374-384.
- JOHANSSON J.E., W.A. SVEC, S. LIAEEN-JENSEN & F.T. HAXO, 1974. Carotenoids of the Dinophyceae. *Phytochemistry*, **13** : 2261-2271.
- KARNOVSKY M.J., 1967. A formaldehyde-glutaraldehyde of high osmolality for use in electron microscopy. *Jnl Cell Biol.*, **27** : 137 a.

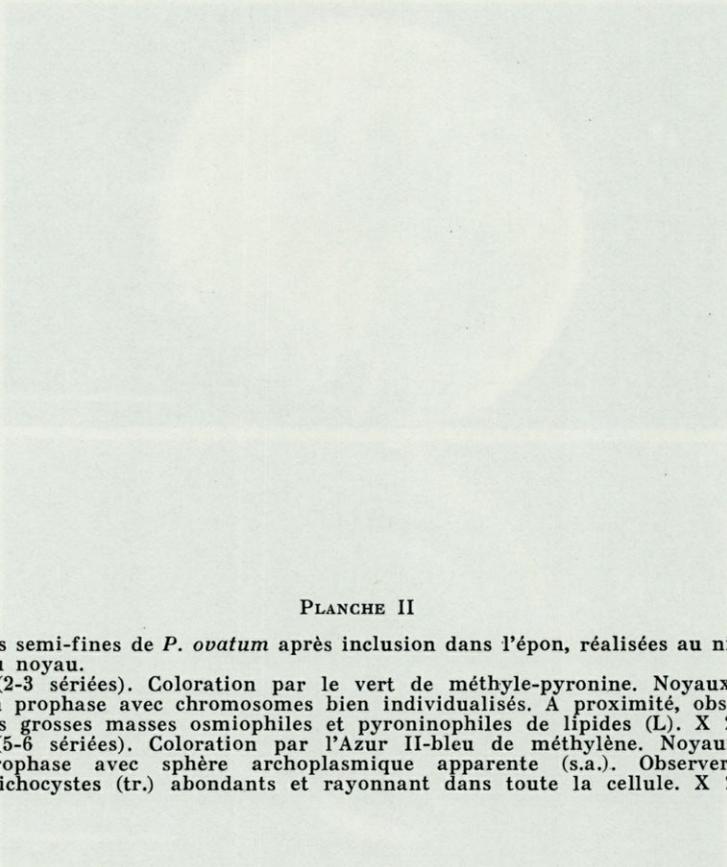
- KINK J., 1976. A localized region of basal body proliferation in growing cells of *Dileptus visscheri* (Ciliata, Gymnostomata). *J. Cell Sci.*, **20** : 115-133.
- LISON L., 1934. Sur de nouveaux colorants histologiques spécifiques des lipides. *C. r. Séanc. Soc. Biol.*, **115** : 202-205.
- LOEBLICH A.R. III, 1976. Dinoflagellate Evolution : Speculation and evidence. *J. Protozool.*, **23** (1) : 13-28.
- MESSER G. & Y. BEN SHAUL, 1971. Fine structure of trichocyst fibrils of the Dinoflagellate *Peridinium westii*. *J. Ultrastruc. Res.*, **37** : 94-104.
- POUCHET G., 1883. Contribution à l'histoire des Cilio-flagellés. *J. Anat. Physiol., Paris*, **19** : 399-455.
- REYNOLDS S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *Jnl Cell Biol.*, **17** : 208.
- SOYER M.O., 1968. Etude cytologique ultrastructure d'un Dinoflagellé libre, *Noctiluca miliaris* S. : Trichocystes et inclusions paracrystallines. *Vie Milieu*, **19** (2 A) : 305-314.
- SOYER M.O., 1970 a. Les ultrastructures liées aux fonctions de relation chez *Noctiluca miliaris* S. (Dinoflagellata). *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.*, **104** : 29-55.
- SOYER M.O., 1970 b. Etude ultrastructurale de l'endoplasme et des vacuoles chez deux types de Dinoflagellés appartenant aux genres *Noctiluca* S. et *Blastodinium* Chatton. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.*, **105** : 350-388.
- SOYER M.O., 1971. Structure du noyau des *Blastodinium* (Dinoflagellés parasites). Division et condensation chromatique. *Chromosoma*, **33** : 70-114.
- SWEENEY B., 1976. Freeze-fracture studies of the thecal membranes of *Gonyaulax polyedra* : Circadian changes in the particles of one membrane face. *Jnl Cell Biol.*, **68** : 451-461.
- TUTTLE R.C. & A.R. III LOEBLICH, 1973. Carotenoids of *Crypthecodinium cohnii*. *J. Protozool.*, **20** : 521.
- VON STOSCH H.A., 1973. Observations on vegetative reproduction and sexual life cycles of two freshwater dinoflagellates, *Gymnodinium pseudopalustre* Schiller and *Woloszynskia apiculata* sp. nov. *Br. Phycol. J.*, **8** : 105-134.
- WITHERS N. & F.T. HAXO, 1975. Chlorophyll  $c_1$  and  $c_2$  and extraplastidic carotenoids in the Dinoflagellate, *Peridinium foliaceum* Stein. *Plant Sci. Lett.*, **5** : 7-15.
- ZINSOU C., 1973. Oxydation enzymatique et photochimique des caroténoïdes : leur rôle dans la protection des chlorophylles. *Thèse de Doctorat d'Etat*, 81 p. Univ. Paris XI.

Reçu le 22 novembre 1976

PLANCHE I

- 1) Vue de face de *Protoperidinium ovatum in toto* (formol 10 % dans l'eau de mer). Observer à la périphérie la membrane cingulaire (m.c.) à aspect dentelé et en surface l'ornementation de la thèque. X 2.450.
- 2) Photographie prise au niveau du noyau N. X 2.450.
- 3) Profil *in toto*. Observer à la partie supérieure deux épines bien prononcées et à la partie inférieure une proéminence conique ou col. On peut voir latéralement, de part et d'autre, les deux membranes bordant la cingulaire. X 2.450.

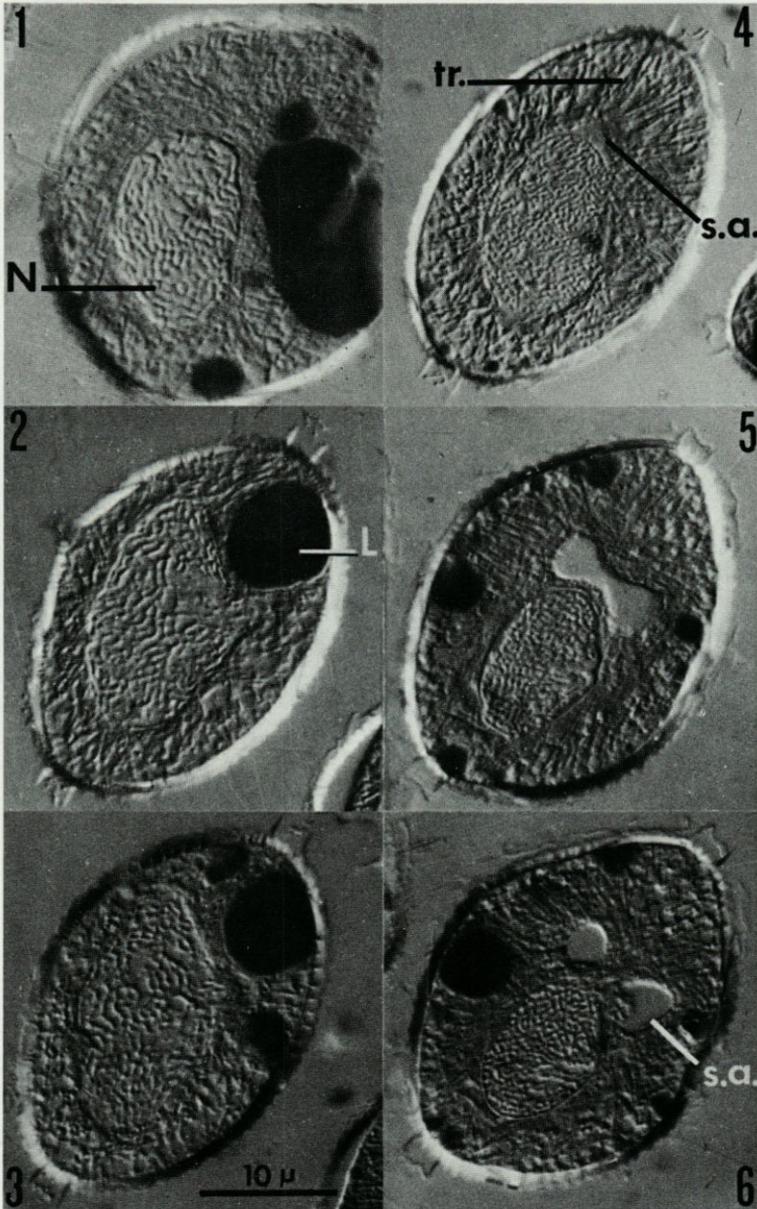




## PLANCHE II

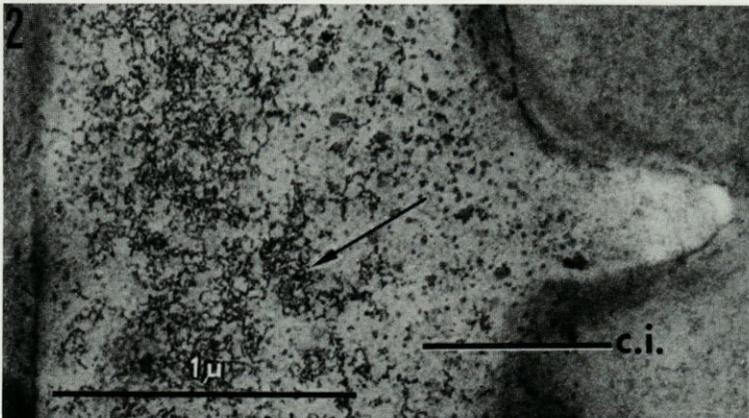
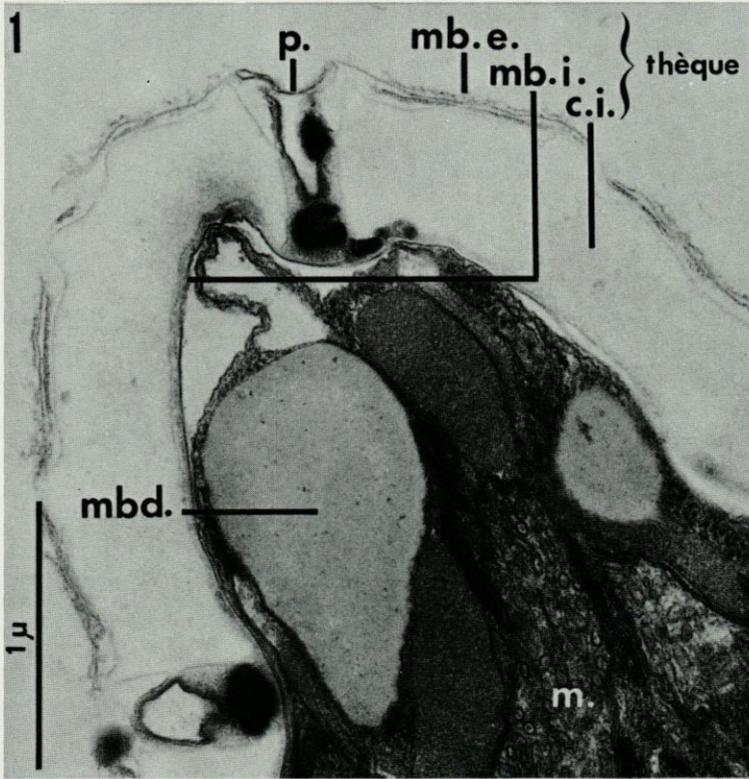
Coupes semi-fines de *P. ovatum* après inclusion dans l'épon, réalisées au niveau du noyau.

- 1-2-3 (2-3 sériées). Coloration par le vert de méthyle-pyronine. Noyaux (N) en prophase avec chromosomes bien individualisés. A proximité, observer les grosses masses osmiophiles et pyroninophiles de lipides (L). X 2.450.
- 4-5-6 (5-6 sériées). Coloration par l'Azur II-bleu de méthylène. Noyaux en prophase avec sphère archoplasmique apparente (s.a.). Observer les trichocystes (tr.) abondants et rayonnant dans toute la cellule. X 2.450.



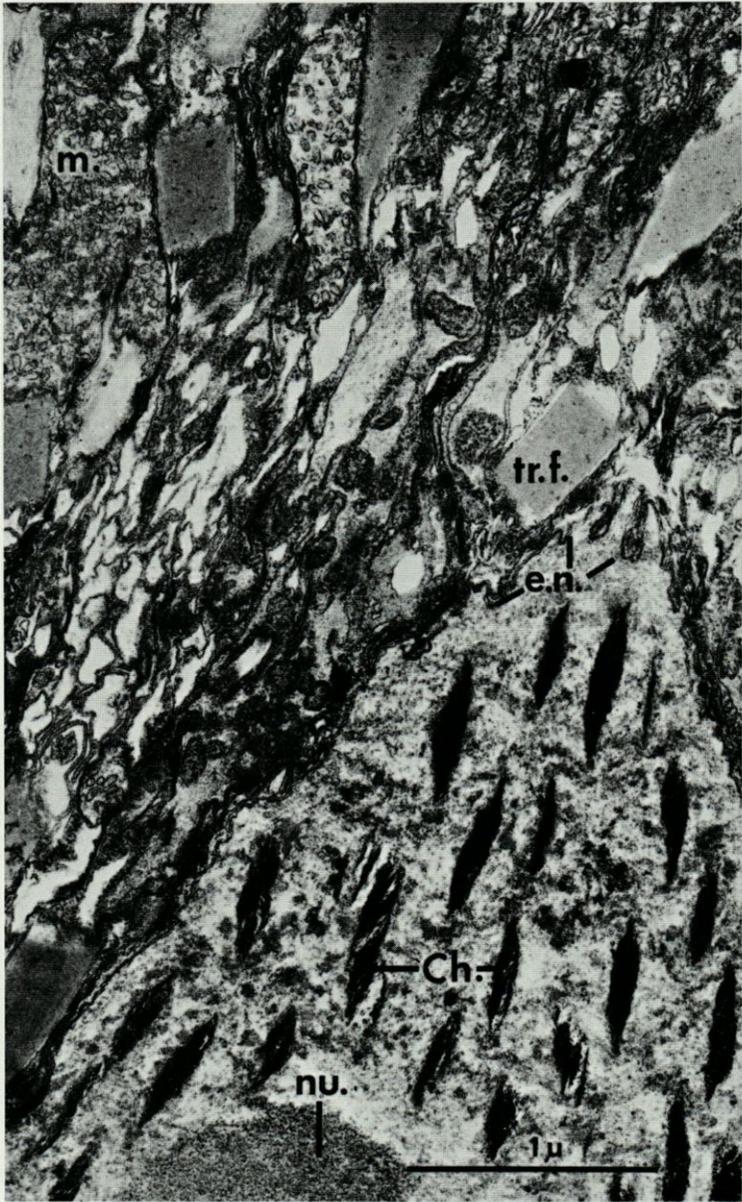
## PLANCHE III

- 1) Coupe ultrafine au niveau de la thèque, perforée (pore p.). On distingue sur cette micrographie, la membrane externe (mb.e.), la membrane interne (mb.i.) et la couche intermédiaire (c.i.). Mitochondries (m.) à crêtes tubulaires, ergastoplasme abondant et microbodies (mbd.) sont présents. X 40.600.
- 2) Détail structural de la couche intermédiaire (c.i.) qui après une fixation osmiée révèle une structure filamenteuse. L'épaisseur de la thèque varie selon le stade de l'individu (enkystement ou non) et augmente avec l'âge. X 45.200.



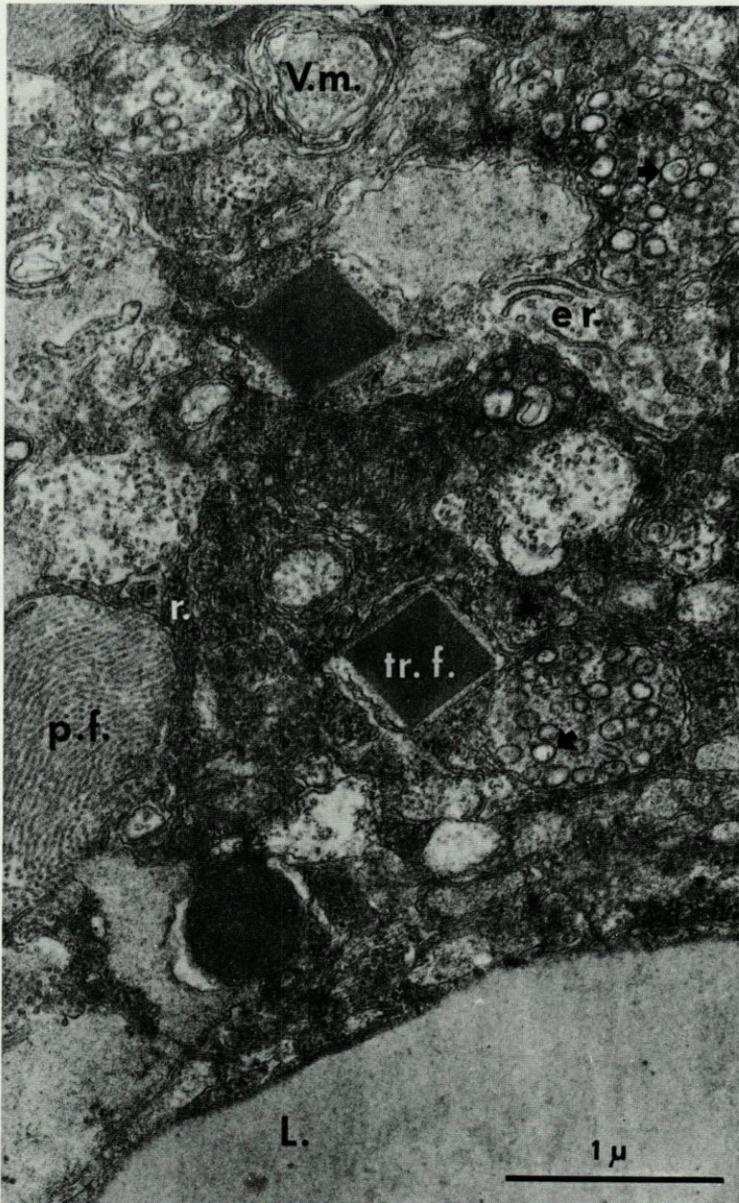
## PLANCHE IV

Vue générale de la cellule au niveau du noyau à chromosomes apparents (Ch.) très condensés. L'enveloppe nucléaire (e.n.) montre plusieurs couches dues à des replis. De nombreux trichocystes fibreux (tr. f.) voisinent avec des mitochondries (m.). nu. : nucléole. X 37.500.



## PLANCHE V

Inclusions cytoplasmiques avec trichocystes fibreux (tr.f.), masses lipidiques (L.), vésicules myéliniques (V.m.) ergastoplasme lisse (er.), ribosomes (r.) et poche à filaments trichocystoïdes (p.f.). X 33.750.



## PLANCHE VI

- 1) Vacuole à trichocystes fibreux et poche à filaments trichocystoïdes (p.f.).  
Noter le développement très important de la quantité de ces filaments à apparence microtubulaire. X 40.500.
- 2) Coupe transversale au niveau des filaments trichocystoïdes. X 90.000.
- 3) Coupe longitudinale au niveau des filaments trichocystoïdes dont quelques sous-unités sont visibles. X 90.000.

