

El cos cromatoide o nematosoma en els oòcits de crustacis

M. Durfort

Dpt. Morfologia Microscòpica. Fac. Biologia. Universitat de Barcelona

Introducció

En el procés de l'oogènesi existeix habitualment una etapa que correspon a la fase de creixement, en la qual hi ha un considerable increment numèric dels mitocondris. Aquest desenvolupament del condrioma coincideix amb un dels moments en que la cèl.lula germinal femenina assoleix una més gran activitat respiratòria.

L'evolució del condrioma durant la gametogènesi, dita "metamorfosi mitocondrial", ANDRÉ (1962), ha estat motiu de nombrosos treballs ultraestructurals en diversos grups taxonòmics, entre els quals cal assenyalar la revisió feta per NØRREVANG (1968), els treballs de STERN et al. (1971) així com els de CLÉROT et al. (1976 i 1977) sobre la gametogènesi de peixos teleostis. En invertebrats són a destacar, entre altres, els treballs d'ANDERSON et al. (1956) en gasteròpodes pulmonats i els de BACCETTI et al. (1976) en insectes.

La presència d'agregats mitocondrials coincideix, en ocasions, amb l'aparició d'acúmul·s electrodensos produïts per emissions del nucli a través dels porus nuclears, a la vegada, per evaginacions de l'embolcall nuclear. ANDERSON et al. (1956) en oòcits d'insectes varen descriure aquests acúmul·s i els donaren el nom de "cos cromatoide" pel fet que es tenyeixen de forma similar als components nuclears.

Fou ANDRÉ (1962) qui, en observar-los en oòcits de rata, els donà el nom de "ciment intermitocondrial" pel fet que estan envoltats d'una corona de mitocondris. Posteriorment CLÉROT (1968) els ha trobat i descrit en auxòcits d'anfibis, així com en la línia germinal masculina i femenina de peixos ciprínids (1967 i 1977). EDDY i ITO (1971), en els seus estudis en la línia germinal dels mamífers els han aplicat el nom de "nuage". Una revisió molt interessant sobre el tema pot trobar-se en el treball d'EDDY (1975).

Aquests agregats electrodensos han estat ocasionalment trobats en cèl.lules somàtiques. Així, GRILLO (1970) els descriu en neurones amb el nom de "nematosomes", i recentment ANDRIES (1983) en troba en cèl.lules de l'epiteli intestinal de Dytiscus.

La present nota fa referència als agregats mitocondrials i a les emissions electrodenses trobades en oòcits de Pontonia pinnophylax (Crustaci, Decàpode) comparant-les amb les dels oòcits de Mytilicola intestinalis (Crustaci, Copèpode).

Material i mètodes

Els exemplars de Mytilicola intestinalis s'han extret de l'hepatopàncreas de musclos (Mytilus edulis) procedents de La Coruña i oberts durant un període de cinc anys. Els exemplars de Pontonia pinnophylax han estat trobats a la cavitat paleal d'exemplars de Pinna noblis recollits a 12 metres de fondària, a Cala Tirant de Menorca. Cal assenyalar que el mostreig ha estat esporàdic.

Mentres Mytilicola intestinalis ha estat fixada "in toto", Pontonia ha estat disseccionada i un cop extretes les gònades, aquestes han estat fixades. S'ha seguit el mètode convencional de doble fixació amb glutaraldehyd-paraformaldehyd al 3,5% amb cacodilat sòdic o bé en Sörensen, seguit de tetròxid d'osmi al 2%, igualment tamponat. Després d'una acurada deshidratació amb sèries ascendents d'alcohol o d'acetona, s'ha procedit a l'inclusió en Araldita, en Araldita-Epon o bé en Spurr.

El contrastar habitual dels talls ultrafins s'ha fet amb acetat d'uranil i citrat de plom, a la vegada que, per tal de comprovar la presència de ribonucleoproteïnes, s'ha aplicat també la tècnica de l'EDTA segons BERNHARD (1968). L'observació de les seccions ha estat feta amb un microscopi electrònic de transmissió Philips 200 del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona.

Observacions i discussió

Els oòcits de Pontonia pinnophylax, a diferència dels de Mytilicola (DURFORT, 1977), són rodons, i en l'etapa estudiada, en previtel·logènesi endògena, l'olemma és molt regular i li manquen les típiques formacions de pinocitosi i els microvillis, tan nombrosos en la fase de vitel·logènesi exògena (Fot.1). L'ooplasma és molt uniformement dens, ple de citoribosomes lliures; i s'hi veuen algunes vesícules ergastoplasmàtiques entre diversos dictiosomes de disposició propera al nucli i entre algunes làmines anellades.

El tret característic d'aquesta cèl.lula és la proliferació dels mitocondris. Hi ha dues disposicions dels condriosomes: a) Isolats i propers a l'embolcall nucleal, i de 1,5 a 3 micròmetres de diàmetre. b) Megamitocondris de 4 a 6 micròmetres, situades preferentment en les proximitats de l'embolcall nucleal, de matriu molt poc densa i amb escases crestes. Tenen tendència a formar agregats de tres a sis elements que en ocasions es fusionen formant "nebenkernes" (Fot.5 i 6).

De vegades els mitocondris segreguen part del citoplasma electrodens incorporant-lo a la matriu, en ajuntar-se diversos orgànuls (Fot.8 i 9). Però en cap cas no constitueixen un ciment intermitocondrial.

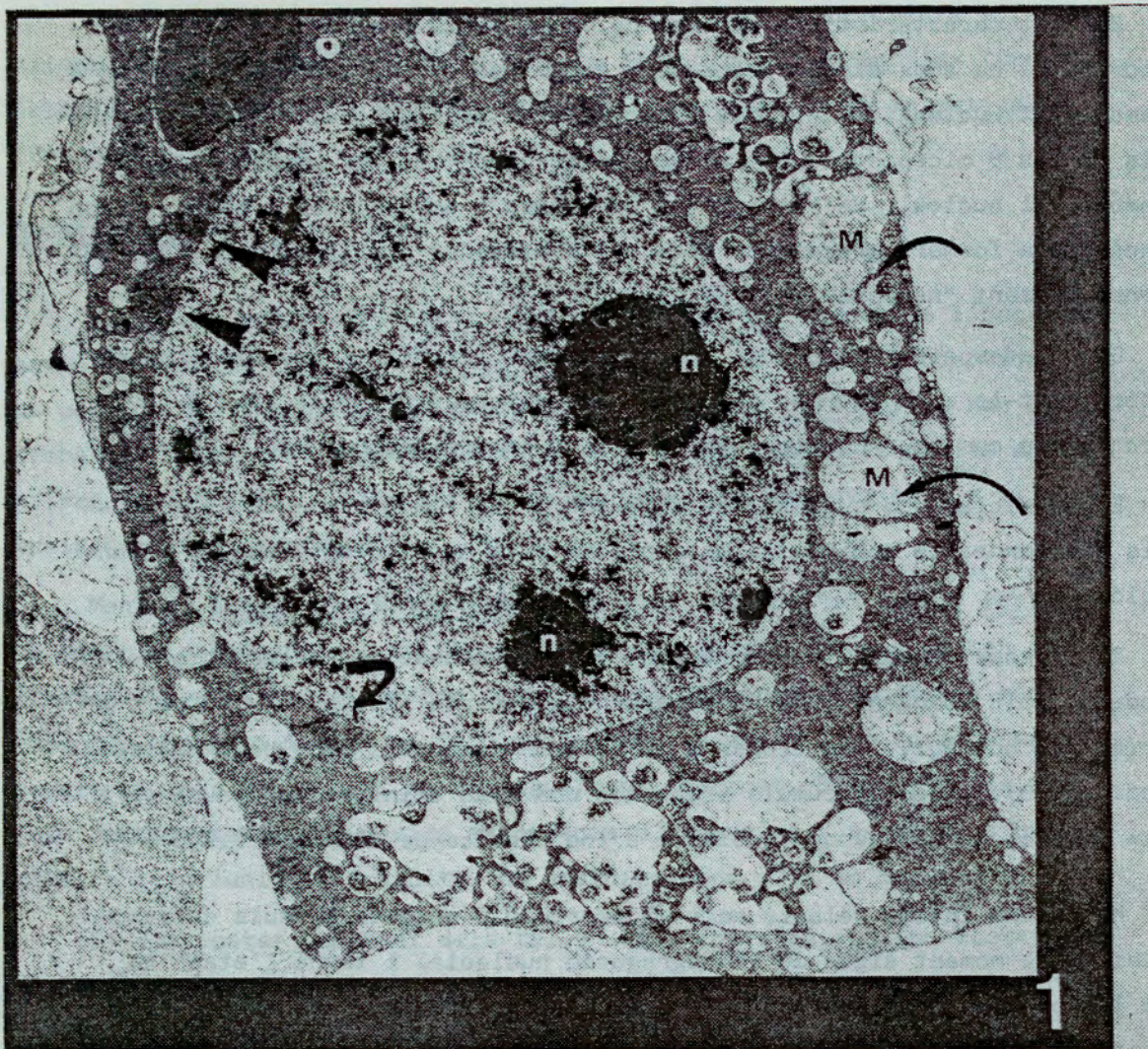
Es possible, com suggereixen ANDERSON et al.(1975), que aquests acúmuls mitocondrials activin el metabolisme de l'òdit després de la fecundació.

Els cossos cromatoides apareixen com a condensacions de material electrodens, molt homogeni, amb un aspecte que recorda molt el de la "pars amorfa" del nuclèol, i es troben a la part externa de l'embolcall nucleal, (Fot. 2 i 3). Aquests acúmuls presenten una gran afinitat per la plata i, a la vegada, tenen reacció positiva a la tècnica de BERNHARD (1968).

Hi ha una íntima relació entre l'aparició d'aquests acúmuls extranucleals i el moment àlgid de la segregació nucleolar i també l'etapa en que l'increment dels porus nuclears es més considerable, de manera semblant a com succeeix en les glàndules salivals de Chironomus, STEVENS et al. (1966).

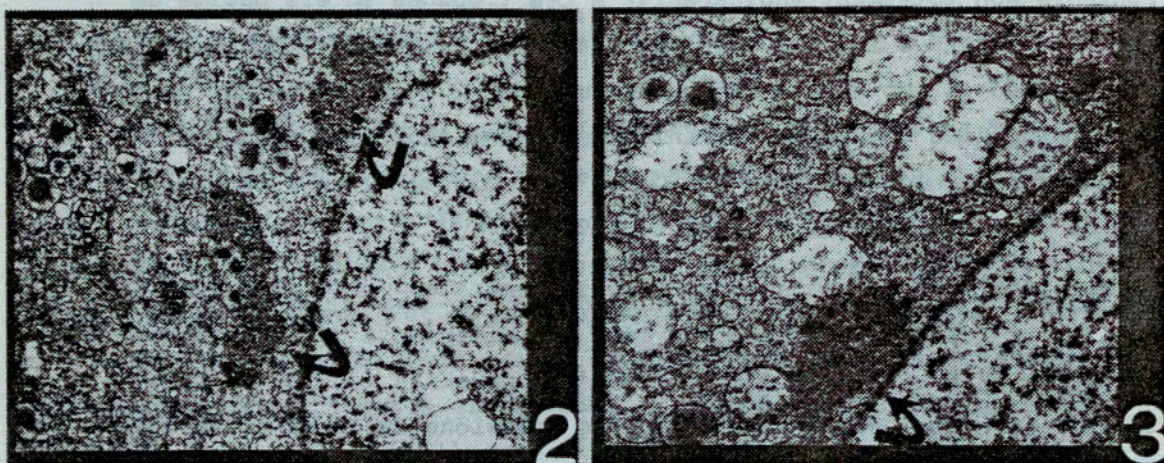
Les condensacions electrodenses extranucleals trobades en els òdits de Pontonia són totalment equiparables a les trobades en els òdits de Mytilicola (Fot.10 i 11) i a les descrites per ANDERSON et al.(1956) en òdits d'insectes amb el nom de cos cromatoide, i a les de CLÉROT en la línia gametogènica de peixos ciprínids; així com són totalment similars a la "nuage" definida per EDDY i ITO (1971) i als agregats d'ARN dels òdits de vertebrats inferiors, DENIS (1977).

A diferència de les emissions nucleals descrites per CLÉROT, que donaran lloc al "ciment intermitocondrial" i a diferència dels nematosomes descrits per PEACH (1972) i GRILLO (1974) en neurones (que tenen un aspecte estriat, quasi paracristal·lí), les emissions trobades en ambdues espècies de crustacis estudiades tenen un aspecte totalment granulós i no presenten mai cap tipus d'associació amb els mitocondris (Fot.2,3,10,

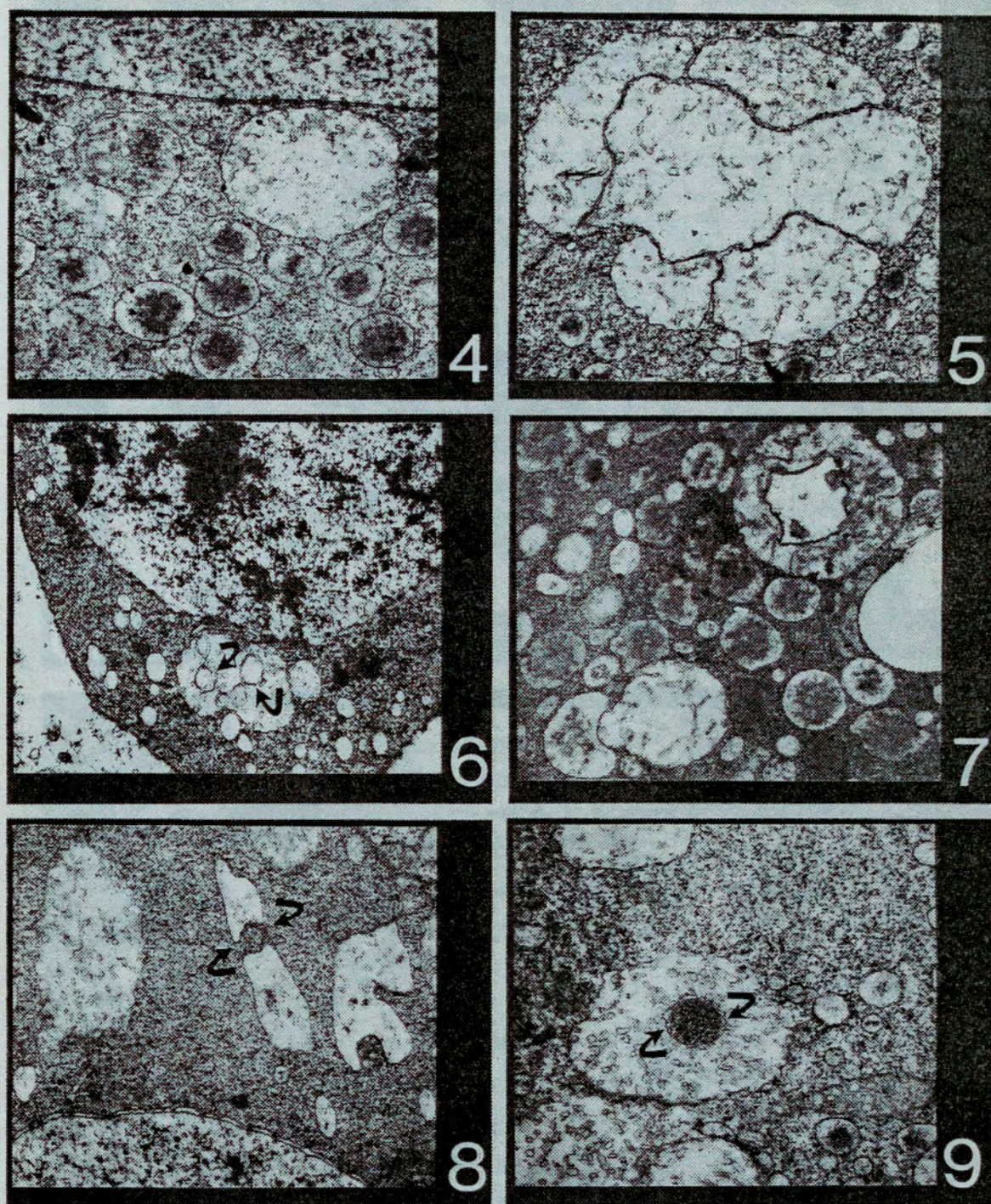


Fot.1.- Oòcit de Pontonia pinnophylax en previtel·logènesi endògena.

Vegis el matèrial perinucleolar i la seva emigració vers l'em-
bolcall nuclear, així com els cossos cromatoides emesos (12.500 x).

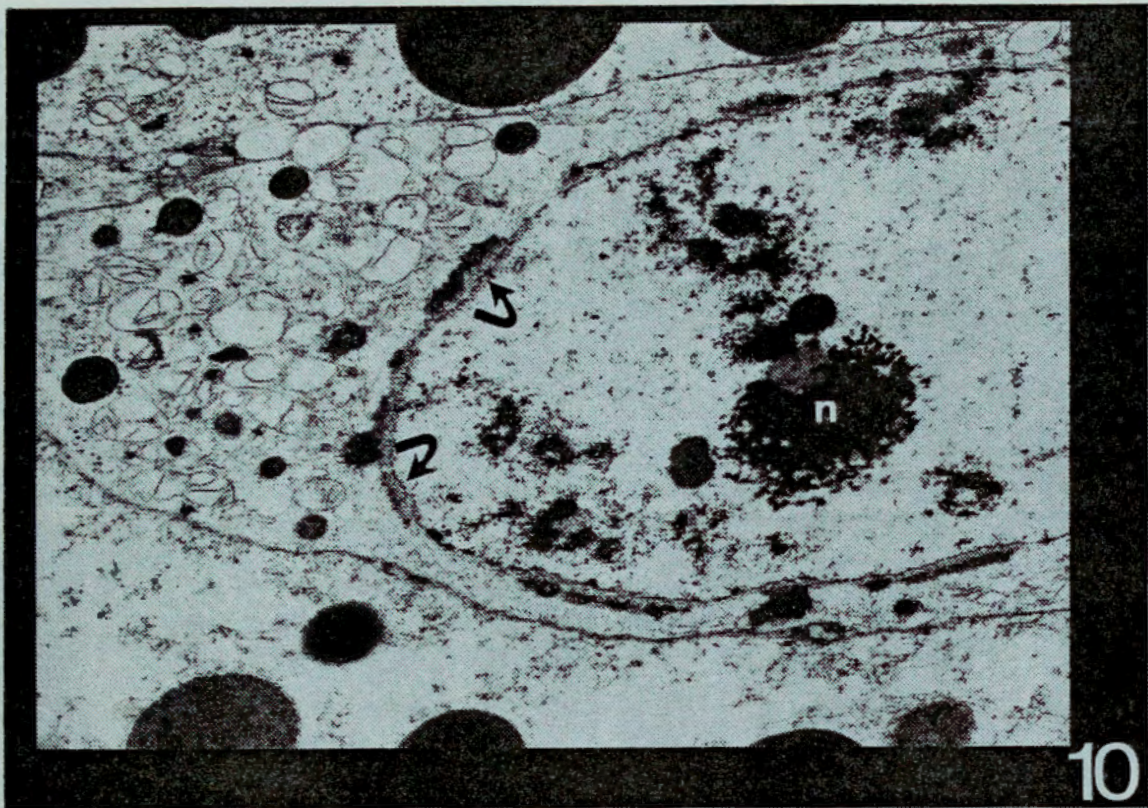


Fot.2 i 3.- Detall dels cossos cromatoides de P.pinnophylax (20.000 x).

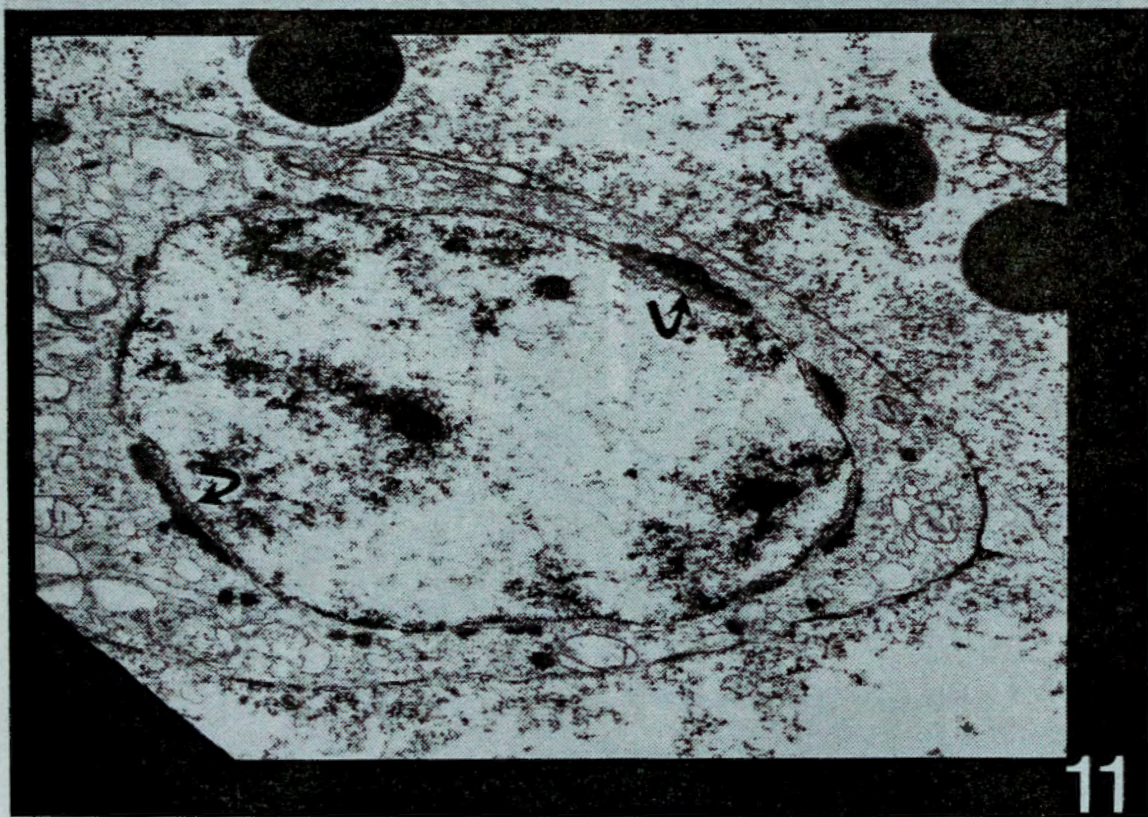


Fot. 4 a la 9.- Megamitocondris d'òcits de *Pontonia pinnophylax*.

- 4,6 i 8 : vegis la seva proximitat a l'embolcall nuclear (20.000 x).
- 5 : agregació de mitocondris (20.000 x).
- 6 : reorganització de les crestes, després de la fusió (12.500 x).
- 7 : resultat d'una fusió mitocondrial (?). (12.500 x).
- 8 i 9 : cos cromatoide segrestat per mitocondris (20.000 x).



10



11

Fot. 10 i 11 .- Oòcits de *Mytilicola intestinalis*.

Aspecte del matèrial nucleolar i la seva distribució en el ooplasma
(16.100 x).

11 i 12).

Mentre que SZOLLOZI (1969) i el mateix CLÉROT et al. (1966 i 1976) suposen que els agregats mitocondrials son centres de proliferació de condriosomes, en el nostre cas creiem, més aviat, que en Pontonia es tracta d'un nebenkerne mitocondrial, com a sistema més rendible en la producció energètica, de forma similar a com està descrit en l'espermiogènesi de moltes espècies d'insectes, BACCETTI et al. (1976).

Cal remarcar que no eliminem la possibilitat que els acúmul·ls electrodensos intervinguin en la formació del citoplasma germinal, com assenyalen entre altres EDDY (1974 i 1975) en mamífers.

Així mateix, i d'acord amb DHAINAUT (1970), considerem que es tracta d'una reserva de precursors ribosòmics, necessaris en la fase àlgica de síntesi del material que donarà lloc a les plaquetes vitel·lines. Bé que l'emissió d'aquests agregats queda frenada, una vegada acabada la vitel·logènesi.

Estem pendents de fer una anàlisi dels cossos cromatoides, similar a la que han dut a terme TOURY et al. (1977) amb el ciment intermitocondrial de cèl·lules germinals de la tenca i mitjançant la qual han trobat diferents fraccions d'ARN per electroforesi, de tipus citoribosòmic (28 S, 18 S i 5 S, i de tipus de transferència 4 S).

Bibliografia

- ANDERSON, E., BEAMS, H.W. (1956). Evidence from electron micrographs for the passage of material through pores of the nuclear membrane. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, suppl. 2., 439-444.
- ANDRÉ, J. (1962). Contribution à la connaissance du chondriome pendant la spermatogénèse. *J. Ultrast. Res.*, suppl. 3., 7-185.
- ANDRIES, J.Cl. (1983). Nuclear pore clusters and perinuclear material in midgut epithelial cells of Dytiscus marginalis (Insecta, Coleoptera). *J. Cell Biol.* Vol. 30., 54-59.
- BACCETTI, B., AFZELIUS, B.A. (1976). The biology of the sperm cell. *Monogr. in Developmental Biology.*, n. 10., S. Karger., Basel.
- BERNHARD, W. (1968). Une méthode de coloration régressive à l'usage de la microscopie électronique. *Comp. Rend. Acad. Sc. Paris.*, T. 267., 2170-2173.

- CLÉROT, J.C. (1968). Mise en évidence par cytochimie ultrastructurale l'émission de protéines par le noyau d'auxocytes de batraciens. *J. Microscopie*. Vol. 7., 973-992.
- CLÉROT, J.C. (1976). Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons téléostéens cyprinidés. (I). Etude ultrastructurale. *J. Ultrast. Res.*, Vol. 54., 461-475.
- CLÉROT, J.C. TOURY, R.-ANDRÉ, J. (1977). Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons téléostéens cyprinidés. (III). Méthode d'isolement du "ciment" intermitochondrial. *Biol. Cellulaire*. T. 30, 217-224.
- DENIS, H. (1977). Accumulation du RNA dans les ovocytes des vertébrés inférieurs. *Biol. Cellulaire*, T. 28., 87-92.
- DHAINAUT, A. (1970). Etude en microscopie électronique et par autoradiographie à haute résolution des estrusions nucléaires au cours de l'ovogénèse de *Nereis pelagica* (Annélide Polychète). *J. Microscopie*, Vol. 9., 99-118.
- DURFORT, M. (1977). Ultraestructura de la gónada femenina de *Mytilicola intestinalis*, Steuer. (Crustacea, Copepoda). *B.R. Soc. Esp. Hist. Nat.*, V. 75, 71-86
- EDDY, E.M. (1974). Fine structural observations on the form and distribution of nuage in germ cells of the rat. *Anat. Rec.*, Vol. 178., 731-758.
- EDDY, E.M. (1975). Germ plasm and the differentiation of the germ cell line. *Intern. Rev. Cytol.*, Vol. 43., 229-280.
- EDDY, E.M., ITO, S. (1971). Fine structural and radioautographic observations of dense perinuclear cytoplasmic material in tadpole oocytes. *J. Cell. Biol.* Vol. 49., 90-108.
- GRILLO, M.A. (1970). Cytoplasmic inclusion bodies resembling nucleoli in sympathetic neurons of adult rats. *J. Cell Biol.*, Vol. 45., 100-117.
- NØRREVANG, A. (1968). Electron Microscopic Morphology of Oogenesis. *intern. Rev: Cytol.*, Vol. 23., 113-186
- STERN, S., BIGGERS, J.D., ANDERSON, E. (1971). Mitochondria and early development of the mouse. *J. Exp. Zool.*, Vol. 176., 179-192.
- STEVENS, B.J., SWIFT, H. (1966). RNA transport from nucleus to cytoplasm in *Chironomus* salivary glands. *J. Cell Biol.*, Vol. 31., 55-77.
- SZOLLOSI, D. (1965). Development of "yolk substance" in some rodent eggs. *Anat. Rec.*, Vol. 151., 424-453.
- TOURY, R., CLÉROT, J.C., ANDRÉ, J. (1977). Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons téléostéens cyprinidés. IV. Analyse biochimique des constituents du "ciment" intermitochondrial isolé. *Biol. Cell.* Vol. 30., 225-232