

La vitel.logènesi a *Acanthocyclops robustus* G.O. SARS (Copepoda, Cyclopoida): Fase primària.

J. G. Valero

Departament de Morfologia Microscòpica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, Barcelona 08028

Abstract

Ultrastructural characteristics of the oocytes of *A. robustus* G.O. SARS in the early vitellogenic stages are studied. The different cellular compartments and their relationship with functions of synthesis and storage characteristic of this group are described. Blebbing processes of the outer lamina of the nuclear envelope related with the "endoplasmic pool" and that, apparently, transport material from the nucleus are shown. A part of the cisternae of the endoplasmic reticulum undergo infolding in the cytoplasm, fuse and evolve, morphologically, towards a particular type of yolk bodies. Some considerations are done about the possible mitochondrial origin of a part of the accumulation vesicles that appear scattered in the cytoplasm of the same time that phenomena of degradation of the cristae of a part of the mitochondria are observed.

Introducció

Als Crustacis, com a d'altres grups zoològics, el conjunt de canvis estructurals i funcionals del oòcit, per tal d'emmagatzemar materials de reserva i informació, ha estat dividit, tradicionalment, en tres fases: a) previtel.logènesi, on s'observen, fonamentalment, fenòmens nuclears relacionats amb la profase I; b) vitel.logènesi primària, coincidint amb el nivell més alt de síntesi i transformació estructural del propi oòcit, i c) vitel.logènesi secundària, quan hi ha una predominància en la captació de materials extraoocitaris.

Respecte la segona, han estat nombroses les observacions que implicaven a la pràctica totalitat d'estructures citoplasmàtiques en tasques sintetitzadores. Així, Beams i Kessel (1962) van descriure per primera vegada el gran desenvolupament del ergastoplasma i la seva relació amb la vitel.logènesi, confirmat per la totalitat d'estudis posteriors; relacionat amb aquest, s'observa, en diferents espècies, un procés de vesiculació de l'embolcall nuclear (Blades-Eckelbarger i Youngblouth, 1984; Arnaud, 1982), revisat en diferents grups i models cel.lulars per Kessel (1968a) i Franke (1974). El complex de Golgi se l'ha associat amb l'ergastoplasma, fonamentalment amb finalitats compactadores i emmagatzemadores (Durfort et al., 1980). Respecte als altres dos grans sistemes membranosos citoplasmàtics, els mitocondris i el reticle endoplasmàtic llís, la literatura assenyala als Crustacis, en general, com poc actius en la síntesi de material vitel-

línic.

Material i mètodes

Els exemplars estudiats han estat recollits a diferents llacunes litorals del Delta de l'Ebre (Tarragona). La fixació és realitzada per immersió (2 h.) dels animals sencers en paraformaldehid 2% - glutaraldehid 2.5% tamponat amb fosfat 0.2 M (pH 7.3), bé que en algunes ocasions se li ha afegit, a aquesta solució, àcid tànic fins a una concentració final del 4%. Posteriorment es realitza una postfixació amb OsO_4 al 1% tamponat i en fred ($4^{\circ}C$), al llarg de 90 minuts. Van ser deshidratats en una sèrie cetònica ascendent, utilitzant com intermediari l'òxid de propilè i incluint-los, finalment, en la resina Spurr (Spurr, 1969).

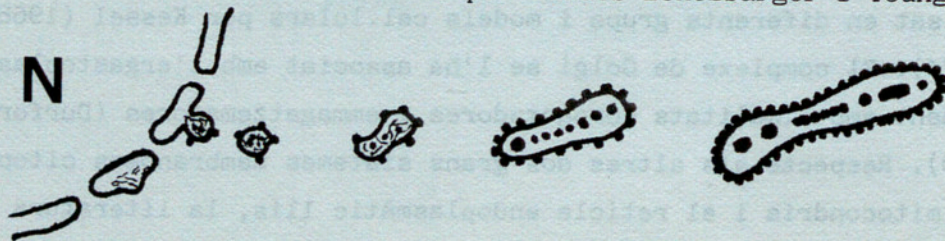
Els talls van ser obtinguts mitjançant un ultramicrotòtom Reichert, contrastats amb acetat d'uranil, seguit de citrat de plom (Reynolds, 1963) i observats amb un microscopi electrònic Phillips 200 del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona.

Per l'estudi amb el microscopi electrònic de rastreig, els exemplars van ser fixats i deshidratats de la mateixa manera, passats després per l'acetat d'amil i sotmesos a la tècnica del punt crític per ésser, posteriorment, metalitzats amb or i observats amb aparells Cambridge S.4 i JEOL 840 del esmentat Servei.

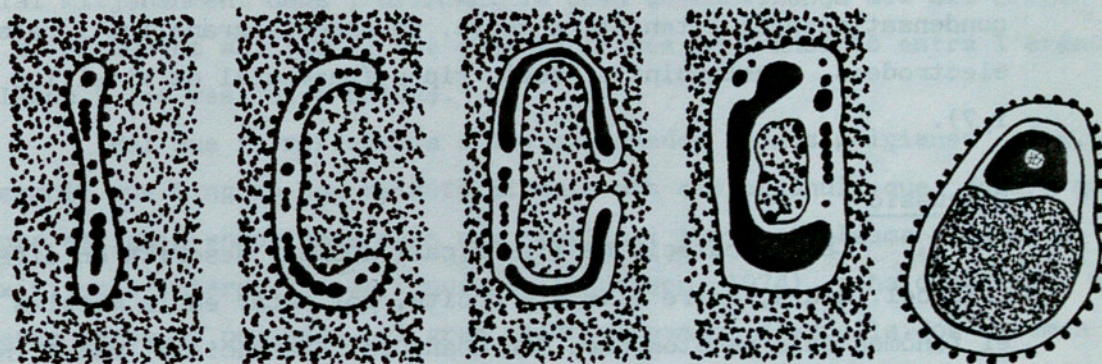
Resultats

L'inici d'aquesta etapa està marcat per un extraordinari desenvolupament mitocondrial i ergastoplasmàtic, mentre que d'altres estructures, com el reticle endoplasmàtic llís, complexe de Golgi i vacúols, no són detectats (fig. 2); el volum cel.lular total arriba a multiplicar-se per un factor 5 a 7, encara que el nucli només ho fa per la meitat.

L'ergastoplasma és vesicular i tubuliforme, observant-se, al interior dels sàculs, uns grànuls densos als electrons, amb mesures bàsiques de 40-50 nm de diàmetre. Part del gran desenvolupament ergastoplasmàtic sembla que té el seu origen en un procés de vesiculació del embolcall nuclear, en concret de la seva membrana externa (figs. 2 i 3), fenòmen semblant al descrit en una Calanoid per Blades-Eckelbarger i Youngblouth (1984).



Aquesta vesiculació és explosiva en els primers moments, però de una molt curta, minvant ràpidament. Les vesícules són polimorfes, de diferents tanyans i, en general, contenen un material fibrós que es condensa en grànuls semblants als que contenen els sàculs ergastoplasmàtics. Aquests evolucionen sintetitzant més grànuls, els quals es disposen segons l'eix longitudinal, donant-se una primera fase de condensació entre ells. Quan el nombre arriba a 10-15 unitats, condensades o no, part dels sàculs s'incurven, prenent una forma semblant al torus geomètric, incorporant en el seu interior alguns elements lliures en el citoplasma, fonamentalment ribosomes, quan els dos extrems d'aquesta formació tòrica es fusionen per a donar una vesícula (fig. 4). La resta dels sàculs sembla que només fan una condensació intramembranosa. El diagrama esquematitza el procés.



De una manera o altra evolucionen cap a una agregació generalitzada, amb síntesi de nou material i la constitució final de un grànul vitel·lí primordial, al que se li van afeigint, dintre del sàcul d'ergastoplasmàtic, d'altres de nova acumulació. El resultat final és una estructura envoltada per una doble membrana, on es poden distingir, a nivell morfològic, tres components: a) un component basal i majoritari, que constitueix el producte de nova síntesi, de naturalesa granelluda i electrodensa; b) un component fibrós extraordinàriament dens als electrons, que al començament de l'elaboració és molt important, quantitativament, però que minva ràpidament en la maduració; c) dintre d'aquest segon hi ha una zona central clara, fibrós i laxa que, finalment, desapareixerà al temps que la b). La membrana més externa que envolta el conjunt, sembla ser la pròpia del sàcul ergastoplasmàtic, portant fins el final del procés ribosomes enganxats, mentre que l'interna aviat els perd i acaba per desaparèixer ella mateixa (fig. 6). Finalment tot el grànul evoluciona, tal com hem esmentat anteriorment, presentant un aspecte homogeni, constituint el primer tipus plaquetari.

Respecte el complex de Golgi ens trobem a la fi d'aquesta etapa

amb l'observació de formacions membranoses, que no tenen la disposició característica d'aquesta estructura. Són constituïdes per un acúmulo de vesícules relativament petites i un nombre reduït de sacs aplanats, no ben bé delimitat en quant la seva extensió i, per això, podria ser més convenient de parlar de "zones golgianes" (fig. 5), i no es poden relacionar clarament amb cap altra estructura cel·lular, encara que sempre són envoltades per l'ergastoplasma i els mitocondris. Aquests, que a la previtel·logènesi eren de gran talla però el seu nombre era reduït, inverteixen pràcticament la situació, multiplicant-se extraordinàriament, en un procés semblant al ergastoplasma. La seva talla és mitjana, observant-se molt aviat fenòmens de fusió entre ells, i de regressió interna, fonamentalment a les crestes, (figs. 2 i 4), acabant per convertir-se en vacúols que, cap al final d'aquesta etapa, es van omplint de un material molt laxe al començament, més condensat després i tenint, a terme, un aspecte granel·lut i relativament electrodens, constituint el segon tipus fonamental de vitel·lus (figs. 4 i 7).

Discussió

La vesiculació de l'embolcall nuclear descrita en diferents models cel·lulars, entre ells els oòcits, pot estar en la mateixa línia que el fenomen dels nematossomes, en quant fa referència al pas d'informació organitzada, però en aquest cas es comprova, morfològicament, que són la base de les formacions ergastoplasmàtiques.

Mentre que el model general de síntesi proteica als Crustacis sembla ser el de la fusió intracisternal dels grànuls (Kessel, 1968a,b), en el cas de A. robustus, hi ha un material originari nuclear (al menys en una proporció important dels sàculs) que es va organitzant ja abans de la segregació de la vesícula per part del embolcall nuclear (fig. 3), mitjançant una compactació del material filamentós, al que, posteriorment, se li afegeixen productes de nova síntesi, un cop lliure al citoplasma. El que és característic de l'espècie en estudi és l'evolució de, al menys, part dels sàculs ergastoplasmàtics. La fusió parcial dels grànuls seria una situació intermitja entre l'oogènesi del Calanoid Labidocera aestiva (Blades-Eckelbarger i Youngblouth, 1984), en la que fonamentalment no hi ha fusió, i l'expressada pel model general, en el que predomina la fusió total dels grans. El fet de que aquesta fusió parcial sigui continuada per una incurvació sacular i possible segrestament de material citoplasmàtic (ribosomes) evidencia: 1) la heterogeneïtat del material contingut a la vesí-

cula, comprovable a nivell morfològic; 2) la síntesi i emmagatzemament fraccionats del primer tipus fonamental de vitel.lus, inclús amb la presència temporal de compartiments intrasaculars; 3) la complexa reorganització morfològica de tots aquets components fins a donar una vesícula homogènia (figs. 4 i 6).

Les vesícules que contenen el segon tipus fonamental de vitel.lus (fig. 4), creiem, per les imatges obtingudes, que provenen de la reestructuració de un gran nombre de mitocondris, al degenerar les crestes i, encara que l'origen del contingut romani desconegut, s'han observat restes de doble membrana a la vesícula madura, el que vindria a confirmar l'idea exposada i completaria parcialment els treballs fets pels autors esmentats abans, quan exposen la presència de "vesícules buides que s'omplen de material mitjanament dens", afirmant la seva desconeixença del seu origen i els de Arnaud et al. (1982) que observa formes de transició entre l'ergastoplasma i les vesícules buides.

Pel que fa referència a les anomenades "zones golgianes" (fig.5) no sembla que tinguin una relació directa amb cap orgànul, que, encara que sempre estiguin envoltades pels mitocondris i l'ergastoplasma i aquesta proximitat s'interpreti com funcional (Anderson, 1974), s'ha d'observar que aquesta també és obligada pel gran desenvolupament d'aquells dos sistemes membranosos, però també cal assenyalar que en un altre ciclòpid, Cyclops strenuus, Durfort et al. (1980) han observat un complexe de Golgi actiu i en relació amb l'ergastoplasma al llarg de la vitel.logènesi.

Bibliografia

- ANDERSON E. (1974). Comparative aspects of the female gamete. Int. Rev. Cytol. Suppl. 4, 1-61.
- ARNAUD J., BRUNET M., MAZZA J. (1982). Etude de l'ovogenèse chez Centropages typicus (Copepoda, Calanoida). Reprod. Nutr. Dévelop. 22(3), 537-555.
- BEAMS H.W., KESSEL R.G. (1962). Intracisternal granules of the endoplasmic reticulum in the crayfish oocyte. J. Cell Biol. 13(1), 158.
- BLADES-ECKELBARGER P.I., YOUNGBLOUTH M.J. (1984). The ultrastructure of oogenesis and yolk formation in Labidocera aestiva (Copepoda, Calanoida). J. of Morphol. 179, 33-46.
- DURFORT M., BARGALLO R., BOZZO M.G., FONTARNAU R., LOPEZ CAMPS J. (1980). La vitelogenésis en Cyclops strenuus FISCHER (Crustacea, Copepoda). Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. 78, 437-447.
- FRANKE W. (1974). Structure and biochemistry of the nuclear envelope. Int.

Rev. Cytol. Suppl. 4, 72-211.

KESSEL R.G. (1968a). Mechanisms of protein synthesis and deposition in Crustacean oocytes. Z. Zellforsch. 71, 525-544.

KESSEL R.G. (1968b). The permeability of the crayfish oocyte-follicle complex as studied with peroxidase as a tracer. J. Cell Biol. 38, 169-170

REYNOLDS E.S. (1963). The use of the lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17, 208-212.

SPURR A.R. (1969). A low-viscosity resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastr. Res. 26, 31-43.

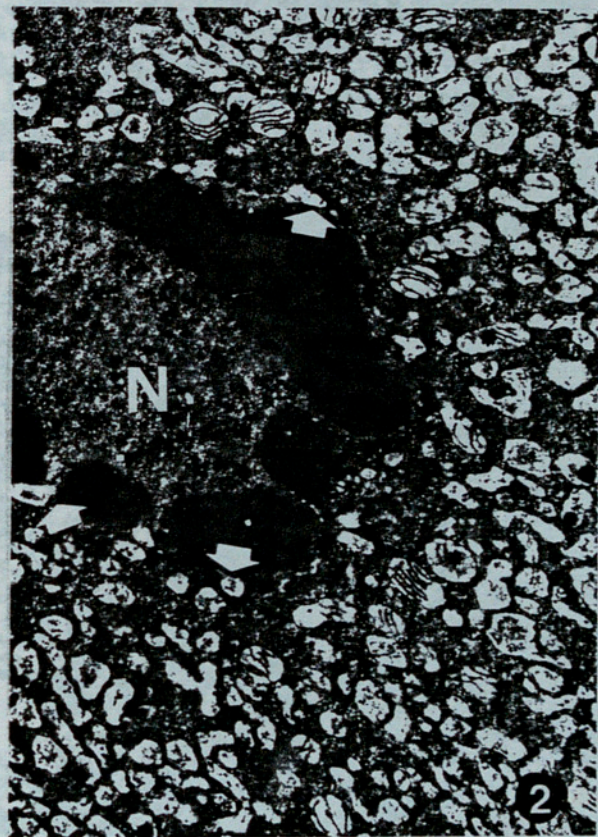
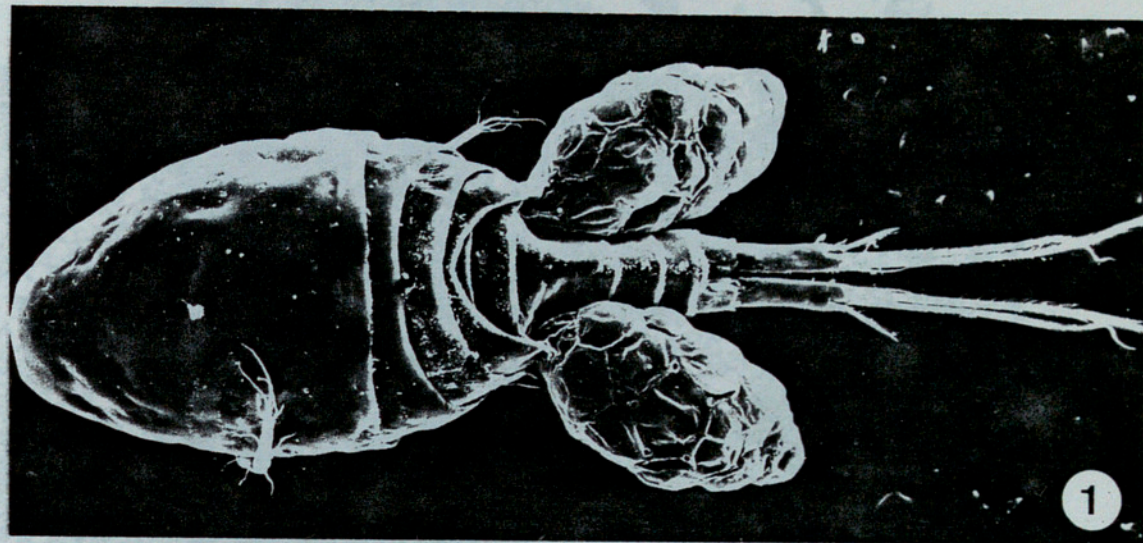


Fig.1. *A. robustus* vist per la seva cara dorsal. (x125)

Fig.2. Oòcit al començament de la vitel·logènesi primària. Gran desenvolupament del ER i els mitocondris, alguns amb processos regressius de les crestes (*); N, nucli; (▲), fenòmens de vesiculació de l'embolcall nuclear. (x8000).

Fig.3. Detall de la fig. anterior, on es distingeix el material intern de la vesícula; N, nucli. (x95800).

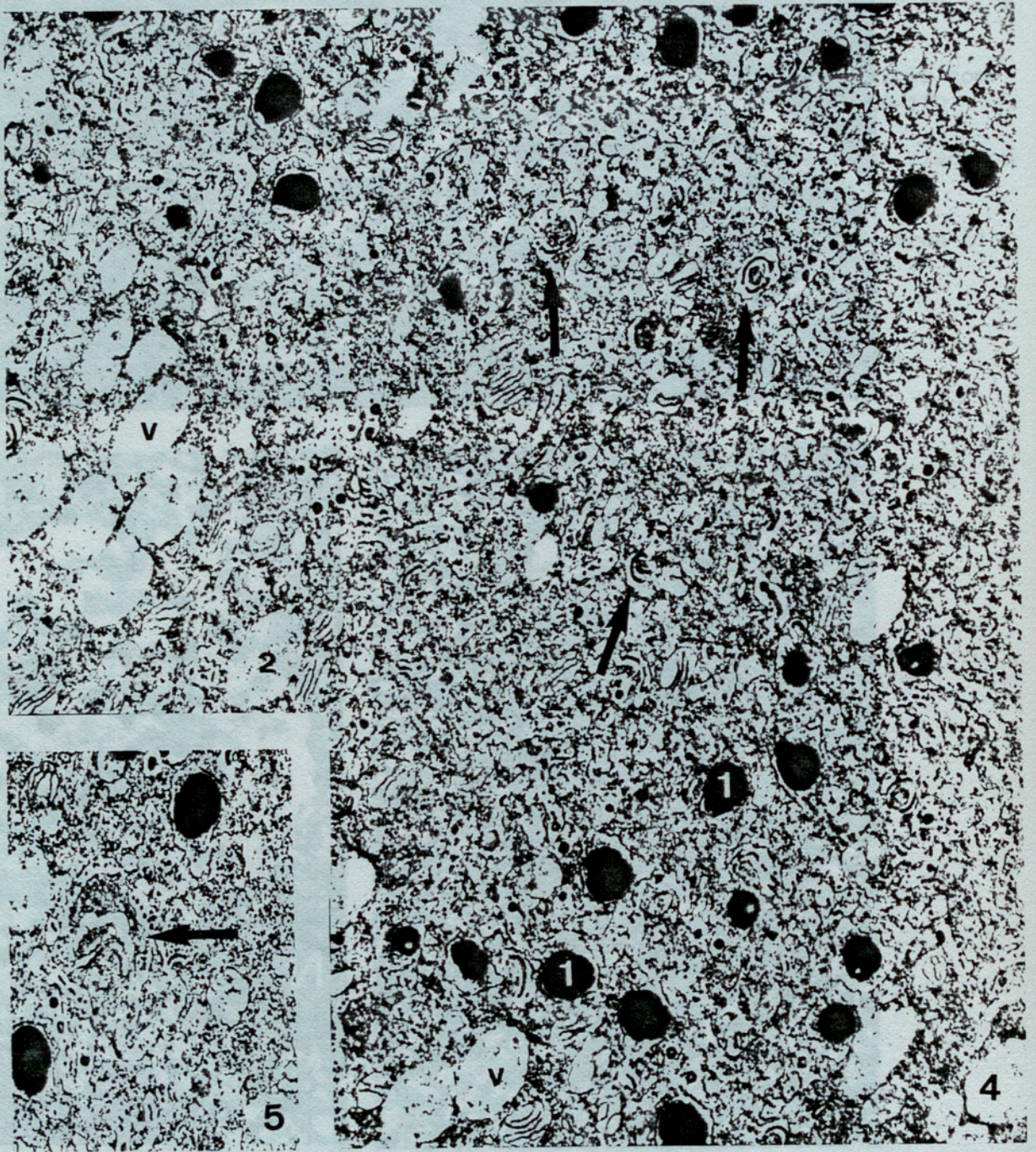


Fig.4. Vesícules buides (V) que provenen de la regressió mitocondrial; (1), primer tipus vitel.línic; (2), según tipus vitel.línic; (↑), diferents estadis de formació del tipus vitel.línic 1 amb figures d'incurvació de l'ergastoplasma. (x13000).

Fig.5. Detall de les "zones golgianes" (↑). (x17000).

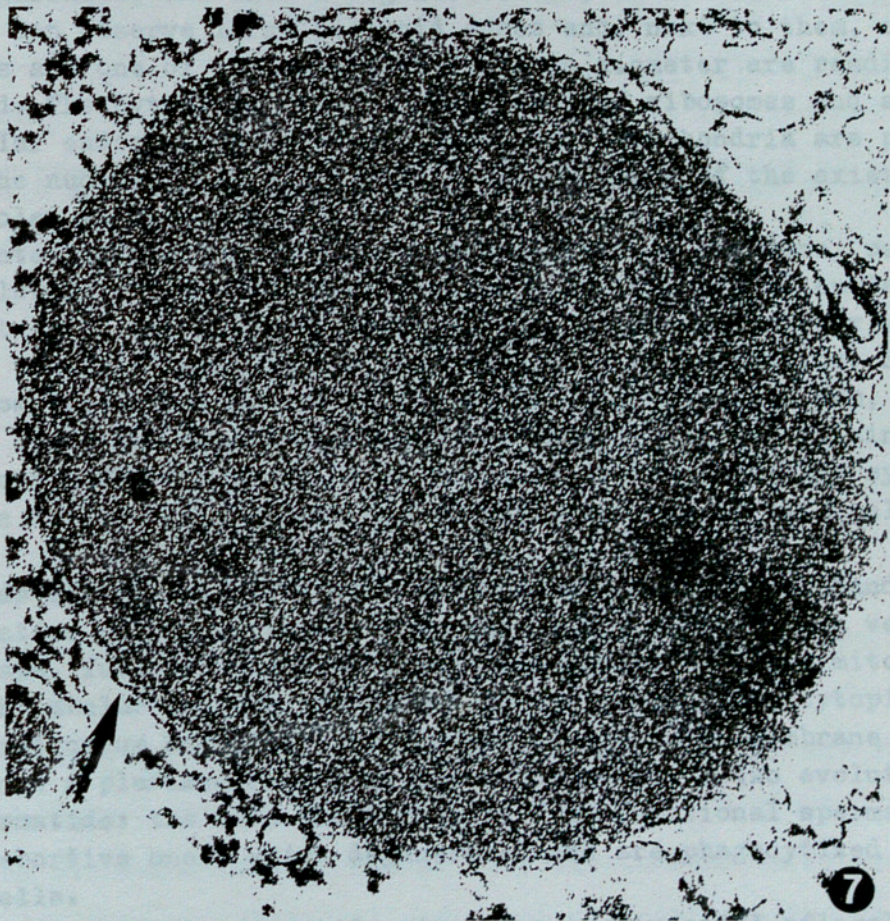
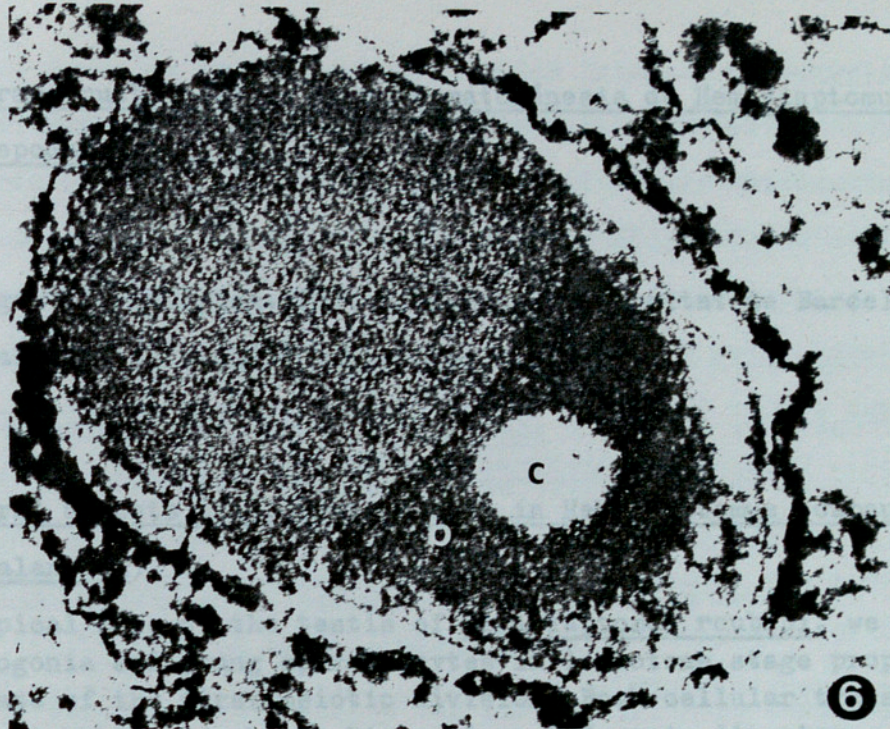


Fig.6. Fase sintètica intermitja del grànul de tipus 1. Amb (a,b,c) es senyalen els tres components d'aquest, envoltats per dues membranes, una d'elles en regressió.(x154200).

Fig.7. Estadi final del grànul de tipus 2, envoltat per restes de doble membrana (→). (x120900).