

Estudio morfológico del condrioma en la oogénesis de Hemidiaptomus roubaui (Copepoda, Calanoida).

E. Ribes

Dpt. Morfologia Microscòpica. Fac. Biologia. Universitat de Barcelona.
Avda. Diagonal, 637-647. 08028 Barcelona, Spain.

Abstract

Morphological study of the chondriome during oogenesis of Hemidiaptomus roubaui (Copepoda, Calanoida).

The number of mitochondriae varies throughout the process of oogenesis, there being few in the oogonia of young oocytes. As the oocytes mature, the chondriome undergoes a considerable increase in number related to the increase in activity for multiplication.

A morphological and structural plasticity is observed represented by mitochondrial kinesis in relation with the oocyte's metabolism. In the oocytes during vitelogenesis oval mitochondriae predominate with a diameter ranging from 0.9 to 1.2 μm , with numerous long cristae arranged in parallel groups. It is not infrequent to find mitochondriae whose appearance is suggestive of their being in the middle of the process of multiplication by bipartition.

The random arrangement of the mitochondriae in the ooplasm, which is typical of the oogonia and young oocytes, disappears gradually during oogenesis. During vitelogenesis the chondriome gradually becomes situated in three well-defined areas of the oocyte cytoplasm (ooplasm): one near to the nucleus (perinuclear situation), another in the central area of the ooplasm (endoplasmic situation) and a third one near to the plasmic membrane (cortical situation). The number of mitochondriae in the perinuclear situation increases during vitelogenesis coinciding with the nuclear emission; in the same way mitochondrial groups can usually be found in the area around the nuclear envelope.

During vitelogenesis one can observe how a certain number of mitochondriae begin internal regression, with alteration of the cristae, being converted into clear vesicles which during secondary vitelogenesis become filled with a substance with a granular appearance which is electron dense, and gives rise to a certain type of viteline platelet.

Introducción

Las mitocondrias manifiestan una espectacular plasticidad morfológica durante el curso de la maduración oocitaria, experimentando una serie de modificaciones cuantitativas y cualitativas (HADEK, 1965; SRIVASTAVA, 1965; BRUSLÉ, 1972). El número de mitocondrias en los oocitos es muy variable, dependiendo de la especie estudiada y de la fase de desarrollo oogenético que se considere. Por lo general, las mitocondrias son poco numerosas en las oogonias y oocitos premeióticos, aumentando en número a medida que avanza la maduración del oocito. NORREVANG

(1965b) en Priapulus observa 250 mitocondrias en los oocitos de 15 μm , aumentando el número de las mismas en varios miles cuando los oocitos alcanzan los 35 μm .

Todos los autores coinciden en señalar que las mitocondrias presentan una extremada diversidad de tamaño y forma, junto a una gran variedad de aspectos estructurales. Según BRUSLÉ (1972) a un importante polimorfismo mitocondrial (mitocondrias redondas, ovaladas, alargadas, bifurcadas, anastomosadas...) acompaña un remarcable pléomorfismo estructural de las crestas mitocondriales (largas, cortas, rectas, arqueadas, dispuestas en series paralelas, en series concéntricas...) y una variabilidad de la densidad electrónica de la matriz.

La distribución de las mitocondrias en los oocitos es variable, pudiendo estar distribuidas al azar en el ooplasma o agruparse en determinadas áreas bien delimitadas; esta última distribución es la más frecuente. Las mitocondrias pueden situarse: a) en uno de los dos polos del oocito, como ocurre en Artemia (ANTEUNIS et al., 1966), b) en las proximidades del núcleo (disposición perinuclear), c) diseminadas en la zona media del citoplasma (disposición endoplásmica) o bien d) junto a la membrana plasmática (disposición cortical).

Las mitocondrias pueden formar "agregados mitocondriales", resultado de la asociación de un número determinado de mitocondrias a las que acompaña en ocasiones una sustancia electrodensa denominada "cemento" intermitocondrial (ANDRÉ, 1962). Estas formaciones son características de las células germinales en estadios iniciales de la gametogénesis (oocitos y espermatozoides jóvenes) de numerosas especies (ANDRÉ, 1962; CLÉROT, 1968, 1976; PETIT, 1973; EDDY, 1975; EDDY & ITO, 1971; KALT, 1973; BOZZO, 1982; AZEVEDO, 1984).

André (1962) estudia la génesis de estos agregados mitocondriales y observa que los precursores del "cemento" intermitocondrial son los mismos gránulos electrodensos que forman parte de las masas de "nuage" situadas junto a la envoltura nuclear de las células germinales. El estudio ultraestructural de los agregados mitocondriales en anfibios (CLÉROT, 1968; EDDY, 1975; KALT, 1973) y en peces teleósteos (CLÉROT, 1976) muestra que el "cemento" está en contacto, a la vez con la membrana externa de las mitocondrias y la envoltura nuclear. Estas observaciones a nivel morfológico apoyan la hipótesis que sugiere el origen nuclear del "cemento" intermitocondrial.

En los oocitos, durante el proceso de la ovogénesis es frecuente

observar agrupaciones de diferentes orgánulos celulares (retículo endoplasmático rugoso, láminas anilladas, mitocondrias, vesículas del complejo de Golgi, masas electrodensas...) íntimamente relacionadas (NORREVANG, 1968). Estas agrupaciones corresponden a los "núcleos vitelinos" ("yolk nucleus", "Dotterkern") o a los "cuerpos o núcleos de Balbiani" (BALBIANI, 1864), de la microscopía fotónica de principios de siglo. BALINSKY & DEVIS (1963) describen en los anfibios núcleos vitelinos constituidos únicamente por agregados mitocondriales y los consideran como los centros de multiplicación de las mitocondrias.

La existencia de relaciones entre las mitocondrias y diversos orgánulos estructurales como el retículo endoplasmático o las láminas anilladas, puede considerarse como una expresión morfológica de la participación de proteínas citoplasmáticas de origen nuclear en la formación de nuevas mitocondrias. Así, en varias especies (Thyone: KESSEL, 1964; Hamster: WEAKLEY, 1967; Conejo: ANDERSON et al., 1970) las mitocondrias están dispuestas entre láminas paralelas de retículo endoplasmático rugoso. La asociación entre mitocondrias y retículo endoplasmático es interpretada por RUBY et al. (1969) como un mecanismo de síntesis de proteínas y de enzimas mitocondriales. ANTEUNIS et al. (1966) describen en el oocito de Artemia salina un cuerpo complejo de estructura regular y simétrica, "complexe tubulo mitochondrial" que está constituido por mitocondrias, sáculos de retículo endoplasmático rugoso en forma de tubos y por un "cemento" denso. Este cuerpo complejo que es considerado el núcleo vitelino del oocito de Artemia parece desempeñar un importante papel en la síntesis de proteínas.

Material y métodos

Hemidiaptomus roubaui es un copépodo calanoide planctónico de agua dulce, que vive en aguas temporales, generalmente limpias y poco mineralizadas. Los ejemplares utilizados para este estudio proceden de los Estanys de Capmany (Girona), que se encuentran sobre pizarras y esquistos.

Para el estudio al microscopio electrónico se fijaron animales fragmentados o se hizo la disección del aparato reproductor de los mismos; operación que se realizó en el mismo líquido de fijación.

Como método de fijación se utilizó el de la "fijación doble", o sea una previa fijación con una mezcla de paraformaldehído-glutaraldehído (KARNOVSKY, 1965) tamponada con fosfato 0.2 M (pH 7.4) a 4 °C du-

rante 3 h. Después de un lavado con tampón fosfato 0.2 M se procedió a una postfijación de 1 h. con tetraóxido de osmio al 2 % en el mismo tampón y a temperatura ambiente. Tras una deshidratación progresiva con etanol y utilizando el óxido de propileno como líquido intermediario, se procedió a la inclusión en resina Spurr (1969). Los cortes ultrafinos se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo (REYNOLDS 1963) siendo observados en un microscopio electrónico PHILIPS EM-200, del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona.

Observaciones

El número de mitocondrias varía a lo largo del proceso de la oogénesis, siendo poco numerosas en las oogonias y oocitos jóvenes. Durante el curso de la maduración oocitaria, el condrioma experimenta un considerable aumento numérico ligado a una mayor actividad de multiplicación.

Se observa una plasticidad morfológica y estructural que se traduce en una cinética mitocondrial ligada al metabolismo oocitario. En los oocitos en vitelogénesis se aprecia un predominio de mitocondrias ovoides de 0.9 a 1.2 μm de diámetro, con abundantes y largas crestas dispuestas en series paralelas (Lám. I, figs. 2, 3, 4). Alguna que otra cresta puede llegar a tabicar, en ocasiones, a la matriz mitocondrial, quedando la mitocondria compartimentada (Lám. II, fig. 2; Lám. I, fig. 5). En la matriz mitocondrial de escasa electrodensidad se observan elementos fibrilares que podrían corresponder a agregados de moléculas de ADN (Lám. II, fig. 2). Con cierta frecuencia se encuentran mitocondrias, cuyo aspecto hace pensar que están en plena fase de multiplicación por bipartición o escisión; en estos casos las mitocondrias presentan una típica configuración en forma de ocho (Lám. II, fig. 1; Lám. I, figs. 1, 2).

La disposición al azar de las mitocondrias en el ooplasma, típica de las oogonias y oocitos jóvenes, va desapareciendo durante la oogénesis. En la fase de vitelogénesis se observa una agrupación paulatina del condrioma en tres zonas bastante bien delimitadas del citoplasma: una en las proximidades del núcleo (disposición perinuclear), otra en la zona media del ooplasma (disposición endoplásmica) y una tercera, junto a la membrana plasmática (disposición cortical).

La disposición perinuclear de las mitocondrias se empieza a observar a partir de la fase de previtelogénesis y continúa durante la

vitelogénesis. El número de mitocondrias en disposición perinuclear aumenta durante la vitelogénesis primaria coincidiendo con la emisión nuclear, del mismo modo suelen encontrarse agregados mitocondriales en las cercanías de la envoltura nuclear. Estas formaciones suelen estar constituídas por cinco o más mitocondrias que rodean a un material denso y granuloso de textura parecida a la de las masas electrodensas de "nuage" y denominado "cemento intermitocondrial" por ANDRÉ (1962). Se ha observado que algunas de las mitocondrias que constituyen los agregados mitocondriales se encuentran en proceso de división (Lám. I, fig. 6).

Durante la fase de vitelogénesis se observa como cierto número de mitocondrias entra en regresión interna, alterándose sus crestas y convirtiéndose en vesículas claras, las cuales durante la vitelogénesis secundaria se van llenando de un material de aspecto granuloso y electrodense, que da lugar a las plaquetas vitelinas tipo II. (Lám. III, figs. 1 a 6).

A medida que avanza la vitelogénesis, las mitocondrias ocupan una posición más central en el citoplasma (disposición endoplásmica), y se distribuyen entre las vesículas de retículo endoplasmático y los gránulos de vitelo.

Finalmente, durante la vitelogénesis secundaria, en la zona cortical del citoplasma, junto a las vesículas de endocitosis, se observan mitocondrias de pequeño tamaño, generalmente esféricas y de matriz muy poco densa (disposición cortical); están situadas cerca de las plaquetas vitelinas en formación.

Discusión

En H. roubaui, el número de mitocondrias varía durante la ovogénesis; en las oogonias y oocitos en leptoteno, zigoteno y paquiteno, las mitocondrias son poco numerosas, aumentando a partir de la fase de previtelogénesis, llegando a un valor máximo en la fase de vitelogénesis primaria. Estos resultados concuerdan tanto con los obtenidos en otras especies de copépodos estudiadas (Centropages: ARNAUD et al., 1982; Labidocera: BLADES & YOUNGBLUTH, 1984) como con los de otros organismos (Hemicentrotus: TSUKAHARA & SUGIYAMA, 1969; Corydendrium: GLATZER, 1971; Ilyanasa: GERIN, 1971; Heterocypris: RIBES, 1979; Terebratula: BOZZO, 1982).

Con cierta frecuencia se observa en H. roubaui durante la fase de

vitelogenesis primaria, mitocondrias cuyo aspecto hace pensar que están en pleno proceso de multiplicación por bipartición. El aumento numérico del condrioma consecuencia de una activa multiplicación por escisión o gemación de las mitocondrias preexistentes ha sido descrita por varios autores (NORREVANG, 1965; GALANGAU, 1969; KING et al., 1971; RIBES 1979). Otros autores propugnan por un proceso de biogénesis mitocondrial a partir de las proteínas y ARN del "cemento" intermitocondrial (ANDRÉ, 1962; CLÉROT, 1968; KESSEL, 1969; PETIT, 1973; SZOLLOSI, 1969; WEAKLEY, 1971). En H. roubaui, también se puede especular sobre la existencia de este último proceso de biogénesis mitocondrial al observar que algunas de las mitocondrias que forman parte de los agregados mitocondriales se encuentran en fase de división.

En los oocitos de H. roubaui se ha constatado la plasticidad morfológica citada en el párrafo anterior. En las oogonias, las mitocondrias son más bien grandes y esféricas, tienen unas crestas bien constituidas y su matriz presenta una escasa electrodensidad. Los oocitos premeióticos en leptoteno, zigoteno y paquiteno tienen unas mitocondrias redondas u ovales ligeramente más pequeñas que en la fase anterior, algunas de ellas presentan alteraciones en sus crestas originando membranas mielínicas a nivel de su matriz. En la fase de previtelogenesis las mitocondrias son ligeramente más grandes, muestran una matriz densa con crestas transversales y se distribuyen formando grupos en zonas próximas a la envoltura nuclear (disposición perinuclear). Con la entrada en vitelogenesis se observa un incremento numérico de las mitocondrias en el citoplasma de los oocitos; éstas son ovales de 0.9 a 1.2 μm de diámetro, con abundantes y largas crestas que dispuestas en series paralelas atraviesan la matriz mitocondrial de poca electrodensidad. Se observan también mitocondrias cuyas largas crestas llegan a tabicar por completo la matriz mitocondrial, algo parecido a lo descrito en Mytilus (DURFORT, 1973). Esta plasticidad morfológica y estructural del condrioma se traduce en una cinética mitocondrial ligada al metabolismo oocitario, habiendo sido estudiada en otros grupos de invertebrados (AESCHLIMANN & HECKER, 1967; DUMONT, 1969) y de modo más preciso en los mamíferos (TSUDA, 1965; WEAKLEY, 1966; ANDERSON et al., 1970; STERN et al., 1971).

La disposición más frecuente encontrada en H. roubaui, durante toda la ovogénesis y especialmente a partir de la fase de previtelogenesis es la perinuclear o yuxtannuclear. Este tipo de distribución ha sido ob-

servada en una gran mayoría de grupos zoológicos (BRUSLÉ, 1972). En artrópodos fue observada por BEDFORD (1966) y en el copépodo calanoide Centropages typicus por ARNAUD et al. (1982).

En el oocito en vitelogénesis de H. roubaui las mitocondrias adoptan además otras disposiciones: la disposición endoplásmica y la cortical. Las mitocondrias se sitúan en la zona media del ooplasma, entre las vesículas de retículo endoplasmático rugoso precursoras del vitelo tipo I, el complejo de Golgi y las láminas anilladas (disposición endoplásmica). Cuando el oocito entra en vitelogénesis secundaria, algunas de las mitocondrias ocupan una posición más cortical en el ooplasma, situándose junto a las vesículas de endocitosis y las plaquetas vitelinas (disposición cortical).

En los oocitos premeióticos de H. roubaui, se observa en el interior de la matriz mitocondrial, y con cierta frecuencia, estructuras laminares concéntricas, a modo de figuras mielínicas, resultado de la fragmentación y de la laminación de las crestas mitocondriales. Se observa además en los oocitos previtelogénicos que algunas de sus mitocondrias tienen sus crestas hinchadas y con vesículas en su interior. Estas peculiaridades morfológicas presentes en algunas de las mitocondrias de los oocitos de H. roubaui pueden ser alteraciones locales y puntuales del metabolismo celular y se deben interpretar en el contexto de una cinética normal y no patológica del condrioma. La misma opinión es sostenida por HADEK (1965) y WISCHNITZER (1970) en su estudio de la oogénesis en diversas especies de organismos. Otros autores como BAKER & FRANCHI (1967) consideran la presencia de vesículas intramitocondriales con formaciones membranosas mielínicas como una manifestación patológica, similar a la que acontece al someter a un tejido normal a un tratamiento en medio hipotónico (HERTIC & ADAMS, 1967) o a las radiaciones X (PARSONS, 1962; BRUSLÉ, 1969), opinión contraria a la anterior.

La presencia de inclusiones lipídicas dentro de las mitocondrias originando las llamadas lipocondrias de HOLTFRITTER (1946), descritas en varias especies de organismos (Rana pipiens: WARD 1962; Xenopus: LENIQUE, 1953) no han sido observadas en H. roubaui, en cambio sí se han observado durante los primeros estadios de la oogénesis inclusiones lipídicas adosadas a la pared de las mitocondrias, que parecen estar destinadas a cubrir las necesidades energéticas de la célula a través de la oxidación de sus propios ácidos grasos.

En el citoplasma de las oogonias y oocitos premeióticos de H. roubaui se observa la presencia de acúmulos electrodensos a modo de "nua-ge" próximos a las mitocondrias, pero no en contacto con las mismas, formando los "agregados mitocondriales" descritos por ANDRÉ (1962). Es en los oocitos en vitelogénesis primaria donde se observa la asociación entre los acúmulos de material electrodenso y un número determinado de mitocondrias, cinco o seis, que rodean a dicho material. Estos agregados mitocondriales se localizan generalmente cerca de la envoltura nuclear junto a las láminas anilladas.

Ha sido observado por varios autores (ANDRÉ, 1962; CLÉROT, 1968 y 1976) que la presencia en el citoplasma perinuclear de agregados mitocondriales es simultánea a una multiplicación intensiva de las mitocondrias, que a su vez se hacen más grandes, alargadas, provistas de grandes crestas y con una matriz electrodensa. Debido a estas observaciones los agregados mitocondriales han sido considerados como centros de multiplicación de las mitocondrias. Esta hipótesis es válida para los oocitos de H. roubaui estudiados, ya que algunas de las mitocondrias que forman parte de los agregados mitocondriales se encuentran en fase de división por escisión. Se ha demostrado que la formación de nuevas mitocondrias depende de la información genética nuclear, estimando ciertos autores que tan sólo el 10 % de las proteínas mitocondriales son sintetizadas por los mitorribosomas, mientras que el 90 % restante son elaboradas a nivel de los ribosomas citoplasmáticos. Según CLÉROT (1979), la biogénesis de las mitocondrias resulta del funcionamiento simultáneo de dos sistemas de síntesis proteica, uno el más preponderante, a nivel citoplasmático, y otro, minoritario, a nivel mitocondrial, considerando a los agregados mitocondriales como la "materialización" directa de la contribución del genoma nuclear a la formación de nuevas mitocondrias. El "cemento" intermitocondrial estaría constituido por los elementos citoplasmáticos de origen nuclear que darán origen a las proteínas mitocondriales.

Las proteínas y el ARN son los compuestos macromoleculares mayoritarios que han sido propuestos como constituyentes del "cemento" intermitocondrial. El ADN fue considerado asimismo como constituyente de dicho "cemento" por FICQ & URBANI (1969). PETIT (1973) en Polydesmys y CLÉROT (1979) en varias especies de peces teleósteos, han evidenciado ARN en el "cemento" mediante incorporación de uridina-H3 y autoradiografía. Las proteínas se han detectado mediante pruebas citoquímicas

ultraestructurales (CLÉROT, 1968a; PETIT, 1973) y por autorradiografía en microscopía electrónica (EDDY & ITO, 1971; CLÉROT, 1979). La incorporación de fenilalanina-H³ (CLÉROT, 1979) aporta la confirmación de la presencia de proteínas en el cemento intermitocondrial, demostrada por el análisis citoquímico (CLÉROT, 1968) y por el análisis bioquímico (TOURY et al., 1977). Una incorporación de fenilalanina-H³ ha sido igualmente observada en los oocitos de Rana clamitans (EDDY & ITO, 1971).

El estudio cinético de la incorporación de los dos tipos de precursores (uridina-H³ y fenilalanina-H³) ha permitido formular por parte de ciertos autores (CLÉROT, 1979), la hipótesis de un traslado simultáneo de ARN y proteínas bajo la forma de un complejo ribonucleoproteico, en el cual las proteínas servirán a la vez de vehículo y de protector del ARN, asegurando el traslado desde el núcleo hasta el citoplasma y originando al menos una parte importante del "cemento" mitocondrial.

En H. roubaui los núcleos vitelinos están constituidos únicamente por mitocondrias y material electrodense, es decir, por los agregados mitocondriales. No se han observado mitocondrias envueltas por varias vesículas aplanadas de retículo endoplasmático, tal como se ha descrito en el oocito de Mytilus (DURFORT, 1973) y en menor proporción en el oocito de Heterocypris (RIBES, 1979). En los oocitos de Terebratula (BOZZO, 1982) estos núcleos vitelinos están formados por unas pocas vesículas del complejo de Golgi, mitocondrias y pequeñas vesículas de retículo endoplasmático.

Conclusiones

- La forma, la estructura y la distribución de las mitocondrias, así como sus relaciones con los otros orgánulos plasmáticos varía notablemente durante la ovogénesis.
- Las mitocondrias son poco numerosas en las oogonias y oocitos premeióticos, aumentando en número a medida que avanza la maduración del oocito.
- En el ooplasma de los oocitos en vitelogenénesis primaria se observan mitocondrias que dividen por bipartición o escisión y agregados mitocondriales en posición yuxtannuclear.
- La disposición más frecuente de las mitocondrias en el oocito de H. roubaui durante toda la ovogénesis y especialmente a partir de la fase de previtelogenénesis es la perinuclear o yuxtannuclear.

- En los oocitos premeióticos se observan en el interior de la matriz de cierto número de mitocondrias estructuras laminares concéntricas a modo de figuras mielínicas, que se deben interpretar como perturbaciones puntuales del metabolismo celular, integradas en el contexto de una cinética normal y no patológica del condrioma.

Bibliografía

- AESCHLIMANN A. & HECKER H. (1967). Observations préliminaires sur l'ultrastructure de l'ovocyte en développement chez Ornithodoros montana M. (Ixodoidea, Argasidae). Acta trop., 24, 225-243.
- ANDERSON E., LOCHHEAD J.H., LOCHHEAD M.S. & HUEBNER E. (1970). The origin and structure of the tertiary envelope in thick-shelled eggs of the brine shrimp, Artemia. J. Ultrastructure Res., 32, 497-525.
- ANDRÉ J. (1962). Contribution à la connaissance du chondriome. Etude de ses modifications ultrastructurales pendant la spermatogenèse. J. Ultrastructure Res., suppl. 3, 1-185.
- ANTEUNIS A., FAUTREZ-FIRLEFYN N. & FAUTREZ J. (1966). A propos d'un complexe tubulo-mitochondrial ordonné dans le jeune oocyte d'Artemia salina. J. Ultrastr. Res., 15, 122-130.
- ARNAUD J., BRUNET M. & MASSA J. (1982). Etude de l'ovogenèse chez Centropages typicus (Copepoda, Calanoida). Reprod. Nutr. Dévelop. 22 (3), 537-555.
- AZEVEDO C. (1984). Development and ultrastructural autoradiographic studies of nucleolus-like bodies (nuages) in oocytes of a viviparous teleost (Xiphophorus helleri). Cell Tissue Res., 238, 121-128.
- BALBIANI (1864), in BOZZO M.G. (1982).
- BAKER T.G. & FRANCHI L.L. (1967). The fine structure of oogonia and oocytes in human ovaries. J. Cell Sci., 2, 213-224.
- BALINSKY B.I. & DEVIS R.J. (1963). Origin and differentiation of cytoplasmic structures in the oocytes of Xenopus laevis. Acta embr. et Morph. Exp., 6, 55-108.
- BEDFORD L. (1966). The electron microscopy and cytochemistry of oogenesis and the cytochemistry of embryonic development of the Proso-branch gastropod Bembicium nanum L. J. Embr. exp. Morph., 15, 15-37.
- BLADES-ECKELBARGER P.I. & YOUNGBLUTH M.J. (1984). The ultrastructure of oogenesis and yolk formation in Labidocera aestiva (Copepoda, Calanoida). Journal of Morphology 179, 33-46.
- BOZZO M.G. (1982). Estudi ultrastructural dels processos oogenètic i espermato-genètic de Terebratulita vitrea (Gmelin). Braquiòpodes Testicardins. Tesi Doctoral. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona.
- BRUSLÉ J. (1969). Altérations mitochondriales différentielles par irradiation X dans les auxocytes d'Asterina gibbosa. J. Micr., 8

- (suppl.), 36a.
- BRUSLÉ J. (1972). Les infrastructures germinales femelles précoces (gonocytes, ovogonies et ovocytes I). Ann. Biol. 9, 505-571.
- CLÉROT J.C. (1968). Mise en évidence par cytochimie ultrastructurale de l'émission de protéines par le noyau d'auxocytes de Batraciens. J. Microscopie, 7, 973-992.
- CLÉROT J.C. (1976). Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons Téléostéens Cyprinidés. I. Etude ultrastructurale. J. Ultrastructure Res., 54, 461-475.
- CLÉROT J.C. (1979). Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons Téléostéens cyprinidés. II. Etude autoradiographique à haut resolution de l'incorporation de phényl-alanine ^3H et d'uridine ^3H . Exp. Cell Res., 120, 237-244.
- DUMONT J.N. (1969). Oogenesis in the Annelid Enchytraeus albidus with special reference to the origin and cytochemistry of yolk. J. Morph., 129, 317-344.
- DURFORT M. (1973). Ultraestructura de la gónada femenina de algunos moluscos. Tesis Doctoral. Fac. Ciencias, S. Biol. Universidad de Barcelona.
- EDDY E.M. (1975). Germ plasm and the differentiation of the germ cell line. In G.H. Bourne and J.F. Danielli (eds.): International Review of Cytology, vol. 43. New York, Academic Press, p. 229-280.
- EDDY E.M. & ITO S. (1971). Fine structural and radioautographic observations of dense perinuclear cytoplasmic material in tadpoles oocytes. J. Cell Biol., 49, 90-108.
- FICQ A. & URBANI E. (1969). Exp. Cell Res., 55, 243. Ref. EDDY E.M., 1975.
- GALANGAU V. (1969). Etude au microscope électronique de la gamétogenèse de Milax gagates D. (gastéropodes Pulmonés Limacidae); évolution des ultrastructures au cours de la spermatogenèse chez différents types de Mollusques. Thèse Doc. Etat, Montpellier, CNRS. A. 3746, 151.
- GLATZER K.H. (1971). Die Ei-und Embryonalentwicklung von Corydendrium parasiticum mit besonderer Berücksichtigung der Oozyten Feinstruktur während der vitellogenese. Helgol. wiss. Meeresunt., 22, 213-280.
- GERIN Y. (1971). Etude par cytochimie ultrastructurale des corpuscules périnucléaires présents dans les jeunes ovocytes de Ilyanassa absoleta S. (Mollusca Bastéropode). J. Emb. exp. Morph., 25, 423-438.
- HADEK R. (1965). The structure of the mammalian egg. Int. Rev. Cytol., 18, 29-71.
- HERTIG A.T. & ADAMS E.C. (1967). Studies on the human oocyte and its follicle. I. Ultrastructural and histochemical observations on the primordial follicle stage. J. Cell Biol., 34, 647-675.
- HOLTFRETER J. (1946). Experiments on the formal inclusions of the amphibian egg. I. The effect of pH and electrolytes on yolk and lipochondria. J. exp. Zool., 101, 355.

- KALT M.R. (1973). Ultrastructural observations on the germ line of Xenopus laevis. Zeits. Zellforsch., 138, 41-62.
- KARNOVSKY M.J. (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. J. Cell Biol., 27, 137-138.
- KESSEL R.G. (1964). Electron microscope studies on oocytes of an echinoderm, Thyone briaseus, with special reference to the origin and structure of the annulate lamellae. J. Ultrastruct. Res., 10, 498-514.
- KESSEL R.G. (1969). Cytodifferentiation in the Rana pipiens oocytes. I. Association between mitochondria and nucleolus-like bodies in young oocytes. J. Ultrastruct. Res. 28, 61-77.
- KING P.E., RATCLIFFE N.A. & FORDY M.R. (1971). Oogenesis in a Braconid, Apanteles glomeratus (L.) possessing an hydropic type of egg. Z. Zellf., 119, 43-57.
- LENIQUE (1953), in DURFORT M. (1973a).
- NORREVANG A. (1965). Oogenesis in Priapululus caudatus L. Vidensk. Medd. Dansk. naturh. Foren., 128, 1-83.
- PARSONS D.F. (1962). An electron microscope study of radiation damage in the Mouse oocyte. J. Cell Biol., 14, 31-48.
- PETIT J. (1973). Etude morphologique et cytochimique de deux types de groupements mitochondriaux dans les jeunes ovocytes de Polydesmus augustus Latz. (Myriapode, Diplopode). J. Microscopie, 17, 41-51.
- REYNOLDS E.S. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 17, 208-212.
- RIBES E. (1979). Ultraestructura del ovocito de Heterocypris incongruens Ramdohr. Ostrácodo. Tesina. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona.
- RUBY J.R., DYER R.F. & SKALKO R.G. (1969). The occurrence of intercellular bridges during oogenesis in the mouse. J. Morph., 127, 307-340.
- SPURR A.R. (1969). A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastruct. Res., 26, 31-43.
- SRIVASTAVA M.D.L. (1965). Cytoplasmic inclusions in oogenesis. Int. Rev. Cytol., 18, 73-98.
- STERN S., BIGGERS J.D. & ANDERSON E. (1971). Mitochondria and early development of the Mouse. J. exp. Zool., 176, 179-192.
- SZOLLOSI D. (1969). Mitochondrion-rough endoplasmic reticulum complexes in maturing oocytes and spermatocytes. J. Cell Biol., 43, 143a-144a.
- TOURY R., CLÉROT J.C. & ANDRE J. (1977). Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons Téléostéens Cyprinidés. IV. Analyse biochimique des constituants du "ciment" intermitochondrial isolé. Biol. Cellulaire, 30, 225-232.
- TSUDA H. (1965). An electron microscope study of oogenesis in the mouse with special reference to the behaviours of oogonia and oocytes at meiotic prophase. Arch. histol. jap., 25, 533-555.
- TSUKAHARA J. & SUGIYAMA M. (1969). Ultrastructural changes in the sur-

- face of the oocyte during oogenesis of the sea-urchin Hemicentrotus pulcherrimus. Embryologia, 10, 343-355.
- WARD D.T. (1962). Origin of protein in R. pipiens. II. Electron microscopical and observations of young and mature oocytes. J. Cell Biol., 14, 349-351.
- WEAKLEY B.S. (1966). Electron microscopy of the oocyte and granulosa cells in the developing ovarian follicles of the golden Hamster (Mesocricetus auratus). J. Anat., 100, 503-534.
- WEAKLEY B.S. (1967). "Balbiani's body" in the oocyte of the golden hamster. Z. Zellf., 83, 582-588.
- WEAKLEY B.S. (1971). Basic protein and ribonucleic acid in the cytoplasm of the ovarian oocyte in the golden Hamster. Z. Zellf., 12, 69-84.
- WISCHNITZER S. (1970). An electron microscope study of cytoplasmic organelle transformations in developing Mouse ovocytes. Wilhelm Roux' Archiv., 166, 150-172.

Explicación de las figuras

Lámina I.

- Fig. 1-5. Detalles ultraestructurales de las mitocondrias presentes en el citoplasma de los oocitos en vitelogénesis primaria. Se observan mitocondrias ovaladas con abundantes y largas crestas dispuestas en series paralelas, alguna que otra cresta tabica a la matriz mitocondrial (flecha), lo que da lugar a su compartimentación. (Fig. 1: x 47.040; Fig. 2: x 35.840; Fig. 3: x 62.080; Fig. 4: x 35.840; Fig. 5: x 47.040).
- Fig. 6. Agregado mitocondrial, constituido por 5 mitocondrias alrededor de un material denso y granuloso (Cim, cemento intermitocondrial). Junto al agregado mitocondrial, se observa un grupo de láminas anilladas (LA) y una gran vesícula endoplasmática (Ve) (x 16.740).

Lámina II.

- Fig. 1. Aspecto de una mitocondria en división por bipartición o escisión múltiple, con la típica configuración en forma de 8. (x 62.431).
- Fig. 2. Corte transversal de una mitocondria con abundantes y largas crestas, tres de las cuales (flechas) llegan a tabicar la matriz mitocondrial (x 98.598).

Lámina III.

- Fig. 1-6. Distintas fases de la formación de las plaquetas vitelinas tipo II (VII) a partir de las vesículas claras (Vc); (*) Material fibrilar; flechas: doble membrana unitaria. (Fig. 1, 2: x 26.000; Fig. 3: x 35.840; Fig. 4, 5: x 27.200; Fig. 6: x 35.840).





