

## DETALLS ULTRASTRUCTURALS DE LES CÈL·LULES FOL·LICULARS D'ASTACUS ASTACUS (CRUSTACEA, DECAPODA)

Rebut: juny 1980

M. Durfort, \* R. Bargalló, \*\* M. G. Bozzo,\*  
R. Fontarnau \*\* i J. López-Camps \*\*

### RESUMÉ

**Détails ultrastructuraux des cellules folliculeuses d'*Astacus astacus* (Crustacea, Decapoda)**

Dans leur évolution, les cellules folliculeuses d'*Astacus astacus* présentent un volumineux noyau très lobulé avec un nucléole finement granuleux accolé à l'enveloppe nucléaire pourvue de nombreux pores d'environ 50 nm de diamètre externe. Au moment précédant à la ségrégation le nucléole se vacuolise énormément.

Les mitochondries et les vésicules ergastoplasmiques ne montrent guère de changements durant cette évolution. Du reticule endoplasmique et des dictyosomes libèrent des vésicules de 0,2 µm délimitées par une membrane unitaire qu'elles ont sécrété dans l'espace qu'il y a entre la cellule folliculeuse et l'ovocyte. De cette façon, la zone pellucide atteint des dimensions considérables et présente un aspect strié très particulier, montrant une réaction, au microscope photonique, fortement positive au PAS.

### INTRODUCCIÓ

Les gònades femenines són habitualment formades per dos tipus cel·lulars: les somàtiques, dites també vitel·lines o fol·liculars, i les cèl·lules germinals, en les seves diverses etapes de maduració.

El nombre i la disposició d'aquestes cèl·lules fol·liculars depenen de l'espècie estudiada. En determinats casos, una mateixa cèl·lula envolta totalment l'oogoni i en d'altres ocasions són de dotze a divuit les cèl·lules que encerclen cada unitat ger-

minativa, com és el cas de *Trachydermon cinereus* (DURFORT, 1974) o de *Ciona intestinalis* (DE SANTIS *et al.*, 1980).

Contactes de diversos tipus es troben entre les cèl·lules fol·liculars i les germinals, des de desmosomes a unions íntimes. De vegades, a part d'aquests contactes, ponts intercel·lulars es localitzen entre les cèl·lules fol·liculars, així com entre els oogonis i els oòcits, els quals donen lloc a una típica estructura sincitial, fet molt generalitzat en els insectes, principalment dípters, com queda manifestat en la revisió duta a ter-

\* Departament de Morfologia i Microscòpia. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Gran Via de les Corts Catalanes, 585. Barcelona, 7.

\*\* Servei de Microscòpia Electrònica. Universitat de Barcelona. Gran Via de les Corts Catalanes, 585. Barcelona, 7.

me per TELFER (1975) i, més recentment, en el treball de BEATTIE & CHENEY (1979).

Gairebé en tots els casos les cèl·lules fol·liculars són de tipus secretor, presenten un ben desenvolupat complex de Golgi, així com un reticle endoplasmàtic rugós, i lliuren el producte elaborat en l'espai situat entre elles i les cèl·lules germinals. Així contribueixen a la formació de les cobertes oocitàries secundàries, específicament en la constitució de la zona pellúcida.

S'ha comprovat que les cèl·lules fol·liculars són sintetitzadores dels precursors dels materials que donaran lloc al vitellus, en ser incorporats per micropinocitosi per part de l'oolemma dels oòcits en previtel·logènesi (RECOURT, 1961; TAYLOR & ANDERSON, 1969; BOTTKÉ, 1970; HILL, 1977; GRIFOND & GOMOT, 1979, entre d'altres).

En *Orchestia gammarellus*, RATEAU & ZERBIB (1978) assenyalen tres funcions en-

docrines molt concretes de les cèl·lules fol·liculars d'aquest amfípode: producció de l'hormona inductora de la formació dels esterguits, de l'hormona responsable de la formació de les setes ovígeres i finalment la que regularà la síntesi de la vitel·logenina, fet aquest últim demostrat per TAYLOR & ANDERSON (1969) en *Ilyanassa* i per GOGESHALL (1970) en *Aplysia*.

## MATERIAL I TÈCNiques

Les gònades femenines d'exemplars d'*Astacus astacus* han estat doblement fixades per al seu estudi al microscopi electrònic. Després d'una prefixació amb glutaral·hid tamponat a pH 7,3 amb Sørensen o bé en cacodilat sòdic o en glutaral·hid-parafomal·hid, igualment tamponat, durant dues hores a 4° C. La gònada és postfixada



FIG. 1. Imatge d'una cèl·lula fol·licular encerclada per la zona pellúcida (ZP) de diversos oòcits. Observeu l'estreta franja citoplasmàtica, plena de mitocondris i de grànuls de secreció (gs). N, nucli (12.200 x).

Aspect normal d'une cellule folliculaire entourée par l'aire pellucide (ZP) de plusieurs ovocytes. Remarquer l'étroite portion cytoplasmique, pleine de mitochondries et de grains de sécrétion (gs). N, noyau (12.000 x).

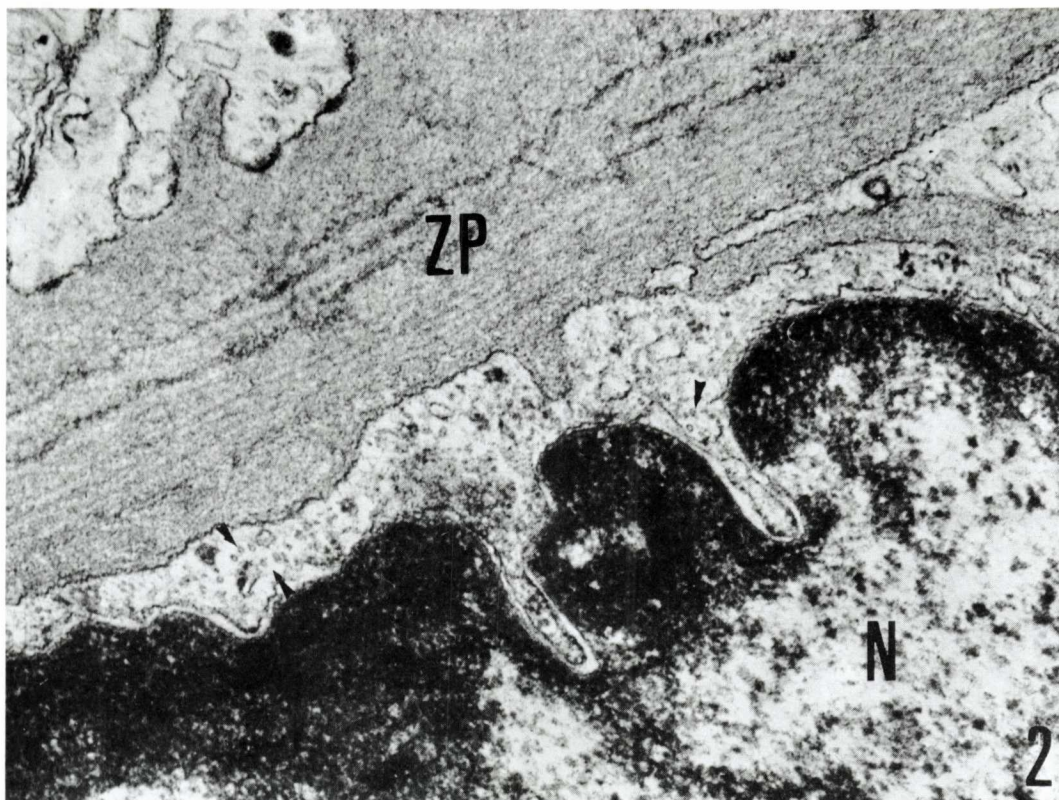


FIG. 2. Detall de la lobulació del nucli (N) de la cèl·lula folicular. Les sagetes assenyalen els microtúbuls tallats transversalment (42.000 x). Lobulation du noyau (N) de la cellule folliculaire. Les flèches signalent le faisceau de microtubules en coupe transversale (42.000 x).

amb tetraòxid d'osmi al 2 %, igualment tamponat.

La inclusió en Araldita-Epon és l'emprada més sovint i permet d'obtenir talls ultrafins que han estat habitualment contrastats amb acetat d'uranil i citrat de plom. L'observació ha estat feta amb microscopis electrònics de transmissió Phillips 200 i 301 del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona.

### OBSERVACIONS I DISCUSSIÓ

Les cèl·lules foliculars que envolten en nombre variable els oòcits d'*Astacus astacus*, són de tipus endoteliforme, és a dir, molt aplanades. En la fase estudiada, que correspon a la de la vitel·logènesi endògena o primària, la cèl·lula folicular té unes 200 micres de llargada i és molt sinuosa.

Un nucli molt voluminós és situat al bell mig de la cèl·lula, té el contorn molt lobulat i presenta en aquesta fase nombrosos porus i la cromatina forma condensacions distribuïdes perifèricament, a la vegada que dona lloc a grumolls disseminats per un nucleoplasma força dens. La segregació nucleolar és molt marcada en l'etapa de presíntesi d'aquestes cèl·lules.

Una franja citoplasmàtica més aviat estreta envolta la zona nuclear, on hom troba allargats mitocondris de matriu molt densa i nombroses crestes, entre les quals hi ha petits fragments de reticle endoplasmàtic rugós, així com reticle de tipus lis amb contingut dens.

El complex de Golgi és format per diversos dictiosomes dispersos, i constitueix de sis a vuit sàculs, els quals lliuren nombroses vesícules de 0,3 a 0,5 micres de diàmetre de contingut molt dens als electrons

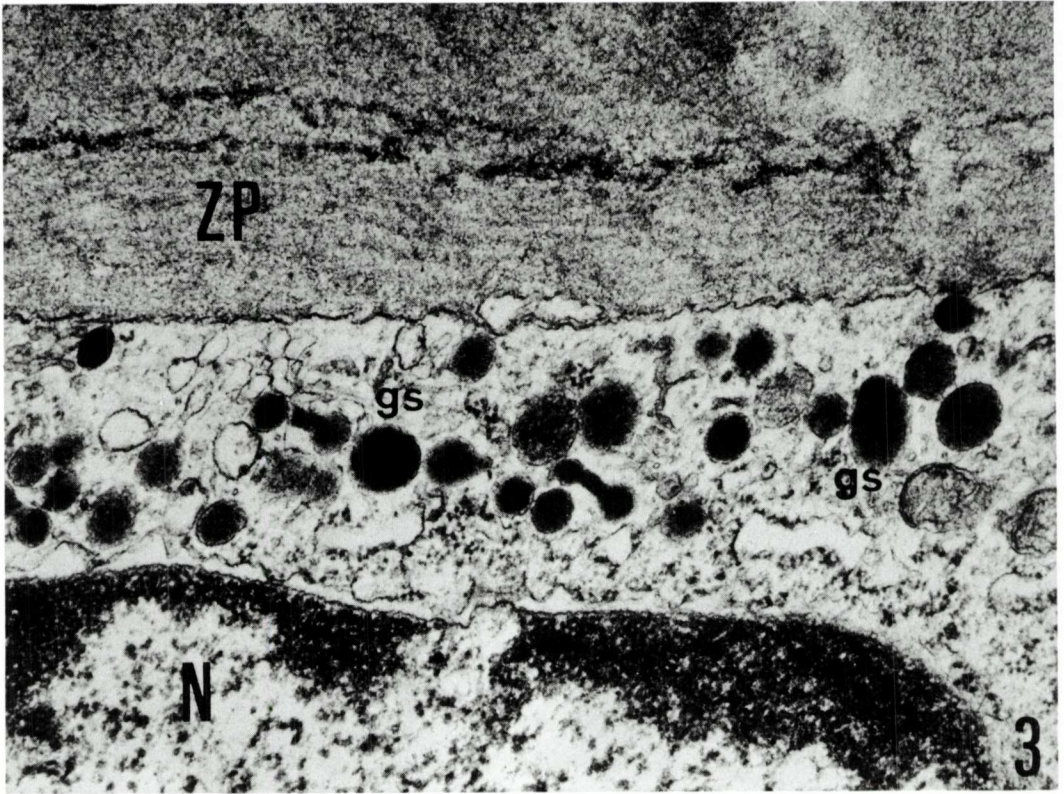


FIG. 3. Detalls dels grànuls de secreció (gs). La zona pellúcida (ZP) apareix amb una típica disposició estratificada dels seus components fibrosos (30.000 x).  
 Détails des grains de sécrétion (gs). L'aire pellucide (ZP) présente une typique stratification de ses constituents fibreux (30.000 x).

i que amb el microscopi òptic donen reacció altament PAS positiva.

El contingut d'aquestes vesícules golgiànes i el de les que provenen del reticle endoplasmàtic es lliurarà per exocitosi i s'anirà acumulant en l'espai situat entre la cèl·lula folicular i l'oòcit, on formarà la zona pellúcida, molt desenvolupada en *A. astacus*.

Una xarxa de microtúbuls es disposa paral·lelament a la membrana citoplasmàtica i d'alguna manera deu intervenir en la canalització dels mucopolisacàrids elaborats pels dictiosomes. Aquests microtúbuls són molt similars als que hem observat en l'ooplasma dels oòcits d'*Astacus* i que també han estat descrits per ZERBIB (1979) en aquesta mateixa espècie i en *A. fluviatilis*.

La zona pellúcida, que presenta un típic aspecte ultraestructural, altament estriat, és molt sinuosa i interiorment resseguida

per l'oolemma que emet en la fase de vitel·logènesi exògena o secundària unes remarcables macrovellositats, que recorden molt les descrites per ANDERSON & BEAMS (1960), en el cobai, així com les trobades per RICHARD & DHAINAUT (1973) en *Sepia officinalis* i pel mateix ZERBIB (1980) en *Orchestia gammarellus*.

Podem concloure tot assenyalant que les imatges trobades corresponen totalment a la d'una cèl·lula sintetitzadora, alhora que el producte elaborat és el responsable directe de la formació de la ben desenvolupada zona pellúcida dels oòcits d'*Astacus astacus*.

#### BIBLIOGRAFIA

ANDERSON, E. & BEAMS, H. W. 1960. Cytological observations on the fine structure of the gui-

nea pig ovary with special reference to the oogonium, primary oocyte and associated follicle cells. *J. Ultrastr. Res.*, 3: 432-446.

BEATTIE, G. A. C. & CHENEV, J. 1979. Ooogenesis in *Lucilia cuprina* (Wied.) (Diptera: Calliphoridae). I. Development of Nurse Cell Nuclei, the Oocyte Nucleus and the Follicle Cells. *Aust. J. Zool.*, 27: 331-347.

BÖTTKE, W. 1972. Zur Morphologie des Ovars von *Viviparus contectus* (Millet, 1813) (Gastropoda, Prosobranchia). I. Die Follikelzellen. *Z. Zellforsch.*, 133: 103-118.

DE SANTIS, R., JAMUNNO, G. & ROSATI, F. 1980. A Study of the Chorion and the Follicle Cells in Relation to the Sperm-Egg interaction in the Ascidian *Ciona intestinalis*. *Develop. Biol.*, 74: 490-499.

DURFORT, M. 1974. Ultraestructura de las expansiones de los ovocitos de *Trachydermon cinereus*, Thiele (Mollusca, Poliplacophora). *Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat.*, 72: 281-288.

GRIFFOND, B. & GOMOT, L. 1979. Ultrastructural

Study of the Follicle Cells in the Freshwater Gastropod *Viviparus viviparus*, L. *Cell Tissue Res.*, 202: 25-32.

HILL, R. S. 1977. Studies on the ovotestis of the slug *Agriolimax reticulatus* (Müller). II. The epithelia. *Cell Tissue Res.*, 103: 131-141.

RATEAU, J. G. & ZERBIB, C. 1978. Etude ultrastructurale des follicles ovocytaires chez le Crustacé Amphipode *Orchestia gammarellus* (Pallas). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 286: 65-68.

RECOURT, A. 1961. Elektronenmicroscopisch onderzoek naar de Oogenese bij *Limnaea stagnalis*, L. Tesis, Rijksuniversiteit, Utrecht.

RICHARD, A. & DHAINAUT, A. 1973. Evolution des cellules folliculaires au cours de l'ovogenèse de *Sepia officinalis* (Céphalopode). Note préliminaire. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 277: 2185-2188.

TAYLOR, G. T. & ANDERSON, E. 1969. Cytochemical and fine structural analysis of Oogenesis in the gastropod *Ilyanassa obsoleta*. *J. Morphol.*, 129: 211-248.

TELFER, W. H. 1975. Development and physiology

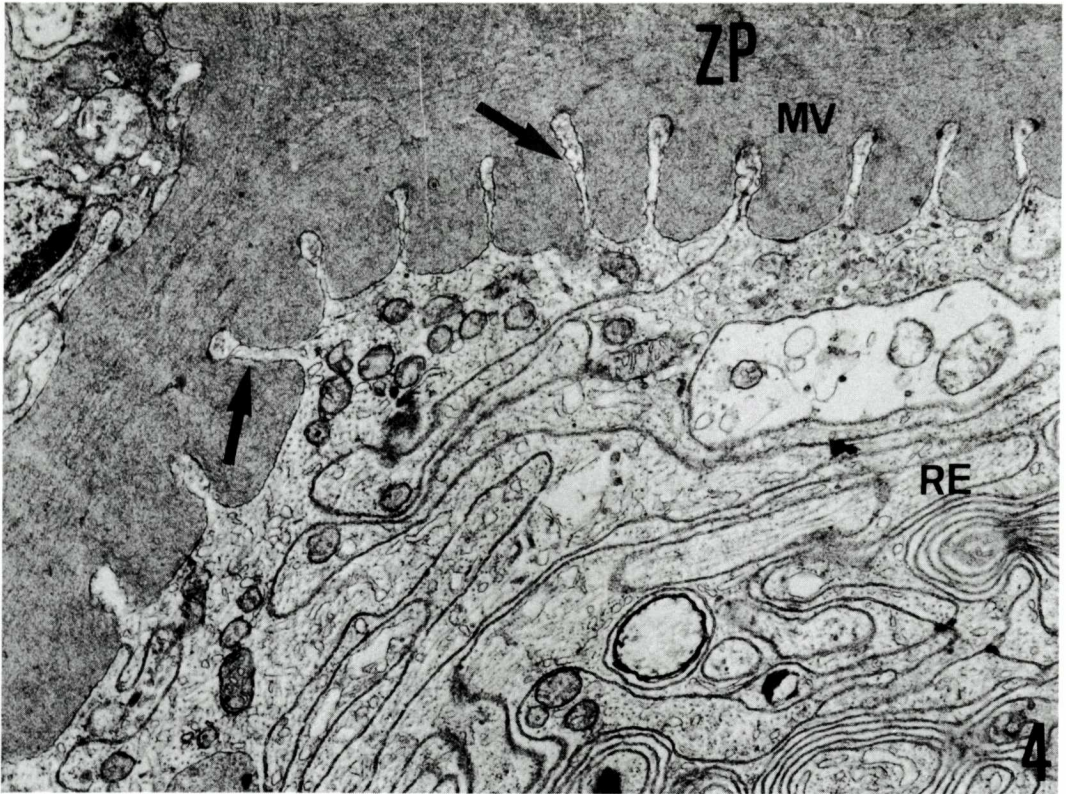


FIG. 4. Visió parcial d'un oòcit. La zona pellúcida (ZP) continua sense separació aparent amb la membrana vitel·lina (MV), la qual presenta unes digitacions o macrovellositats molt típiques, entre les quals hi ha *microvilli* (sagetes) emeses per l'oolemma. És de destacar la riquesa de reticle endoplasmàtic lliu, que adopta disposicions concèntriques molt característiques en els oòcits d'aquesta espècie (22.000 x).

Portion d'un ovocyte. L'aire pellucida (ZP) apparaît en continuité avec la membrane vitel·lina (MV), laquelle présente des macrovillosités très typiques; entre elles on aperçoit les microvillosités ovocytaires (flèches). Il faut souligner le développement du réticulum endoplasmique agranulaire qui présente souvent une disposition concentrique chez les ovocytes de cette espèce (22.000 x).

- of the oocyte-nurse cell syncytium. *Adv. Insect. Physiol.*, 11: 223-319.
- ZERBIB, CH. 1979. Etude ultrastructurale de l'ovocyte en vitellogénèse chez les Ecrevisses *Astacus astacus* et *A. leptodactylus*. *Intern. J. Invert. Reprod.*, 1: 289-295.
- ZERBIB, C. 1980. Ultrastructural observation of oogenesis in the Crustacean Amphipoda *Orchestia gammarellus* (Pallas). *Tissue and Cell*, 12: 47-62.