

Ultraestructura de las plaquetas vitelinas en tres especies de moluscos*

por

M. DURFORT COLL**

Una de las características de la célula germinal femenina es la de sintetizar y almacenar reservas que posteriormente empleará, durante el desarrollo embrionario del huevo fecundado. Es por lo que hay que considerar el ovocito como una célula elaborada, pero no secretora.

Las dimensiones y formas de las plaquetas vitelinas son distintas según las especies consideradas, aunque no presentan un polimorfismo muy acusado, la mayor diversidad reside posiblemente en su origen, pudiéndose considerar cuatro modalidades a nivel de toda la escala zoológica:

I) Formación libre en el citoplasma, sin estar relacionada con ninguna estructura en particular. En ocasiones se han apreciado en las proximidades del retículo endoplasmático rugoso, a modo de densos acúmulos granulosos que se van compactando a lo largo de la vitelogénesis.

Este origen ha sido descrito en los anfibios por KEMP (1956), por LANZAVECCHIA (1960), por TRUJILLO-CENOS y SOTELO (1959), así como por BOLOGNARI, en *Patella* (1960).

II) Formación del vitelo a nivel de los sáculos del retículo endoplasmático, en ellos se van acumulando material granuloso, que va adoptando una forma discoidal, típica de la plaqueta vitelina, de unos 800 Å de diámetro. Formaciones de este tipo se han observado en ovocitos de cangrejo de mar por BEAMS y KESSEL (1963), así como en algunas especies de Tunicados y en *Lebistes*, por DROLLER y ROTH (1966).

III) Acúmulo de material proteico en vacuolas preexistentes. Este tipo de formación ha sido descrito en ovocitos de numerosas especies, principalmente en insectos y gasterópodos pulmonados, así como en determinadas especies de anfibios y en el erizo de mar (AFZELIUS, 1956).

El material que se iría acumulando procede, en parte, de la región

* Este trabajo se basa, en parte, en un capítulo de la tesis doctoral del autor, sobre «Ultraestructura de la gónada femenina de algunos moluscos», dirigida por el Prof. Dr. L. VALLMITJANA y presentada en febrero de 1973.

** Departamento de Morfología y Microscopía y Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Barcelona.

cortical del ovocito, tras su incorporación por fenómenos de micropinocitosis. En algunos gasterópodos, YASUZUMI y TANAKA (1957) y BOLOGNARI (1960) opinan que la formación de las plaquetas está íntimamente relacionada con las vesículas del aparato de Golgi, hecho que se ha comprobado en otros grupos de organismos, así en algunas especies de erizos de mar AFZELIUS (1956) lo describe y HSU (1962) lo cita en ovocitos de ascidias.

En *Lebistes*, DROLLER y ROTH (1966) observan cómo se fusionan las vesículas golgianas con las de micropinocitosis.

IV) Formación de plaquetas vitelinas por fusión de material proteico en las crestas mitocondriales, no en la matriz. Uno de los primeros autores que observaron dicho proceso fueron FAVARD y SERENO (1958) en ovocitos de *Planorbis*, apreciando cómo se formaban láminas concéntricas y granuleaciones de unos 60 Å en el interior de los condriosomas.

ELBERS (1959) y RECOURT (1961) sugieren que ocurre algo similar en los ovocitos de *Limnaea*, ALBANASE y BOLOGNARI (1964) describen acúmulos de partículas de 150 Å en la matriz mitocondrial y EISENSTADT (1965) observa el progresivo aumento de las paredes mitocondriales y su transformación gradual en plaquetas vitelinas.

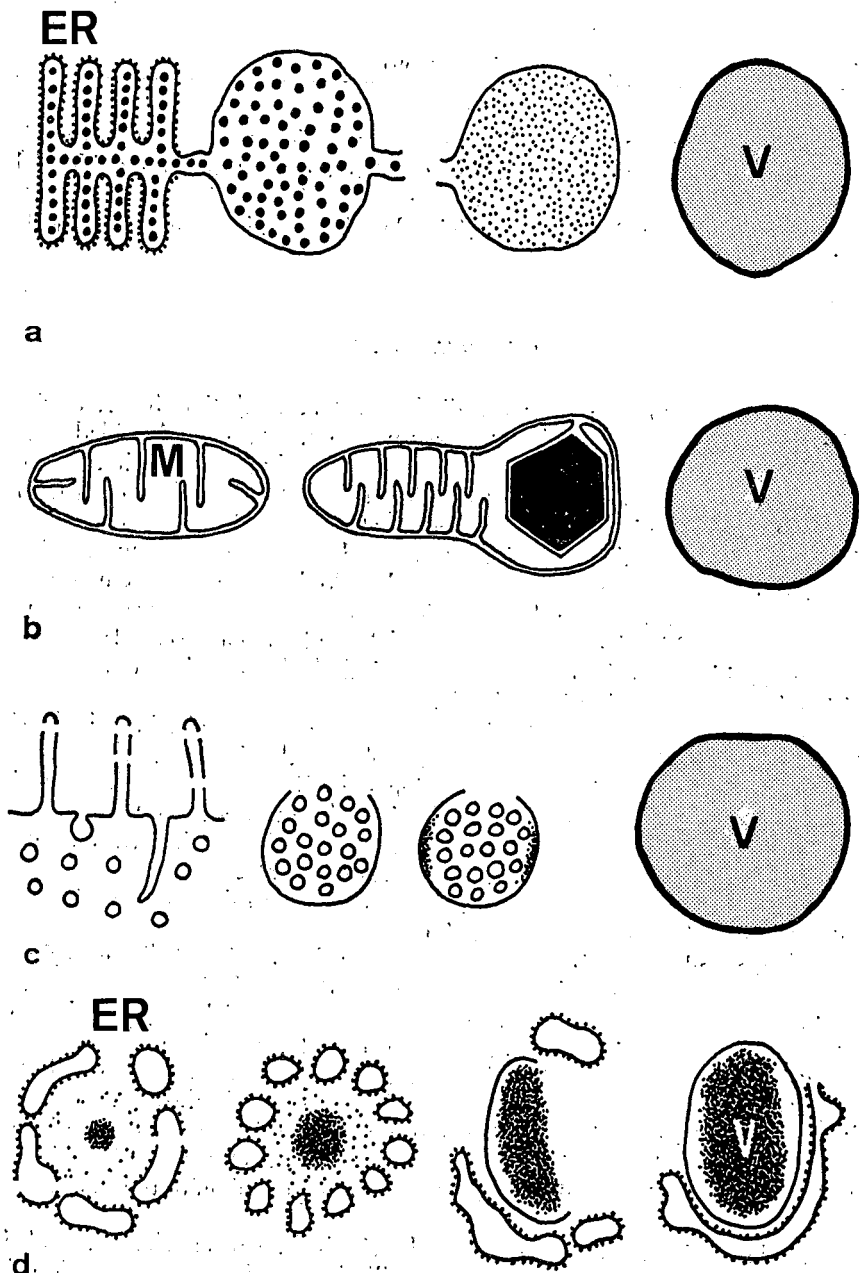
Este tipo de formación ha sido evidenciado en gran diversidad de ovocitos y por numerosos autores, siendo el procedimiento más habitual de vitelogénesis en ovocitos de anfibios, LANZAVECCHIA (1961), BALINSKY y DEVIS (1963) y TAKAMOTO (1966), entre otros.

En algunos casos pueden simultanearse en un mismo ovocito, varios procedimientos, así SPORNITZ y KRESS (1971), en *Xenopus*, comprueban que hay plaquetas vitelinas que se originan en las vesículas golgianas, mientras que otras se forman en el interior de las mitocondrias, a través de formas intermedias. Así las mitocondrias que se hallan en el ectoplasma, con escasas crestas, se transforman en vesículas precursoras de las plaquetas vitelinas, adoptando sus crestas una reorganización, presentan disposiciones concéntricas o espiraladas, hasta que finalmente se pasaría a la formación de auténticas plaquetas vitelinas.

En el esquema I reproducimos las cuatro vías más habituales de formación de plaquetas vitelinas en la escala zoológica según NORREVANG (1968).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se fijaron gónadas femeninas de tres especies de moluscos: *Mytilus edulis*, L., *Murex elenensis*, Dáll, y de *Trachydermon cinereus*, Thiele, siguiendo las técnicas habitualmente usadas para los estudios ultraestructurales. Una prefijación con glutaraldehído al 3 % convenientemente tamponado con Sorénsen, ajustando el pH a 7,3, seguida por una postfijación con OsO₄ al 1 % igualmente tamponado. Tras la pertinente deshidratación se procedió a la inclusión de los fragmentos de gónada en Araldita.



Esquema I. — Diversos procesos de formación de plaquetas vitelinas en la escala zoológica, según NORREVANG (1968): *a*): Formación de plaquetas vitelinas en el interior de cisternas ergastoplasmáticas (ER). Caso del erizo de mar. *b*) Formación intramitocondrial. Observado en ovocitos de diversas especies de anfibios. *c*) Formación por acumulo de vesículas de micropinocitosis, en cuyo interior hay material incorporado del exterior. Observado en ovocitos de insectos. *d*) Agregados de materiales granulosos que se van compactando en áreas próximas al ergastoplasma (ER). En los ovocitos de *Mytilus edulis*, las plaquetas se originan por las procedimientos *c*) y *d*).

Secciones de unos 300 Å de grosor se obtuvieron con un ultramicrotomo Reichert y tras su contrastado con acetato de uranilo seguido del citrato de plomo, fueron observados con un microscopio electrónico de transmisión Phillips 200, del Servicio de Microscopia Electrónica de la Universidad de Barcelona.

OBSERVACIONES

El óvulo de los moluscos estudiados pertenece al tipo heterolecítico y hay que señalar que en todos los casos presentan una gran densidad a los electrones y una gran apetencia para acumular sobre sí precipitados que en ocasiones se forman tras la aplicación de las técnicas de contrastado.

Las plaquetas vitelinas de *Mytilus edulis* tienen de 0,5 a 1,5 micras de diámetro y se hallan diseminadas por todo el citoplasma, aunque hay un predominio de las mismas a nivel del endoplasma, frecuentemente las hemos hallado en el centro de formaciones concéntricas del ergastoplasma, que son muy habituales en los ovocitos del mejillón (DURFORT, 1976). En menor cantidad se hallan en la zona cortical de los ovocitos que ya han ultimado su proceso de vitelogénesis.

De aspecto muy denso a los electrones, las plaquetas vitelinas de *Mytilus edulis* están delimitadas por una membrana de tipo unitaria, de contorno frecuentemente sinuoso. En secciones de diversa orientación es posible apreciar una estructura interna de tipo fibrosa (esquema II).

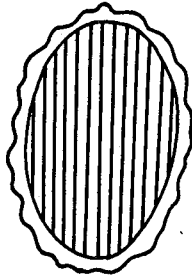
Las estructuras fibrilares inmersas en la matriz vitelina tienen unos 800 Å de diámetro y se disponen paralelamente al eje mayor de la plaqueta vitelina, y cada fibrilla está a su vez constituida por un haz de microfibrillas de unos 30 Å de diámetro.

Hemos podido seguir a grandes rasgos la formación de dichas plaquetas, que comporta varias formas intermedias, de transición. Tras las observaciones efectuadas podemos constatar que el material incorporado por pinocitosis, tras su ingreso, forma agregados de material fibroso que se localizan primeramente a nivel de la zona cortical del ovocito en previtelogénesis. Tras un proceso de acumulación de material fibroso pero laxo, éste se va haciendo cada vez más compacto, formando masas que contienen un alto número de granulaciones densas, aunque en el seno de las mismas hay elementos microfibrilares, no delimitados por ningún tipo de membrana.

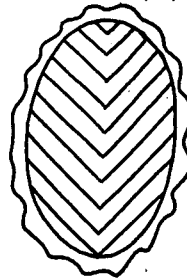
En la siguiente etapa del desarrollo vitelino aparecen elementos fibrilares de mayor longitud, de unas 150 milimicras, así como la aparición de una membrana sinuosa alrededor de dichos acúmulos, en la siguiente etapa los elementos fibrilares alcanzan unas 500 milimicras de longitud.

Independientemente a este tipo de formación de plaquetas vitelinas, a partir de material incorporado por el ovocito a través de la zona pelúcida, puede coexistir otro tipo de formación, a partir de unas formaciones

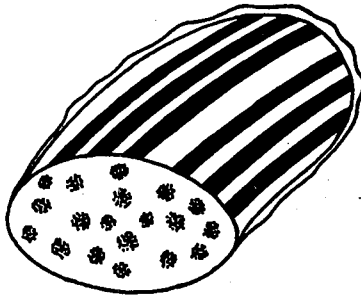
A



a



b



c



d

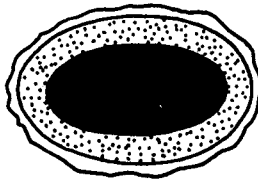


e



f

B



Esquema 2. — A) Esquemas correspondientes a plaquetas vitelinas de *Mytilus edulis* pertenecientes a imágenes obtenidas de secciones diversamente orientadas. En c) se aprecia claramente la ultraestructura microfibrilar; d), e) y f) corresponden a la interpretación ultraestructural de los elementos fibrilares de las plaquetas del mejillón, según el grosor y perspectiva del corte.

B) Esquema de plaqueta vitelina de ovocito de *Trachydermon cinereus*.

vesiculares, que presentan en su interior unas estructuras laminares dispuestas concéntricamente, adoptando un aspecto que recuerda las figuras de mielina, descritas ya por diversos autores, podría tratarse de formas de transición entre las mitocondrias y las plaquetas vitelinas, algo similar a lo descrito por FAVARD y CARASSO en los ovocitos de *Planorbis* (1958).

Las plaquetas vitelinas de la zona más profunda del endoplasma no suelen presentar estructura fibrilar, sino que son mucho más densas a los electrones, si bien, según la orientación del corte, puede apreciarse a grandes aumentos elementos microfibrilares. Siendo muy frecuente el que se hallen total o parcialmente rodeadas por cisternas ergastoplasmáticas.

En los ovocitos de *Murex elenensis* se han hallado plaquetas vitelinas de forma elíptica y sensiblemente mayores en cuanto a su diámetro a las descritas en *Mytilus*, por término medio tienen de 1 a 2 milimicras de longitud por unas 0,5 micras de diámetro, teniendo, como es habitual en las plaquetas, un aspecto sumamente denso a los electrones, lo que dificulta en gran manera comprobar su organización interna, en el caso de tenerla.

Es frecuente que en las proximidades de las plaquetas vitelinas se encuentren vesículas de 500 a 800 Å que tienen un contenido finamente granuloso, y puede considerarse como una forma de transición, ya que evolucionan en formaciones vesiculares de 1 micra de diámetro con un material laxo en su interior que paulatinamente se va condensando.

Entre la formación vitelina y las vesículas de transición aparecen unas estructuras que presentan una estriación con un período del orden de los 560 Å, siendo el grosor de las bandas de unos 370 Å.

Numerosas partículas de glucógeno, libres o formando agregados, se encuentran entre las plaquetas vitelinas del ovocito de *Murex*.

Las plaquetas vitelinas de *Trachydermon cinereus* tienen forma elíptica, presentando dos zonas bien diferenciadas, una central, muy densa a los electrones, de unas 0,8 a 1 micra de longitud por unas 0,5 micras de diámetro. Este denso núcleo está delimitado por un halo, de unas 0,1 a 0,2 micras de diámetro mucho menor densidad a los electrones, delimitada a su vez por una membrana de tipo unitaria, ligeramente sinuosa, pero muy bien adherida al material constituyente del halo menos denso.

Las plaquetas vitelinas están distribuidas por todo el coplasma y de forma muy uniforme. En el proceso de formación de dichas estructuras intervienen activamente las células foliculares, que en número variable forman una curiosa cubierta alrededor de la zona pelúcida de los ovocitos de *Trachydermon cinereus* (DURFORT, 1973).

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Confirmándose lo indicado en la bibliografía consultada sobre el tema, las plaquetas vitelinas presentan diversos orígenes a nivel de las distintas especies e incluso en una misma especie, lo cual queda totalmente patentizado en el caso de los ovocitos de *Mytilus edulis*, en ellos encontramos dos orígenes posibles, unas se originan a partir de material incorporado por procesos de micropinocitosis y otras posiblemente se originen a expensas del retículo endoplásmico rugoso, éstas tienen un típico aspecto uniforme, mientras las primeras adoptan una característica disposición microfibrilar.

Los ovocitos de *Trachydermon* poseen plaquetas que se originan a partir del material incorporado del exterior, interviniendo en la formación del mismo las células foliculares. En *Murex elenensis* los ovocitos presentan densas plaquetas que se forman a partir de los condriosomas.

Tras los datos bibliográficos sobre las diversas formaciones vitelinas, no es posible indicar si tal o cual procedimiento puede considerarse más o menos evolucionado.

SUMMARY

Ultrastructural study of the three species oocytes Molluscan. The yolk platelet is accumulated in the growing oocyte during the later phases of oogenesis, during the vitellogenesis.

The yolk platelet in the oocytes of the mussel are formed from nutrient substances taken up from the surroundings but some have their origin in the granular endoplasmic reticulum. Microfibrillar elements are observed in this yolk.

Whilst the yolk platelets of the *Trachydermon* oocytes have an obvious exogenous origin, the follicular cells intervening actively in the synthesis of the material; others yolk platelet have their origin in the mitochondrion. Its appearance is that of a disc dense to the electron beam, surrounded by less dense matter.

In the oocytes *Murex* the appearance of the yolk platelets is very uniform.

BIBLIOGRAFIA

- AFZELIUS, B. A. (1956). — «Electron microscopy of Golgi elements in sea urchin eggs». *Exp. Cell. Res.*, vol. 11, 67.
- BALINSKY, B. I., DEVIS, R. J. (1963). — «Origin and differentiation of cytoplasmic structures in the oocytes of *Xenopus laevis*». *Acta embr. et Morph. Exp.*, vol. 6, 55-108.
- BEAMS, H. W., KESSEL, R. G. (1963). — «Electron microscope studies on developing crayfish oocytes with special reference to the origin of yolk». *J. Cell Biol.*, vol. 18, 621-649.
- BEAMS, H. W., SEKHOM, S. S. (1966). — «Electron Microscope Studies on the Oocyte of the fresh-water Mussel (*Anodonta*) with special reference to the stalk and mechanism of yolk deposition. *J. Morphol.*, vol. 119, 477-502.
- BOLOGNARI, A. (1960). — «Golgi bodies and Golgi zones in Molluscan Oocytes. *Nature.*, vol. 186, 565-566.
- BRUSLE, J. (1972). — «Les infrastructures germinales femelles précoces (Gonocytes, ovogonies et ovocytes I). *L'Année Biol.*, t. 11, fasc. 11-12, 505-571.
- DURFORT, M. (1973). — «Ultraestructura de la gónada femenina de algunos Moluscos». Resumen Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona.
- (1974). — «Ultraestructura de las expansiones de los ovocitos de *Lepidopleurus cinereus*, L. (Mollusca. Polyplacophora). *Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.)*, t. 72, 281-288.
- DURFORT, M. (1976). — Relation entre les lamelles annelées et le réticulum endoplasmique granulaire dans les ovocytes de *Trachydermon cinereus*, Thiele (Mollusque, Polyplacophore) *La Cellule*, T. 18, fasc. 4, 449-457.
- FAVARD, P., CARASSO, N. (1958). — «Origine et ultrastructure des plaquettes vitelinales de la planorbe». *Arch. Anat. Morphol. Exp.*, vol. 47, 221.
- FAVARD, P., SERENO, C. (1969). — «Capture de polysaccharides dans l'ovocyte du grillon en vitellogenèse. *J. Microscopie.*, vol. 8, n° 3, 401-414.

- HUMEAU, Cl., SENTIN, P. (1972). — «Formation de plaquettes vitellines sans intervention d'organites cytoplasmiques dans l'ovocyte de *Triturus marmoratus*, Latr. C. Rend. Acad. Scien., t. 274, 1.077-1.078.
- KEMP, N. E. (1956). — «Electron microscopy of growing oocytes of *Rana pipiens*. J. Biophys. Biochem. Cytol., vol. 2, 281-292.
- Hsu, W. S. (1968). — «An electron microscopic study on the origin of yolk in the oocytes of the Ascidian *Boltenia villora*. La Cellule., t. 62, 147-155.
- KESSEL, R. G. (1966). — «Some observations on the ultrastructure of the oocyte of *Thyone briareus* with special reference to the relationship of Golgi complex and endoplasmic reticulum in the formation of yolk». J. Ultrst. Res., vol. 16, 305-319.
- LANZAVECCHIA, G. (1960). — «The formation of the yolk in frog oocytes». The Proceed. Europ. Reg. Conf. Elec. Micr., Delft., vol. 2, 746-749.
- SENTEIN, P., HUMEAU, Cl. (1968). — «Origine mitochondriale du vitellus dans l'ovocyte de *Triturus helveticus*, Raz.». Comp. Rend. Acad. Scien., t. 267, 753-754.
- SPORNITZ, V. M., KRESS, A. (1973) — «Ultrastructural studies of Oogenesis in some European Amphibians. II. *Triturus vulgaris*. Z. Zellforsch., vol. 143, 387-407.
- (1971). — «Yolk platelet formation in oocytes of *Xenopus laevis*, Daudin». Z. Zellforsch., vol. 117, 235-251.
- YEW, MAN-LI, S. (1969). — «A cytological study of oogenesis and yolk formation in the gulf coast toad, *Bufo valliceps*, Wiegmann La Cellule., t. 67, 333-339.