

ASPECTOS ULTRAESTRUTURAIS DA OOGÊNESE DE *LYTECHINUS VARIEGATUS* (ECHINOIDEA) COM VISTAS A VITELOGÊNESE *

CARMINDA DA CRUZ LANDIM
e DARVIN BEIG

Departamento de Morfologia Animal da Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras, 13.500 — Rio Claro, SP.

RESUMO

O desenvolvimento de oócitos de *Lytechinus variegatus* foi acompanhado ao microscópio eletrônico afim de verificar-se a maneira pela qual o vitelo é acumulado na célula e a razão de participação de material exógeno e endógeno no processo.

As evidências morfológicas sugerem que uma pequena parte do vitelo é sintetizada no oócito sendo o restante incorporado a partir de contacto com as células alimentares que rodeiam os oócitos. A síntese de vitelo só ocorre depois do desenvolvimento do retículo endoplasmático o qual aparece em conexão com o envelope nuclear e mostra evidências de transportar para o citoplasma material nuclear. O vitelo de origem intrínseca aparece no oócito antes do de origem exógena. O componente glicogênico do vitelo está presente desde os oócitos jovens.

ULTRASTRUCTURAL ASPECTS OF *LYTECHINUS VARIEGATUS* (ECHINOIDEA) OOGENESIS WITH SPECIAL REFERENCE TO VITELLOGENESIS

ABSTRACT

The yolk origin and deposition in oocytes during oogenesis of *Lytechinus variegatus* were studied with the aid of electron microscopy.

Morphological evidences suggest that most of the yolk of the oocyte is normally synthesized by nurse cells and transferred to it during growth period. The internal synthesis starts just after the development of the endoplasmic reticulum which is related to the nuclear envelope. This relationship show signs of nuclear material transportation to the cytoplasm. Intrinsic yolk formation appears in the oocyte before the extrinsic one. The glycogen component of the yolk is already present since the first stages of the oogenesis.

* Trabalho realizado com auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Biol. 67/418) e Conselho Nacional de Pesquisas (Processos 9374/69 e 12890/71).

INTRODUÇÃO

A vitelogênese nos oócitos tem sido objeto de vários estudos. Análises morfológicas e fisiológicas têm mostrado que nos animais um aspecto importante da formação do vitelo consiste da absorção de proteínas do sangue. Isto foi demonstrado em mamíferos (Mancini *et al.*, 1963); nas aves (Schechtman, 1956; Schejeide *et al.*, 1963); nos anfíbios (Wartenberg, 1962, Nace e Lavin, 1963; Hope e Bourne, 1963); nos insetos (Telfer, 1961 e 1965; Roth e Porter, 1962 e 1964; Kessel e Beams, 1963; Favard-Séréno, 1964; Anderson, 1964; Bier e Ramamurty, 1964; Stay, 1965; Hausman *et al.*, 1971) e em outros animais (Hsu, 1962; Droller e Roth, 1966; Dumont e Anderson, 1967; Kessel, 1968 a; Dumont, 1969; Hirisch e Cone, 1969).

Entretanto, existem também numerosos exemplos nos quais o citoplasma do oócito apresenta uma estrutura tal que sugere a síntese de alguns dos constituintes do vitelo no seu interior. Sua origem foi sugerida a partir de quase todos os orgânulos citoplasmáticos (Golgi, mitocôndrios, nucléolos extrudados, retículo endoplasmático, etc.). Beams e Kessel, 1962 e 1963; Hope *et al.*, 1964; Kessel, 1964 e 1966 a; Kessel, 1968 b e Dumont e Anderson, 1967, trabalhando com animais diferentes mostraram que a síntese de pelo menos uma parte do vitelo segue nos oócitos o mesmo padrão de outras células, isto é, resulta da participação do retículo endoplasmático e do Golgi.

A diversidade na origem do vitelo estimula, portanto, o interesse no estudo do desenvolvimento dos oócitos. O presente trabalho representa uma primeira tentativa ao estudo da maturação dos oócitos no ouriço do mar (*Lytechinus variegatus*), com vistas a vitelogênese.

Oogênese em várias espécies de ouriço do mar e outros equinodermas tem sido estudada sob vários pontos de vista (Geouskens, 1965; Karasaki, 1965; Kessel, 1966 b e 1968 b), inclusive o da vitelogênese, todavia o seu verdadeiro mecanismo ainda não foi perfeitamente esclarecido.

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais usados neste estudo foram capturados na estação do Instituto de Biologia Marinha da USP, em São Sebastião — SP.

Para microscopia óptica comum os ovários foram retirados da fêmea e fixados pela mistura de Bouin. Depois de desidratados e incluídos em parafina, foram cortados com 7μ de espessura. Os cortes obtidos foram corados por Hematoxilina-Eosina e tratados com a reação do Ácido Periodico-Schiff (PAS), com ou sem prévia metilação e metilação-saponificação.

Para microscopia eletrônica o tecido foi fixado por 2 horas em glutaraldeído a 3% tamponado para pH 7,2 com tampão fosfato 0,1 M e post-fixado em ósmio a 1%, tamponado nas mesmas condições. Depois de fixado, o material foi rapidamente desidratado e embebido em Epon. Os cortes foram obtidos com micrótomo Porter Blum MT 2 usando navalha de vidro e corados com acetato de uranila (Watson, 1958) seguido de citrato de chumbo (Reynolds, 1963). A análise dos cortes foi feita com auxílio de um microscópio Zeiss EM 9 S 2.

Cortes grossos, obtidos na seqüência dos finos foram corados com azul II — azul de metileno.

OBSERVAÇÕES E DISCUSSÃO

O tecido ovariano de *Lytechinus* consiste de uma massa de túbulos ramificados que nas fêmeas maduras ocupa virtualmente toda a cavidade do corpo. A parede do ovário é composta de várias camadas distintas (figs. 1 e 2): 1) epitélio escamoso externo; 2) camada colágena externa; 3) camada muscular; 4) camada colágena interna; 5) camada germinativa. Esta última, mantém as oogônias e os oócitos envolvidos por células especiais — células alimentares (fig. 1) que contém grande quantidade de reserva na forma de: 1) glóbulos densos de tamanho e aspecto diversos; 2) glicogênio (figs. 1 e 2).

O tratamento com o PAS demonstrou que os glóbulos densos são constituídos de glico-proteínas. Eles podem se apresentar simples, divididos, vacuolizados ou contendo no interior estruturas lamelares que evidenciam auto-digestão (fig. 3). No processo de maturação os oócitos passam por transformações, visíveis tanto no núcleo como no citoplasma.

Um oócito jovem, que ainda não iniciou a vitelogênese é uma célula com 20 a 30μ de diâmetro, com núcleo grande, levemente excêntrico e pouco citoplasma (figs. 1 e 2). O núcleo geralmente contém cromatina condensada em pequenos grumos (fig. 2) e o citoplasma

apresenta ribossomos e alguns mitocôndrios. Raramente aparecem membranas do retículo endoplasmático ou outros grânulos de reserva.

Numa fase um pouco mais avançada o oócito apresenta o material nuclear quase complementamente descondensado, nucléolo grande, compacto, bem visível e numerosos poros no envelope nuclear (fig. 4). Nesta fase há evidências de passagem de material nuclear para o citoplasma, através dos poros ou pela formação de lamelas anuladas. Um oócito desta fase mostra um citoplasma muito granular devido à presença dos ribossomos e de grande quantidade de glicogênio. Os ribossomos podem ser distinguidos do glicogênio pelo tamanho do grânulo. Nesta fase alguns segmentos de retículo endoplasmático rugoso já podem ser vistos, especialmente próximos e paralelos à membrana nuclear (fig. 4). A disposição e aspecto deste retículo dá idéia de uma origem a partir do envelope nuclear, visto que em vários casos foi verificada continuidade e a presença de estruturas semelhantes aos poros nucleares em vários pontos do retículo (figs. 4 b e c). Estruturas lamelares apresentando aspecto semelhante ao envelope nuclear já foram descritas em vários materiais, especialmente oócitos (Kessel, 1968 c; Maul, 1970; Wischnitzes, 1970), sendo sua origem, destino e função discutidos. Querem alguns autores que se originem do envelope nuclear e que deem origem ao retículo endoplasmático, tendo função de trazer consigo para o citoplasma o material nuclear (Kessel, 1968 c; Wischnitzer, 1970). Neste caso as lamelas anuladas são bastante frequentes e parecem de fato dar origem ao retículo endoplasmático que aparece nos oócitos nesta fase do desenvolvimento (fig. 5).

À medida que o desenvolvimento progride o retículo tende a formar estruturas enoveladas, geralmente contínuas entre si (fig. 6). Essas estruturas foram descritas em vários tipos de oócitos (Halkka *et al.*, 1969; Reverberi, 1966), tendo sido denominadas — “núcleos de vitelo” na suposição de que tivessem algum papel na vitelogênese. Neste caso os enovelados de retículo contém na região central além de ribossomas, mitocôndrios e grânulos de vários tamanhos e densidades. Numerosas vesículas pequenas podem ser vistas nas proximidades dessas estruturas. O seu papel na vitelogênese não está claro, e praticamente a única indicação da sua atuação no fenômeno está na coincidência temporal entre o processo de acúmulo de vitelo e sua ocorrência. Essas estruturas aparecem no oócito pré-vitelogênico e desaparecem no fim da vitelogênese ou vão desaparecendo à medida que a quantidade de vitelo aumenta no citoplasma.

No presente caso, observou-se o aparecimento de certo material no interior de espaços limitados por voltas anastomosadas do retículo (fig. 7 a).

No início da vitelogênese observaram-se também membranas lisas dispostas concêntrica ou semiconcêntrica, associadas a vesículas e a grânulos densos. Essas estruturas são muito semelhantes aos chamados corpos multivesiculares e podem ser tomadas como Golgi atípicos (fig. 7 b).

Em nenhuma das fases de crescimento encontraram-se estruturas de Golgi com o aspecto usual.

O vitelo que aparece a partir daí apresenta-se sob a forma de grânulos de tamanho e densidade diversas e depois de certo tempo preenche todo o citoplasma.

Parece lógico que pelo menos uma parte desse vitelo seja sintetizada no oócito, tendo em vista: 1) a presença de um retículo endoplasmático; 2) a grande quantidade de ribossomos e 3) a atividade nuclear. Todavia não pudemos esclarecer o verdadeiro mecanismo de sua síntese. Sugere-se que certos grânulos de elevada densidade que aparecem dentro de vesículas contendo ribossomos na superfície (figs. 8 e 9) sejam de origem interna, enquanto o restante apareça por sequestro do material alimentar.

Encontramos várias evidências da absorção de material das células alimentares por parte do oócito (figs. 8, 9 e 10). Em certos casos pôde-se verificar inclusive a digestão de partes dos grânulos proteicos em contacto com a superfície do oócito (fig. 8). O material resultante dessa digestão é absorvido pelo oócito, como parece evidente do aspecto da superfície de células mais velhas (fig. 11).

Outras evidências da incorporação de material pelos oócitos são dadas pela presença de microvilosidades na superfície dessas células (figs. 9 e 10) e de restos membranosos que evidenciam a digestão de material alimentar (fig. 10). Concordantemente o material incorporado aparece em vesículas no citoplasma cortical do oócito. Apesar dessas evidências só muito raramente verificou-se a formação de cavéolas pinocitóticas na superfície do oócito.

Ao terminar a maturação e o crescimento o oócito rompe o envólucro formado pelas células alimentares e se desprende da parede do

ovário. No interior do túbulo fica imerso em detritos das células alimentares destruídas, que a microscopia eletrônica demonstra conter glicogênio em quantidade.

Quando completamente maduro e já solto, o oócito mostra uma quantidade enorme de reservas no citoplasma. Essas reservas se distribuem de maneira quase uniforme, da periferia para o interior (figs. 11 e 12), não se distinguindo nenhuma zona cortical diferenciada. Na superfície, logo abaixo da membrana plásmica, sucedem-se vesículas cheias com o que se supõe ser material incorporado do meio. Nas proximidades do núcleo encontram-se vesículas com material semelhante e outras contendo grânulos de alta densidade (fig. 12).

Supõe-se que esses grânulos de alta densidade sejam originados por síntese na própria célula e os primeiros a aparecer.

O citoplasma entre essas duas regiões é preenchido por grânulos, limitados por membranas, muitas vezes de contornos irregulares e com material de densidade intermediária. Além do vitelo somente glicogênio e mitocôndrios são bem visíveis no citoplasma destes oócitos (figs. 11 e 12). Do ponto de vista estrutural não foi observada a presença de lipídio.

CONCLUSÕES

Resultados morfológicos de outros autores demonstraram que a vitelogênese pode ocorrer à custa de material exógeno sequestrado do sangue ou por atividade sintetizadora da própria célula. Em oócitos de holoturoídes e o ofiuroídes existem algumas evidências de que o retículo endoplasmático pode ter um papel importante na síntese do componente proteico do vitelo (Kessel, 1966 b e 1968 b).

De maneira geral os resultados obtidos neste trabalho parecem indicar que o vitelo em *Lytechinus* tem origem mista, isto é, tanto dentro como fora do ooplasma. Enquanto imaturos, os oócitos apresentam apenas glicogênio em seu citoplasma. Após o desenvolvimento do retículo e recebimento de material nuclear aparecem os primeiros grânulos, que foram interpretados como de origem intrínseca. Finalmente o citoplasma se enche de material de reserva e pelo menos uma boa parte deste, parece ser de origem ooplasmática. Se o material incorporado da célula alimentar sofre ou não transformações para dar o vitelo não está esclarecido; contudo, esse fenômeno geralmente ocorre em material absorvido por outros tecidos (Palade *et al.*, 1962;

Redman e Sabatini, 1966; Jamieson e Palade, 1967 a e b). Por outro lado foi demonstrado em outros tantos casos a presença da mesma proteína no vitelo e no sangue (Kerr, 1966). Portanto, por enquanto esta parte do problema continua sem resposta.

O desenvolvimento relativamente pequeno e até certo ponto temporário, do retículo endoplasmático e a ausência de um Golgi típico dificultam a avaliação da extensão da síntese intrínseca de vitelo. A idéia sugerida pelas observações feitas é a de que neste caso a maior parte do vitelo é de origem externa.

A G R A D E C I M E N T O S

Agradecemos ao Prof. Dr. Nilton José Hebling a coleta e transporte para Rio Claro, dos exemplares usados no presente estudo.

B I B L I O G R A F I A

- ANDERSON, E. (1964) — Oocyte differentiation and vitelogenesis in the roach, *Periplaneta americana*. J. Cell Biol., 20:131.
- BEAMS, H. W. & KESSEL, R. G. (1962) — Intracisternal granules of the endoplasmic reticulum in the crayfish oocyte. J. Cell Biol., 13:158.
- (1963) — Electron microscope studies on developing oocytes with special reference to the origin of yolk. J. Cell Biol., 18:649.
- BIER, K. & ROMAMURTY, P. S. (1964) — Elektronoptische untersuchungen zur einlagening der Dotterproteine in die Oocyte. Naturwissenschaften, 51:223.
- DROLLER, M. J. & ROTH, T. F. (1966) — An electron microscope study of yolk formation during oogenesis in *Lelistes reticulatus guppyi*. J. Cell Biol., 28:209.
- DUMONT, J. N. & ANDERSON, E. (1967) — Vitellogenesis in the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. J. Microscopie, 6:791.
- DUMONT, J. N. (1969) — Oogenesis in the Annelid *Enchytraeus albictus* with special reference to the origin and cytochemistry of yolk. J. Morph., 129:317.
- FAVARD-SÉRÉNO, C. (1964) — Phénomène de pinocytose au cours de la vitellogénèse protéique chez le grillon (Orthoptère). J. Microscopie, 3:323.
- GEUSKENS, M. (1965) — A study of the ultrastructure of nucleate and fragments of unfertilized sea urchin eggs. Exp. Cell Res., 39:413.
- HALKKA, O.; HALKKA, L. & NYOHOLM, M. (1969) — Lamellate bodies in the nuclei of *Dragonfly* (Odonata) oocytes. Z. Zellforsch., 94:534.
- HAUSMAN, S. J.; ANDERSON, L. M. & TELFER, W. H. (1971) — The dependence of *Cecropia* yolk formation in vitro on specific blood protein. J. Cell Biol., 48:303.

- HINSCH, G. W. & CONE, M. V. (1969) — Ultrastructural observations of vitellogenesis in the Spider Crab, *Libinia emarginata*. J. Cell Biol., **40**:336.
- HOPE, J.; HUMPHRIES Jr., A. A. & BOURNE, G. H. (1964) — Ultrastructural studies on developing oocytes of the salamander *Triturus viridescens*. II — The formation of yolk. J. Ultrastructure Res., **10**:547.
- HSU, W. S. (1962) — An electron microscopic study on the origin of yolk in the oocytes of the Ascidian *boltenica villosa* Stimpson. La Cellule, LXII:147.
- JAMIESON, J. D. & PALADE, G. E. (1967) — Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I — Role of the peripheral elements of the Golgi complex. J. Cell Biol., **34**:577.
- KARASAKI, S. (1965) — Intranuclear crystal within the phagocytes of the ovary of *Arbacia punctulata*. J. Cell Biol., **25**:654.
- KERR, M. S. (1966) — A lipoprotein in the yolk and the hemolymph of the female blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun. Thesis, Duke University.
- KESSEL, R. G. & BEAMS, H. W. (1963) — Micropinocytosis and yolk formation in oocytes of the small milkweed bug. Exp. Cell Res., **30**:440-443.
- KESSEL, R. G. (1966a) — Electron microscope studies on the origin and maturation of yolk in oocytes of the tunicate, *Ciona intestinalis*. Zyt. Zellforsch., **71**:525.
- (1966b) — Some observations on the ultrastructure of the oocyte of *Thyone briareus* with special reference to the relationship of the Golgi complex and endoplasmic reticulum in the formation of yolk. J. Ultrastruct. Res., **16**:305.
- (1968a) — An electron microscope study of differentiation and growth in oocytes of *Ophioderma panamensis*. J. Ultrastruct. Res., **22**:63.
- (1968b) — Mechanism of protein yolk synthesis and deposition in Crustacean oocytes. Zyt. Zellforsch., **89**:17.
- (1968c) — Fine structure of annulate lamellae. J. Cell Biol., **36**:658.
- MANCINI, R. E.; VILAR, E. O.; HEINRICH, J. J.; DAVIDSON, O. W. & ALVAREZ, B. (1963) — Transference of circulating labeled serum proteins to the follicle of the rat ovary. J. Histochem. Cytochem., **11**:80.
- MAUL, G. G. (1970) — Ultrastructure of pore complexes of annulate lamellae. J. Cell Biol., **46**:604.
- NACE, G. W. & LAVIN, L. H. (1963) — Heterosynthesis and autogenesis in the early stages of anuran development. Amer. Zool., **3**:193.
- PALADE, G. E.; SIEKEVITZ, P. & CARO, L. G. (1962) — Structure, chemistry, and function of the pancreatic exocrine cell. In: Ciba Foundation Symposium on the Exocrine Pancreas Normal and Abnormal Functions (A-V. de Renck and M. P. Cameron, eds.), p. 23, Boston little, Brown and Co.
- REDMAN, C. M. & SABATINI, D. D. (1966) — Transfer of peptides across microsomal membranes in vitro. Fed. Proc., **25**:216.
- REVERBERI, G. (1966) — Electron microscopy of some cytoplasmic structures of the oocytes of *Mytilus*. Exp. Cell Res., **42**:392.

- REYNOLDS, W. S. (1963) — Use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17:208.
- ROTH, T. F. & PORTER, K. R. (1962) — Specialized sites on the cell surface for protein uptake. *Proc. Intern. Cong. Elect. Micros. Philad.*, 2:114.
- SCHECHTMAN, A. M. (1966) — Uptake and transfer of macromolecules by cells with special reference to growth and development. *Int. Rev. Cytol.*, 5:303.
- SCHEJEID, O. A.; WELKENS, M.; Mc CANDLESS, R.; MUNN, R.; PETERSON, M. & CARLSEN, E. (1963) — Liver synthesis, plasma transport, and structural alterations accompanying passage of yolk proteins. *Am. Zool.*, 3:167.
- STAY, B. (1965) — Protein uptake in the oocytes of the *Cecropia* moth. *J. Cell Biol.*, 26:49.
- TELFER, W. H. (1961) — The route of entry and localization of blood proteins in the oocytes of saturniid moths. *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 9:747.
- (1965) — The mechanism and control of yolk formation. *Ann. Rev. Entomol.*, 10:161.
- WARTENBERGER, H. (1962) — Elektronenmikroskopische und histochemische studien über die Oogeneze der Amphibieneizelle. *Z. Zellforsch. u. Mikr. Ant.*, 58:427.
- WATSON, M. L. (1958) — Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4:475.
- WISCHNITZER, S. (1970) — The Annulate lamellae of salamader oocytes: morphological and functional aspects. *Wilhelm Roux Archiv.*, 164:279.

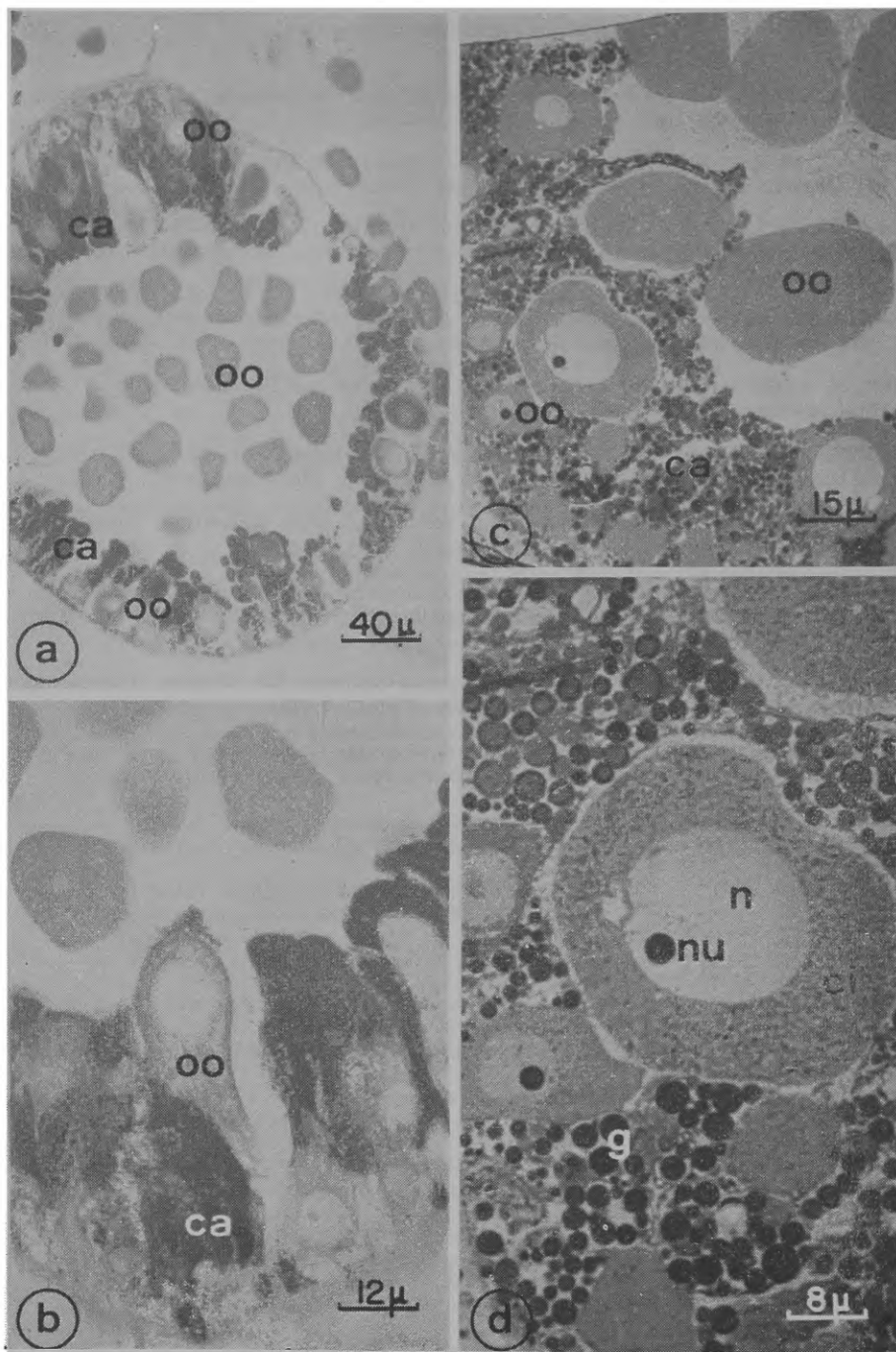


Fig. 1 — Ovário de *Lytechinus variegatus*. a — Corte transversal de um túbulo corado com H.E. vendo-se que os oócitos (oo) ficam envolvidos por células alimentares (ca). b — A reação do PAS demonstra que as células alimentares (ca) são ricas em material PAS +. c, d — Cortes grossos obtidos do material incluído em Epon, corados com azul II — azul de metileno. Notar que os glóbulos das células alimentares (g) se coram intensamente pelo azul de metileno. n = núcleo; nu = nucléolo; ci = citoplasma.

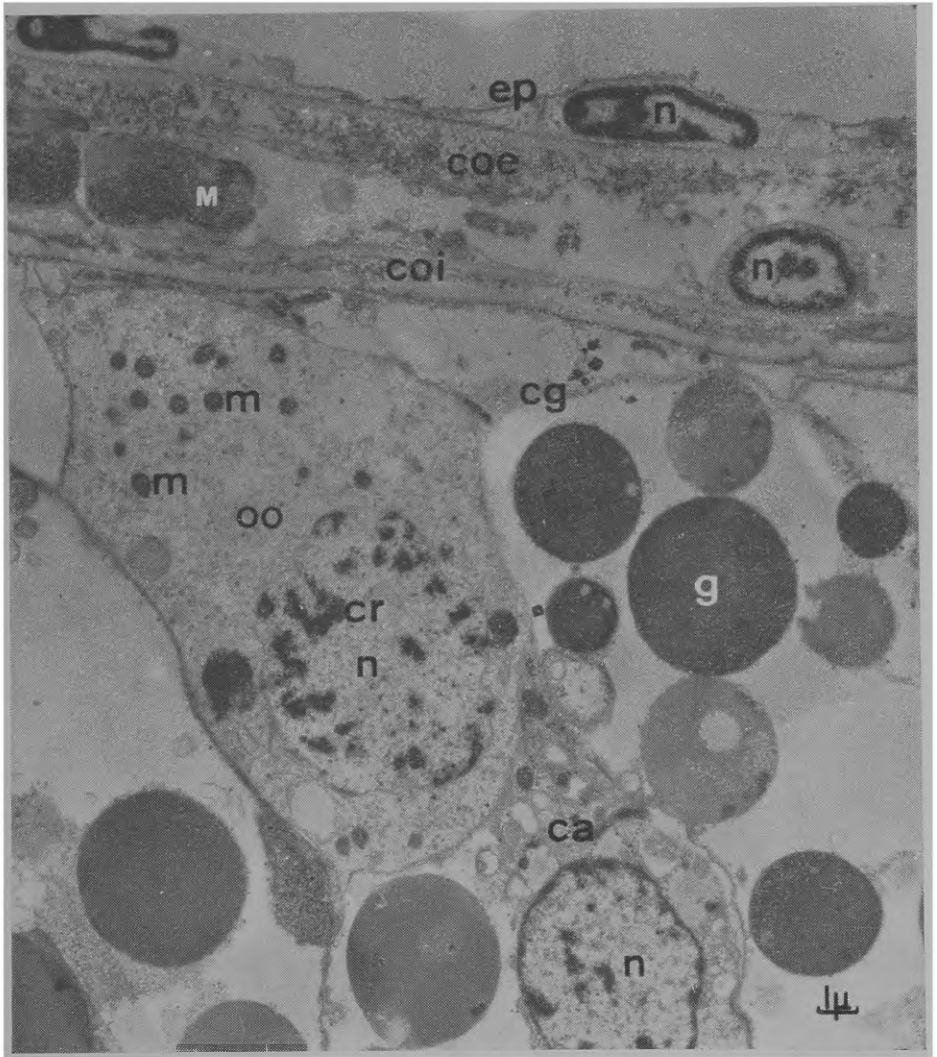


Fig. 2 — Parede do ovário mostrando o epitélio achatado externo (ep), duas camadas colágenas (coe e coi) separadas por uma camada muscular (M) e a camada germinativa (cg) constituída por oócitos (oo) e células alimentares (ca). cr = cromatina; m = mitocôndrios.

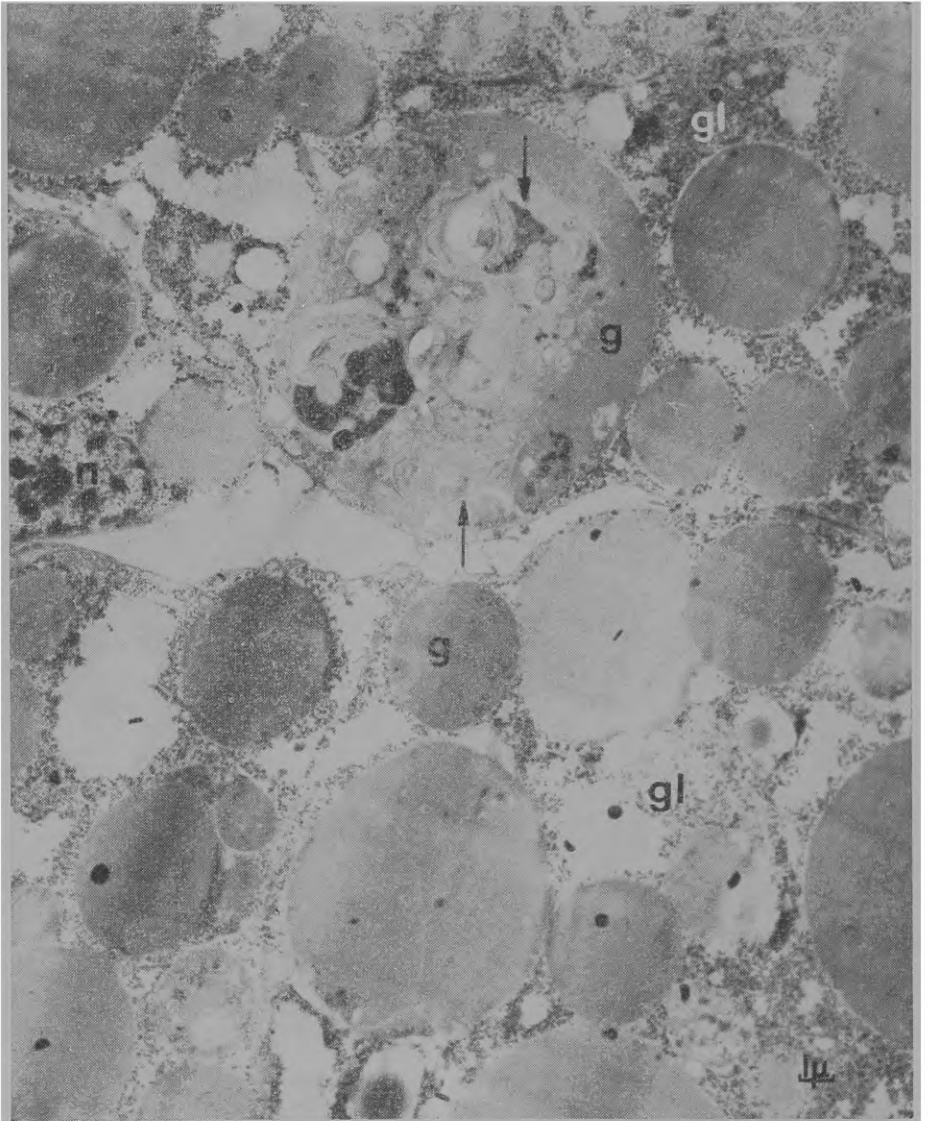


Fig. 3 — Células alimentares mostrando que o material de reserva é constituído por glóbulos protéicos (g) e glicogénio (gl). Alguns glóbulos protéicos mostram autodigestão (setas).

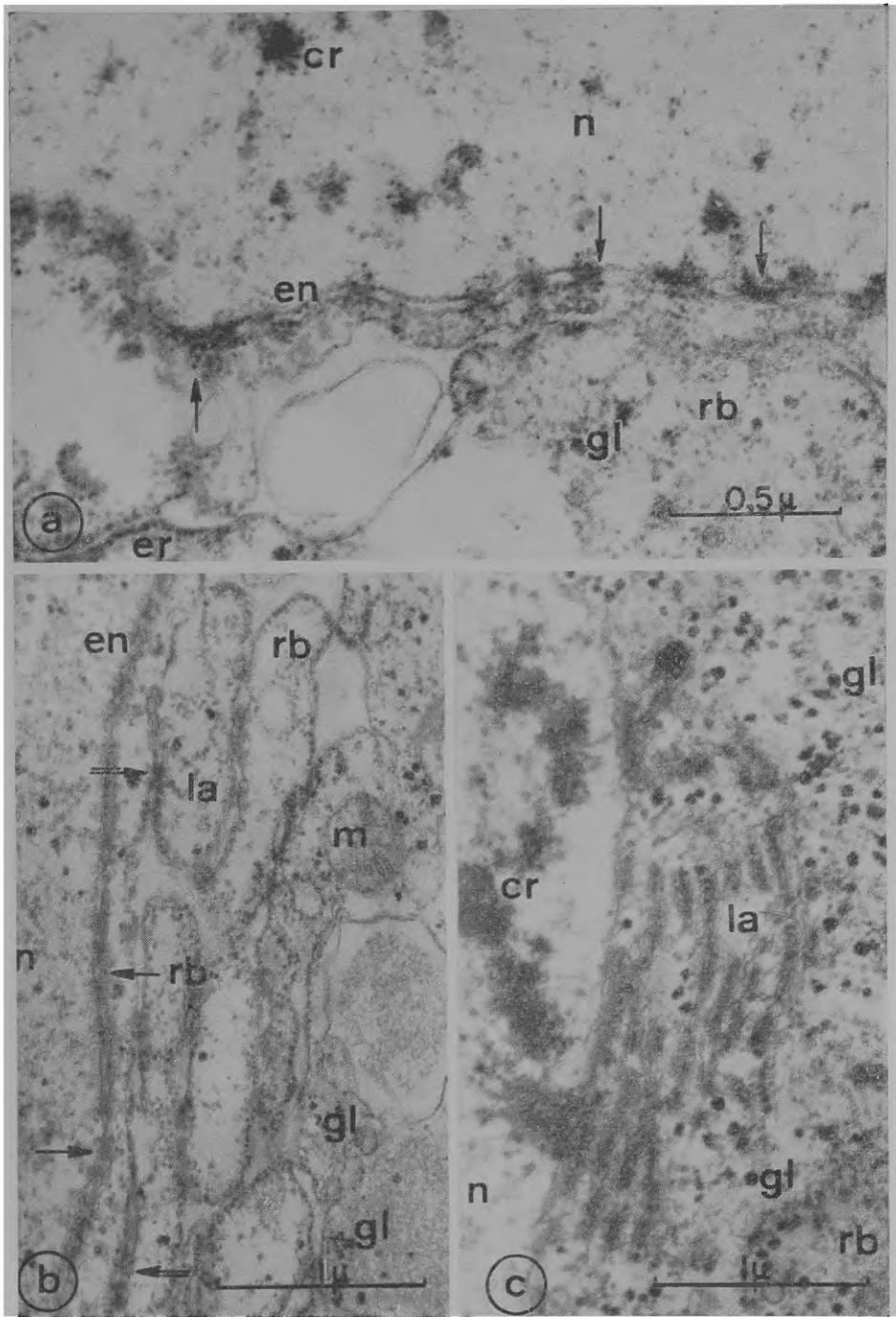


Fig. 4 — Contactos núcleo-citoplasma em ovócitos pré-vitelogênicos mostrando a passagem de material nuclear (seta) através dos poros do envelope nuclear (en) e a formação de retículo endoplasmático rugoso (er) aparentemente a partir de lamelas anuladas (la). Em *b*, notar a presença de estruturas semelhantes aos poros nucleares (setas duplas) nos segmentos de retículo. rb = ribossomos.

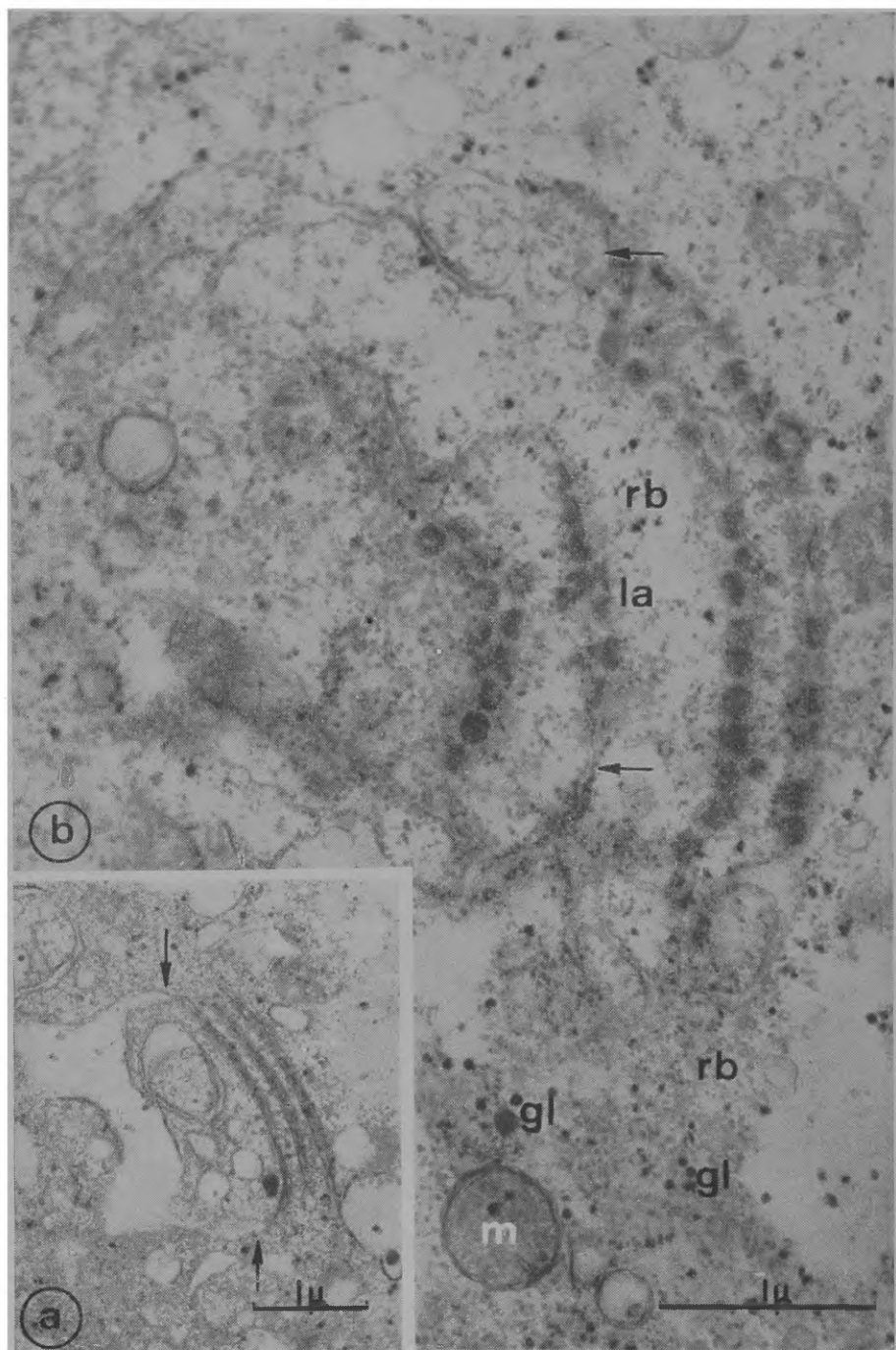


Fig. 5 — Lamelas anuladas repetindo a estrutura do envelope nuclear e em continuidade com o reticulo endoplasmático rugoso. Em *a*, vê-se um corte mediano e em *b* um corte tangencial. As setas indicam os pontos de continuidade com o reticulo.

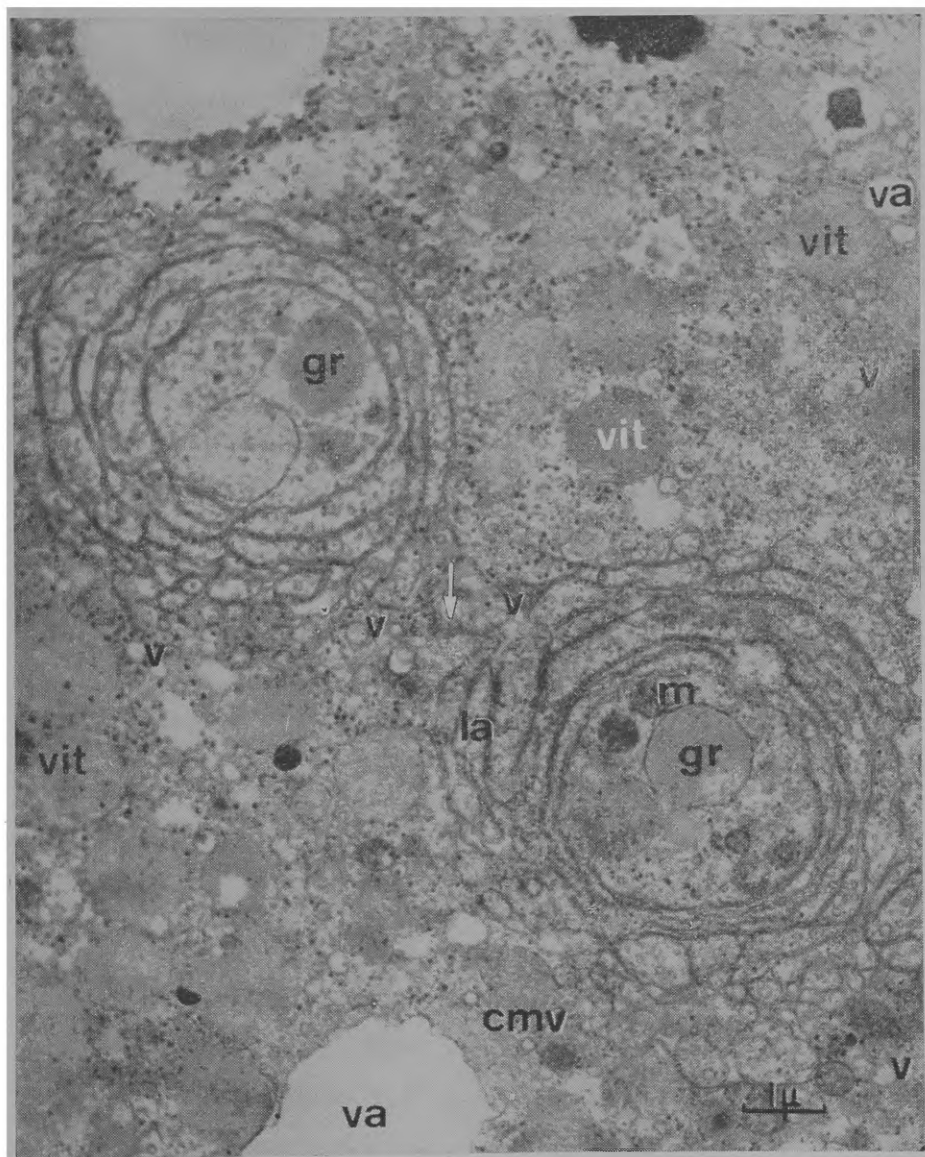


Fig. 6 — Reticulo endoplasmático enovelado em oócito durante a vitelogênese. Os grânulos (gr) contidos no interior do novelo são em tudo semelhantes ao vitelo (vit) espalhado no citoplasma. Os enovelamentos que enchem o citoplasma são contínuos entre si (seta) e mostram restos de lamelas anuladas (la). v = vesículas; cmv = corpo multivesicular; va = vacúolo.

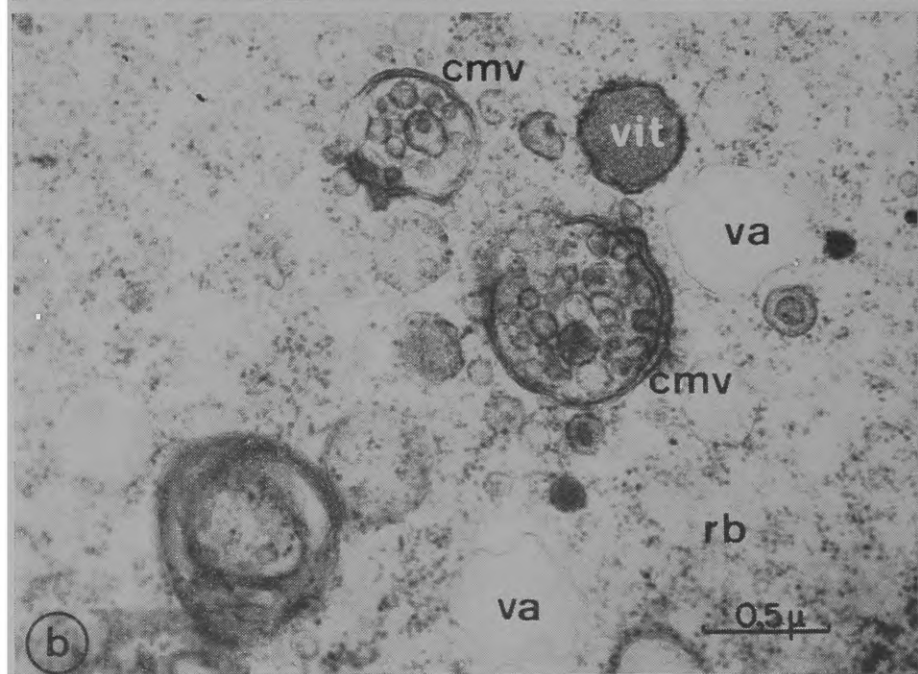
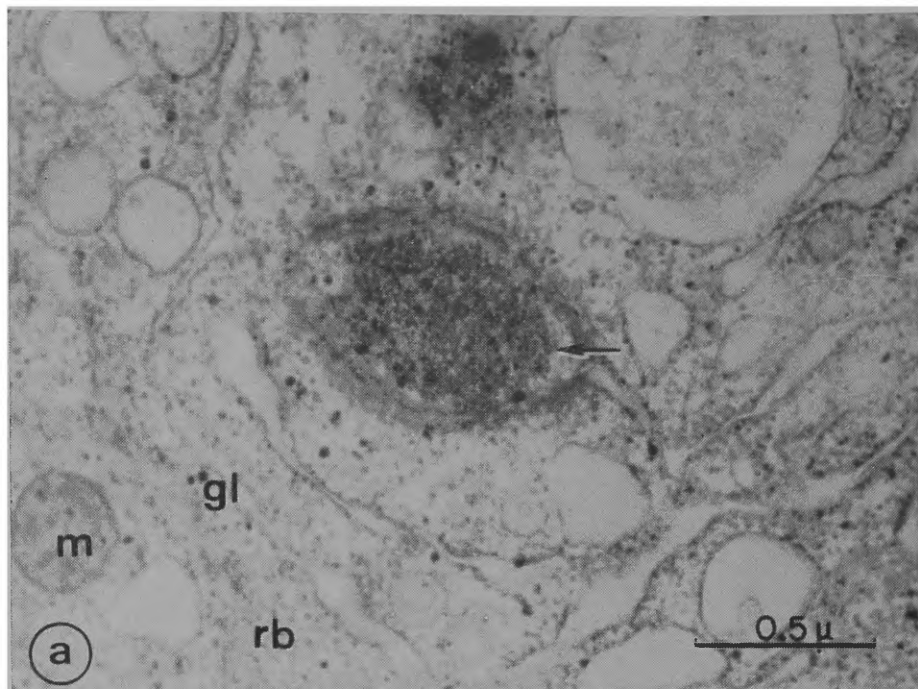


Fig. 7 — a — Retículo enovelado mostrando a formação de material (possivelmente vitelo), entre suas lamelas (seta). b — Corpos multivesiculares (cmv) com provável função de Golgi.

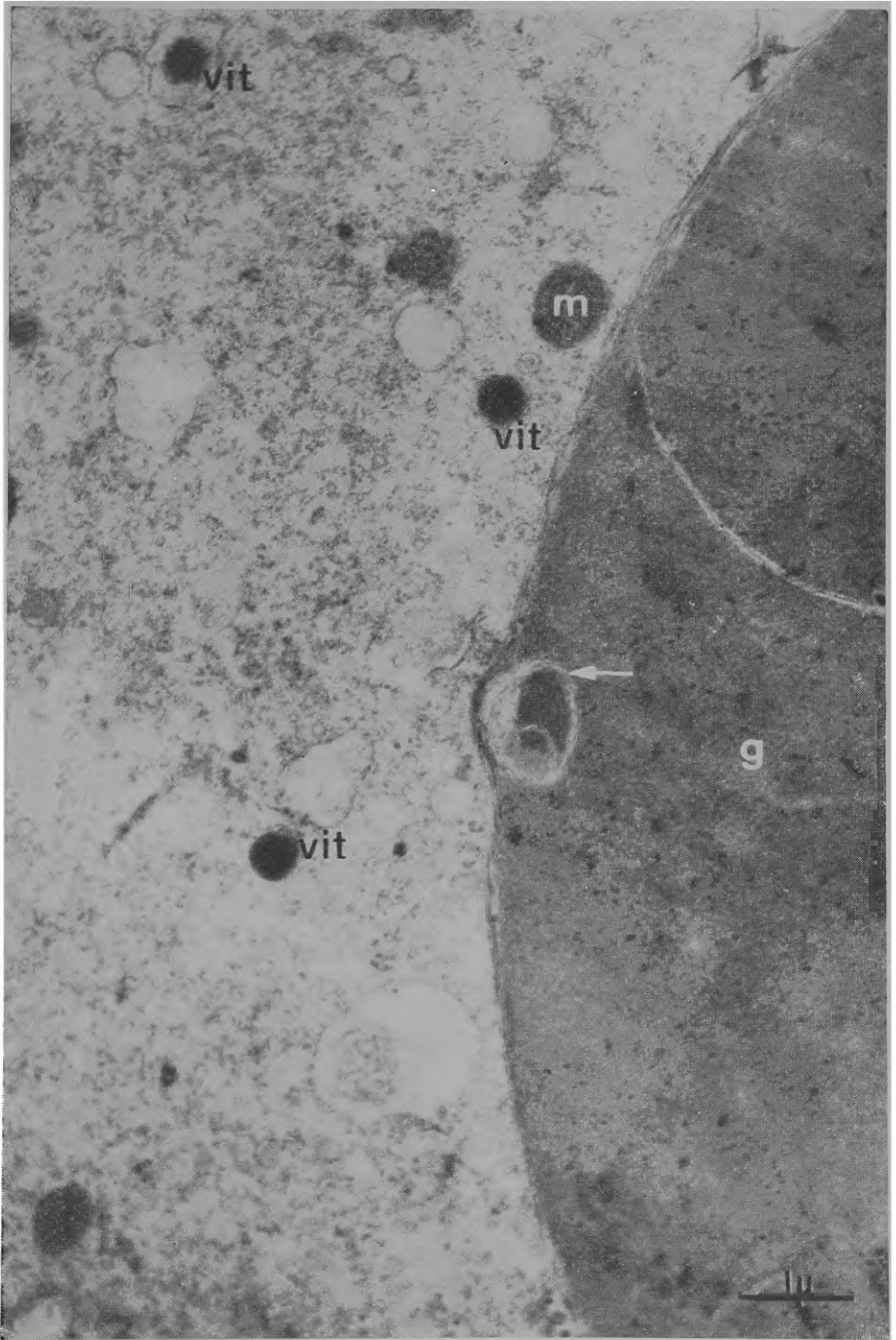


Fig. 8 — Contacto entre um glóbulo protéico e um ócito vendo-se sinais de digestão de parte deste (seta). Os grânulos densos de vitelo (vit) no interior do ócito provavelmente foram sintetizados pela própria célula.

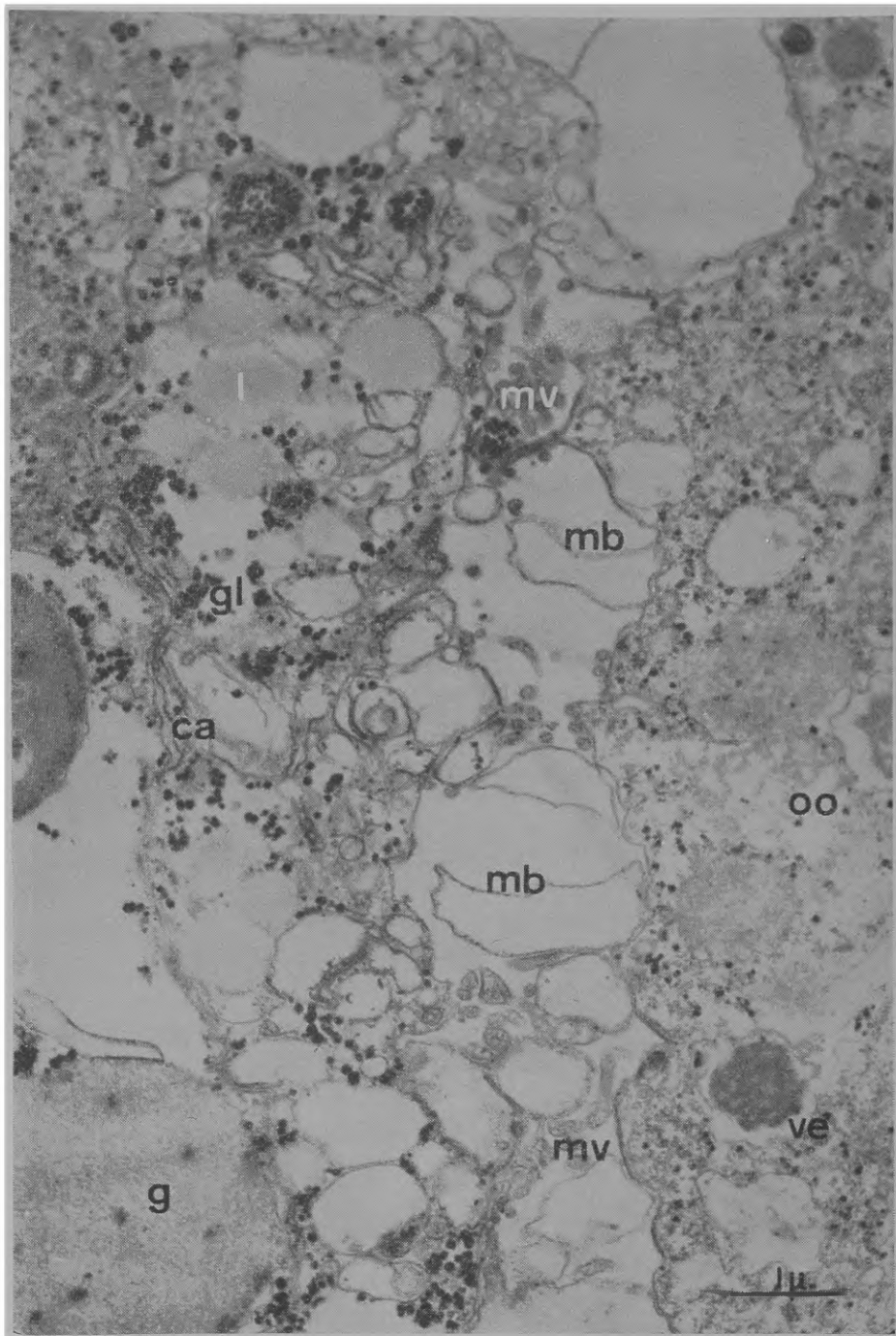


Fig. 9 — Contacto entre o ócito (oo) e célula alimentar (ca) vendo-se estruturas membranosas (mb) resultantes da digestão do material alimentar. mv = microvilosidades; l = lipídio.

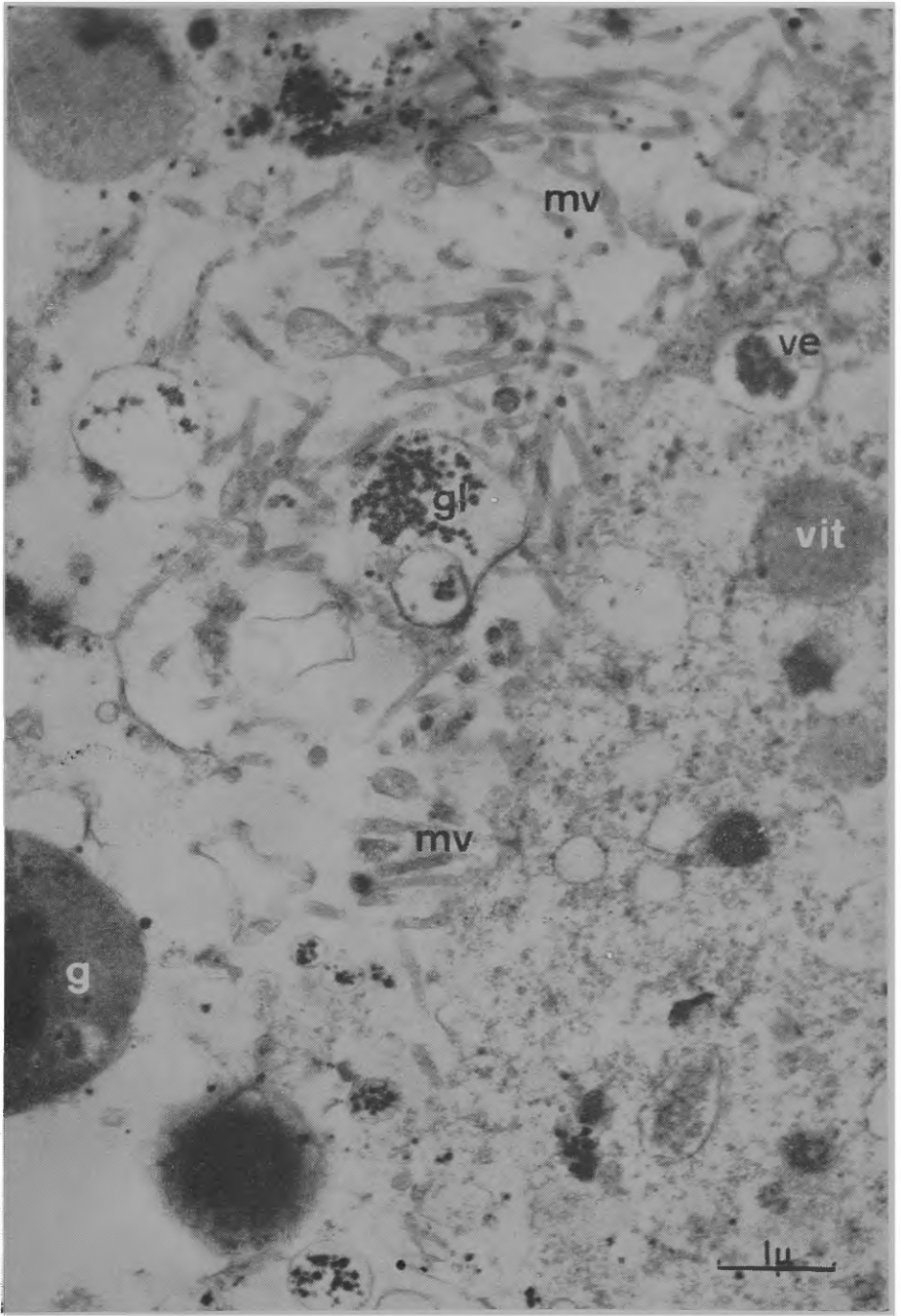


Fig. 10 — Microvilosidades (mv) no contacto entre oócito e células alimentar.
ve = vesícula com material absorvido.

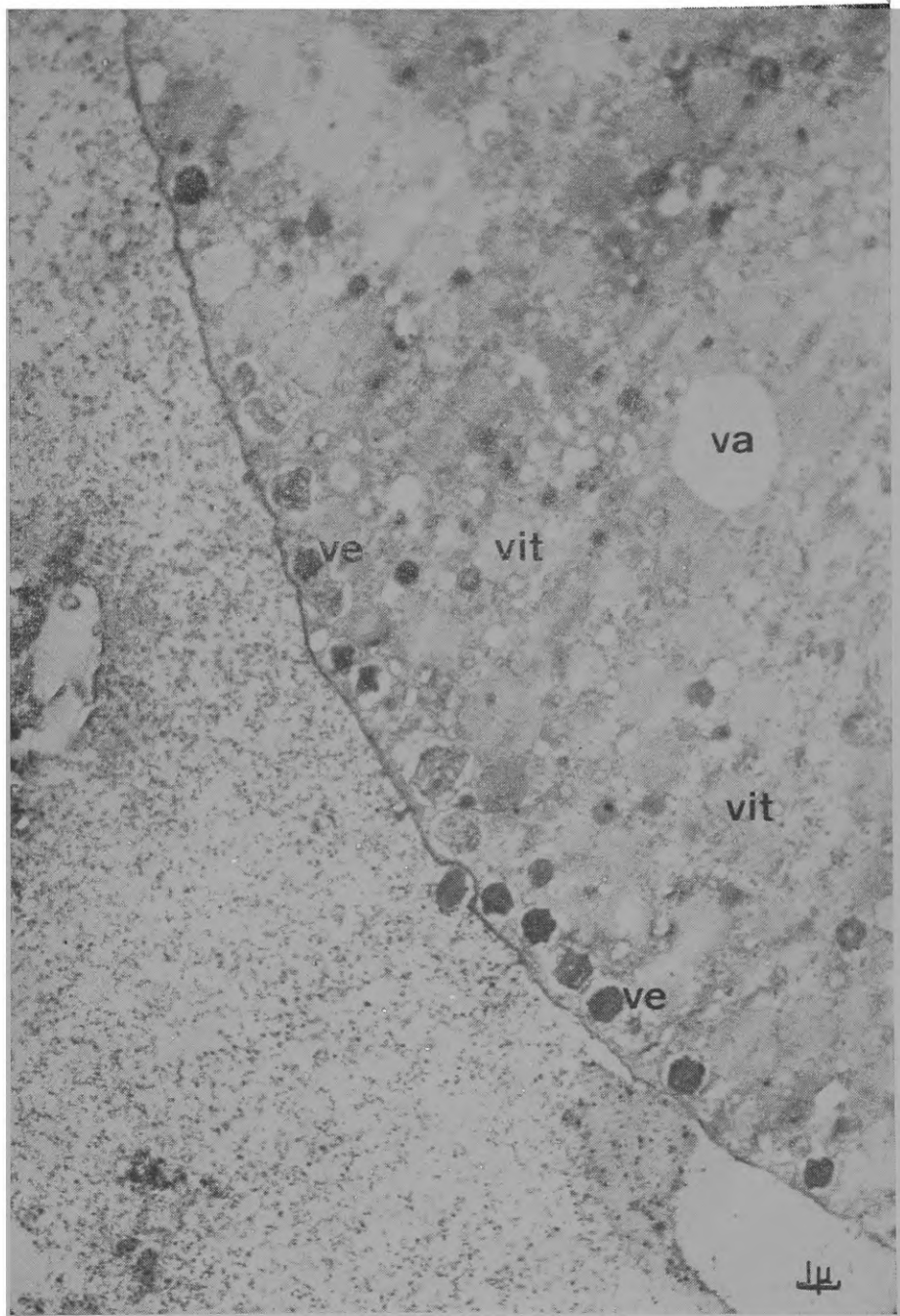


Fig. 11 — Porção periférica de um óócito maduro vendo-se o citoplasma completamente cheio de material de reserva e vesículas (ve) periféricas contendo material incorporado.

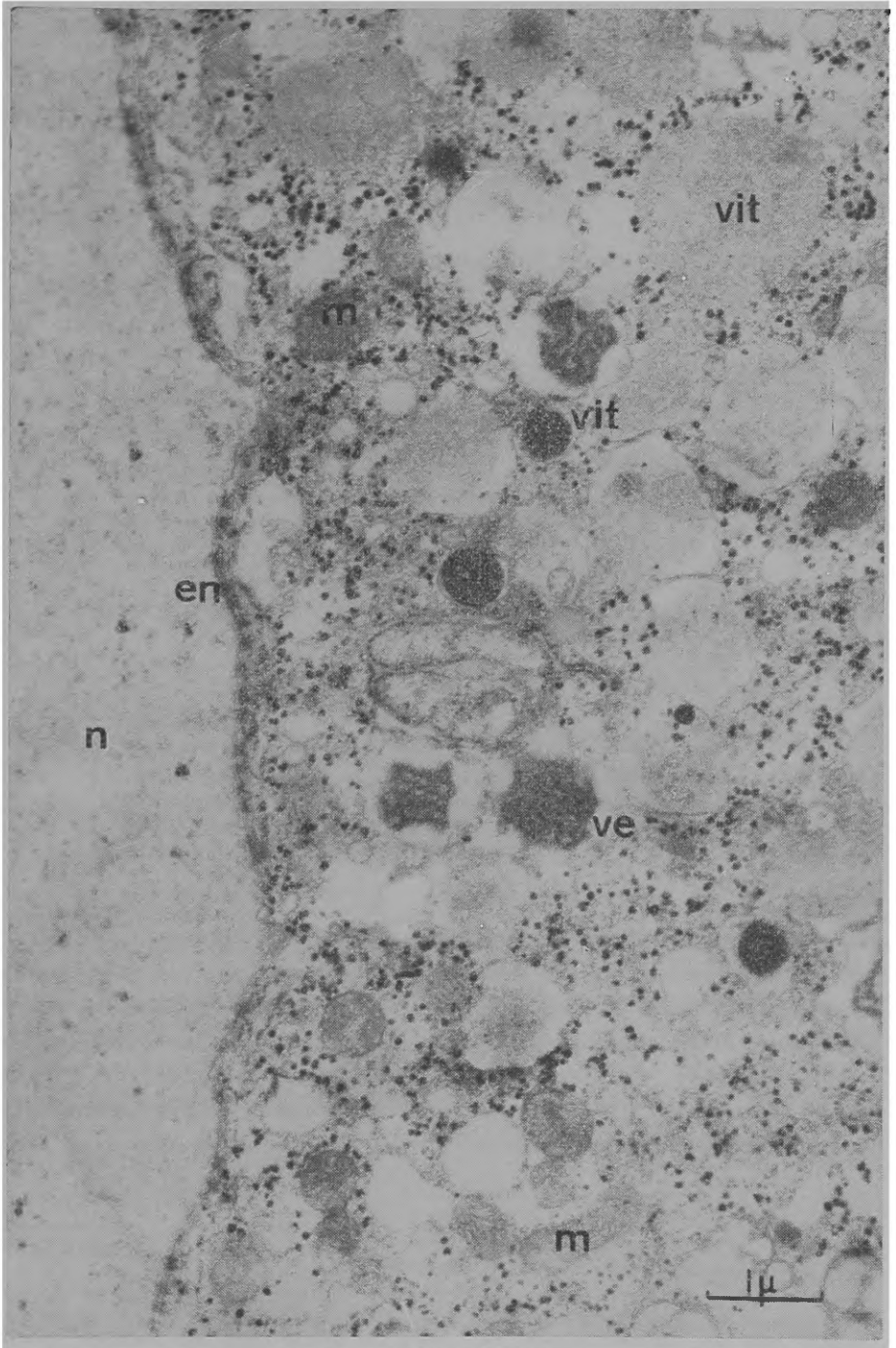


Fig. 12 — Porção perinuclear de um ócito maduro.

