

## ESTUDI SEQUÈNCIAL AL MICROSCOPI ÒPTIC I ELECTRÒNIC DEL COMPLEX SINAPTONÈMIC EN OÒCITS DE RATA (*Rattus norvegicus*)

R. Pujol<sup>1,2</sup>, M. García<sup>1,2</sup>, L. Freixa<sup>1</sup> i J. Egozcue<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Departament de Biologia Cel·lular i de Fisiologia (UAB).

<sup>2</sup> Institut de Biologia Fonamental «Vicent Villar i Palasí» (UAB). 08193-Bellaterra (Barcelona).

Correspondència: Roser Pujol. Departament de Biologia Cel·lular i de Fisiologia. Facultat de Medicina (UAB). 08193-Bellaterra (Barcelona).

---

### RESUM

L'efecte de les radiacions ionitzants, especialment a dosis baixes, en la reproducció humana és encara desconegut. En el present article descrivim l'evolució de la primera profase meiótica i la formació del complex sinaptonèmic (CS) en rates femella, *Rattus norvegicus* S.D., a través de l'anàlisi dels diferents estadis de la primera profase meiótica com a pas preliminar per, en un proper projecte, estudiar el possible efecte de la radiació ionitzant en aquest procés. El leptotè és un estadi de molt curta durada i degut al fet que l'aparellament dels homòlegs comença molt aviat només considerem l'estadi de leptotè-zigotè. La progressió de l'aparellament durant el zigotè és asincrònic. La morfologia dels CS és similar a la descrita en altres espècies. Durant el diplotè i abans de la desintegració dels elements laterals, té lloc la desinapsi.

En alguns oòcits s'observa la naturalesa doble o fins i tot múltiple dels elements laterals. Les associacions entre CS amb nuclèols o filaments nucleolars són molt freqüents. La presència de CS fragmentats pot interpretar-se com un artefacte de la tècnica.

### RESUMEN

El efecto de las radiaciones ionizantes en la reproducción humana, especialmente a dosis bajas, es aun desconocido. En el presente artículo describimos la evolución de la primera profase meiótica y la formación del complejo sinaptonémico (CS) en ratas hembras, *Rattus norvegicus* S.D., a través del análisis de los diferentes estadios de la primera profase meiótica como paso preliminar para posteriormente, en un proyecto próximo, estudiar el posible efecto de la radiación ionizante en este proceso. El leptotene es un estadio muy corto y además el apareamiento de los cromosomas homólogos empieza muy pronto por lo que sólo consideramos el estadio de leptotene-zigotene. La progresión del apareamiento durante el zigotene asincrónico. La morfología de los CS es similar a la descrita en otras especies. Durante el diplotene y antes de la desintegración de los elementos laterales, tiene lugar la desinapsis.

En algunos oocitos se observa la naturaleza doble e incluso múltiple de los elementos laterales. Las asociaciones entre CS con nucleolos o filamentos nucleolares son muy frecuentes. La presencia de CS fragmentados puede interpretarse como un artefacto de la técnica.

### ABSTRACT

The effect of ionizing radiation especially at low doses on human reproduction is still unknown. In this paper we describe the evolution of first meiotic prophase and synaptonemal complex (SC) formation in female rats, *Rattus norvegicus* S.D. through the analysis of the different stages of the first meiotic prophase as a preliminary step for a future study on the possible effect of ionizing radiation on this process. Leptotene is a stage of very short duration and since pairing of the homologues begins very early we only consider a leptotene-zygotene stage. The progression of pairing during zygotene is asynchronous. The morphology of the SCs is similar to that describe in other species. During diplotene and before desintegration of the lateral elements, desynapsis takes place.

In some oocytes we observed a double or even multiple nature of lateral elements. Associations between SCs and nucleoli or nucleolar filaments are frequent. The presence of fragmented SCs can interpreted as a technical artifact.

---

**Key words:** rat, oocyte, meiosis, synaptonemal complex.

### INTRODUCCIÓ

En els darrers anys la població que ha estat exposada a les radiacions ionitzants ha anat incrementant. L'origen d'aquesta irradiació pot ser tant de tipus ocupacional, com terapèutic o accidental.

Després d'una exposició important a dosis elevades s'obtenen unes freqüències d'anomalies que evidencien els efectes negatius de les radiacions ionitzants. Ara bé, l'exposició a dosis baixes (de l'ordre d'unes dotzenes de rad) no sembla provocar modificacions clíniques o biològiques en teixits sans, almenys immediatament detectables. Altrament però, sí que poden provocar problemes en embrions i en la línia germinal, a través de la qual, es pot determinar l'efecte transmissible a la descendència.

Diversos estudis han comprovat que la irradiació indueix la no-disjunció en oòcits de diferents mamífers, tot incrementant el risc d'aneuploidia en  $F_1$  (Hansman & Probeck, 1979; Sonta, 1981; Tease, 1985). A més, alguns autors han arribat a establir, en l'espècie humana, la relació existent entre la irradiació i l'increment del risc de tenir fills amb trisomia 21 (Chandley & Speed, 1979).

Ara bé, el risc d'anomalies de desenvolupament o defectes genètics associat amb exposicions prenatals no pot ésser estudiat només a partir d'informacions epidemiològiques, i també s'han d'utilitzar models experimentals amb animals de laboratori.

L'estudi de la inducció d'aneuploidia i altres alteracions en cèl·lules germinals d'altres mamífers ens pot fer comprendre millor la situació humana.

L'objecte d'aquest treball és l'estudi dels Complexos Sinaptonèmics (CS) a través de la primera profase meiótica, de manera que ens permeti tenir una base per, posteriorment, poder veure els efectes de les radiacions ionitzants en aquest procés.

L'anàlisi dels complexos sinaptonèmics al llarg de la primera profase meiótica evidència diverses alteracions estructurals no detectables amb tècniques cromosòmiques convencionals. A més, les preparacions paquitèniques permeten detectar el doble de multivalents que els trobats en diacinesi/metafase I (Cawood i Breckon, 1983). La tècnica de complexos sinaptonèmics és de gran valor potencial per qualsevol estudi en què intervingui el tractament experimental de cèl·lules germinals meiótiques.

Durant els últims anys s'han publicat diferents articles sobre C.S. en diferents espècies de mamífers (Bojko, 1983; Dietrich & de Boer, 1983; Freixa et al., 1985; Guitart et al. 1985; Speed, 1982, 1985; Tease & Fisher, 1986; Wallace & Hultén, 1985a).

La sincronia de la profase meiótica I varia considerablement segons les espècies. En la rata, Beaumont & Mandl (1962) estableixen una relació directa entre l'estadi de desenvolupament i l'estadi dominant d'activitat cel·lular, però en altres espècies com el ratolí, l'hàmmster i l'home (Baker, 1963; Borum, 1961; Freixa et al. 1985; Garcia et al. 1987) el procés de l'oogènesi és altament asincrònic i per tant més difícil a l'hora d'analitzar els diferents estadis.

En el present estudi hem emprat *Rattus norvegicus* S.D. Aquesta espècie resulta interessant per l'elevada sincronia que presenta en la primera profase meiótica.

A més, la rata és una espècie que compleix els requeriments imprescindibles de tot animal d'experimentació: recanvi generacional elevat i ràpid, i preu raonable.

En aquesta publicació, confirmem la sincronia de l'oogènesi en *Rattus norvegicus*, descrivim els diferents estadis de la primera profase meiótica i caracteritzem l'estructura i el comportament del CS en oòcits d'aquesta espècie. A més establim una relació entre l'edat de gestació i l'estadi preponderant de la profase meiótica I.

## MATERIAL I MÈTODES

### Animals

Per a dur a terme aquest treball s'han utilitzat els ovaris de nadons i fetus de femella de mamífers rosegadors de l'espècie *Rattus norvegicus* S.D. (Sprague Dawley) des dels 14 dies postcoitum fins als 4 postpartum (Taula 1). El matí de la detecció del tap vaginal el considerem com a dia zero de gestació.

### Tècniques

Es sacrifiquen les femelles gestants amb un anestèsic inhalatori (cloroform o bé èter) en els diferents dies de gestació des dels 14 fins als 21 dies, s'extreuen els fetus i es mantenen en solució isotònica.

**Taula 1.** Percentatge dels diferents estadis per a cada edat respecte al total de cèl·lules meiotiques.

Postcoitum	Nombre Meiocits	Leptotè					Diototè
		Leptotè-Zigotè	Zigotè	Paquitè	Diploè	Diciotè	
14	—	—	—	—	—	—	
15	75	100	—	—	—	—	
16	89	100	—	—	—	—	
17	128	100	—	—	—	—	
18	540	89	10	—	—	—	
19	729	45	50	6	—	—	
20	432	14,3	28,6	57,1	—	—	
21	254	1,8	18,9	75,5	3,7	—	
<b>Postpartum</b>							
1	441	—	4,5	28,6	30	11,3	
2	425	—	—	8,2	68,9	31,1	
3	262	—	—	—	52,9	47,4	
4	136	—	—	—	—	100	

Als nounats, d'edats compreses entre 1 dia i 4 dies p.p., se'ls practica una dislocació cervical.

S'extreuen els ovaris i es processen mitjançant dues tècniques diferents: la tècnica descrita per Moses (1977a) per espermatòcits de mamífers, adaptada a oòcits de mamífers per Freixa (1985), i la tècnica descrita per Dietrich & Mulder (1981a, 1981b).

Amb les dues s'ha fet un estudi seqüencial, introduint les modificacions descrites per Navarro et al. (1981) a la tècnica de Dresser & Moses (1980).

## RESULTATS I DISCUSSIÓ

### Distribució dels estadis profàsics. Sincronia

El grau de sincronia, a través de la profase meiotica, varia segons les espècies. En el ratolí s'ha observat que les cèl·lules no entren en meiosi exactament en el mateix moment, sinó que ho fan en el curs d'un o dos dies (Borum, 1961). En la femella, l'oogènesi és molt asincrònica (Baker, 1963).

Beaumont & Mandl (1962), en el seu treball, destacaren una estreta relació entre l'estadi predominant meiotic i l'edat del fetus, així com un desenvolupament sincronitzat en la majoria d'oòcits, de manera que un 90 % de les cèl·lules es troben en el mateix estadi, en un moment donat.

En la Taula I poden observar-se els percentatges dels diferents estadis, a mesura que avança l'edat dels fetus i dels nadons de rata.

Als 14 dies postcoitum (p.c.) no s'observen cèl·lules meiotiques. Als 15 i 16 dies p.c. observem un nombre molt baix de meiocits que és molt variable segons els fetus. Als 17 dies p.c. augmenten, però així i tot, només trobem

cèl·lules als inicis de la profase que, en aquest treball, englobem en l'estadi de leptotè-zigotè.

Creiem que la meiosi probablement comença als 15 dies p.c., però simultàniament té lloc una primera onada de degeneració (Beaumont & Mandl, 1962). Als 17 dies p.c. una segona onada de degeneració coincideix amb un procés de proliferació actiu (Beaumont & Mandl, 1962). Això podria explicar el perquè en les primeres edats estudiades el percentatge de cèl·lules meiotiques és baix. No és fins als 18 dies p.c. que la majoria de cèl·lules entren en meiosi.

Als 18 dies p.c. es comencen a observar els primers zigotens típics. A partir d'aquesta edat, i gradualment, van apareixent els diferents estadis (paquitè, diplotè, dictiotè), al mateix temps que van desapareixent els primers (leptotè, leptotè-zigotè, zigotè).

Així, pot observar-se com als 19 dies p.c., augmenta molt el percentatge de zigotens amb una clara disminució dels leptotens-zigotens. A l'edat següent, 20 p.c., els paquitens ja són majoritaris i arriben al màxim pic als 21 p.c. A 1 p.p. ja no trobem lepto-zigotens, només alguns zigotens típics, i els darrers estadis (diplotè, dictiotè) comencen a predominar. Quatre dies després del naixement només poden apreciar-se nuclis en estadi dictiotènic.

Per a cada estadi trobem una edat en la qual s'escau l'estadi principal (Taula 1), tal i com indicaren Beaumont & Mandl (1962) en el seu treball.

## Descripció dels CSs i la seva evolució en la progressió dels estadis meiotics

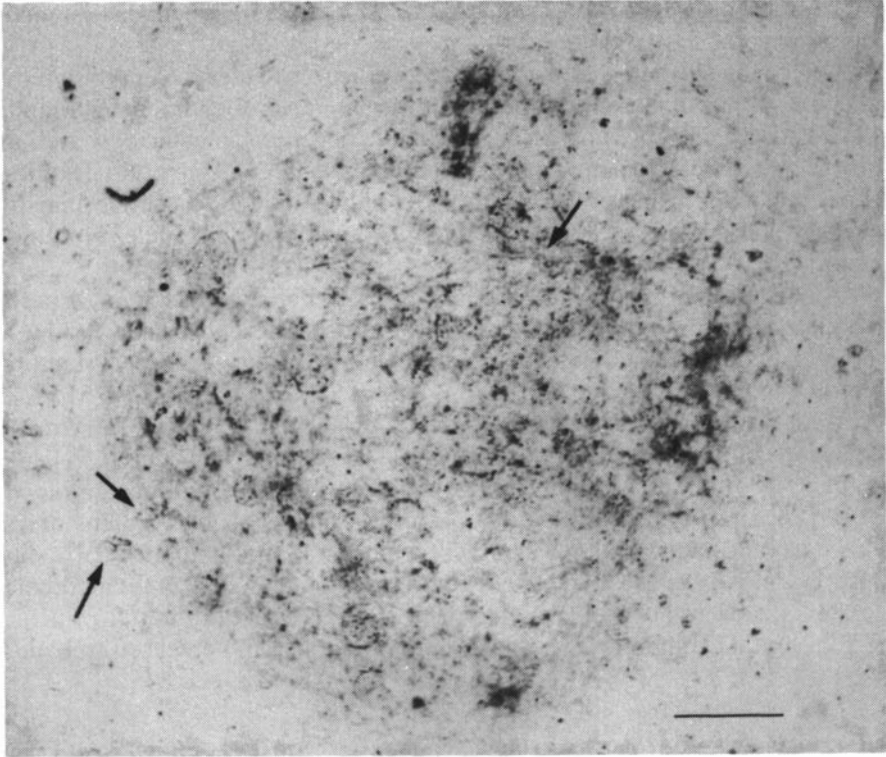
### *Leptotè-zigotè*

El leptotè es caracteritza per nuclis grossos i arrodonits, d'aspecte dens i uniforme.

S'observen filaments molt curts i fins, sovint difícils d'apreciar (Fig. 1). Aquests filaments corresponen a precursors dels elements laterals. El leptotè s'observa des dels 15 dies p.c.

Per altra banda, en efectuar l'anàlisi dels resultats en les primeres edats, s'observa que els primers aparellaments tenen lloc així que comencen a formar-se els elements axials i per tant ja no podem classificar aquests nuclis a l'estadi leptotè (on tots els elements axials són senzills); però tampoc no tenen la configuració típica de l'estadi zigotènic; és per això que parlem d'un estadi leptotè-zigotè (Fig. 2).

Aquesta interpretació estaria d'acord amb l'estudi fet per Bojko (1983) en l'òdit humà en el qual suggereix que l'aparellament té lloc abans de la confecció total de l'element lateral i per tant, l'estadi del leptotè, amb tots els components laterals formats sense CS, no existeix. És en aquest sentit que alguns autors, en estudis fets amb el ratolí (Dietrich & Mulder, 1981a, 1981b), arriben fins i tot a dubtar de l'existència del leptotè. Altres autors, però, han caracteritzat aquest estadi tant en oòcits (Freixa et al. 1985) com en espermatoïcits



**Figura 1.** Oòcit leptotènic al microscopi òptic (15 p.c.). Les fletxes assenyalen els filaments precursors dels elements laterals (Barra, 10  $\mu$ m).

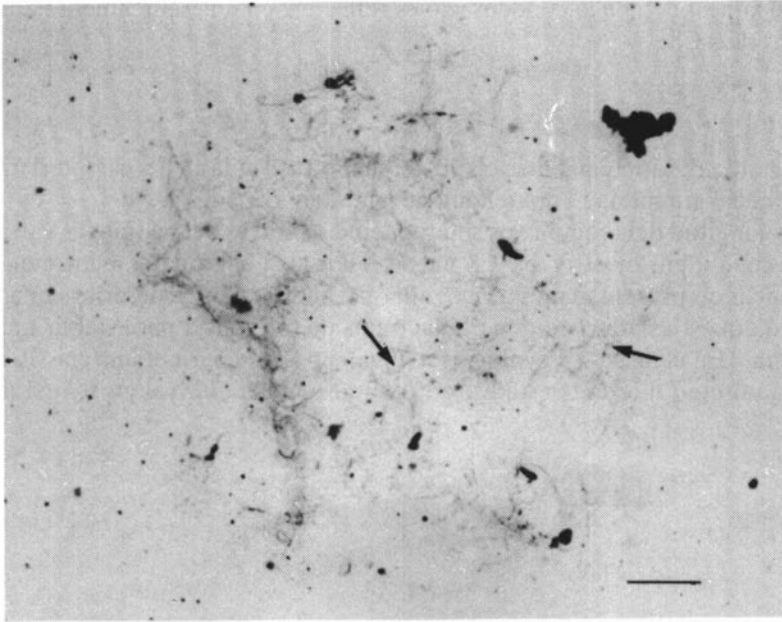
(Guitart et al., 1985) de ratolí i d'hàmmster. Probablement, el fet de trobar un nucli amb els fragments laterals completament desaparellats és una qüestió de sort, ja que el leptotè té una durada molt curta.

### *Zigotè*

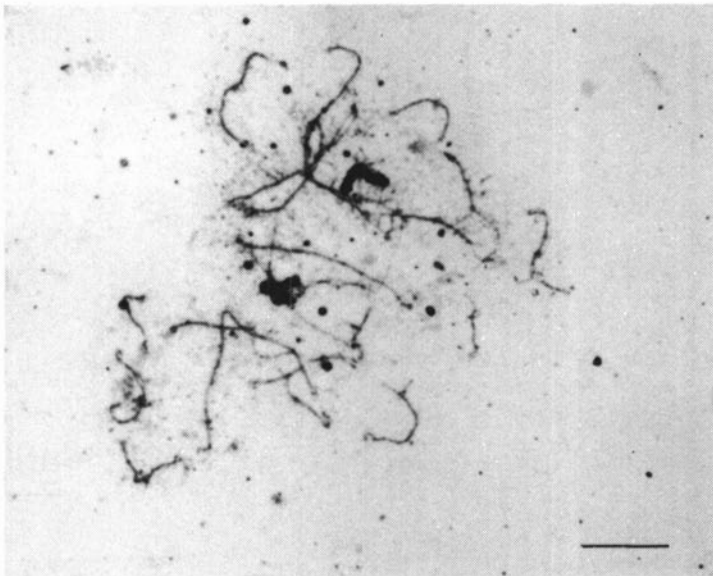
Els nuclis perden la forma arrodonida que identifica l'estadi anterior. Aquest estadi es caracteritza per la total confecció dels elements laterals (Fig. 3).

En aquest estudi, es troben en la rata els primers zigotens típics als 18 p.c. Aquests resultats coincideixen amb les dades aportades per diferents autors (Beaumont & Mandl, 1962; Dietrich & Mulder, 1981b; Rivelis et al. 1976).

En un mateix nucli l'aparellament que progressarà durant tot el zigotè, no és sincrònic. Aquest fet ja ha estat descrit en diverses espècies per altres autors (Bojko, 1983; Dietrich & de Boer, 1983; Freixa et al., 1985; Moses, 1977a; Pathak & Hsu, 1979; Speed, 1982; Vidal et al., 1984; Wallace & Hulén, 1985a).



**Figura 2.** Oòcit en estadi de transició (leptotè-zigotè) al microscopi òptic (18 p.c.). Es poden observar filaments aparellats (fletxes) i per aparellar (Barra, 10  $\mu\text{m}$ ).



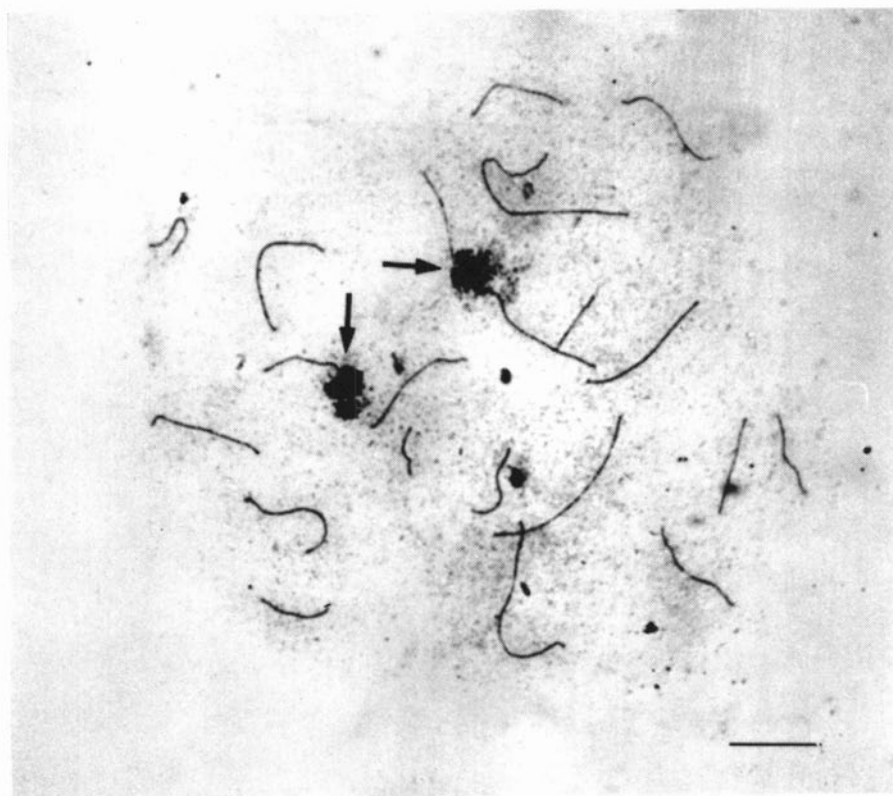
**Figura 3.** Oòcit a zigotè vist al microscopi òptic (19 p.c.) amb regions intersticials i finals per aparellar (Barra, 10  $\mu\text{m}$ ).

En aquesta etapa la condensació es reflecteix en un escurçament i engruiximent dels CS.

### *Paquitè*

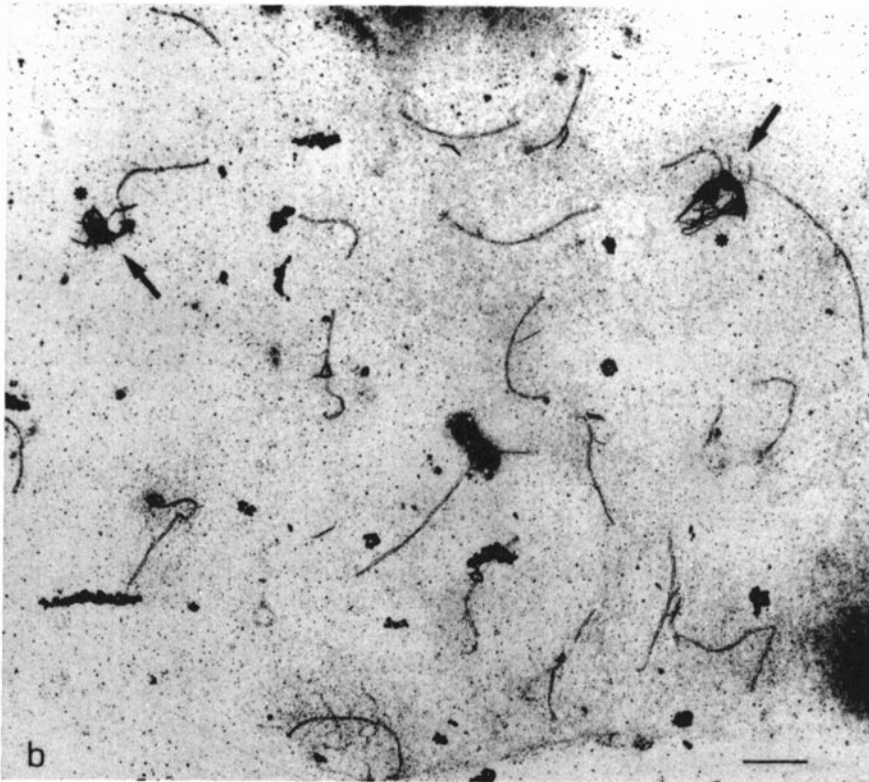
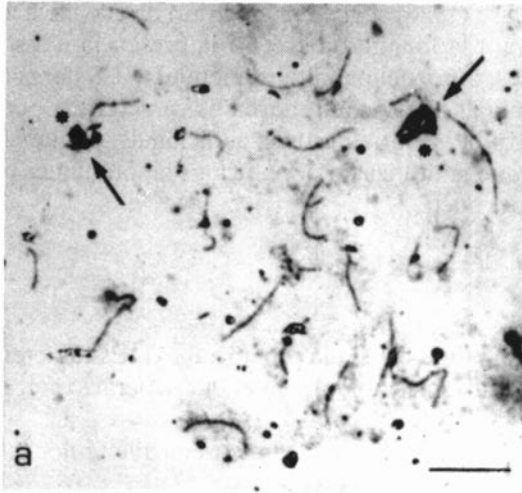
És l'estadi predominant entre els 20 i 21 dies p.c. (Taula 1). Es caracteritza per la formació completa i l'aparellament total dels CS (Fig. 4, 5).

La longitud dels complexos sinaptonèmics a través del paquitè és variable, alguns paquitens mostren els CS més condensats i engruixits, mentre que altres nuclis els presenten més prims i allargats; però és difícil descriure una evolució d'aquest estadi, ja que no hi ha punts de referència per establir una seqüència. (En el mascle, l'evolució del bivalent sexual permet una classificació del paquitè en diferents estadis, però en la femella el bivalent sexual no és



**Figura 4.** Oòcit en l'estadi del paquitè (20 p.c.). S'observen 21 C.S. totalment formats i individualitzats. Les fletxes assenyalen associacions entre CSs i nuclèols (Barra, 10  $\mu$ m).





**Figura 5.** Imatge seqüencial d'un nucli paquitècnic (21 p.c.) al microscopi òptic (a) i al microscopi electrònic (b). S'observen associacions dels CS amb nuclèols (fletxes) i filaments nucleorals (asterisc) (M.O. barra, 10  $\mu$ m, E.M. barra, 10  $\mu$ m).

identificable). Tease (1986) suggereix un criteri de classificació pels oòcits de ratolí, tot observant la longitud dels CS i la presència d'associacions terminals. Segons aquest autor, el paquetè primerenc té CS llargs amb nombroses associacions terminals, i el paquetè tardà es caracteritza per uns CS curts i ben separats. Ara bé, caldrien estudis addicionals, ja que els nostres resultats suggereixen que la utilització de solucions hipotòniques pot influir en les característiques del nucli.

### *Diplotè*

És l'estadi predominant en el 1r dia p.p. (Taula 1). Es caracteritza per la desinapsi entre els cromosomes homòlegs, amb la separació consegüent dels elements laterals (Fig. 6).

La desinapsi progressa asincrònicament fins que té lloc la separació total dels elements laterals (Fig. 7).

Els diplotens més avançats mostren trencaments dels EL, que cada cop són més nombrosos. La desaparició del CS com a tal és cada cop més evident. Al final d'aquest estadi s'aprecien restes dels elements laterals.

En alguns oòcits hi ha evidència de duplicació i fins i tot de multiplicació dels elements laterals (Fig. 8). Aquest fet ha pogut ésser observat per diferents autors (Comings & Okada, 1971; Counce & Meyer, 1973; Dresser & Moses, 1980; Mazo & Gil-Alberdi, 1986; Freixa et al., 1985; Garcia et al. 1987; Moses, 1968; Sheridan & Barnett, 1969) en diferents espècies.

Dresser & Moses (1980) establiren que la naturalesa doble de l'element sols es manifesta després de la sinapsi, però Freixa et al. (1985) observen elements laterals dobles en segments desaparellats en el zigotè en oòcits d'hàmsster. Nosaltres observem una duplicitat dels elements laterals en nuclis diplotènics i en general és més senzill observar la naturalesa complexa de l'element lateral en estadis postsinàptics.

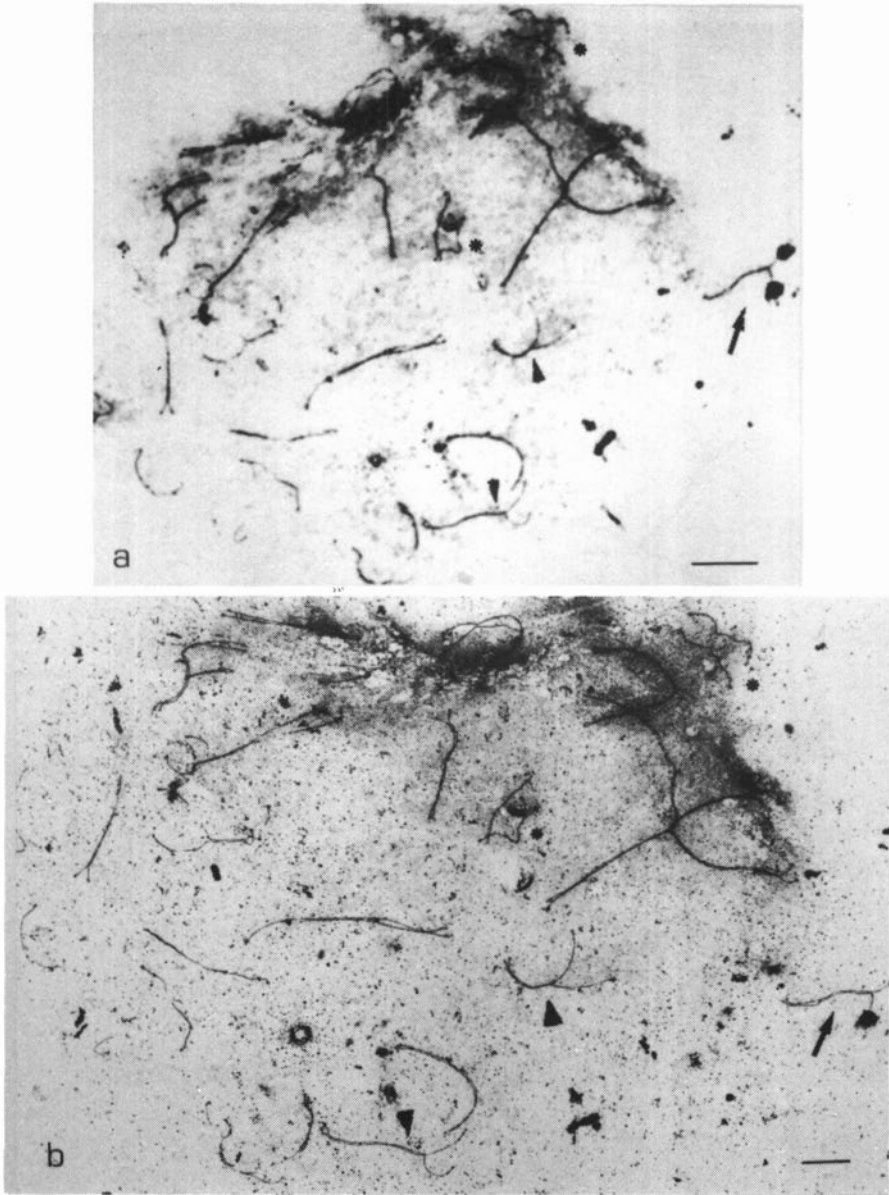
### *Dictiotè*

És l'estadi predominant a partir dels 4 dies p.p. (Taula 1). El nucli pren de nou una forma arrodonida i un aspecte dens amb una morfologia que fa pensar en el leptotè.

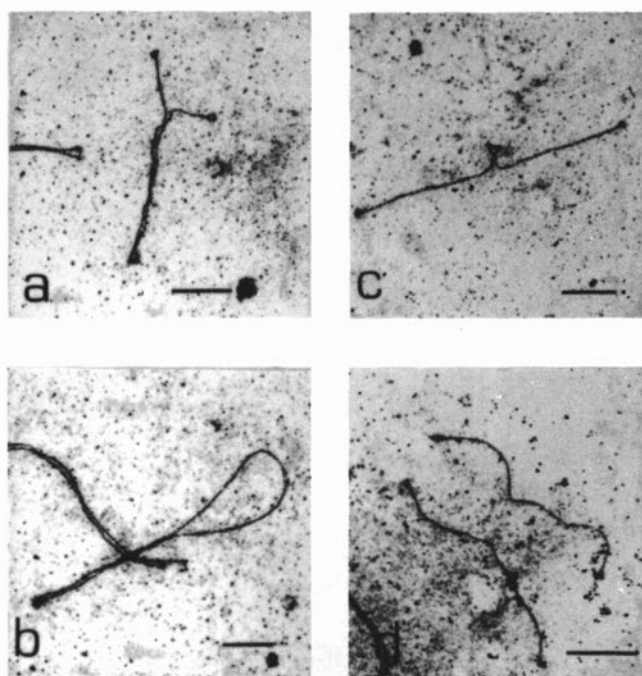
No es distingeixen restes d'elements laterals.

### **Associacions nucleolars**

En els oòcits de rata s'observen nombroses relacions amb els nuclèols, tant en estadis presinàptics com postsinàptics (Taula 2). Aquests nuclèols presenten diverses morfologies: forma arrodonida i gran, molt rodó i petit, en forma de



**Figura 6.** Imatge seqüencial d'un oòcit diplotènic (1 p.p.): al microscopi òptic (a) i al microscopi electrònic (b). S'observen desinapsis dels elements laterals. La desorganització dels elements laterals és asincrònica: es poden observar desinapsis parcials (caps de fletxa) i desinapsis totals (asterisc). Les fletxes assenyalen un bivalent els elements laterals del qual es relacionen amb dos nuclèols o restes nucleolars. (M.O. barra, 10  $\mu\text{m}$ , M.E. barra, 5  $\mu\text{m}$ ).



**Figura 7.** Durant el diplotè primerenc la desinapsi comença terminalment (a) o bé intersticialment (b). La progressió de la desinapsi (c) porta a la completa separació dels elements laterals (d) (Barra, 2  $\mu\text{m}$ ).



**Figura 8.** CSs d'òcits a diplotè al microscopi òptic (a) i electrònic (b). S'observa duplicitat dels elements laterals (fletxes). (M.O. barra 5  $\mu\text{m}$ ; M.E. barra 1  $\mu\text{m}$ ).

**Taula 2.** Percentatges d'òcits que presenten relacions CS-nuclèol respecte al total.

	Posició telomèrica		Posició intersticial
	2 nuclèols	1 nuclèol	
Bivalent llarg	12,3		7,6
Bivalent mitjà	6,6	13,6	1,3
Bivalent curt	11,4	55,5	3,9

ploma i estan associats tant telomèricament com intersticialment (Fig. 9). Algunes vegades es poden observar CS associats a dos nuclèols simètrics (Fig. 9a; b). Mirre & Stahl (1978) observen que en el ratolí, la formació de dos nuclèols simètrics no és un fenomen rar.

En un 6,8 % dels nuclis paquitènics i diplotènics, observem una figura especial en un bivalent de longitud mitjana.

Aquest bivalent es presenta doblegat sobre si mateix, la qual cosa fa pensar en una relació entre els seus telòmers (Fig. 9f;g). En un 30 % d'aquests nuclis el bivalent es troba relacionat amb un nuclèol (Fig. 9g).

La presència d'uns filaments d'origen nucleolar sovint associats al CS (Dresser & Moses, 1980) s'han observat freqüentment en oòcits d'hàmsster (Freixa et al., 1985) i en espermatoïcits d'hàmsster (Guitart et al. 1985).

En aquest estudi se n'han pogut observar en relació al CS (Fig. 10) en nombrosos nuclis (10,2 % del total d'òcits). En alguns d'aquests oòcits, aquests filaments estableixen connexió entre dos o més CS (Fig. 10c).

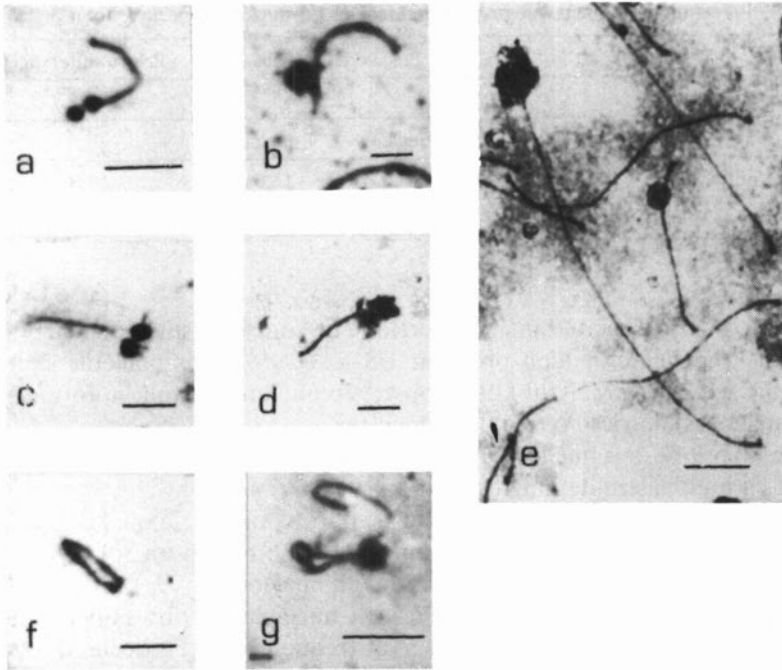
Se'n desconeix la possible funció, però prodien influir en l'orientació dels bivalents, i actuar com a un possible mecanisme de no-disjunció (Freixa et al., 1985).

## Trencaments

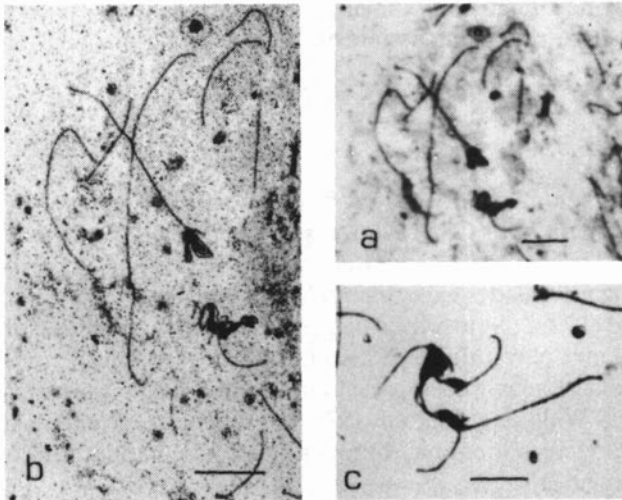
En un cert percentatge d'òcits (6,1 % dels oòcits en el zigotè i paquitè) s'observen trencaments dels CS previs a la postsinapsi dels elements laterals o bé, en alguns casos, abans de la sinapsi completa (Fig. 11).

En analitzar les dades experimentals corresponents a aquests nuclis, es va observar que el 72,2 % provenen de preparacions obtingudes a partir de fixador d'un pH més elevat que 9,5; això fa pensar que aquests trencaments són producte de la tècnica i no representen un mecanisme postsinàptic normal. Altres autors (Wallace & Hultén, 1985a) descriuen trencaments relativament freqüents en oòcits paquitènics humans que també han interpretat com artefactes de la tècnica.

Speed (1982) observa interrupcions dels complexos en un 25 % de nuclis paquitènics, i suggereix que la formació d'aquestes interrupcions és deguda a zones que no queden tenyides.



**Figura 9.** Associacions entre CSs i nuclèols. a-e) morfologies diferents d'associacions CSs-nuclèols (Barra, 5  $\mu\text{m}$ ). f) bivalent amb associació telomèrica (Barra 5  $\mu\text{m}$ ). g) un bivalent similar al f) amb associació nucleolar (Barra 5  $\mu\text{m}$ ).



**Figura 10.** Filaments nucleolars, imatges seqüencials (a) i (b). (a) al microscopi òptic (Barra, 5  $\mu\text{m}$ ). (b) al microscopi electrònic (Barra, 5  $\mu\text{m}$ ). (c) associació de 4 CS deguda a filaments nucleolars al microscopi òptic (Barra, 5  $\mu\text{m}$ ).

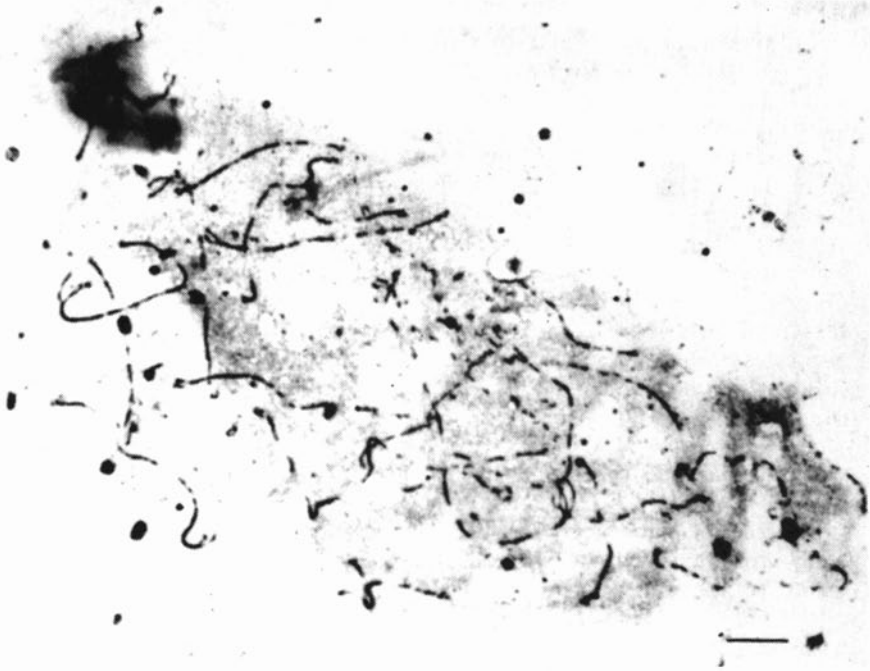


Figura 11. Trencaments (19 p.c.) (Barra, 5  $\mu$ m).

### Bibliografia

- BAKER, T.G. (1963). A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proc. R. Soc. B.*, 158: 417.
- BEAUMONT, M. & MANDL, A.M. (1962). A quantitative and cytological study of oogonia and oocytes in foetal and neonatal rat. *Proc. R. Lond. B.*, 155: 557-579.
- BÈZARD, J. & MAULEON, P. (1984). Evolution des cellules germinales femelles au cours de la prophase méiotique chez le rat: critères de reconnaissances cytoplasmique et nucléaire des différents stades en histologie fine. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 24 (5A): 635-654.
- BOJKO, M. (1983). Human meiosis VIII. Chromosome pairing and formation of the synaptonemal complex in oocytes. *Carlsberg Res. Commun.* Vol. 48: 457-483.
- BORUM, K. (1961). Oogenesis in the mouse. A study of the meiotic prophase. *Exp. Cell Res.*, 24: 495-507.
- COMINGS, D.E. & OKADA, T.A. (1970b). Whole mount electron microscopy of meiotic chromosomes and the synaptonemal complex. *Chromosoma (Berl.)*, 30: 269-286.
- COMINGS, D.E. & OKADA, T.A. (1971). Fine structure of the synaptonemal complex. Regular and stereo electron microscopy of deoxiribonuclease-treated whole mount preparations. *Exp. Cell. Res.*, 65: 104-116.

- COUNCE, S.J. & MEYER, G.F. (1973). Differentiation of the synaptonemal complex an the kinetochore in *Locusta* spermatocytes studies by whole mount electron microscopy. *Chromosoma (Berl.)*, 44: 234-253.
- DIETRICH, A.J.J. & DE BOER, P. (1983). A sequential analysis of the development of the synaptonemal complex in spermatocytes of the mouse by electron microscopy using hidroxyurea and agar filtration. *Genetica*, 61: 119-129.
- DIETRICH, A.J.J. & MULDER, R.J.P. (1981a). The staining of the synaptonemal complex for light microscopic study in the mouse. *Stain Techonology*, 56: 163-167.
- DIETRICH, A.J.J. & MULDER, R.J.P. (1981b). A light microscopic study of the development and behavior of the synaptonemal complex in spermatocytes of the mouse. *Chromosoma (Berl.)*, 83: 409-418.
- DRESSER, M.E. & MOSES, M.J. (1980). Synaptonemal complex karyotyping in spermatocytes of the chinese hamster (*Cricetulus griseus*). IV. Light and electron microscopy of synapsis and nuclear development by silver staining. *Chromosoma (Berl.)*, 76: 1-22.
- FREIXA, L., GARCÍA, M., PONSÀ, M., NAVARRO, J. & EGOZCUE, J. (1983). Cycle of synaptonemal complexes in mammalian oocytes. *Clinical Genetics*, 23: 211a.
- FREIXA, L., GARCÍA, M., PONSÀ, M., NAVARRO, J. & EGOZCUE, J. (1985). Sequential study of the synaptonemal complex in syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) and mouse (*Mus musculus*) oocytes by light and electron microscopy. *Genetica*, 67: 87-97.
- GARCÍA, M., DIETRICH, A.J.J., FREIXA, L., VINK, A.C.G. & PONSÀ, M., EGOZCUE, J. (1987) Development of the first meiotic prophase stages in human fetal oocytes by Light and Electron microscopy. *Human Genetics*, 77 (3): 223-232.
- GUITART, M., COLL, M.D., PONSÀ, M. & EGOZCUE, J. (1985). Sequential study of synaptonemal complexes in mouse spermatocytes by light and electron microscopy. *Genetica* 67: 21-30.
- MAZO, J. del & GIL-ALBERDI, L. (1986). Multistranded organization of the lateral elements of the synaptonemal complex in the rat and mouse. *Cytogenet. Cell Genet*, 41: 219-224.
- MIRRE, C. & STAHL, A. (1978). Ultrastructure and activity of the nucleolar organizer in the mouse oocyte during meiotic prophase. *J. Cell Sci*, 31: 79-100.
- MOSES, M.J. (1968). Synaptonemal complex. *Am. Rev. Genet*, 2: 363-412.
- MOSES, M.J. (1977a). Microspreading and the synaptonemal complex in cytogenetic studies. *Chromosome Today*, 6: 71-82.
- NAVARRO, J., VIDAL, F., GUITART, M. & EGOZCUE, J. (1981). A method for the sequential study of synaptonemal complexes by light and electron microscopy. *Hum. Genet*, 59: 419-421.
- PATHAK, S. & HSU, T.C. (1979). Silver-stained structures in mammaliar spermatocytes. *Chromosoma (Berl.)*, 70: 195-203.
- RIVELIS, C., PREPIN, J., VIGIER, B. & JOST, A. (1976). Prophase méiotique dans les cellules germinales de l'ebauche ovarienne de rat cultivée in vitro en milieu an hormonal. *C.R. Acad. Sci. Paris, Serie D*. 282: 1429-1432.
- SHERIDAN, W.F., & BARNETT, R.J. (1969). Cytochemical studies on chromosome ultrastructure. *J. Ultrastruct. Res.*, 27: 216-229.
- SPEED, R.M. (1982). Meiosis in the Foetal Mouse Ovary. *Chromosoma (Berl.)*, 89: 427-437.
- SPEED, R.M. (1985). The prophase stages in human foetal oocytes studied by light and electron microscopy. *Hum. Genet.*, 69: 69-75.



- SPEED, R.M. & CHANDLEY, A.C. (1983). Meiosis in foetal mouse ovary II Oocyte development and aged-related aneuploidy. Does a production line exist? *Chromosoma (Berl.)*, 88: 184-189.
- TEASE, C. & FISHER, G. (1986). Further examination of the productionline hypothesis in mouse foetal oocytes. *Chromosoma*, vol. 93, núm 5: 447-452.
- VIDAL, F., NAVARRO, J., TEMPLADO, C., MARINA, S., & EGOZCUE, J. (1984). Development and behavior of synaptonemal complexes in human spermatocytes by light and electron microscopy. *Hum. Genet.*, 68: 142-147.
- WALLACE, B.M.N., & HULTÉN, M.A. (1985a). Meiotic chromosomes pairing in human female. *Ann. Hum. Genet.*, 49: 215-226.