

107
29
0



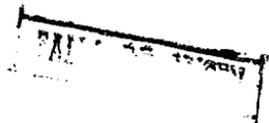
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO HISTOLOGICO DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO DEL "ACHOQUE" (Ambystoma dumerilli, Dugés), URODELO DEL LAGO DE PATZCUARO.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A ;

.CARLOS IVAN LOPEZ ARRIAGA SAAVEDRA



MEXICO, D. F.

1990



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

I. INTRODUCCION	1
a) Ubicación Taxonómica	1
b) Características de <u>Ambystoma dumerilii</u>	1
II. ANTECEDENTES	3
a) Aspectos generales de la ovogénesis de los anfibios	3
b) Estadios del desarrollo folicular en anfibios	7
c) Aspectos generales del oviducto de los anfibios	11
d) Algunos aspectos hormonales en la ovogénesis de los anfibios	12
III. OBJETIVOS	14
IV. MATERIAL Y METODO	15
V. RESULTADOS	19
a) Ovarios	19
b) Oviductos	43
VI. DISCUSION	59
VII. CONCLUSIONES	63
VIII. LITERATURA CITADA	64

* * * * *

* * * *

* *

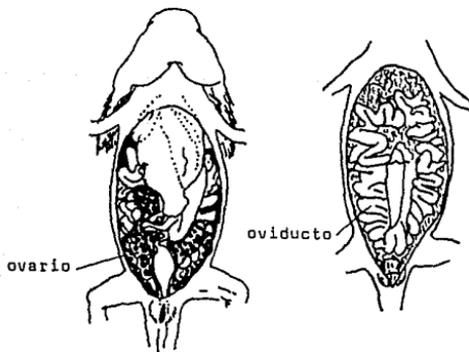
I. INTRODUCCION

a) Ubicación Taxonómica.

Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Clase	Amphibia
Orden	Caudata
Familia	Ambystomatidae (Halleivel, 1858 Cit. Noble, 1931)
Género	<u>Ambystoma</u>
Especie	<u>A. dumerilii</u> (Dugès, 1870).

b) Características de Ambystoma dumerilii.

A. dumerilii es una especie de la fauna de nuestro país de gran interés biológico, ya que es neoténica y endémica. Se encuentra exclusivamente en el lago de Pátzcuaro, estado de Michoacán, México; y es conocida en la región como "achoque de agua" (Dugès, 1870; Brandon, 1970 a y b). Dugès (1870) esquematiza los órganos internos de un ejemplar hembra de A. dumerilii (Esquema No. 1).



Esquema 1. Hembra de A. du-
merilii.

Tomado de: Dugès (1870)

A. dumerilii es un urodelo que mide de 74 a 170 mm. del hocico al ano y pesa, aproximadamente, de 160 a 204 g. Es de color pardo, con un lomo más claro en la parte central del dorso y el vientre, los costados muestran manchas blanquecinas; las branquias son negras; tienen extremidades anteriores semipalmeadas y las posteriores palmeadas; la cabeza y el dorso están cubiertos de pequeños puntos hundidos formados por las aberturas de las glándulas de Cappel que secretan un humor latescente, amargo y de mal olor (Duges, 1870; Brandon, 1970 y Gómez Ríos, 1989).

A. dumerilii es una especie neoténica debido a que no presenta metamorfosis. Retiene las branquias y otras estructuras larvarias aún cuando madura sexualmente y se reproduce. Esta situación es debida a la escasa cantidad de yodo en el medio acuático en donde vive esta especie. A diferencia de la paeuogénesis, en el caso de la neotenia, los organismos son capaces de presentar metamorfosis si las condiciones ambientales cambian; tal es el caso cuando se les suministra yodo en cantidad suficiente. En consecuencia, la falta de metamorfosis debido a condiciones ambientales es llamada neutenia (Goin y Goin, 1971).

Se han estudiado diversos aspectos de la biología de A. dumerilii por Dugès (1870); Smith (1969); Brandon (1970 a y b, 1972, 1976), y Gómez Ríos (1989). En relación a su reproducción Brandon (1970 a y b), observó la maduración de gametos y formas de espermatóforos en condiciones de laboratorio. En condiciones naturales, Gómez Ríos (1989), estudió la histología del aparato reproductor masculino.

II. ANTECEDENTES

a) Aspectos Generales de la Ovogénesis de los Anfibios.

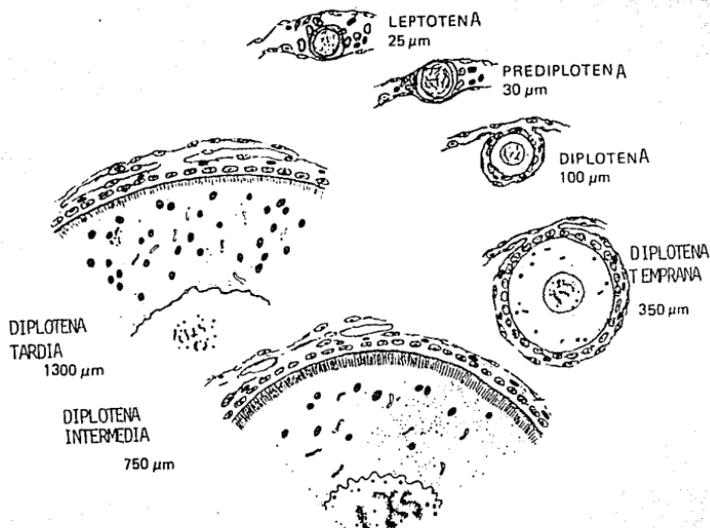
La formación del óvulo en el ovario es un período de gran importancia en la ontogénesis. Además de efectuarse una acumulación de materiales de reserva, que serán progresivamente utilizados hasta el momento en que el embrión sea capaz de alimentarse por sí mismo, en este período hay una intensa actividad genética que conduce a la síntesis de nuevas e importantes macromoléculas como: RNA, proteínas, precursores de ácidos nucleicos, etc., que serán utilizados en estadios posteriores del desarrollo (Brachet, J. 1975).

Los ovocitos de anfibios son de tipo mesolécito o heterolécito ya que, en relación con otras clases de vertebrados, acumulan una mediana cantidad de vitelo (Balinsky, B.J. 1971; y Houillon, Ch., 1974). La distribución del vitelo en el huevo de los anfibios es claramente desigual: las plaquetas vitelinas presentan su máxima densidad en la parte inferior del huevo (polo vegetal) y hay relativamente más citoplasma en su parte superior (polo animal). En un ovocito maduro, el vitelo es el 45% del peso seco, los lípidos el 25%, el glucógeno el 8% y, el 20% corresponde al citoplasma activo (Balinsky, B.J. 1971). La polaridad del huevo queda claramente marcada por la excentricidad del núcleo, que se sitúa hacia el polo animal (Houillon, Ch., 1974).

Denis (1974), sintetiza el proceso de ovogénesis en los anfibios mencionando que, en este grupo, el crecimiento del ovocito se realiza en dos fases. En la 1ª se da un crecimiento pequeño en el que el diámetro de la célula pasa de 5-10 μ a 200 μ en promedio, el núcleo también crece y se forman numerosos nucléolos, el citoplasma permanece sin vitelo. Durante la 2ª fase se da un gran crecimiento del ovocito, el cual adquiere su diámetro definitivo de 1-2 mm. El citoplasma se carga de vitelo: plaquetas vitelinas, gotas lipídicas, gránulos de glucógeno y de

pigmento.

La condición nuclear de los ovocitos durante la maduración folicular, como en todos los vertebrados, muestran el inicio de la Profase I de la meiosis, llega pronto a la fase Diplótene, en la cual ocurre el mayor crecimiento folicular, como lo menciona Guraya (1978) (Esquema No. 2). La continuación de la meiosis ocurre poco antes de la ovulación; entonces, los ovocitos llegan hasta la metafase II, momento en el cual es posible la fecundación (Wasserman y Smith, 1978).



Esquema 2. Etapas de maduración folicular durante la profase de la 1ª división meiótica en ovocito de anfibio.

Tomado de: Guraya (1978).

Describiendo la ovogénesis de Xenopus laevis, como un modelo de vitelogenénesis, Wallace (1978), menciona que durante este proceso, la vitelogenina llega al folículo en crecimiento por medio de una red de capilares incluida en la teca del folículo, pasa entre las células foliculares y llega a la membrana del ovocito, siendo incorporada por un amplio proceso de pinocitosis. La vitelogenina contiene lipovitelina y fosvitina.

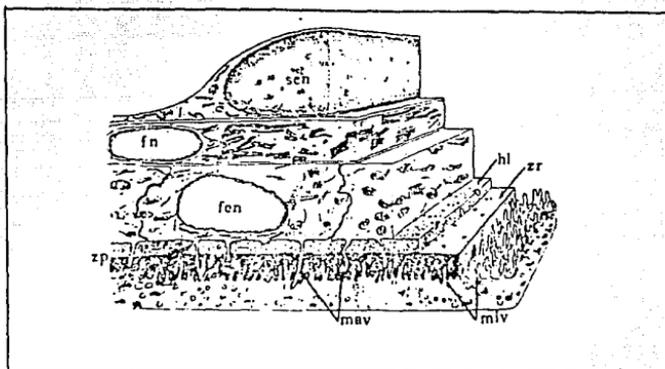
Denis (1974), continúa su descripción mencionando que cuando el ovocito adquiere su máximo tamaño, ya no hay acumulación de vitelo, los nucléolos se reúnen en el centro del núcleo y los cromosomas se condensan. La fase siguiente se da, por el estímulo hormonal de origen hipofisiario (LH), ocurriendo la ovulación, poco antes de lo cual se elimina el 1er. glóbulo polar, durante la 1ª división de la meiosis. Ya en el oviducto, el ovocito desciende y se rodea de las gangas gelatinosas secretadas por las glándulas del oviducto. Solo será después de la ovulación cuando el ovocito termina la meiosis y elimina el 2º glóbulo polar.

Thornton (1971), estudia el efecto inductor de las hormonas gonadotrópicas en la inducción de la 1ª división meiótica, antes de la ovulación.

Guraya (1978), en un estudio comparado de la pared folicular de anuros y urodelos, menciona que ésta es similar en ambos grupos, formada de zona pelúcida, epitelio folicular, lámina basal y teca; ésta estructura queda limitada por el epitelio peritoneal del ovario. El epitelio folicular permanece como una sola capa a lo largo de todo el crecimiento del folículo, también tanto en anuros como en urodelos. En el inicio de la foliculogénesis, las células foliculares son planas, en estadios posteriores se

hacen más altas y, en las etapas finales, se les observa nuevamente aplanadas Esquema No. 3.

Hope (1963) estudia en la salamandra Triturus viridiscens la estructura de la zona radiada formada por las microvellosidades de las células foliculares y del ovocito, así como el material homogéneo en el cual quedan embebidas las microvellosidades; este autor menciona que, este material, formará la membrana vitelina.



Esquema 3. Representación tridimensional de una porción de las paredes que rodean al ovocito de anfibio en desarrollo. Se observan: núcleo de una célula del epitelio superficial del ovario (sen); núcleo de un fibroblasto (fn); núcleo de célula folicular (fcn); zona pelúcida (zp); macrovellosidades (mav) y microvellosidades (miv), capa homogénea (hl), zona radiada (zr).

Tomado de: Guraya (1978).

Debido a que el estudio histológico del ovario es muy escaso en urodelos y, a la vez, a que las observaciones hechas lo muestran con características similares a los anuros (Guraya, 1978), nos referiremos a estudios hechos en este último grupo de anfibios.

b) Estadios del Desarrollo Folicular en Anfibios.

Dumont (1972), estudiando la ovogénesis del anuro Xenopus laevis coincide en lo fundamental, con diversos autores (Tabla No. 1), en la subdivisión de este proceso y lo clasifica en 6 estadios basados en la anatomía de los ovocitos en desarrollo. De estos estadios, el primero corresponde a la previtelogénesis; del segundo al quinto corresponden a la vitelogénesis; y el sexto a la postvitelogénesis.

		Estadios						Referencias	
Xenopus		I	II	III	IV	V	VI	Dumont (1972)	
		A y B	C	D		E		Balinsky y Davis (1963)	
		1 y 2	3	4	5	6		Davidson (1968)	
		Ia y Ib		IIa y IIb		III		Wartenberg (1962)	
Rana		previtelogénesis		vitelogénesis primaria		vitelogénesis tardía		ovocito maduro	Wittek (1952)
		A	B	C	D		E	Grant (1953)	
		Y ₀		Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Kemp (1953)

Tabla 1. Una comparación de estadios del desarrollo de ovocitos en Xenopus y Rana.

Tomado de: Dumont (1972).

Previtelogénesis.

Estadio I. Los ovocitos miden de 50 a 300 μ de diámetro. Son incólores, debido al aspecto transparente de su citoplasma. El núcleo ocupa una gran proporción del espacio celular. En los momentos iniciales de este estadio (60 μ de diámetro), puede observarse el núcleo vitelino o cuerpo de Balbiani, estructura involucrada en la formación del vitelo. El citoplasma es homogéneamente granular; el núcleo tiene un límite regular y, al final de este estadio se observan nucléolos en la periferia; los cromosomas corresponden al inicio de la Profase I de la meiosis (leptótena a paquítena).

Las células foliculares forman una capa de células planas, las cuales al final de esta etapa, se separan ligeramente del ovocito por la formación de microvellosidades. Alrededor de las células foliculares se encuentra tejido conjuntivo delgado que forma la teca, la cual, tiene fibras colágenas, fibroblastos y pequeños vasos sanguíneos; rodeando a ésta, se encuentra el epitelio peritoneal plano del ovario.

Vitelogénesis.

Estadio II. Los ovocitos miden de 300 a 450 μ de diámetro. Adquieren un color blanquecino opaco. El citoplasma se observa ligeramente más granuloso que en la etapa anterior y en la periferia se localizan pequeñas plaquetas vitelinas. El contorno del núcleo es más irregular, los nucléolos se incrementan en número.

Las células foliculares se engruesan y crecen las microvellosidades. La teca adquiere más colágena.

Estadio III. Los ovocitos miden de 450 a 600 μ de diámetro. Su color es amarillo o café claro, hay pigmento regularmente

distribuido en el citoplasma, sin que se diferencie aún su polaridad. El vitelo aparece periféricamente, como pequeños cuerpos de forma esférica o irregular, los cuales constituyen las plaquetas vitelinas primordiales. En el núcleo, los cromosomas están en fase diplótena y puede observarse su carácter plumoso.

Las células foliculares incrementan su altura, así como las microvellosidades.

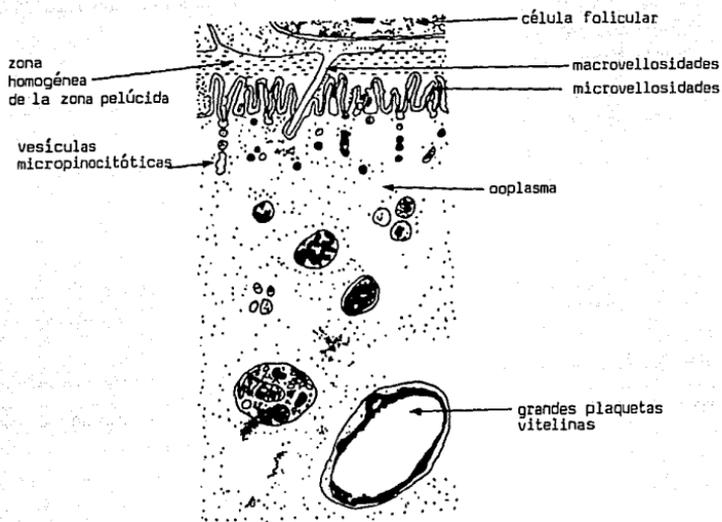
Estadio IV. Los ovocitos miden de 600 a 1000 μ de diámetro. El polo animal es más oscuro por la presencia de pigmento, su colocación, aparentemente, no corresponde al sitio de unión del ovocito con la pared del ovario. El citoplasma está lleno de plaquetas vitelinas, quedando las más grandes en el polo vegetal, como se observa en el Esquema No. 4, de acuerdo con Wallace (1978), para el urodelo Triton alpestris.

Este estadio corresponde a la fase de vitelogénesis más rápida. La membrana nuclear es más plegada; los cromosomas continúan en condición plumosa.

Las células foliculares son ligeramente más altas. En la teca, los vasos sanguíneos se incrementan en número.

Estadio V. Los ovocitos miden de 1000 a 1200 μ de diámetro. La pigmentación del polo animal es aún más intensa. La vitelogénesis continúa en el citoplasma, siendo ésta su última fase. En el núcleo se observan pequeños nucléolos y los cromosomas más condensados.

Las células foliculares son similares a la etapa anterior.



Esquema 4. Periferia del ooplasma de *Triton alpestris* que muestra vesículas micropinocitóticas, a partir de las cuales se van a formar plaquetas vitelinas.

Tomado de: Wallace (1978).

Postvitelogénesis.

Estadio VI. Los ovocitos miden de 1200 a 1300 μ de diámetro. La polarización del pigmento es evidente, así como la de las plaquetas vitelinas, las cuales se distribuyen: en el polo vegetal las más grandes, y en el polo animal las más pequeñas.

Las microvellosidades decrecen en número y tamaño. Las células foliculares se mantienen aplanadas.

e) Aspectos Generales del Oviducto de los Anfibios.

El oviducto de los anfibios está formado por un par de tubos, derivados embriológicamente de los conductos paramesonéfricos o de Müller. Diversos autores han estudiado el oviducto de urodelos y mencionan 3 regiones morfológicamente diferentes: infundíbulo, región media glandular y región posterior o caudal aglandular (Vilter, 1967; Boisseau et al., 1974; Jago, 1974; Uribe et al., 1989).

Histológicamente, los oviductos están formados de 3 capas: la mucosa o endometrio, cuyo epitelio muestra 2 tipos de células columnares: ciliadas y secretoras; la muscular o miometrio, formada de células musculares lisas arregladas circularmente; y la serosa, formada de tejido conjuntivo delgado y células mesoteliales.

Las glándulas de la región media son responsables de la secreción de las membranas gelatinosas que envolverán al huevo a su paso por el oviducto (Humphries, 1966; Yoshizaki, 1985).

Para Ambystoma mexicanum, especie cercana a Ambystoma dumerilii, Uribe et al. (1989), mencionan que el infundíbulo muestra una pared delgada, con largos pliegues de la mucosa, el epitelio contiene células ciliadas y, en su parte final, el infundíbulo presenta también algunas células glandulares. La región media del oviducto es glandular, su pared es más gruesa en relación con el nivel anterior, debido a que aumentan progresivamente las células glandulares, hasta constituir grandes conjuntos de glándulas; los pliegues de la mucosa son más bajos y en el epitelio aún se observan células ciliadas; las glándulas componen la mayor proporción de la pared del oviducto en la región media sin embargo, disminuyen en grosor y número hacia la porción final de la misma; el tejido conjuntivo que rodea a las glándulas es muy delgado, así como el músculo liso, el cual muestra

una disposición circular. La región posterior o caudal aglandular del oviducto es corta y recta; los pliegues de la mucosa son más bajos que los de la región glandular y el epitelio muestra células ciliadas y secretoras solamente en su región craneal; se observan glándulas en número reducido; el tejido conjuntivo es más grueso, así como el músculo liso; en este nivel se encuentran melanocitos, los que con frecuencia se localizan cerca de los vasos sanguíneos.

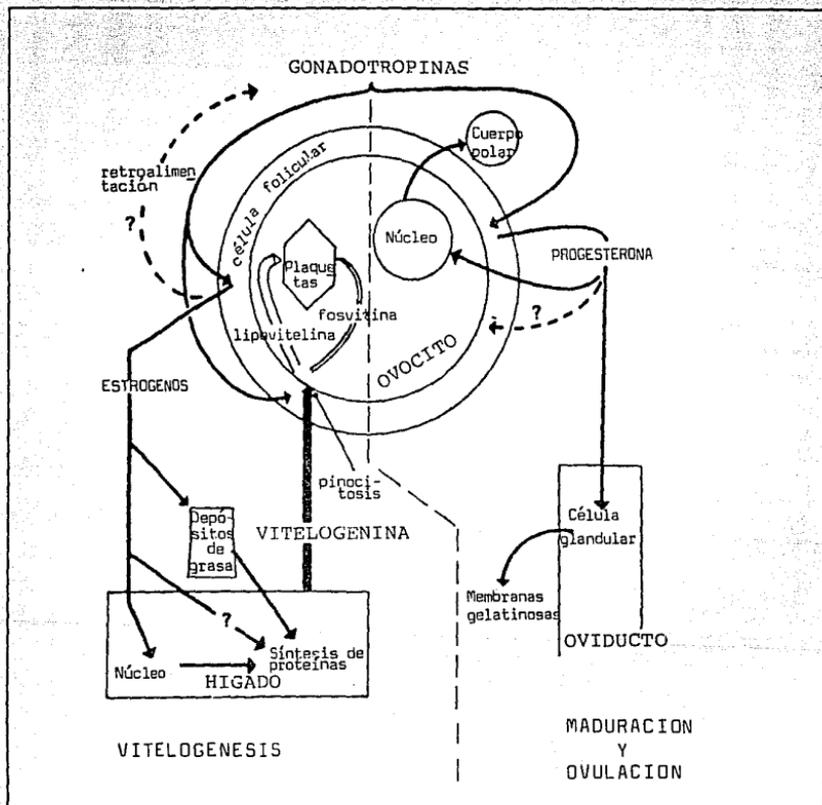
d) Algunos Aspectos Hormonales en la Ovogénesis de los Anfibios.

Redshaw (1972), resume el control hormonal del ovario de anfibios, mencionando la influencia de los factores ambientales en la función gonadal a través de hipotálamo-hipófisis, requiriéndose el funcionamiento adecuado de este complejo hipotálamo-hipófisis para que ocurra el crecimiento folicular y la ovulación.

La hipófisis produce hormonas similares a la hormona luteinizante (LH) y a la hormona folículo estimulante (FSH); sin embargo, este autor comenta que puede ser que sólo una de estas hormonas se presente con ambas funciones: crecimiento del folículo y ovulación. Estas hormonas estimulan la síntesis y secreción de estrógeno por las células foliculares; a su vez, el estrógeno permite el crecimiento del oviducto y la síntesis de vitelogenina en el hígado, que es el presursor más importante de las plaquetas vitelinas.

La entrada de vitelogenina al ovocito y su transformación en plaquetas es mediada por la presencia de la gonadotropina; esto se da a su vez, por un activo proceso de micropinocitosis en la periferia del ovocito en donde ocurre un mecanismo de cristalización del vitelo.

Con el crecimiento de los ovocitos, las células foliculares liberan progesterona que actúa en la actividad del oviducto, especialmente a nivel de las glándulas exócrinas, las que producen las gajas gelatinosas Esquema No. 5.



Esquema 5. Relaciones hormonales en la ovogénesis de los anfibios.

Tomado de: Redshaw (1972).

III. OBJETIVOS

1. Contribuir al conocimiento del ciclo reproductor de la especie Ambystoma dumerilii endémica del lago de Pátzcuaro, Michocán, México, en especial del aparato reproductor femenino.
2. Comparar el ciclo reproductor femenino con el masculino de A. dumerilii.
3. Contribuir al acopio de información sobre el aparato reproductor femenino de urodelos.

IV. MATERIAL Y METODO

Se colectaron 12 hembras adultas de la especie Ambystoma dumerilii (3 de cada estación del año) (Fig. 1). Se disecaron los ovarios y los oviductos. Los órganos reproductores colectados en la primavera no mostraron desarrollo maduro (Fig. 2); los colectados en otoño mostraron etapas de maduración avanzadas en el ovario y, en el oviducto, se encontraron ovocitos en su interior (Fig. 3). La longitud para cada una de las estaciones del año se muestra en el cuadro 1.

Estación del año	PRIMAVERA	VERANO	OTOÑO	INVIERNO
Longitud (cm)	5.6	8.75	11.75	10.9

Cuadro 1. Promedio de la longitud del ovario para cada estación del año.



Fig. 1. Ejemplar adulto de la especie Ambystoma dumerilii.

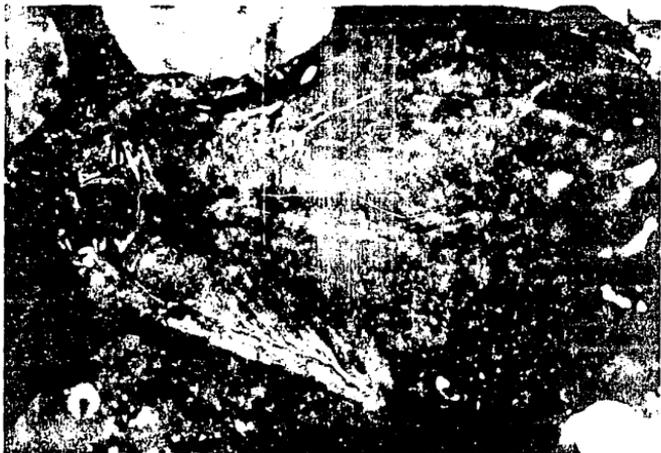


Fig. 2. Disección de hembra de *A. dumerilii* colectada en primavera. Se observa el ovario con ovocitos inmaduros y, cerca de éste, los cuerpos grasos.

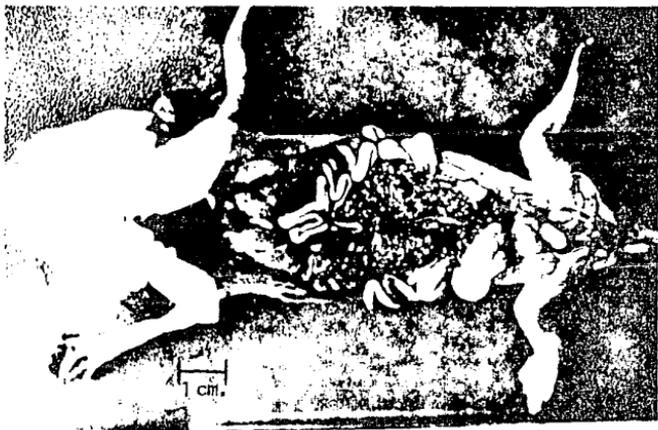


Fig. 3. Disección de hembra de *A. dumerilii* colectada en otoño. Se observa el ovario con ovocitos maduros y, en el interior de oviducto, hay ovocitos.

Los órganos obtenidos se fijaron en Bouin y en formol neutro al 10% (Fig. 4).



Fig. 4. Ovarios y oviductos fijados. Se observan ovocitos en diferentes etapas de desarrollo en el ovario; en el oviducto se observa el infundíbulo y la región glandular.

El oviducto se dividió en 3 porciones para su estudio, correspondiendo a: infundíbulo, región media glandular y región posterior glandular.

Las porciones seccionadas, tanto del ovario como del oviducto, fueron lavadas con agua corriente durante 1 hora. En seguida se procedió a la deshidratación, la que se hizo con alcoholes graduales al 50%, 70%, 80%, 96% y 100%, permaneciendo 1 1/2 hora aproximadamente en cada uno, excepto en el alcohol de 70% en el cual permanecieron durante 12 horas.

A continuación, se colocaron las secciones de los órganos en xilol por espacio de 12 horas, aproximadamente.

La inclusión en parafina se llevó a cabo efectuando 3 cambios: uno en parafina-xilol (1:1) y dos cambios en parafina pura permaneciendo 45 minutos, aproximadamente, en cada uno. La temperatura de la parafina fué de 56° C.

Los cortes se hicieron en un microtomo Reichert, teniéndose cortes de 8 a 10 μ de grosor. Los cortes se extendieron en un baño María a una temperatura del agua de 40° C y con gelatina para proceder a colocarlos en portaobjetos. Posteriormente, se procedió a teñir los cortes, utilizando las técnicas de tinción: H-E, tricrómicas de Masson y Gallego y Azul de Alciano.

La observación de las preparaciones histológicas obtenidas se realizó en microscopio óptico. Con el uso de una reglilla micrométrica y un ocular graduado, se realizó la calibración para medir el diámetro de los folículos, ovocitos y plaquetas vitelinas.

Las fotografías se obtuvieron en un fotomicroscopio Zeiss III y se utilizaron películas Kodak y Fuji 100 ASA.

V. RESULTADOS.

a) OVARIOS.

Los ovarios son órganos pareados localizados en la cavidad abdominal, lateralmente a los riñones, los cuerpos grasos, los conductos mesonéfricos o de Wolff y los conductos paramesonéfricos o de Müller (Figs. 5 y 34). Morfológicamente, los ovarios son de tipo sacular, formados por 2 sacos, con un amplio espacio interior y una pared delgada, en la cual se encuentran incluidas las ovogonias y los ovocitos en distintos momentos de maduración. En los ovarios de las hembras colectadas en primavera, se observan las etapas tempranas de maduración, en esta etapa se puede observar con claridad la condición sacular del ovario (Figs. 5 y 6).

En los ovarios de los meses de otoño, se observan ovocitos en diferentes etapas de desarrollo (Figs. 7 y 8).

En la observación de la morfología microscópica de los ovocitos se muestran variaciones muy evidentes de acuerdo con sus etapas de maduración, tanto en tamaño, como en características nucleares y contenidos citoplásmicos. En imágenes panorámicas, las primeras etapas de maduración se observan como células pequeñas, con citoplasma muy claro y núcleo grande y esférico, el cual contiene cromatina filamentososa, correspondiente al inicio de la meiosis. Posteriormente, hay aumento de tamaño y el citoplasma es basófilo y homogéneo. Con el avance de la ovogénesis, se inicia la formación de vitelo, siempre de la periferia del ooplasma hacia el centro; el vitelo es eosinófilo y, en esta etapa, el núcleo tiene un límite irregular, los nucléolos aumentan en número y los cromosomas son plumosos. Con el avance de la vitelogénesis, el ovocito aumenta considerablemente de tamaño, el pigmento periférico del polo animal marca una zona muy oscura y densa y, en el núcleo, los cromosomas se condensan ligeramente (Figs. 7 y 8).



Fig. 5. Ovario inmaduro. Con ovocitos previtelogénicos (O), oviductos (ov), cuerpo graso (G), riñón (r).
32 X T. de Gallego.



Fig. 6. Ovario inmaduro. Se observa la característica sacular del ovario, contiene ovocitos previtelogénicos (↑), cavidad del ovario (*), oviducto (ov), riñón (r), cuerpo graso (G).
32 X H-E.



Fig. 7. Panorama del ovario maduro. Se observan los diferentes momentos del desarrollo folicular. Epitelio del ovario (↑), cavidad del ovario (*).
32 X H-E.



Fig. 8. Panorama del ovario maduro. En la parte superior se observan ovocitos previtelogenéticos, en la parte inferior se encuentran ovocitos vitelogenéticos.
78 X H-E.

La superficie externa de la pared del ovario está provista de un epitelio simple; sus células son alargadas, con núcleos también muy alargados y granuloso (Figs. 9, 10 y 11); en la parte media, se encuentran los ovocitos rodeados por tejido conjuntivo, con fibroblastos, fibras colágenas y vasos sanguíneos (Figs. 8, 9 y 10); la superficie interna de la pared ovárica, que limita al espacio linfático, es un epitelio plano simple, similar al epitelio exterior (Fig. 10).

En la maduración folicular podemos diferenciar 4 etapas, de acuerdo a la clasificación de Wittek (1952 cit. por Dumont, 1972) y 6 estadios de acuerdo a Dumont (1972), presentados en el Cuadro 1; estos son: folículos previtelogénicos (Estadio I); folículos en vitelogénesis primaria (Estadios II y III); folículos en vitelogénesis tardía (Estadios IV y V); y folículos maduros (Estadio VI). Tomaremos ambos términos para describir nuestras observaciones en la maduración folicular de Ambystoma dumerilii.

Previtelogénesis (Estadio I).

Los ovocitos en esta etapa de maduración inicial (Figs. 9, 10 y 11). tienen un diámetro aproximado de 50 μ .; son esféricos, con núcleos redondeados en los cuales se observa la cromatina finamente granulosa, el citoplasma es muy claro, con apariencia hialina; en esta etapa aún no se observan células foliculares rodeando completamente al ovocito.

Conforme avanza la maduración de los ovocitos, se rodean de células foliculares, formándose así los folículos primarios (Fig. 10); en ellos, los ovocitos siguen siendo esféricos, así como su núcleo el cual contiene grumos irregulares de cromatina, que en etapas más avanzadas son filamentos finos correspondientes a fases de la meiosis previas a la diplótena (Figs. 9, 10 y 11).



Fig. 9. Estadio I. Corresponde a los ovocitos más pequeños, de citoplasma claro (I), epitelio del ovario (†), ovocitos en estadio II (*), tejido conjuntivo de la pared ovárica (c).
200 X H-E.



Fig. 10. Estadio I. Se observa el ooplasma hialino y el núcleo en el inicio de la meiosis (†), ovocito en el inicio del estadio II (*), pared del ovario (P).
500 X H-E.



Fig. 11. Estadio I. Colocación periférica de los ovocitos en el estadio I, núcleos de las células foliculares (↑).
500 X H-E.

Vitelogénesis Primaria (Estadios II y III).

Estadio II.

Los ovocitos en esta etapa tienen un diámetro promedio de 400μ .; son esféricos, sus núcleos son basófilos y redondeados, los cromosomas ya se observan en fase diplótena de la meiosis, como filamentos gruesos y bien definidos, en los cuales es posible observar quiasmas (Figs. 12 y 13). En fases más avanzadas de este estadio, los cromosomas se observan muy finos y con aspecto plumoso (Figs. 9, 14 y 15); el nucléolo también se presenta y es frecuente que se observen varios de ellos, colocados en el centro del núcleo o, algunos de ellos, en la periferia (Figs. 9), muestran aspecto hialino y acidófilo. El citoplasma es finamente granular y homogéneo, o con estructuras finamente grumosas o filamentosas, distribuidas irregularmente en etapas avanzadas de este estadio (Fig. 15). Aún no se encuentran plaquetas vitelinas. El ovocito está rodeado completamente por células foliculares, las cuales son muy alargadas, con un núcleo basófilo y granuloso (Figs. 14 y 15). También pueden observarse algunas células tecales, dispuestas externamente a las foliculares (Figs. 9 y 15).

En general, en esta etapa se observa el núcleo del ovocito de gran tamaño en relación a la cantidad de citoplasma (Figs. 9, 14, 15 y 33). Esta relación de volumen cambiará posteriormente por el gran aumento de citoplasma, lo que será evidente en las etapas posteriores de la ovogénesis.



Fig. 12. Estadio II. Ovocito en fase diplótena, corresponde a la fase temprana del estadio II (II), ovocito en fase avanzada del estadio II (*).
500 X H-E.



Fig. 13. Detalle de la Fig. 12. Se observan los cromosomas en fase diplótena con quiasmas (†), núcleo de célula folicular (*).
1250 X H-E.



Fig. 14. Estadio II. Etapa avanzada con cromosomas plumosos (↑), etapa temprana del estadio II (*).
500 X H-E.



Fig. 15. Estadio II. En etapa avanzada (*), citoplasma homogéneo y cromosomas plumosos, células foliculares (↑), también se observa un ovocito en estadio I (I).
500 X H-E.

Estadio III.

Durante esta fase los ovocitos alcanzan un promedio de 800 μ , de diámetro. Los núcleos de los ovocitos son más irregulares, debido a que su membrana forma pliegues (Figs. 18 y 19); se observan nucléolos ubicados en forma dispersa, pero la mayoría ya se localizan en la periferia (Fig. 19). El citoplasma es claro, pero en este estadio, empiezan a observarse pequeñas plaquetas vitelinas (Figs. 16, 17, 18 y 19) que se localizan en la parte periférica del ooplasma; sin embargo, siempre se observa la región más periférica libre de plaquetas (Fig. 19). Las plaquetas son muy eosinófilas; su tamaño varía, siendo más pequeñas las periféricas, su forma es ovalada y ligeramente irregular (Figs. 17 y 19). Entre el núcleo y las plaquetas vitelinas aún se encuentra un gran espacio de ooplasma, con aspecto homogéneo y ligeramente basófilo.

Las células foliculares, en comparación con el estadio anterior, son más numerosas, por el aumento de tamaño del ovocito, pero siguen formando un epitelio de una sola capa celular; sus núcleos siguen siendo densos, granuloso y alargados (Figs. 16 y 17).

Alrededor de las células foliculares se pueden observar células tecales y algunos vasos sanguíneos (Figs. 16 y 17).

Dentro del estadio III, los ovocitos correspondientes a las Figs. 16 y 17, están en una etapa de previtelogénesis, ligeramente más temprana, que los ovocitos que aparecen en las Figs. 18 y 19.

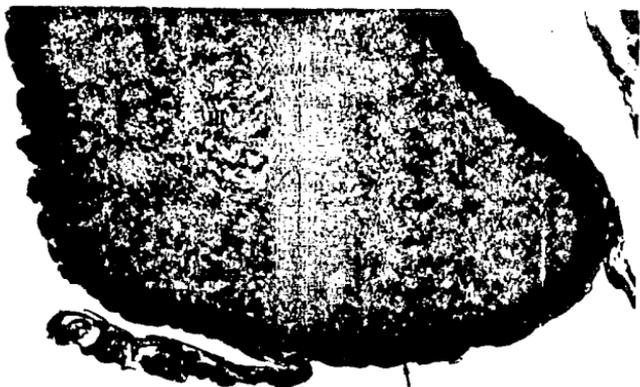


Fig. 16. Estadio III (III), se observa la formación de las primeras plaquetas vitelinas, células foliculares y teca (|), ovocitos en estadio I (I).
200 X H-E.



Fig. 17. Estadio III. Citoplasma homogéneo (*), núcleo (N), primeras plaquetas vitelinas (P), células foliculares (|), núcleos de células peritoneales (n).
500 X H-E.



Fig. 18. Estadio III. Ovocito en inicio de la vitelogénesis (*), ligeramente más avanzado que el observado en las Figs. 16 y 17. Se observa su membrana nuclear plegada y un ovocito en estadio V (V).
200 X H-E.

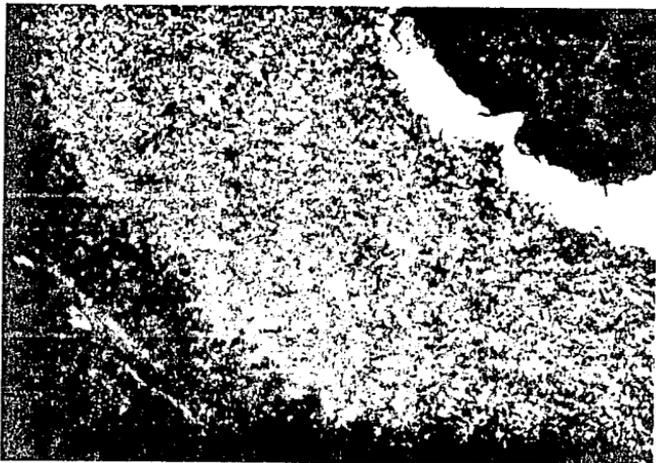


Fig. 19. Detalle de la Fig. 18 de un ovocito en estadio III (*), nucléolos periféricos (†).
500 X H-E.

Vitelogénesis Tardía (Estadios IV y V).

Estadio IV.

En esta etapa los ovocitos aumentan de tamaño alcanzando un diámetro (\pm) de 1000 μ . Sus núcleos son de forma irregular (Fig. 20), similares al estadio anterior, los cromosomas son finos, filamentosos, bien definidos y de aspecto plumoso; los nucléolos se localizan, de manera más ordenada, en la periferia del núcleo (Fig. 20). El vitelo ha aumentado con respecto al estadio anterior. Las plaquetas vitelinas (Fig. 22) siguen teniendo una gran afinidad por la eosina, su forma sigue siendo ovoide y su tamaño ha aumentado claramente con respecto al estadio anterior, lo que es evidente comparando las Figs. 19 y 22. Las plaquetas grandes quedan entre plaquetas más pequeñas, de diferentes medidas.

En la periferia del ovocito empieza a ser evidente la diferencia entre polo animal (Fig. 21) y polo vegetal (Fig. 22), por la presencia de finos gránulos de pigmento en el primero y escasas y muy pequeñas plaquetas vitelinas; en cambio, en el segundo las plaquetas vitelinas son grandes y numerosas y los gránulos de pigmento no se observan.

Alrededor del ovocito, se observa la zona pelúcida constituida por una zona radiada interna y otra homogénea externa (Fig. 21).

El epitelio folicular (Figs. 21 y 22) sigue formado por una capa de células aplanadas y se puede observar claramente el aspecto grumoso y alargado de sus núcleos.

Se encuentran vasos sanguíneos en la teca. Y, rodeando a la teca se observan los núcleos, más alargados aún que los de las células foliculares, correspondientes al epitelio ovárico (Fig. 21).



Fig. 20. Estadio IV. (IV), la cantidad de vitelo ha aumentado el núcleo (N) muestra cromosomas plumosos (\dagger), nucléolos periféricos y su membrana plegada.
200 X H-E.

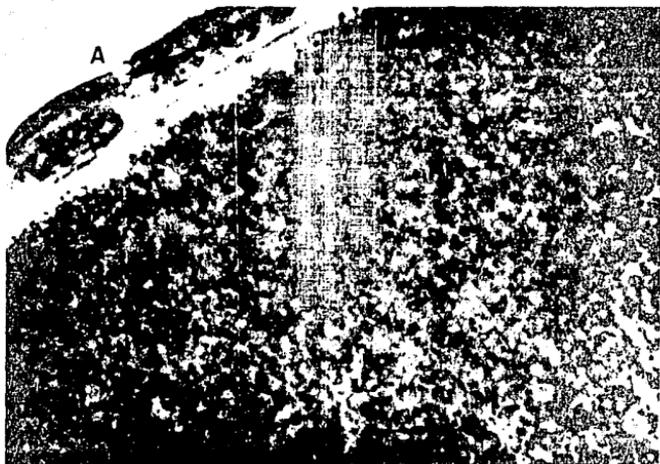


Fig. 21. Estadio IV. Polo animal (A) con acumulación inicial de pigmento, zona radiada (*), células foliculares (f), epitelio peritoneal (p).
1250 X H-E.

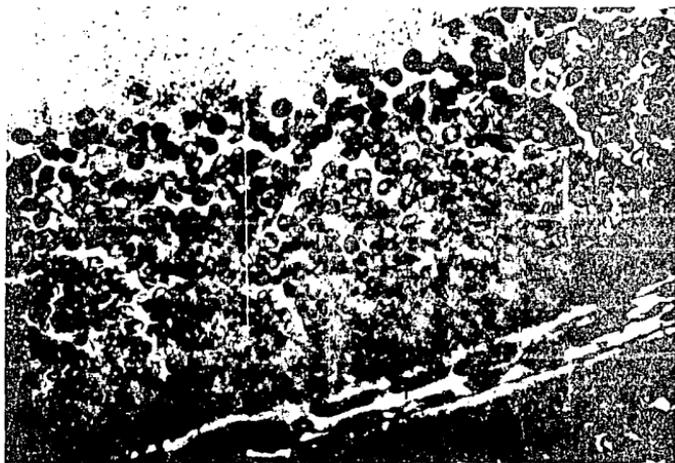


Fig. 22. Estadio IV. (IV), con formación de plaquetas vitelinas, células foliculares (f).
500 X H-E.

Estadio V.

El ovocito mide hasta 1.8 mm. de diámetro. La membrana del núcleo es plegada, se observan los cromosomas plumosos ligeramente más condensados (Figs. 23 y 26) en comparación con los estadios II, III y IV; los nucléolos están en la periferia del núcleo (Fig. 26). Las plaquetas vitelinas (Fig. 27) se encuentran distribuidas, prácticamente, en todo el citoplasma, llegando alrededor del núcleo (Figs. 23 y 26). Además, se pueden observar con claridad los gránulos de pigmento, más abundantes y densos, en la periferia del polo animal del ovocito (Figs. 24, 25, 28 y 31a).

En este estadio, también se observa la zona radiada, entre el epitelio folicular y el ovocito (Figs. 28 y 31a), la cual es ligeramente más alta que en el estadio anterior.

Se aprecian, además, los vasos sanguíneos y células de la teca (Fig. 25); así como los núcleos aplanados de las células del epitelio ovárico (Figs. 25, 28 y 31a).

Es una característica evidente de este estadio, el mayor tamaño de las plaquetas vitelinas, si se compara con el estadio anterior. Esto se muestra en las Figs. 23 y 26 correspondientes al estadio V y en la Fig. 22 del estadio IV.

Otro carácter que debemos mencionar es la mayor condensación de los cromosomas diplótenos, puesto en evidencia en las Figs. 23 y 26 del estadio V y la Fig. 20 del estadio IV.



Fig. 23. Estadio V. Núcleo del ovocito con cromosomas plumosos (↓), nucléolos periféricos (n) y plaquetas vitelinas que han llegado a la periferia del núcleo. 500 X H-E.



Fig. 24. Estadio V. Se observa pigmento (P), la zona pelúcida con su zona radiada (*) y su zona homogénea (↓), células foliculares (f). 1250 X H-E.

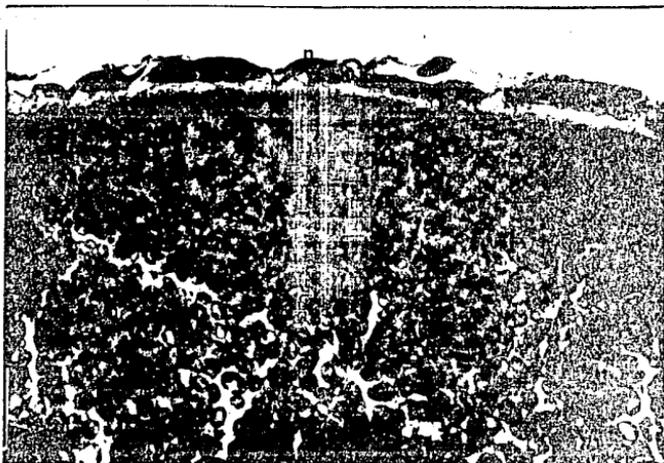


Fig. 25. Estadio V. Elementos que rodean al ovocito: núcleo de célula tecal (†), vaso sanguíneo (*), núcleo de célula peritoneal (n), célula folicular (f).
500 X H-E.

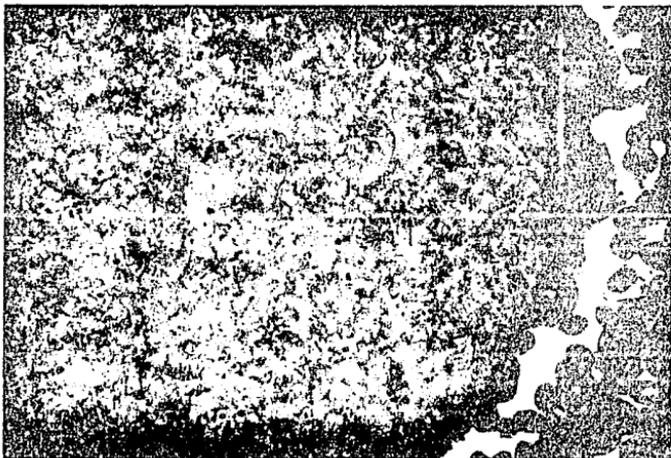


Fig. 26. Estadio V. Núcleo del ovocito con cromosomas plumosos (†) y plaquetas vitelinas alrededor del núcleo (*).
500 X H-E.

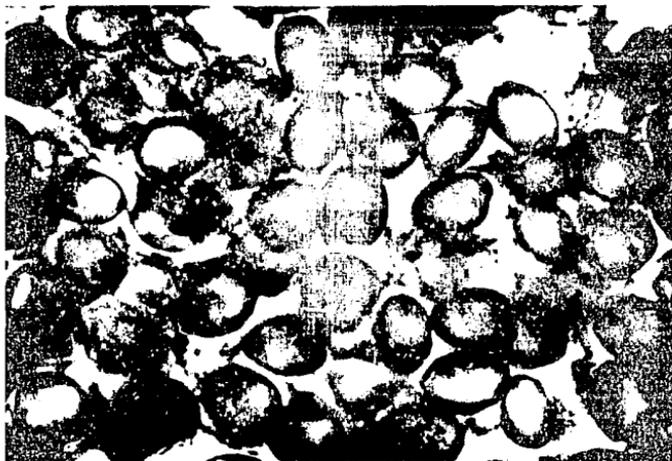


Fig. 27. Estadio V. Detalle de plaquetas vitelinas.
1250 X H-E.



Fig. 28. Estadio V. Polo animal del ovocito, se observa pigmento (P), la zona radiada (*), zona homogénea (†) células foliculares (f).
1250 X H-E.

Ovocito Maduro (Estadio VI).

El ovocito tiene un diámetro similar al estadio anterior (Fig. 29). En esta etapa, la pigmentación del polo animal (Fig. 30a) es más intensa que la del polo vegetal (Fig. 30b) y es más clara su distribución polarizada; el núcleo se encuentra desplazado hacia el polo animal (Fig. 29).

Las plaquetas vitelinas tienen características similares a las del estadio anterior; son claramente más pequeñas en el polo animal (Figs. 30 y 31).

La zona pelúcida es muy evidente, así como el epitelio folicular que se ha mantenido monoestratificado en toda la foliculogénesis (Figs. 30a, 30b y 31b).

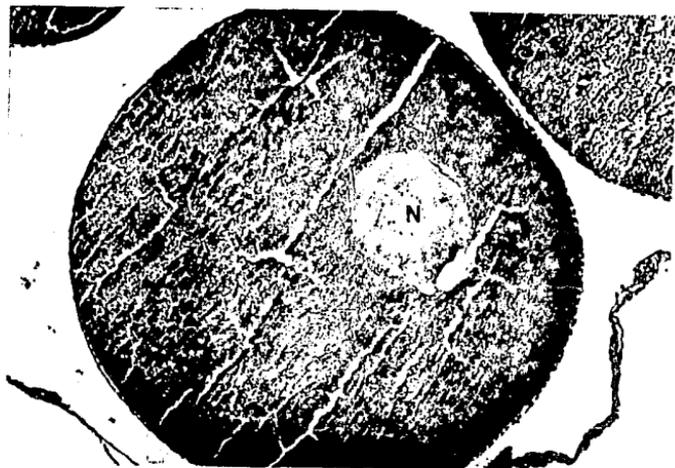


Fig. 29. Estadio VI (VI), se observa el núcleo (N) desplazado hacia el polo animal, la polaridad del pigmento (P) y del vitelo (V) es evidente.

78 X. Azul de Alciano.

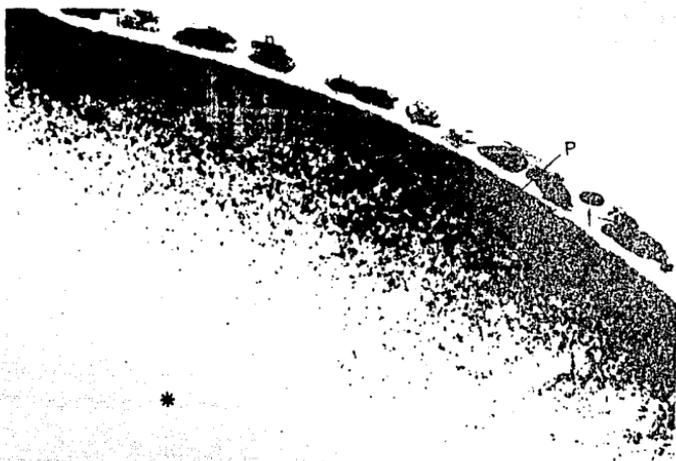


Fig. 30a. Detalle del polo animal. Pigmento (P), plaquetas vitelinas (*), vaso sanguíneo (†), células foliculares (f) y núcleo de células peritoneales (n).
500 X. Azul de Alciano.

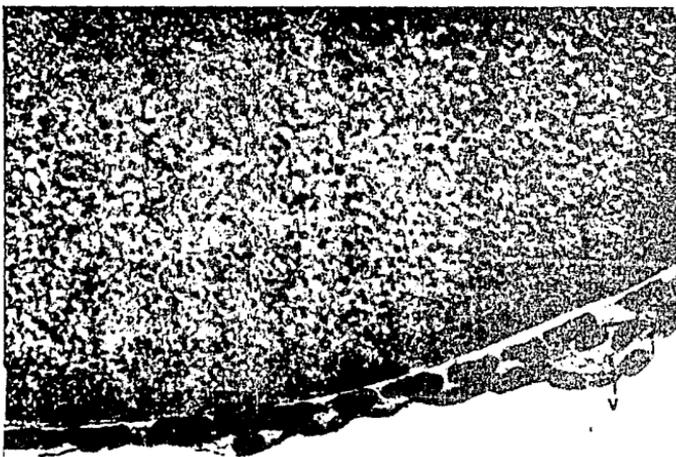


Fig. 30b. Detalle del polo vegetal. Plaquetas vitelinas (*), zona pelúcida (†), vaso sanguíneo (v), células foliculares (f).
500 X. Azul de Alciano.

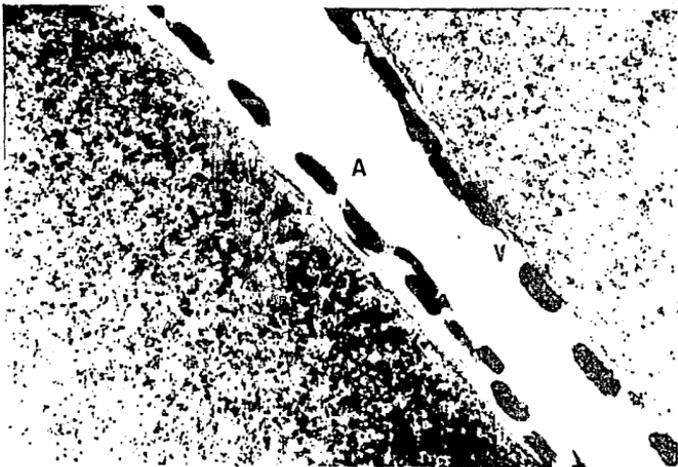


Fig. 31a. Comparación de polo animal (A) y polo vegetal (V) en el estadio V.
500 X. Azul de Alciano.



Fig. 31b. Comparación de polo animal y polo vegetal en el estadio VI, se nota la mayor concentración de pigmento en el polo animal en comparación con el estadio V que se muestra en la Fig. 31a.
500 X. Azul de Alciano.

Algunos folículos mostraron características morfológicas que no corresponden a las observadas en etapas previamente descritas, como son: un mayor número de células foliculares que, aparentemente, forman más de una capa celular (Figs. 32 y 33). En estos folículos también fué evidente una pérdida de la definición de la zona pelúcida. Otro aspecto observado fué la presencia de vacuolas en la periferia del ooplasma (Fig. 33). Debido a estas características morfológicas, estos folículos se consideraron como posibles folículos atrésicos.



Fig. 32. Folículo ovárico, posiblemente, en atresia (*), las células foliculares se observan irregulares, en varias capas y la zona pelúcida no se define.
200 X H-E.



Fig. 33. Folículo ovárico, posiblemente en atresia. El oplasma periférico (†) y las células foliculares son irregulares.
200 X. Azul de Alciano.

b) OVIDUCTOS.

Oviducto Inmaduro.

El oviducto de los ejemplares colectados en primavera, es más delgado en relación a los colectados en las demás estaciones del año. En este estadio se puede observar la cercanía que existe entre el oviducto, el riñón y el conducto mesonéfrico o de Wolf (Fig. 34).

El epitelio del oviducto en su región media (Figs. 34 y 35) está formado por células alargadas, muy irregulares en forma y tamaño; sus núcleos se encuentran a diferentes alturas, los tipos más frecuentes son ovoides con cromatina fina, otros son alargados con cromatina más densa y, los más escasos, son ovoides con la cromatina en gránulos gruesos que se tiñen intensamente; el citoplasma de estas células epiteliales, es ligeramente denso y homogéneo; el extremo apical de las células tiende a ser globoso.

El tejido conjuntivo es laxo, en él se distinguen fibroblastos, vasos sanguíneos y fibras colágenas. En la periferia se encuentra una pequeña capa de músculo liso circular, algunos melanocitos y epitelio peritoneal.

En la región posterior del oviducto inmaduro (Fig. 36) el epitelio es ligeramente más bajo, pero sus características morfológicas, tanto en lo referente a sus núcleos, como en la gran irregularidad de forma y disposición de sus células, se mantienen similares.

Durante esta etapa no se observó desarrollo de formaciones glandulares, lo que será muy evidente en las fases de activa maduración folicular.

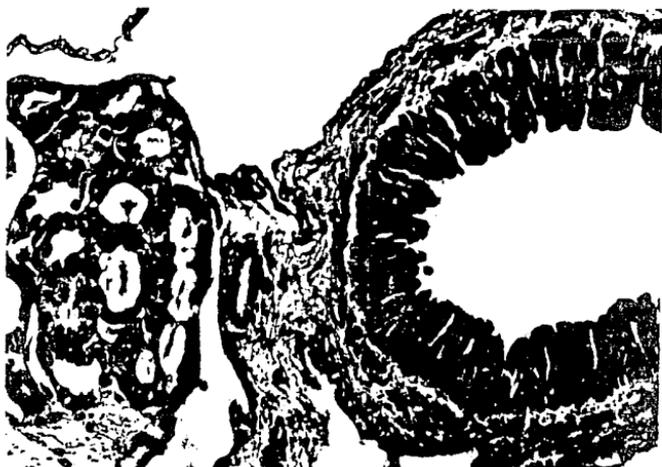


Fig. 34. Oviducto inmaduro, nivel anterior. Epitelio (E), con ducto de Wolff (w), riñón (r)
200 X H-E.

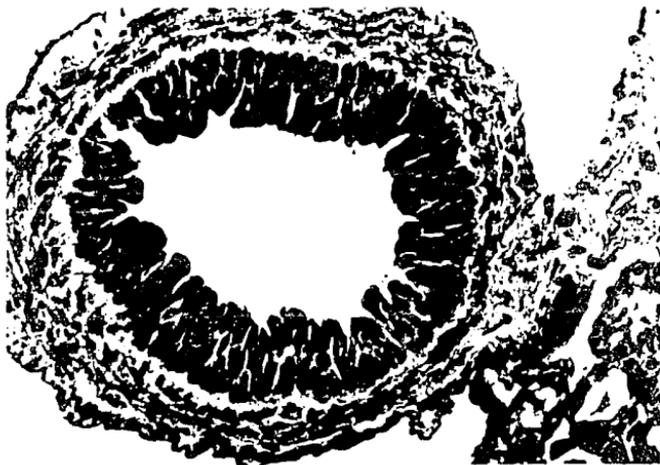


Fig. 35. Oviducto inmaduro, nivel anterior. Epitelio (E), tejido conjuntivo (c), se observa el oviducto completo en corte transversal.
200 X H-E.



Fig. 36. Oviducto inmaduro, nivel posterior. Se observa el
epitelio más bajo que en la región anterior (E).
500 X H-E.

Oviducto Maduro.

El oviducto maduro de A. dumerilii está compuesto por 3 diferentes regiones: a) infundíbulo; b) región media glandular; y c) región posterior o caudal. El infundíbulo es recto, con una pared delgada, constituye una pequeña porción del oviducto. La región media glandular es de mayor grosor y se incrementan considerablemente sus pliegues; en su región final, los pliegues empiezan a disminuir, pero el grosor del tubo aumenta. La región posterior o caudal es una pequeña porción recta, de un grosor ligeramente mayor al de la región anterior.

A nivel histológico, las 3 regiones del oviducto muestran 3 capas: a) la mucosa, formada de epitelio simple y tejido conjuntivo; b) la muscular, constituida por músculo liso en disposición circular y c) la serosa, de tejido conjuntivo delgado y epitelio plano peritoneal.

Infundíbulo.

El infundíbulo se observa con una luz muy amplia. La mucosa forma varios pliegues delgados de forma irregular y de diferente longitud (Figs. 37 y 38). El epitelio presenta células ciliadas columnares irregulares, sus extremos apicales tienden a ser globosos; el núcleo es basal y ovoide, aunque algunas de estas células tienen núcleo esférico (Figs. 38 y 39).

En el tejido conjuntivo (Figs. 37, 38 y 39) se distinguen fibroblastos, fibras reticulares y colágenas y algunos vasos sanguíneos; también se encuentran melanocitos, tanto en la región externa del tubo, como en los pliegues de la mucosa (Fig. 38). Esta región presenta, además, una delgada capa de células de músculo liso circular.

En el extremo caudal de esta región infundibular, el epitelio sigue formado por una capa de células ciliadas de forma irregular y ligeramente más bajas; pero éstas se encuentran intercaladas, por primera vez, con células glandulares (Figs. 40 y 41), estas células son de forma alargada, frecuentemente piramidal, su citoplasma es claro y vacuolado y sus núcleos son basales y globosos, con finas granulaciones. Algunas células glandulares también presentan cilios, sin embargo, éstos tienden a disminuir en cantidad y longitud (Fig. 41). Las demás capas tisulares mantienen las características de la región anterior.



Fig. 37. Infundíbulo. La luz (L) es irregular; y la mucosa forma pliegues largos(p).

78 X T. de Masson.

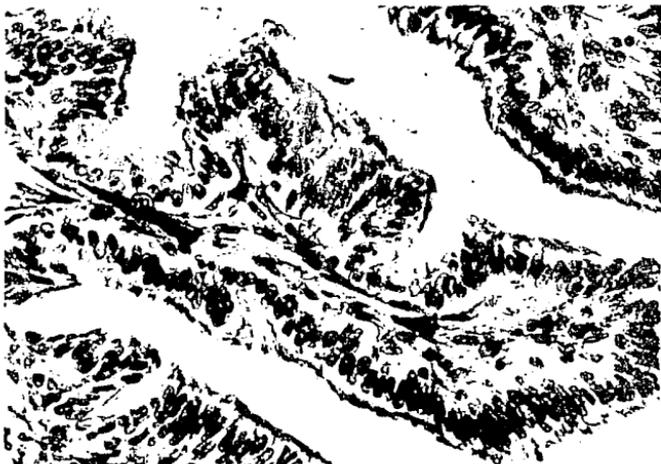


Fig. 38. Infundíbulo. El epitelio (E) es ciliado, en el tejido conjuntivo se observan melanocitos (m).
200 X H-E.



Fig. 39. Infundíbulo. Epitelio ciliado (E) con células de formas irregulares, vaso sanguíneo (v).
500 X T. de Masson.



Fig. 40. Infundíbulo, nivel posterior. El epitelio (E) es ciliado, se observan ya, algunas células glandulares (g).

500 X T. de Masson.



Fig. 41. Infundíbulo, nivel posterior. Epitelio ciliado (E), hay mayor cantidad de células glandulares (g).

500 X T. de Masson.

Región Media Glandular.

En la parte inicial de esta región (Figs. 42, 43 y 44), la luz es más estrecha, en comparación con la del infundíbulo, pero el grosor de la pared es mayor debido, especialmente, al aumento de células glandulares; con respecto a los pliegues de la mucosa son más bajo (Fig. 42).

Los aspectos mencionados en el párrafo anterior se observan más acentuados en la medida en que se desciende por esta región glandular, esto es: disminución de la altura de los pliegues de la mucosa; en el epitelio hay aumento de células glandulares y disminución de células ciliadas; y disminución del grosor del tejido conjuntivo.

El epitelio de esta zona muestra células columnares ciliadas de forma irregular, bordes apicales redondeados y células glandulares muy grandes que carecen de cilios, en la mayoría de los casos (Figs. 42, 43 y 44). Estas células glandulares forman cada vez, mayores conjuntos glandulares con células grandes, prismáticas, con un evidente núcleo basal denso; el citoplasma es muy claro. Entre las glándulas se observa una capa delgada de tejido conjuntivo.

Continuando en dirección caudal, el grosor de la pared del oviducto, en esta región media, se engruesa por el aumento de glándulas que ya, en la Fig. 45, se encuentran alrededor de toda la mucosa y ocupan un grosor mayor de la pared. En este nivel, aún las células epiteliales ciliadas son abundantes.



Fig. 42. Región Media Glandular. Epitelio ciliado (E),
células glandulares (g), vaso sanguíneo
(v), tejido conjuntivo (c).
200 X T. de Masson.



Fig. 43. Región Media Glandular. Epitelio ciliado (E), glán-
dulas (g).
200 X T. de Masson.



Fig. 44. Región Media Glandular. Epitelio ciliado (E), células glandulares (g).
500 X T. de Masson.



Fig. 45. Región Media Glandular. Epitelio ciliado (E), aún mayor cantidad de glándulas (g), vaso sanguíneo (v).
78 X H-E.

La mayor parte de la región media glandular muestra un gran desarrollo de las glándulas (Fig. 46), en consecuencia, se observa un enorme engrosamiento de la pared. La luz es muy estrecha y estrellada y está limitada por algunas células ciliadas cúbicas, columnares o irregulares, con núcleos ovoides o esféricos (Fig. 47), y otras células aplanadas, no ciliadas, con núcleos también aplanados.

Las células glandulares son muy grandes, cilíndricas, anchas, con su núcleo basal, la superficie apical está hacia una luz que se observa como un conducto estrecho, muy cerca de la superficie apical de la célula que queda enfrente (Fig. 48). En la base de las células glandulares hay escaso tejido conjuntivo, en el que pueden observarse los núcleos de los fibroblastos, de forma muy alargada (Fig. 48).

En la periferia del tubo, hay tejido conjuntivo escaso, con algunos vasos sanguíneos y músculo liso circular, de 2 ó 3 células de grosor, que muestra núcleos granulosos y muy alargados (Fig. 49).

La serosa que limita externamente la pared del tubo es muy delgada, en ella pueden observarse los núcleos aplanados de las células mesoteliales (Fig. 49).

En la parte final de esta región media glandular, se observa un aumento de la luz, así como una disminución del grosor y número de las glándulas.

Las células columnares del epitelio también aumentan, limitando a la mucosa en mayor superficie.

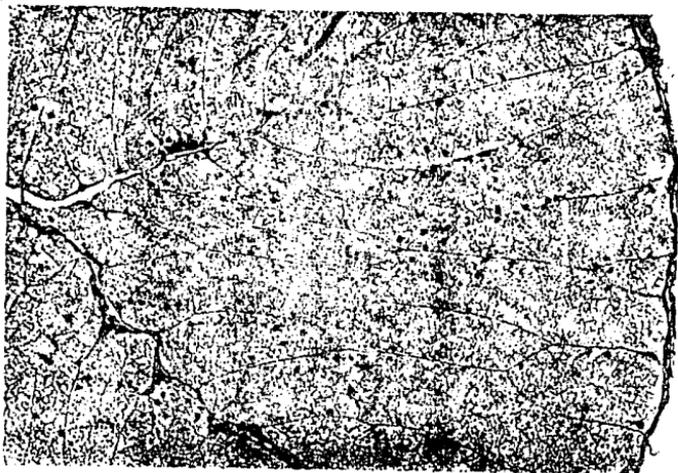


Fig. 46. Región Media Glandular. Se observa toda la pared del oviducto en corte transversal. Glándulas (g), luz (L).
32 X H-E.

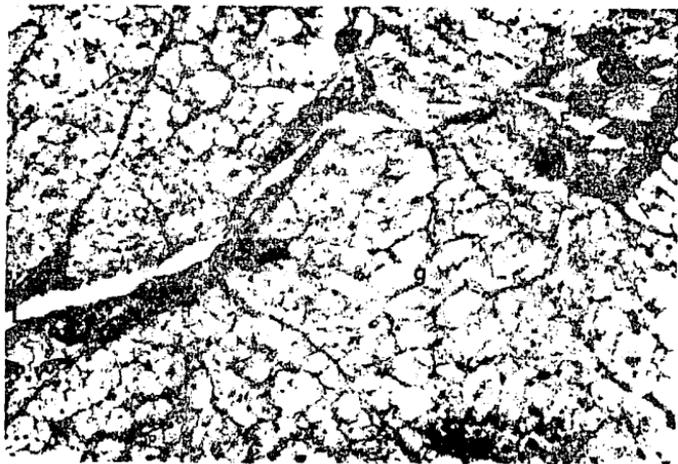


Fig. 47. Detalle de la Región Media Glandular. Células ciliadas (E), células epiteliales no ciliadas (f), glándulas (g), luz (L).
500 X H-E.

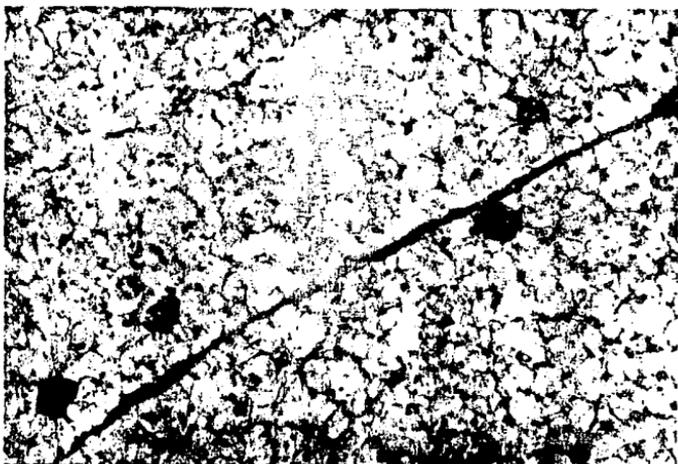


Fig. 48. Detalle de la Región Media Glandular. Núcleos basales de las células glandulares (n), tejido conjuntivo muy escaso (c), polo apical de la célula glandular (↑).
500 X H-E.

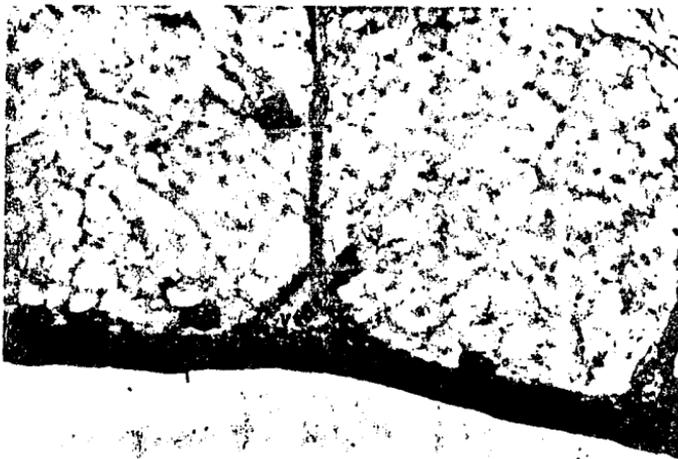


Fig. 49. Detalle de la Región Media Glandular. Núcleos basales (n), vaso sanguíneo (v), músculo liso (↑), núcleos de células peritoneales (*).
500 X H-E.

Región Posterior o Caudal.

Esta región es corta y recta. En este nivel, los 2 oviductos se encuentran cerca (Fig. 50). La luz es más amplia que en la región glandular (Figs. 50 y 51).

El epitelio tiene células columnares ciliadas, con bordes apicales redondeados y no ciliadas intercaladas de manera irregular. El tejido conjuntivo ha aumentado, siendo en esta región mucho más abundante que en todas las regiones antes descritas; en este nivel se encuentran melanocitos dispersos cerca de los vasos sanguíneos, son similares a los observados en el infundíbulo (Figs. 51, 52 y 53).

Una característica de esta región es el considerable aumento de la capa de músculo liso circular, el cual está compuesto por células fusiformes, dispersas en el tejido conjuntivo, esto es, que no forman haces musculares compactos (Figs. 51, 52 y 54).

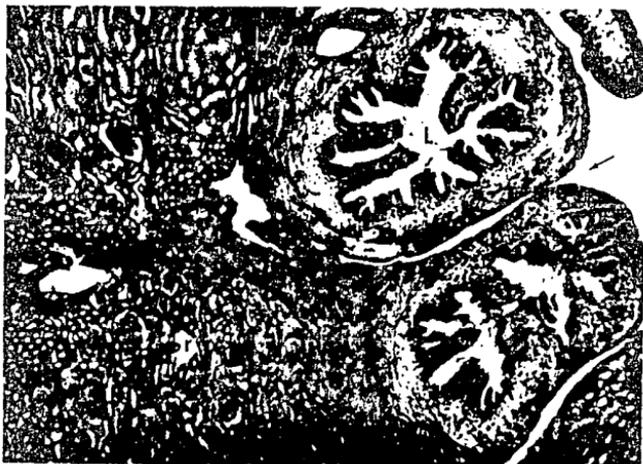


Fig. 50. Región Posterior. Luz (L), se observa la cercanía de los 2 oviductos (†), riñón (r).
32 X H-E.

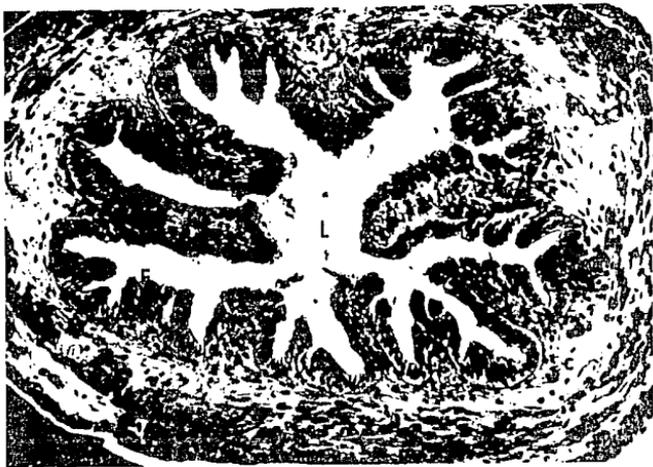


Fig. 51. Región Posterior. Luz (L), epitelio (E), tejido con-
juntivo (c), músculo (†).
78 X H-E.



Fig. 52. Detalle de la Región Posterior. Luz (L), epitelio
ciliado (E), tejido conjuntivo (c), músculo liso
circular (†).
200 X T. de Masson.



Fig. 53. Detalle de la Región Posterior. Luz (L), se observa la irregularidad del epitelio (E) con células ciliadas y no ciliadas, tejido conjuntivo (c).
500 X H-E.

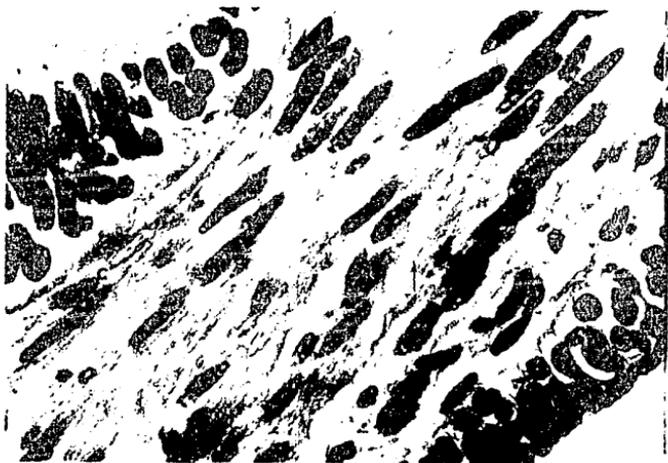


Fig. 54. Detalle de la Región Posterior. Epitelio (E), tejido conjuntivo (c), músculo liso circular (f).
500 X H-E.

VI. DISCUSION

El ciclo reproductor femenino de Ambystoma dumerilii no había sido estudiado en condiciones naturales; al respecto, solo se tenían datos de la reproducción de ejemplares de esta especie en condiciones de laboratorio (Brandon, 1970a).

De acuerdo a nuestras observaciones, los ovarios de las hembras colectadas en primavera presentan ovocitos previtelogénicos; en estos casos, no se observó inicio de vitelogénesis. En las hembras colectadas en otoño se observaron todas las fases del desarrollo folicular en el ovario; y en los oviductos se encontraron ovocitos en su interior. Estos resultados indican que en otoño ocurre ovulación.

Gómez Ríos (1989), estudiando el ciclo reproductor en el sexo masculino de esta especie, en condiciones naturales, observó que durante la primavera, las células sexuales presentes en los testículos fueron espermatoцитos primarios en su mayoría y hubo ausencia de espermatozoides; esto indica una fase temprana en el desarrollo testicular durante esta estación. Esta observación corresponde a la hecha por nosotros en el ovario, dentro del cual, solo en primavera se observaron ovocitos en previtelogénesis.

En cuanto a los resultados obtenidos por Gómez Ríos (1989) en el otoño, en las condiciones mencionadas, los testículos mostraron abundancia de quistes de espermatozoides maduros, así como numerosos tubos seminíferos en los cuales había ocurrido la espermiación, encontrándose los quistes vacíos. Esta etapa corresponde, de acuerdo a nuestros resultados en el sexo femenino, a una fase de ovulación.

La estacionalidad observada en A. dumerilii coincide con la del urodelo Pseudotriton montanus, estudiada por Bruce (1975), quien menciona que la ovulación en esta especie ocurre durante las estaciones de otoño e invierno. Sin embargo, este autor también menciona que esta situación se da establemente en hembras menores de 5 años, en tanto que, en hembras que han rebasado esta edad, la ovulación se puede dar de manera irregular, ocurriendo más de

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

una vez al año; Bruce (1975) considera a esta situación fisiológica como una adaptación facultativa que favorece la alta fecundidad en los organismos mayores.

Con respecto a los resultados observados en los ejemplares de A. dumerilii colectados en verano, ya están presentes folículos en todas las etapas de maduración, excepto el estadio VI (de la clasificación de Dumont, 1972); lo que manifiesta una actividad ovárica que, indica llega a su madurez en otoño.

En relación a la colecta realizada en invierno los ovarios no mostraron diferencias en relación a los de otoño. Además no se observaron folículos postovulatorios. Estas observaciones plantean la posibilidad que la ovulación se extienda hasta los primeros meses del año, lo que coincidiría con Bruce (1975) para P. montanus.

Por lo cual sugerimos estudiar con mayor detalle, especialmente, los ovarios de invierno; así como el procesamiento de este órgano, mínimamente, en 3 regiones, anterior, media y posterior; de manera que, si la ovulación ocurre paulatinamente y, por regiones, se localice las regiones con presencia de folículos postovulatorios.

En nuestras observaciones se localizaron todas las etapas de la maduración folicular, de acuerdo con la clasificación de Dumont (1972); estos es, desde ovocitos en estadio I hasta los preovulatorios correspondientes al estadio VI. El material obtenido se logró en buenas condiciones, lo que permitió el análisis adecuado de todas las fases de la ovogénesis.

La atresia en folículos de anfibios ha sido mencionada ocurriendo en todas las etapas de maduración (Guraya, 1969a y 1969b; Saidapur y Nadkarni, 1973). Sin embargo, en nuestros resultados fueron escasos los aspectos morfológicos que pudieran corresponder a atresias. En relación a esta situación, consideramos conveniente comentar que Guraya (1969a), estudiando a Bufo stomaticus, menciona que la atresia afecta a folículos de diversos ta-

maños, pero es en invierno, cuando ésta es muy común.

Morales Alcántara (1983), estudiando el ovario de Ambystoma mexicanum describe la atresia folicular y muestra una imagen muy clara de este proceso en un folículo vitelogénico; de acuerdo a esta referencia, no observamos características similares. Por lo cual, un estudio más detallado de ovarios de invierno pueden, también en este aspecto, proporcionar un panorama mayor de análisis.

En nuestros resultados, se consideraron como folículos en atresia (Fig. 32 y 33), debido a una proliferación de células foliculares, a una pérdida de la definición de la zona pelúcida; y a una modificación de la periferia del ooplasma. Estas características corresponden con el inicio de este proceso mencionadas por Guraya (1969a y 1969b), y por Saidapur y Nadkarni (1973).

La polaridad del ovocito queda claramente manifiesta, tanto por el pigmento depositado en el polo animal, como por el tamaño de las plaquetas vitelinas, siendo éstas más grandes en el polo vegetal; el desplazamiento del núcleo hacia el polo animal es también un aspecto evidente de la polaridad del ovocito. Esta polaridad la relaciona Brachet (1975), en huevos de anfibios, con gradientes morfogenéticos, es decir, que ciertas sustancias requeridas para el desarrollo tienen una concentración progresivamente menor desde el polo animal al vegetal, mientras que otras muestran una distribución opuesta.

Los cambios del ooplasma observados durante la ovogénesis fueron: el aspecto hialino en el estadio I; la opacidad y basofilia en el estadio II; la formación de plaquetas vitelinas de la periferia al centro y con aumento de tamaño en los estadios III al V; y la acumulación paulatina de pigmento en el polo animal, principalmente, en los estadios V y VI, estos cambios se adecúan a la clasificación de Dumont (1972), como a los observados por Morales Alcántara (1983) en A. mexicanum.

También hay coincidencia con los autores mencionados, respecto a los cambios del núcleo del ovocito, observados en nuestros resultados. En los estadios I y II, los cromosomas se encuentran en el inicio de la profase I de la meiosis, siendo evidente la fase diplótena con un alto nivel de condensación de los cromosomas. En los estadios III y IV, los cromosomas diplótenos muestran característica plumosa y su nivel de condensación es menor, la membrana nuclear se pliega y los nucléolos se fragmentan. En el estadio V el nivel de condensación de los cromosomas aumenta, sin llegar al observado en los dos primeros estadios.

En términos generales, las características morfológicas observadas en el oviducto, coinciden con las mencionadas por Uribe et al. (1989), para la especie A. mexicanum. La secuencia observada en A. dumerilii, en relación a la formación antero-posterior de las glándulas, a partir de la parte final del infundíbulo y en la región media, fué más detallada.

No encontramos referencias anteriores a la histología del oviducto inmaduro. En éste fué muy evidente la ausencia de cilios y de glándulas, en comparación con el oviducto maduro; consideramos que estas características se relacionan con la inmadurez de los ovocitos y, en consecuencia, con la aún lejana ovulación, ya que estas estructuras están vinculadas con el paso de los ovocitos a través del oviducto después de la ovulación: los cilios permitirán su desplazamiento y las glándulas secretarán las gangas gelatinosas que le rodearán (Vilter, 1967; Jago, 1974; y Uribe et al., 1989).

Siendo el ovario de los anfibios un órgano de difícil manejo en el proceso de la técnica histológica, recomendamos la fijación en Bouin, con la cual obtuvimos los mejores resultados.

VII. CONCLUSIONES

1. En otoño, A. dumerili, muestra mayor desarrollo del ovario y presencia de ovocitos en el interior del oviducto.
2. Se observaron todas las fases de la ovogénesis, la cual se dividió en 6 estadios (I a VI), de acuerdo a Dumont (1972).
3. La polaridad del ovocito se observa desde el estadio IV.
4. En primavera, el ovario solo presenta folículos en estadios I y II.
5. En el oviducto inmaduro no se observan glándulas.
6. En el oviducto inmaduro, el epitelio es cilíndrico, muy alto e irregular.
7. El epitelio del oviducto maduro presenta cilios en todos sus niveles, en el inmaduro no se observan.
8. El incremento paulatino de las células glandulares en la región final del infundíbulo, en el oviducto maduro fué muy evidente.

VIII. LITERATURA CITADA.

- Balinsky, B.J. 1971. Introducción a la Embriología. 2a. Ed. Omega. Barcelona.
- Boisseau, C., P. Jegou; J. Joly; y B. Picheral. 1974. Organization et caracterisation histochimique des gangues ovulaires secretees par l'oviducte de Pleurodeles waltlii Michah. (Amphibien, Urodele, Salamandride). C.R. Soc. Biol. Paris. 168: 1102-1107.
- Brachet, J. 1975. Introducción a la Embriología Molecular. 1ª Ed. española Ed. H. Blume. Madrid.
- Brandon, R.A. 1970 a. Size range, size at maturity, and reproduction of Ambystoma (Bathysiredon) dumerilii (Duges), a paedogenetic mexican salamander endemic to Lake Patzcuaro, Michoacán. Copeia 1970: 385-388.
- _____ 1970 b. Courtship, spermatophores and eggs of the Mexican achoque, Ambystoma (Bathysiredon) dumerilii (Duges). Zool. J. Linn. Soc. London 49: 247-254.
- _____ 1972. Hybridization between the Mexican Salamanders Ambystoma dumerilii and Ambystoma mexicanum under laboratory contitions. Herpetologica 28: 199-207.
- _____ 1975. Spontaneous and induced metamorphosis of Ambystoma dumerilii (Duges), a paedogenetic Mexican Salamander under laboratory conditions. Herpetologica 32: 429-438.
- Bruce, R.C. 1975. Reproductive Biology of the Mud Salamander, Pseudotriton montanus, in Western South Carolina. Copeia. No.1 February 28: 129-137.
- Denis, H. 1974. Precis d'Embriologie moléculaire. Presses Universitaires de France.
- Dugès, A. 1870. Una nueva especie de ajolote de la Laguna de Pátzcuaro. La Nature. 1: 241-244.
- Dumont, J.N. 1972. Oogenesis in Xenopus laevis (Daudin) 1. Stages of oocyte development in laboratory maintained animals. J. Morph. 136: 153-180.
- Goin, C.J. y D.B. Goin. 1971. Introduction to Herpetology. 2a. Ed. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Gómez Ríos, G.J. 1989. Estudio histológico del aparato reproductor masculino del "achoque" (Ambystoma dumerilii, Dugès), urodelo del lago de Pátzcuaro. Tesis Profesional. U.N.A.M.
- Guraya, S.S. 1969 a. Histochemical study of follicular atresia in the Amphibian ovary. Acta biol. Acad. Sci. Hung. 20(1), 43-56.
- _____ 1969 b. Histochemical observations on the Corpora Aretica of Amphibian Ovary. Gen. and Comp. Endocrinol. 12, 165-180.

1978. Maturation of the Follicular Wall of Nonmammalian Vertebrates. En: The Vertebrate Ovary: Comparative Biology and Evolution. R. E. Jones. PLENUM. New York.
- Hope, J.; A.A. Humphries, Jr.; y G.H. Bournet. 1963. Ultrastructural studies on Developing Oocytes of the Salamander *Triturus viridescens*. J. Ultrastructure Research 9, 302-324.
- Houillon, C.H. 1974. Sexualidad. 2ª ed. Omega, Barcelona.
- Humphries, A.A.Jr. 1966. Observations on the deposition, structure, and cytochemistry of the jelly envelopes of the newt, *Triturus viridescens*. Devel. Biol. 13: 214-230.
- Jego, P. 1974. Composition en glucides des differents segments de l'oviducte et des gangues ovulaires chez *Pleurodeles waltlii* Michah (Amphibien, Urodele). Comp. Biochem. Physiol. 48B: 435-446.
- Morales Alcántara, M.S. 1983. Estudio histológico comparado del ovario de 4 vertebrados. Tesis Profesional. U.N.A.M.
- Noble, G.K. 1931. The Biology of the Amphibia. Mc. Graw-Hill Book. Co., N.Y.C.
- Pilone, G.B.; y Humphries, A.A. 1975. Progesterone-induced in vitro maturation in oocytes of *Notophthalmus viridescens* (Amphibia, Urodela) and some observations on cytological aspects of maturation. J. Embryol. Exp. Morphol. 34: 451-466.
- Redshaw, M.R. 1972. The Hormonal Control of the Amphibian Ovary. Am. Zool. 12: 289-306.
- Saidapur, S.K.; y V.B. Nadkarni. 1973. Follicular Atresia in the Ovary of the frog *Rana cyanophlyctis* (Schneider). Acta Anat. 86: 559-564.
- Smith, H.M. 1969. The Mexican Axolotl: some misconceptions and problems. Bioscience. 19: 593, 597, 615.
- Thornton, V.F. 1971. A Bioassay for Progesterone and Gonadotropins Based on the Meiotic Division of *Xenopus* oocytes in vitro. Gen. Comp. Endocrinol. 16, 599-605.
- Uribe, M.C.A.; L.F. Mena; M.R.C. Carrubba; E.F. Estrada; B.D. Palmer y L.J. Guillette, Jr. 1989. Oviductal Histology of the Urodele *Ambystoma mexicanum*. J. of Hepetol. Vol. 23, No. 3, 230-237.
- Vilter, V. 1967. Histologie de l'oviducte chez *Salamandra atra* mature, Urodele totalement vivipare de haute montagne. C.R. Soc. Biol. Paris. 161: 260-264.
- Wallace, R.A. 1978. Oocyte growth in nonmammalian vertebrates. En: The Vertebrate Ovary: Comparative Biology and Evolution. R,E, Jones, Ed. PLENUM. New York.

Wasserman, W.J.; y L. D. Smith. 1978. Oocyte maturation in nonmammalian vertebrates. En: The Vertebrate Ovary: Comparative Biology and Evolution. R.E. Jones, Ed. PLENUM. New York.

Yoshizaki, N. 1985. Fine structure of oviducal epithelium og Xenopus laevis in relation to its role in secreting egg envelopes. J. Morphol. 1984: 155-169.
