BOL. SOC. BIOL. DE CONCEPCION, TOMO XLII, pp. 137-151. 1969 - 1970

ANALISIS ESTRUCTURAL DEL APARATO REPRODUCTOR MASCULINO DE GRYLLACRIDIDAE

POR

E. GUZMAN C., A. ANGULO O. Y M. DELPIN A.
Depto. de Biología Celular
Instituto Central de Biología

INTRODUCCION

En un estudio anterior se efectuó un análisis histológico de estructuras ovocíticas de Gryllacrididae con el objeto de comprobar las bondades de este material en estudios de relaciones nucleocitoplasmáticas (Guzmán et Al. 1969). Parece de interés completar los estudios de estructuras reproductoras en Gryllacrididae efectuando un análisis del aparato reproductor masculino de representantes de la familia Gryllacrididae; toda vez que en ensayos y estudios preliminares hemos comprobado peculiaridades morfológico-estructurales.

DESARROLLO

TECNICAS Y SUSTRATOS BIOLOGICOS

a) *Técnicas.*

Las técnicas histológicas en preparaciones clásicas seleccionadas, incluyen fijación en Carnoy (Modificación Rai, 1933), inclusión en parafina Merck (punto de fusión 56-58ºC), tinciones en hematoxilina de Mayer-eosina (Humanson, 1962).

Lípidos se detectan en cortes fijados con Sudan III (Merck).

Reacciones para frotis se empleó colorante May Grünwald-Giemsa (Davenport, 1964) y aceto-orceina-láctica en desmenuzados microscópicos.

b) *Sustrato biológico.*

Para el trabajo experimental se empleó especímenes de *Cratomelus armatus Blanch* (♂), de colecta habitual en la zona de Concepción, Chile.

METODOS

Los especímenes colectados se mantienen en una cámara de diseño especial descrita por Guzmán et Al. 1969.

Para la disección previa anestesia, se abre ventralmente por la línea media encontrándose los testículos hacia la parte media del abdomen y las vesículas seminales en posición abdominal media inferior.

Se extraen las gónadas y vesícula seminal y se procede a fijarlas de inmediato en Carnoy, continuándose la técnica histológica ya señalada.

RESULTADOS

Al análisis macroscópico inmediato, se determinó el grado de la madurez de los especímenes de trabajo, para esto se ponderó el largo del pronotum (Guzmán et Al. 1969) y el aspecto macroscópico que presenta la vesícula seminal ya que en el estado inmaduro se manifiesta transparente y más pequeña y en su fase de madurez plena, opaca y de mayor tamaño.

Estas diferencias en sus estados de desarrollo nos indujo a efectuar un análisis separado de las estructuras inmaduras y maduras.

ANALISIS HISTOLOGICO DEL TESTICULO INMADURO

En su estado inmaduro (Lám. I, Fig. 1) y en observaciones macroscópicas (Lám. I, Figs. 1 y 2) es posible visualizar los testículos como dos masas ovoides, semitransparentes, recubiertas en parte por un tejido de naturaleza adiposa ya que se revela como positivo a la tinción con Sudan III.

En el corte histológico con hematoxilina-eosina (Lám. I, Figs. 3 y 4) se aprecian planos transversales y longitudinales de túbulos seminíferos.

Rodeando al testículo se encuentra el tejido adiposo ya señalado, formado por células grandes, esporádicamente con vacuoals, otras

con citoplasma homogéneo. Los núcleos son grandes con cromatina granular, los núcleos se observan con más facilidad en las células que poseen vacuolas, siempre su ubicación es parietal. El tejido adiposo a que hacemos referencia rodea también a cada túbulo (Lám. I, Fig. 3), quedando reducido a veces a una capa de células planas.

En el túbulo mismo se observa en su parte externa, un epitelio plano que al parecer se invagina hacia el interior, dividiéndole en lóbulos. En la base de estos lóbulos se observa una célula triangular de mayor tamaño que las restantes y en el tabique mismo núcleos fusiformes (Lám. I, Figs. 3 y 4).

En cada lóbulo se observan células cuyos núcleos se encuentran siempre en la misma fase del proceso meiótico, facilitando así la delimitación de los lóbulos (Lám. I, Figs. 4 y 5), lo que estaría en concordancia con lo informado por De Wilde 1964 para Acrididae.

Cada túbulo termina en un conducto eferente, cuya pared está formada externamente por la continuación del epitelio que envuelve al túbulo, hacia el lumen, se observan células cilíndricas con núcleos ovoides (Lám. I, Fig. 6).

Entre los túbulos se visualiza solamente el tejido adiposo ya descrito (Lám. I, Fig. 3), quedando espacios laxos sin estructuración aparente.

El conducto deferente en corte transversal, se observa rodeado externamente de células fusiformes de dos o más capas, hacia el lumen el tejido se estructura en varias capas de células de contornos difusos y con núcleos de cromatina granular. Este lumen es esférico y contiene una sustancia amorfa, eosina positivo. En ningún corte de la serie analizada se logró visualizar espermatozoides, lo que comprueba que el índice seguido para determinar madurez e inmadurez es correcto y apropiado (Lám. I, Fig. 7).

ANALISIS HISTOLOGICO DE TESTICULO MADURO

Al examen macroscópico no se presenta diferencia con el testículo inmaduro. Su tamaño es similar y sólo manifiesta una mayor opacidad.

El corte histológico-topográfico permite determinar la presencia del tejido adiposo en la misma forma que al estado inmaduro, o sea rodeando todo el testículo, en la región interna se visualizan túbulos seminíferos que presenta al corte planos transversales, oblícuos y longitudinales.

El tejido adiposo que rodea a los túbulos, en este estado de su desarrollo, es mucho más abundante que el que se observa al estado inmaduro.

La estructura interna del túbulo mantiene su similitud con la observada en la fase inmadura (Lám. I, Figs. 8 y 9).

El vaso eferente también conserva la estructura similar al estado inmaduro. El vaso deferente se presenta en este caso como una estructura tubular espiralada rodeado externamente de una o más capas de células epiteliales planas con núcleos ovoides.

Dada esta disposición, en el interior se observa el conducto en cortes transversales u oblícuos.

Este túbulo tiene exteriormente un epitelio plano y hacia el lumen una o dos capas de células cilíndricas de contornos no bien definidos y provistas de núcleo esférico. En este caso, se puede detectar los espermatozoides agrupados en manojos (Lám. I, Fig. 10).

HISTOLOGIA DE VESICULA SEMINAL INMADURA

Como se ha señalado, este úrgano se encuentra en la parte media inferior del abdomen (Lám. II, Fig. 1). Se presenta de forma esférica, tamaño reducido y aspecto transparente.

A baja resolución microscópica (315 X), se observa primero un estado saculiforme de paredes gruesas y en un estado más avanzado, pero aún inmaduro, esta estructura presenta invaginaciones y aún puentes, dejando cavidades cuyo porvenir estructural sería los túbulos de la vesícula madura (Lám. II, Figs. 2, 4 y 5).

En el estado saculiforme, histológicamente se observan paredes externas gruesas en las que se pueden distinguir dos zonas:

a) zona externa, con dos o tres capas de células fusiformes, ubicadas concéntricamente y que se vuelven más cilíndricas hacia el lumen. Los núcleos se presentan esféricos u oblongos con cromatina compacta o granulosa.

b) zona interna, que corresponde a una zona de células de contornos difusos de núcleos grandes con cromatina granulosa; estas células están dispuestas en forma perpendicular a las de la primera zona; en las capas que limitan al lumen, las células se hacen cilíndricas y muchas de ellas poseen núcleos grandes y compactos (Lám. II, Fig. 3).

En el estado de mayor desarrollo y como se ha citado, se observan profundas invaginaciones de su pared llegando a formar verdaderos puentes internos. Así dispuesta, la zona interna de la pared queda ubicada al centro limitada en ambos lados por la zona externa.

HISTOLOGIA DE VESICULA SEMINAL MADURA

Macroscópicamente se observa la vesícula seminal envuelta en una membrana transparente a través de la cual se visualizan los túbulos dispuestos en forma paralela (Lám. II, Fig. 6).

En el corte histológico se puede apreciar que cada uno de estos túbulos desemboca en un vaso eferente (Duporte, 1964), los cuales se unen para formar el vaso deferente: envolviendo a éste, al hacer la disección se ubicó el saco eyaculador que presenta una forma tubular por cuyo centro pasa el conducto eyaculador (Lám. II, Fig. 7).

Histológicamente cada vesícula está rodeada por una membrana de células planas fusiformes, que generalmente, por impurezas de la disección, presenta algunas tráqueas adosadas.

En el interior se observan cortes transversales y oblículos de túbulos que podrían clasificarse en dos grupos: los que presentan espermatozoides en su interior y otros que no los presentan (Lám. II, Fig. 8).

La pared de los túbulos que presentan espermatozoides está formada por una capa externa de células fusiformes con núcleos alargados y otra capa interna formada por células cilíndricas con núcleos esféricos. En el lumen se observa una sustancia eosina positiva, en la cual se visualizan agrupaciones formadas por las cabezas espermáticas, formando especies de paquetes o manojos (Lám. II, Figs. 9 y 10). En el corte no se observan las colas de los espermatozoides.

En los túbulos que no presentan espermatozoides en su interior (Lám. II, Fig. 10), se observan las dos capas celulares anteriormente señaladas en su pared y en el lúmen una sustancia amorfa que también es eosina positiva.

Entre los túbulos se observan células dispersas, algunas esféricas y otras fusiformes (Lám. II, Fig. 10).

En el corte transversal medio de vesícula seminal se observa que todos los túbulos desembocan en el centro en una cavidad común, a cuyos bordes les dan una apariencia digitiforme (Lám. III, Figs. 1, 2 y 3). Alrededor de este lúmen y entre los túbulos se observan fibras musculares estriadas. Además se visualizan en esta cavidad, cabezas de espermios, la mayoría de ellos formando paquetes, en una sustancia amorfa eosina positiva.

En la Lám. III, Fig. 4, se observa una estructura que corresponde al saco eyaculador en su extremo proximal y al pene en su extremo distal, que se caracteriza por poseer en su superficie, estructuras escamosas, cristalinas, de composición desconocida, las cuales en la parte que da hacia la cavidad del cuerpo se hacen más romas y anchas (Lám. III, Fig. 5). Extraída una sección de esta capa externa y teñida con orceina acética láctica (Lám. III, Figs. 6 y 7), se observó que dichas estructuras presentan una base ensanchada circular y un extremo aguzado que es el que se observa en los cortes.

El tejido muscular que forma tanto el saco eyaculador como el pene, consta de manojos de fibras estriadas dispuestas en sentido pluridireccional.

El conducto eyaculador está formado por una capa de células planas en las cuales es difícil visualizar el núcleo, en cuyo lumen se observa una sustancia amorfa eosina positiva igual que en los túbulos que presentaban espermatozoides. Se observan espermatozoides de preferencia hacia las paredes y en la base del conducto (Lám. II, Fig. 7).

FROTIS DE ESPERMATOZOIDES

Se obtuvo espermatozoides provenientes de una espermateca y se efectúa un frotis utilizando el método Giemsa (Davenport, 1964) (Lám. III, Fig. 8).

La observación permite visualizar espermatozoides de 500 micrones de longitud con una cabeza de 25 micrones aproximadamente. En solución acuosa fisiológica para insectos (Patton 1963) se comprueba su activo movimiento flagelar (Lám. III, Fig. 9).

DISCUSION

Los análisis histológicos hechos en aparato reproductor masculino de Gryllacrididae permitieron comparar los estados inmaduros de menor y mayor desarrollo y maduros en los que se pudo determinar que sólo hay diferencias notables en lo que se refiere a túbulo deferente y vesícula seminal.

El conducto deferente en estado inmaduro se presenta recto de paredes gruesas y en su interior en ningún corte pudo observarse espermatozoides. Al estado maduro se presenta espiralado; ésta disposición permite ver en los cortes planos transversales y oblículos dando la impresión de ser varios tubos con diferencias de forma; sin embargo mediante el estudio seriado se comprueba su naturaleza de conducto único y de estructura espiralada.

También en la capa externa se aprecian diferencias notables en los estados de desarrollo: en el inmaduro la pared externa es gruesa como ya se describió y en el estado maduro esta pared se reduce a una capa externa de célula planas y una o dos capas de células cilíndricas.

La reducción en espesor de esta gruesa capa permite al túbulo adquirir la forma espiralada, lo que alarga el conducto en un mismo espacio, permitiendo así un mayor período de latencia de los espermios en el túbulo facilitando su maduración.

Diferencias interesantes se encuentran en los análisis de las distintas etapas del desarrollo de vesícula seminal.

En ella se encuentran profundas invaginaciones de la pared de la vesícula que llegan a formar puentes. Estas invaginaciones estimamos que intervienen en la morfogénesis de los túbulos, ya que en el estudio seriado de maduración se va encontrando un proceso progresivo de niveles de invaginaciones.

Este proceso morfogenético se plantea hipotéticamente en la Lám. III, Fig. 10.

En el vaso deferente y en la vesícula seminal tanto inmaduro como al estado adulto se encuentra una sustancia amorfa que se tiñe con eosina; se supone que se trate de una solución de elementos nutrientes para los espermatozoides en sus etapas de formación. Es necesario hacer notar que esta o estas sustancias se manifiestan aún en los estados inmaduros, en los que no se ha encontrado espermatozoides. Podría ser que la sustancia básica de la solución nutriente espermática sea de muy temprana formación y que sea ese el principio eosina positivo; el que llegaría a ser una solución nutricia adecuada en e ltranscurso de la maduración durante la cual se van agregando otros principios activos. Lo que estaría en concordancia con la maduración paralela y armónica no sólo de estructuras biológicas sino también con una verdadera "maduración" de la solución nutriente.

No fue posible detectar células glandulares propiamente tal, pero se descarta la posibilidad que esta función la desempeñen las células del túbulo seminífero.

Sería interesante aislar este principio nutriente activo en sus fases tempranas de formación y controlar nutrición y mantención de espermios maduros en él. Al respecto se requiere un mayor estudio.

En la pared externa del pene hemos descrito estructuras escamosas de naturaleza cristalina, triangulares de extremo aguzado y arqueado hacia la cavidad del cuerpo, cuya composición química es desconocida y será necesario efectuar un estudio al respecto. Esta estructura no ha sido descrita para familias afines.

Estimamos que estas estructuras escamosas cuya función se desconoce, y dado su disposición anatomohistológica podrían tener importancia en la cópula. Estudios comparativos no fue posible efectuar con familias afines por no disponer de referencias bibliográficas al respecto.

Los espermatozoides observados por preparación de técnicas clásicas (Giemsa), se muestran de gran tamaño, cabeza reducida y en solución fisiológica adecuada, un activo movimiento. Para este análisis los espermatozoides siempre se han obtenido de espermatecas.

CONCLUSIONES

El estudio anatomohistológico del aparato reproductor masculino de *Cratomelus armatus Blanch,* reveló variables significativas al comparar los estados inmaduros y maduros tanto del vaso deferente como de la vesícula seminal. Se establece como hipótesis la morfogénesis de los túbulos de la vesícula seminal. Se revela la presencia de formaciones escamosas triangulares cristalinas en la pared externa del pene las que se supone podrían intervenir en el proceso de la cópula.

RESUMEN

— Se hace un estudio anatomohistológico en el aparato reproductor masculino de *Cratomelus armatus Blanch* (Gryllacrididae).
— Se labora una hipótesis sobre la morfogénesis de túbulos en la vesícula seminal.
— Se describe estructuras escamosas ubicadas en la pared externa del pene y se sugiere su rol funcional en la cópula.
— Se analizan y discuten estas observaciones.

SUMMARY

A study of the anatomy and histology of the male reproductory apparatus in *Cratomelus armatus Blanch* (Gryllacrididae), is presented.

An hypothesis about the morphogenesis of the seminal vesicle tubules is considered.

External squamous structures in the external wall of the penis are described and it is suggested their functional role during copula.

These observations analized and discussed.

BIBLIOGRAFIA

DAVENPORT, HAROLD A.
1964 Histological and Histochemical Technies, W. B. Saunders Company.

DE-WILDE, J.
1964 The physiology of Insects. Academic Press, New York and London. 10-58.

DU PORTE, E. M.

1964 Manual of insect morphology. Reinhold Publishing Co. New York, Chapman & Hall, Ltd. London. 184-155.

GUZMAN, E.; ANGULO, A.; DELPIN, M.

Análisis estructural en ovario de Gryllacrididae. Bol. Soc. Biol. Concepción. Tomo XLII (en prensa).

HUMASON, L. GRETCHEN

1962 Animal Tissue Techniques. W. H. Freeman and Company.

PATTON, R. L.

1963 Introductory Insect Physiology, W. C. Sounders Co.

RAI, K. S.

1963 A comparative study of mosquito karyotypes. Ann. Entomol. Soc. Amer. 56 : 160-170.

LAMINA I

Fig. 1.— ♂ en estado inmaduro. 3.5 x.

Fig. 2.— Testículo inmaduro: a) testículo

b) vesícula

17.5 x.

Fig. 3.— Corte transversal de túbulo seminífero inmaduro: a) tejido adiposo que rodea al túbulo. 288 x.

Fig. 4.— Corte longitudinal de túbulo seminífero inmaduro: a) célula triangular, b) núcleo fusiforme; c) lóbulos. 288 x.

Fig. 5.— Núcleos de los lóbulos en distinto estado de división meiótica. 570 x.

Fig. 6.— Conducto eferente: a) epitelio; b) células cilíndricas. 350 x.

Fig. 7.— Conducto deferente: a) células fusiformes; b) células de contornos difusos; c) lúmen. 144 x.

Fig. 8.— Corte topográfico de testículo maduro. 17.5 x.

Fig. 9.— Corte longitudinal de túbulo seminífero maduro. 1008 x.

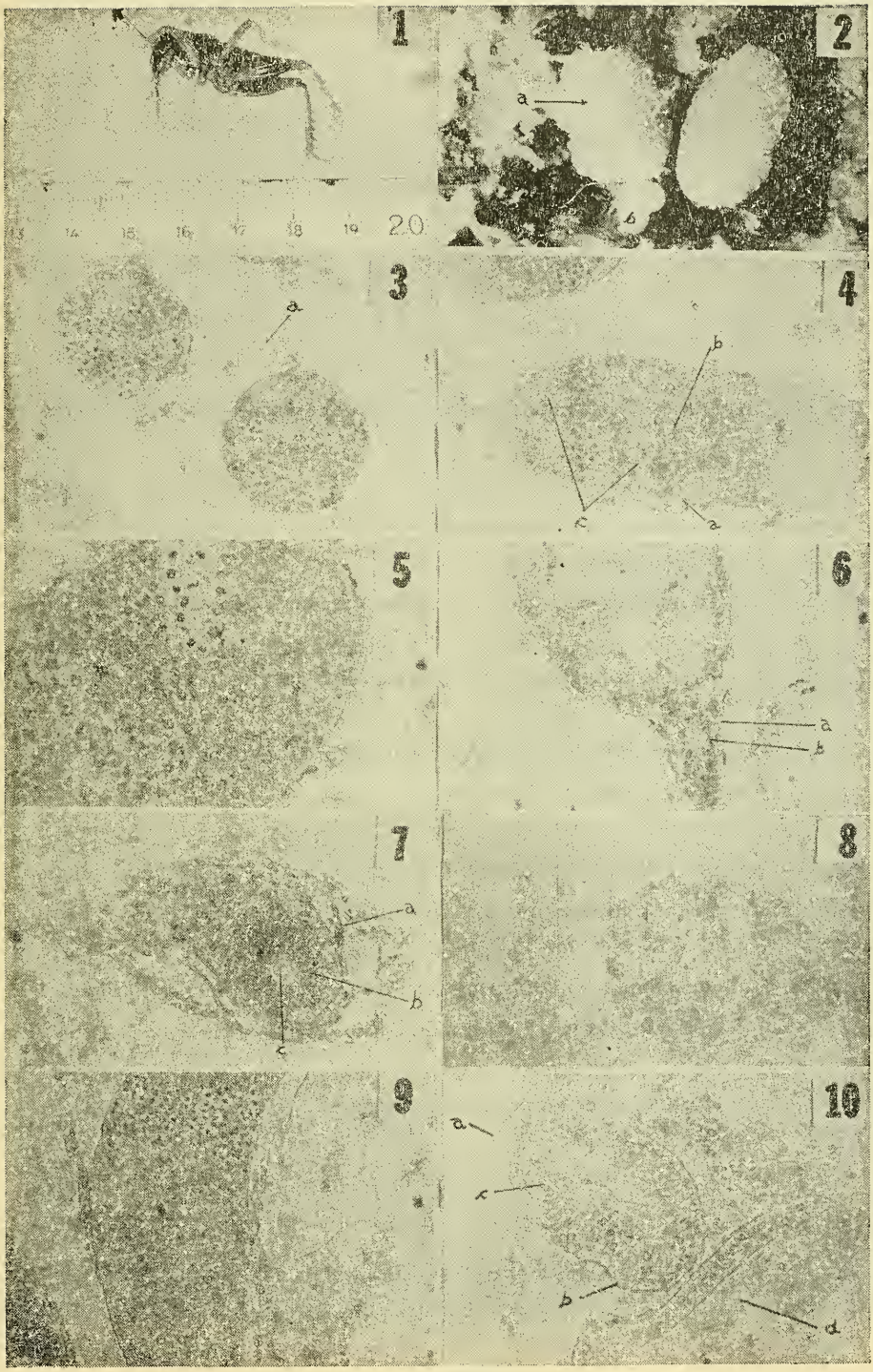
Fig. 10.— Corte transversal de conducto deferente:

a) células epiteliales que rodean al conducto.

b) epitelio plano.

c) células cilíndricas.

d) espermios. 144 x.


1
2
a
b
3
a
4
b
c
a
5
6
a
b
7
a
b
c
8
9
10
a
c
b
d

LAMINA II

Fig. 1.— ♂ abierto ventralmente: a) vesícula seminal inmadura. 3.5 x.

Fig. 2.— Corte de vesícula seminal inmadura. 315 x.

Fig. 3.— Pared de vesícula seminal inmadura. a) zona externa, b) zona interna. 630 x.

Fig. 4.— Puente interno en vesícula seminal inmadura: a) invaginación. 630 x.

Fig. 5.— Puentes internos en vesícula seminal inmadura. 315 x.

Fig. 6.— ♂ abierto ventralmente: a) vesícula seminal madura. 3.4 x.

Fig. 7.— Corte topográfico de vesícula seminal madura: a) túbulos, b) saco eyaculador, c) conducto eyaculador. 17.5 x.

Fig. 8.— Cortes de túbulos de vesícula seminal madura. a) túbulos que presentan espermios, b) túbulos que no presentan. 315 x.

Fig. 9.— Corte de túbulo con espermios en el lúmen: a) células fusiformes, b) células cilíndricas, c) espermios. 1575 x.

Fig. 10.— Corte de túbulo que no presentan espermios: a) células dispersas. 1575 x.

1
a
2
3
a
b
4
a
5
6
7
a
b
c
8
b
a
9
a
b
c
10
a

LAMINA III

Fig. 1.— Corte transversal medio de vesícula seminal madura. 150 x.

Fig. 2.— Vesícula seminal madura: a) musculatura estriada. 533 x.

Fig. 3.— Cavidad de vesícula seminal con bordes digitiformes. 1103 x.

Fig. 4.— Pene y saco eyaculador: a) saco eyaculador, b) pene. 35 x.

Fig. 5.— Corte transversal de pene: a) musculatura estriada, b) estructuras escamosas. 787.5 x.

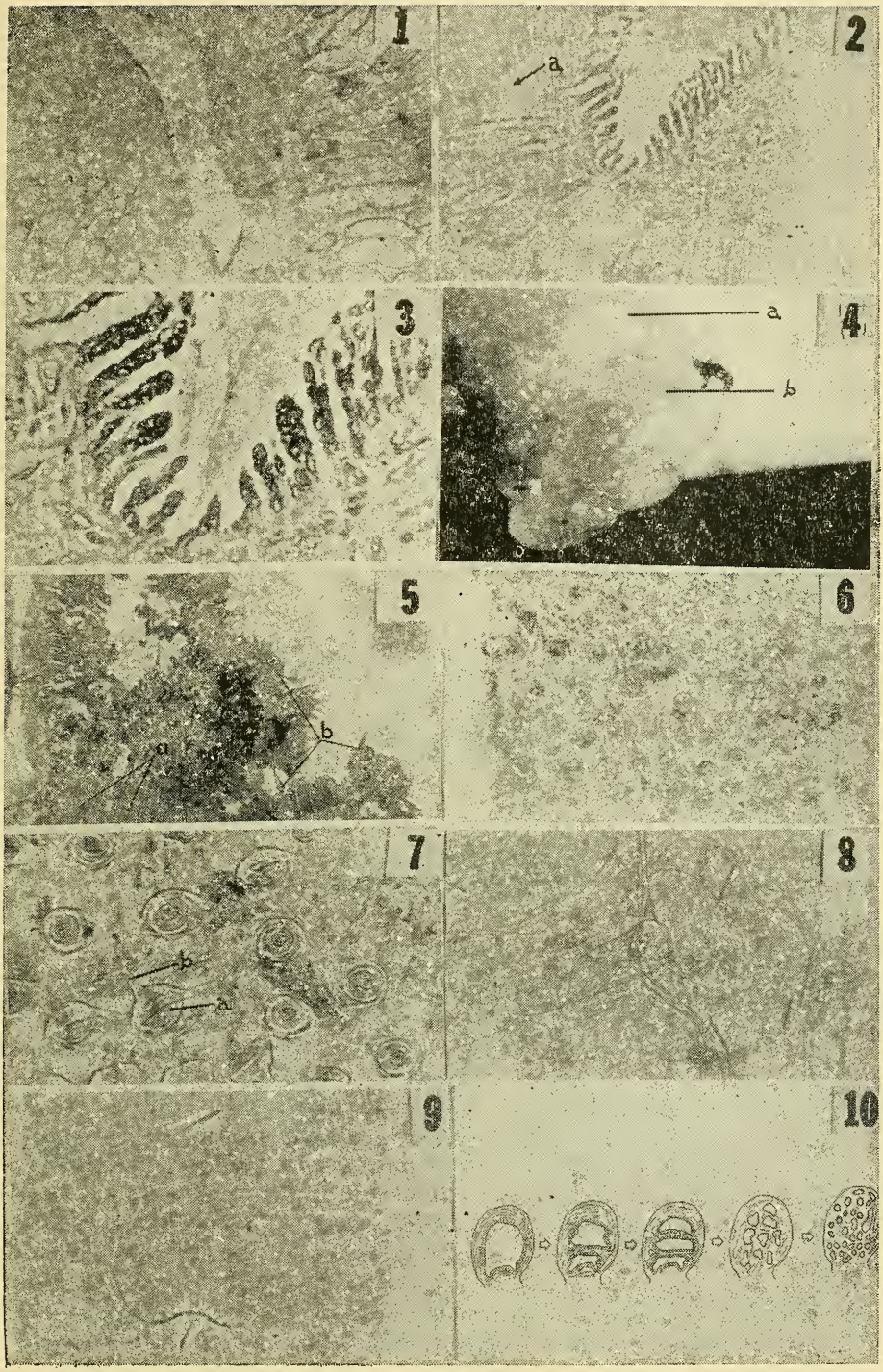
Fig. 6.— Estructuras escamosas. 315 x.

Fig. 7.— Estructuras escamosas: a) base, b) extremo. 630 x.

Fig. 8.— Frotis de espermatozoides. 20 x.

Fig. 9.— Espermios en solución fisiológica. 30 x.

Fig. 10.— Hipótesis sobre la morfogénesis de túbulos de vesícula seminal.


1
2
a
3
4
a
b
5
b
a
6
7
b
a
8
9
10