

ANALISIS ESTRUCTURAL EN OVARIO DE  
GRYLLACRIDIDAE

P O R

E. GUZMAN C, A. ANGULO O. Y M. DELPIN A.

Instituto Central de Biología

Departamento de Biología Celular

*I N T R O D U C C I O N*

De los trabajos de Favard-Séréno 1968, en ovocitos de Gryllidae se deduce la importancia que estas estructuras citológicas pueden tener en estudios de relaciones nucleocitoplasmáticas. Especial interés tienen las modificaciones de estructura de los nucléolos como precursores del ácido ribonucleico ribosómico, en el desarrollo del citoplasma.

Nuestras investigaciones son conducidas sobre estructuras ovocíticas en Gryllacrididae, ya que estimamos se trata de un material óptimo para contribuir a los estudios de síntesis y distribución de ácidos ribonucleicos. Previo a ésto, hemos considerado de interés efectuar un estudio histocitológico de ovarios en Gryllacrididae, ya que al realizar la revisión bibliográfica, nos encontramos con poca información al respecto. Las referencias existentes consideran otras especies de familias afines, e incluso en ellas no está perfectamente dilucidado el problema histológico de ovarios (Saez, 1956; Patton, 1963; De Wilde, 1964; Kaye, 1966; Fontana, 1969).

Con este estudio se dispondrá de un excelente material biológico para experimentación citoquímica y con ello penetrar en el mecanismo de las relaciones nucleocitoplasmáticas en general y de des-

plazamiento de ácidos ribonucleicos en particular. Por otra parte, habremos contribuído a aclarar la histología de este órgano en Gryllacrididae.

## MATERIALES Y METODOS

### a) *Sustrato biológico.*

Se experimentó con ejemplares maduros e inmaduros de *Cratomelus armatus* Blanch. colectados en la zona de Concepción, Chile.

La madurez de *Cratomelus armatus* Blanch. (♀) se estableció considerando el pronotum con más de 0.8 cm. de longitud; y en ellos se tomó como base la longitud de huevos ovipuestos (0.4 cm.), cuyos ovarios presentan el ovocito más cercano al pedicelo con una longitud de 0.4 cm., de aspecto netamente opaco provisto de un corion notable.

Como estado inmaduro, se considera aquellos especímenes cuyo pronotum mide menos de 0.8 cm. y cuyos ovocitos más cercanos al pedicelo ovarial midan menos de 0.4 cm. de longitud, presentando un aspecto hialino y cuyo corion está en vías de formación.

### b) *Reactivos, Materiales e Instrumental.*

Reactivos y materiales de uso frecuente para técnicas histológicas en el laboratorio de Citología del Departamento de Biología Celular.

- 1.— Solución fijadora Carnoy usada por Rai (1963).
  - 2.— Hematoxilina-Eosina.
  - 3.— Reactivo Schiff (para Feulgen).
  - 4.— Orceína acética-láctica (Breland-1964).
  - 5.— Alcohol metílico.
  - 6.— Eter sulfúrico.
  - 7.— Microscopios, estufas, micrótomos para inclusión, etc.
- Los reactivos usados son de procedencia Merck.

## B) *METODOS*

Los especímenes colectados se mantienen en el laboratorio en una cámara de crianza.

Se procede a disecar, previa anestesia con éter sulfúrico, en una cápsula de disección con suero fisiológico para ortópteros (Patton 1963).

Se fija el espécimen dorsalmente, se abre por la línea ventral media, desechando el tejido adiposo, muscular y nervioso. Se corta el tubo digestivo en su extremo rectal, se levanta, quedando al descubierto los ovarios; se extraen y se fijan de inmediato en Carnoy, 3 horas para las inmaduras y 6 horas para las adultas.

Previo los pasos de lavado, deshidratación e inclusión en parafina se procede a cortar en un micrótopo de rotación. Los cortes se hacen de 6 micrones.

En el caso de los ovarios maduros es necesario hacer un tratamiento previo a la fijación con hipoclorito de sodio al 2,5% durante 5 minutos (Angulo 1969), debido a la impermeabilidad del corion a los fijadores y agentes deshidratantes.

Las tinciones se efectúan con hematoxilina de Mayer-Eosina y la reacción de Feulgen.

## RESULTADOS

### *Análisis Histológico de Ovario de Estados Inmaduros de Gryllacrididae*

En los estados inmaduros se ubican los ovarios transparentes (Fig. 1), cuyos ovariolos son del tipo panoístico (Brandt 1874) (Fig. 2).

Macroscópicamente, el ovario se presenta formado por un conjunto de ovariolos fusiformes.

En corte longitudinal, el ovario inmaduro presenta externamente una membrana compuesta de una capa de células epiteliales planas del mismo tipo que la que envuelve a cada ovariolo.

Cada uno de estos ovariolos termina en su extremo proximal en un pedicelo que se abre hacia el oviducto (Du Porte) 1964). En su extremo distal se observa un filamento terminal formado por células cúbicas con núcleos relativamente grandes. A continuación puede observarse el germarium (Fig. 3) que presenta células de mayor tamaño las cuales corresponden a los ovocitos, que se ubican uno al lado del otro. Estos presentan un núcleo que se tiñe muy poco con la hematoxilina.

En el vitellarium, los ovocitos en su proceso de maduración aumentan de tamaño, tanto núcleo como citoplasma, conservando la relación de Hertwig.

El nucleolo, se va fragmentando. Esta fragmentación alcanza su máxima expresión al llegar al pedicelo. Cada ovocito está rodeado de una capa de células foliculares planas (Fig. 4).

La observación del pedicelo del extremo proximal de cada ovariolo permite visualizar células cilíndricas con núcleos basales; estas

están cubiertas externamente con una capa de células planas que envuelve al resto del ovaríolo (Fig. 5).

El calix, se encuentra formado por una capa externa de células fusiformes con núcleos esféricos y una interna de células cilíndricas con núcleo basal.

El oviducto lateral es histológicamente semejante al calix.

### *Análisis Histológico de Ovario de Estados Maduros de Gryllacrididae*

En este estado se observan macroscópicamente los ovarios con ovaríolos de aspecto blanco-amarillento y de mayor tamaño que el anterior (Fig. 6). Recubre a cada ovario una membrana transparente. En la bursa copulatrix desemboca el ducto de la espermateca la cual presenta forma de saco.

En un corte histológico longitudinal se observan ovocitos de diferentes tamaños (Fig. 7). Con las técnicas empleadas, ya descritas, no fue posible conservar estructurado el citoplasma pudiendo observarse solamente placas vitelinas dispersas (De Wilde 1964). Cada ovaríolo presenta una capa celular externa semejante a la descrita para el ovaríolo inmaduro (Fig. 8).

Los ovaríolos presentan ovocitos ubicados linealmente y que en forma gradual aumentan de tamaño al aproximarse al pedicelo. Los ovocitos de mayor tamaño llevan una capa externa de células cilíndricas que poseen núcleo grande y cromatina granulosa y nucléolo esférico y compacto (Fig. 8).

El citoplasma ovocítico presenta estructuras placoides vitelínicas (Figs. 7 y 8). En ningún corte fue posible visualizar el núcleo aún empleando tinción Feulgen. En los ovocitos más pequeños, la capa externa es de células más planas y su citoplasma se caracteriza por presentar vitelo proteínico.

En el pedicelo del ovaríolo y próximo al ovocito se observan células fusiformes transversalmente ubicadas y seguidas de células amorfas con abundancia de vacuolas (Fig. 9).

En la bursa copulatrix desemboca el conducto de la espermateca. La espermateca presenta una morfología ovoide y el conducto es sinuoso.

En el corte histológico, la espermateca presenta externamente una capa de células planas, seguida de dos o más capas de fibras musculares estriadas (Fig. 10) y hacia el lumen varias capas de células cilíndricas de las cuales las basales son más altas y hacia el lumen se hacen cúbicas.



## DISCUSION

Al efectuar el análisis histológico de ovarios de Gryllacrididae, hemos seguido la terminología dada por Du Porte en 1964.

Los oviductos laterales hacen un corto recorrido para desembocar separadamente en la bursa copulatrix; esto presenta un carácter afin con *Acheta assimilis* (Gryllidae), en la que tampoco se observa el conducto medio, en cambio éste se encuentra en Acrididae. En la familia Gryllacrididae y Gryllidae, el conducto espermatecal se conecta directamente con la bursa copulatrix; en Acrididae el conducto espermatecal desemboca en el oviducto mediano.

También en nuestro estudio fue posible establecer la presencia de una membrana envolvente del ovario, membrana ausente en *Acheta* (Gryllidae) y *Melanoplus* (Acrididae).

En las estructuras ovariales accesorias en Gryllacrididae no fue posible observar glándula oviducal, que se manifiesta en *Melanoplus*, ciertamente porque en nuestro caso los huevos son ovipuestos individualmente y en *Melanoplus* requieren de la secreción oviducal como coadyuvante en la ovipostura masiva.

Estudiando comparativamente la presencia y disposición de las estructuras inductivas de la fecundación y ovipostura podría aceptarse una tendencia evolutiva que va de Gryllacrididae y Gryllidae hacia Acrididae ya que la presencia de oviducto mediano y glándula oviducal representa una conjunción óptima de factores que hacen altamente probable la fecundación (mayor tiempo de contacto entre los óvulos y espermios por su desplazamiento conjunto por el oviducto mediano), y la secreción oviducal favorece la ovipostura masiva protegiéndola contra acciones mecánicas y de desecación.

En el corte histológico del ovario se puede establecer que el aumento de tamaño del ovocito y la fragmentación del material nucleolar es similar a la observada por Farvard-Séréno (1968) en Gryllidae lo que permite suponer que este material es adecuado para el estudio de relaciones nucleocitoplasmáticas y sobre todo, pesquisar los precursores del ácido ribosómico.

Sin embargo, para las observaciones ovocíticas maduras se precisa técnicas para extracción de vitelo antes de efectuar tinciones diferenciales, aunque para núcleo propiamente tal y de acuerdo con Farvard-Séréno (1963), se precisará técnicas histoquímicas o espectrofotométricas finas ya que su contenido en ADN no es fácilmente revelable por citoquímica corriente.

La pobreza de ADN, citoquímicamente expresado, bien puede deberse al exceso de vitelo.

La presencia de un nucléolo grande en ovocitos inmaduros y su fragmentación posterior revela una activa participación en mecanismos de conducción de síntesis proteica.

## CONCLUSIONES

Del estudio anatómo-histológico de gónadas femeninas de Gryllacrididae se desprende que comparativamente Gryllacrididae y Gryllidae corresponden a un estado de evolución que va hacia Acrididae. La descripción de células ovocíticas permite pensar que es un material utilizable para estudios de relaciones nucleocitoplasmáticas, en cuanto a desplazamiento del ácido ribonucleico. No sería un material adecuado para estudio de relaciones con el ADN, ya que la abundancia de vitelo lo impide.

## RESUMEN

Se hace un estudio anatomohistológico con proyecciones citológicas en gónadas femeninas de Gryllacrididae.

Se estudia comparativamente las estructuras orgánicas de gónadas femeninas con Gryllidae y Acrididae. Se establecen relaciones evolutivas.

La presencia de células ovocíticas grandes y abundancia de material nucleolar permiten determinar que se trata de un buen material para estudios de interrelación nucleocitoplasmática.

## SUMMARY

A study of the anatomy and histology of the female gonads in Gryllacrididae, with cytological projections, is presented.

The female gonads of Gryllacrididae are compared with those of Gryllidae and Acrididae. Evolutive relations are established.

Gryllacrididae are a good subject for the study of nucleocytoplasmic interaction, since they have large ovocytical cells and abundant nucleolar material.

## BIBLIOGRAFIA

- ANGULO, O. A.  
1969 Técnica histológica para huevos incubados de Orthoptera. Bol. Soc Biol. (1967), 41 : 207.
- BRANDT, A.  
1874 Mem. Acad. Sci. St. Petesbourg. 21 : 7.
- BRELAND, P., O.  
1964 Studies of meiosis in the male of the mosquito *Culiseta inornata*. Ann. Entomol. Soc. Amer. 57 : 472-479.
- DE WILDE, J.  
1864 The physiology of insecta. Academic Press, New York and London 10-58.
- DU PORTE, E. M.  
1964 Manual of insect morphology. Reinbold Pubilshing Co. New York, Chapman & Hall, Ltd., London. 184-199.
- FAVARD-SERENO, C.; DURAND, M.  
1963 L'utilisation de nucléosides dans l'ovaire du Grillon et ses variations au cours de l'ovogenese. II. Incorporation dans l'ADN. Developmental Biology, 6, 206-218.
- FAVARD-SERENO, C.  
1968 Evolution des structures nucleolaires au cours de la phase d'accroissement cytoplasmique chez le grillon (Insecte, Orthoptère). J. Microscopie. 7 : 205-230.
- FONTANA, P. G. & MORGAN, T. W.  
1969 Cytogenetic and hybridization studies of geographic populations of *Teleogryllus commodus* (Valk) and *T. oceanicus* (Le Guillon) (Orthoptera: Gryllidae). Austral. J. Zool. 17 : 13-35.
- KAYE, J. S. & MCMASTER-KAYE, R.  
1966 The fine structure and chemical composition of nuclei spermiogenesis in the house cricket. I. Initial stages of differentiation and the loss of non histone protein. The J. Cell. Biol. 31 : 159-179.
- PATTON, R. L.  
1963 Introductory insect physiology. W. B. Saunders Co. Phyladelphia and London. 1963.
- RAI, K. S.  
1963 A comparative study of mosquito karyotypes. Ann. Entomol. Soc. Amer. 56 : 160-170.
- SAEZ A., F.  
1956 Cytogenetics of South American Orthoptera. Nature 177, 1956.
- WIGGLESWORTH, V. B.  
1956 Insect physiology. London; Methuen & Co. Ltd. New York; John Wiley & Sons, Inc. 13-27.



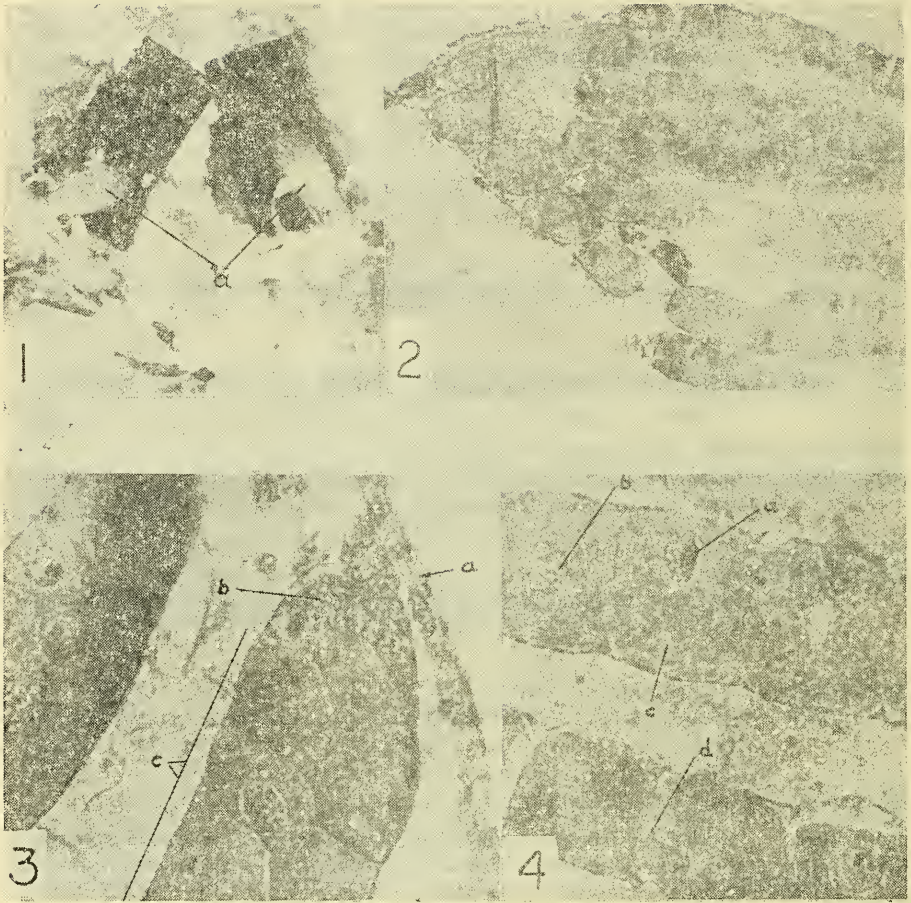


Fig. 1.— (a) Ovarios inmaduros. 12 X.

Fig. 2.— Corte longitudinal de ovario inmaduro. 210 X.

Fig. 3.— Detalle de ovariolos. (a) Filamento terminal; (b) germanium; (c) Vitellarium. 1224 X.

Fig. 4.— Detalle de ovariolos. (a) nucleolo; (b) núcleo; (c) citoplasma; (d) células foliculares. 1530 X.



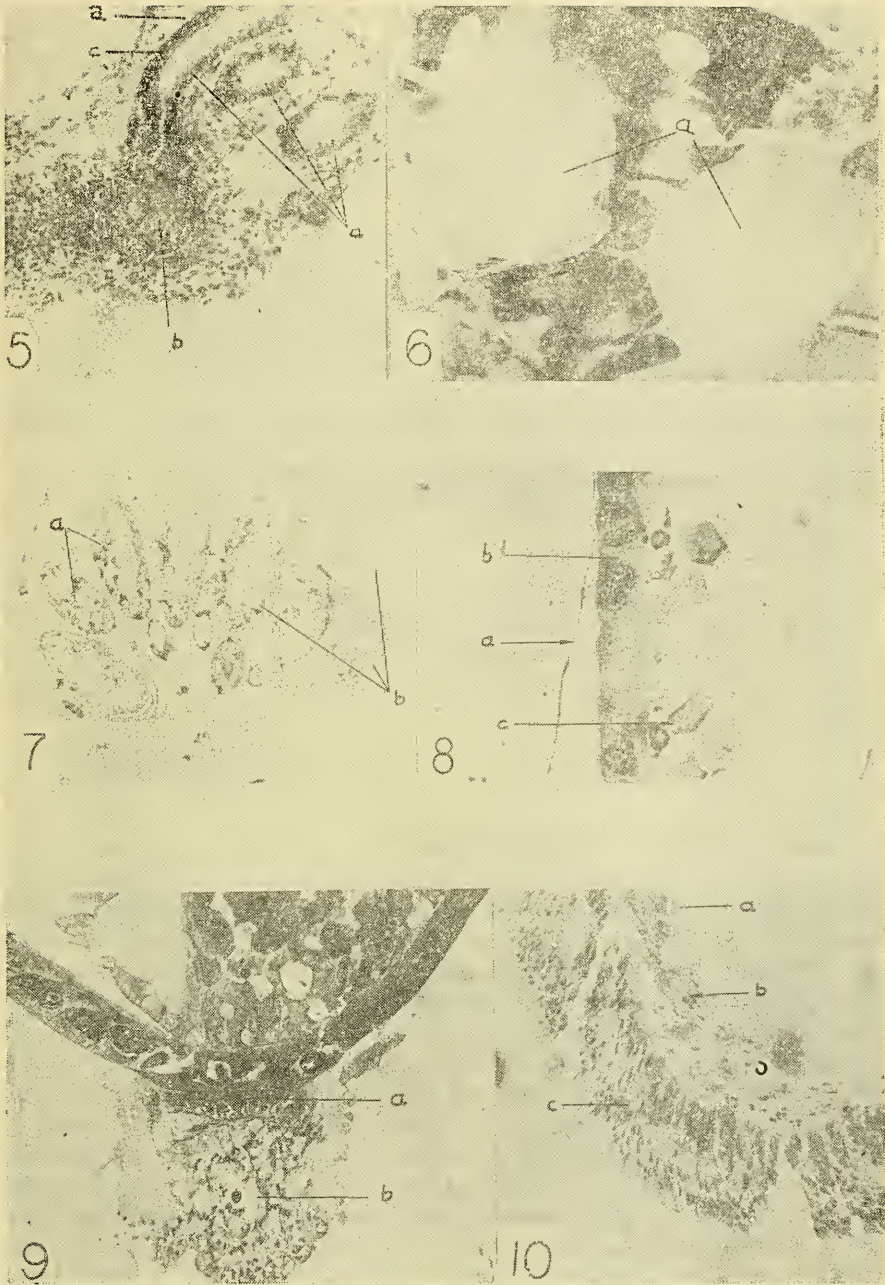


Fig. 5.—Pedicelos y calix del ovario. (a) pedicelos; (b) calix; (c) células cilíndricas; (d) células planas. 630 X.

Fig. 6.—(a) Ovarios maduros. 7 X.

Fig. 7.—Corte longitudinal de ovario maduro. (a) placas vitelinas; (b) ovocitos. 15.7 X.

Fig. 8.—Pared de ovariole y ovocito. (a) pared de ovariole; (b) pared de ovocito; (c) placas vitelinas. 1530 X.

Fig. 9.—Pedicelo del ovariole. (a) células fusiformes; (b) células amorfas. 1530 X.

Fig. 10.—Pared de espermateca. (a) capa externa; (b) fibras musculares estriadas; (c) capa interna. 630 X.