

EL TRACTO REPRODUCTIVO DE LA HEMBRA EN CROCODYLIA: ESTUDIO HISTOLÓGICO Y ULTRAESTRUCTURAL DE *Caiman crocodilus fuscus* (Crocodylia: Alligatoridae)

GLORIA ROMERO DE PÉREZ¹ y
MARTHA PATRICIA RAMÍREZ PINILLA²

¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias,
Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

²Laboratorio de Biología Reproductiva de Vertebrados,
Escuela de Biología, Grupo de Estudios de la Biodiversidad,
Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

RESUMEN

Las características histofisiológicas del sistema reproductor femenino de *Caiman crocodilus fuscus* es descrito en esta revisión, algunos caracteres del sistema reproductor no descritos en otras especies de Crocodylia, son comentados.

Palabras clave: Crocodylia, Alligatoridae, *Caiman crocodilus fuscus*, ovario, oviducto, histología, ultraestructura.

ABSTRACT

The histological features of the female reproductive system of *Caiman crocodilus fuscus* are described in this review, including aspects not previously described for other Crocodylia species

Key words: Crocodylia, Alligatoridae, *Caiman crocodilus fuscus*, ovarious, oviduct, histology, ultrastructure.

INTRODUCCIÓN

Las características histofisiológicas del sistema reproductor femenino de las especies de Vertebrata responden a un patrón común, pero existen diferencias entre los diversos taxa, y aún entre organismos filogenéticamente cercanos (Lombardi, 1998). La distribución biogeográfica en muchos casos determina variaciones en los rasgos estructurales y de comportamiento reproductivo de las especies. En Reptilia por ejemplo, la información disponible es conocida especialmente para especies de zonas templadas del norte con estrategias y patrones reproductivos poco diversificados, en contraste con las especies de regiones intertropicales. Esta afirmación es válida especialmente para Crocodylia, de las cuales sólo se conoce de manera fragmentaria la estructura de este sistema en *Alligator mississippiensis*. El trabajo realizado en hembras adultas de *Caiman crocodilus fuscus* en cautiverio, tiene una connotación importante desde el punto de vista de las relaciones filogenéticas con especies en vías de extinción.

ción, y del manejo de esta especie en cautividad. El estudio sobre la actividad reproductiva anual y la morfología de los tractos reproductivos por microscopía óptica y por microscopía electrónica de transmisión (TEM) que desarrollamos en colaboración los laboratorios de Microscopía Electrónica de la Universidad Nacional de Colombia y de Biología Reproductiva de Vertebrados de la Universidad Industrial de Santander, ha mostrado una morfología general similar a la de otras especies de Reptilia; sin embargo, el examen detallado nos ha revelado caracteres del sistema reproductor femenino no descritos en otras especies de Crocodylia, los cuales se comentan en la presente revisión.

ORGANIZACIÓN DEL OVARIO

En *Caiman crocodilus fuscus* el ovario es una estructura alargada, limitada externamente por una delgada pared compuesta por epitelio cúbico o escamoso, tejido conjuntivo y pequeños haces de fibras musculares lisas y membranas elásticas. Estos mismos elementos forman una red de cordones vascularizados hacia el estroma, rodeando vasos linfáticos de gran tamaño, o limitando espacios o lagunas (De Pérez *et al.*, 1999; Calderón, *comunicación personal*). Esta organización conocida como sistema cordo-lacunar se encuentra en *Alligator mississippiensis*, y aunque menos desarrollado, también en Aves y Testudines (Callebaut, 1988; Uribe y Guillette, 2000). Su función principal es el soporte de todos los elementos foliculares, y una capacidad de expansión durante el ciclo reproductivo. La presencia de linfáticos no ha sido registrada en la literatura, si bien en *C. c. fuscus* estos vasos se identifican fácilmente por su estructura y el conte-nido de células linfáticas (De Pérez *et al.*, 1999). En muchos de ellos se observan innumerables gotitas de lípido. Paralelo a este hallazgo, en ciertas regiones del endotelio se presentan áreas citoplasmáticas voluminosas con gránulos de tamaño heterogéneo, visibles en secciones histológicas (De Pérez *et al.*, 1999), cuya naturaleza se desconoce.

La composición tisular observada en el ovario de *Caiman crocodilus fuscus* es semejante a la descrita en *Alligator mississippiensis*, lo que permite suponer que estos rasgos son compartidos por otros Crocodylia. Muchas de estas características son comunes con Aves, un hecho significativo que indica una similitud estructural y funcional del sistema reproductivo en Archosauria. Un carácter común con estos últimos es la presencia de numerosos lechos germinales subyacentes al epitelio de la pared del ovario. Basados en las descripciones de la literatura (Guraya, 1989), en los lechos germinales de *C.c. fuscus* se han identificado dos tipos celulares, oogonias y oocitos (De Pérez *et al.*, 1999), y células foliculares como ocurre en otros Crocodylia (Uribe y Guillette, 2000), en Squamata (Klosterman, 1983, Guraya, 1989, Uribe *et al.*, 1995, 1996), y en Testudines (Callebaut y van Nassauw, 1987); sin embargo las oogonias están ausentes en el ovario adulto de Aves (Guraya, 1989; Callebaut *et al.*, 1997). En *C. c. fuscus* los lechos germinales presentan tres tipos de arreglo: 1. lechos cubiertos de una delgada capa conjuntiva que contienen principalmente oogonias, 2. lechos desnudos con oocitos primordiales y células foliculares, y 3. oocitos individuales dispersos en el estroma cortical rodeados de células de origen somático que forman la granulosa.

Según algunos autores, en Aves este tipo de variabilidad es un mecanismo regulador del desarrollo de los oocitos en los folículos (Guraya, 1989), pero como se ha propuesto en *C. c. fuscus*, podría responder a etapas sucesivas de un mismo patrón (De Pérez *et al.*, 1999).

En la foliculogénesis de *C. c. fuscus* se identifican estados de desarrollo asimilables a la clasificación propuesta por Uribe y Guillette (2000) en *Alligator mississippiensis*. Los estados I y II corresponden a folículos tempranos dentro de lechos germinales, los estados III a V a folículos en previtelogénesis, y los estados VI a VIII a etapas sucesivas de vitelogénesis. En el proceso de maduración de los folículos se desarrollan eventos que se traducen en modificaciones por aparición y redistribución de sus componentes con un incremento en su tamaño. Los folículos en estados tempranos localizados cerca a la pared del ovario, exhiben una teca delgada, con una capa simple de células foliculares que forman la capa granulosa. El estado previtelogénico III se reconoce al microscopio de luz -en secciones semifinas- por el aspecto fibrilar del complejo de Balbiani, cuya organización particular se evidencia al microscopio electrónico de transmisión como un área rica en mitocondrias localizadas entre cadenas largas de perfiles cortos de Retículo Endoplasmático Liso, complejo de Golgi, lisosomas y gotitas de lípidos (De Pérez *et al.*, 1999), creando un ambiente celular propicio para una elevada actividad metabólica (Guraya, 1989). Esta estructura es común en otras especies de Reptilia con huevos telolecitos (Guraya, 1989; Callebaut *et al.* 1997; Uribe *et al.*, 1995, 1996; Uribe y Guillette, 2000).

La vitelogénesis se define como un proceso durante el cual los folículos y oocitos incrementan su tamaño en virtud de un mayor desarrollo de sus constituyentes y de cambios que conducen a la transformación y acumulación del material energético que requiere la maduración del oocito como parte de la etapa preparatoria a la ovulación y a un eventual proceso de fertilización y desarrollo. Paralelo al crecimiento del oocito, las células de la granulosa adquieren un aspecto cuboidal y el espesor de la teca aumenta por un desarrollo gradual de la cubierta conjuntiva ricamente vascularizada con aumento de fibroblastos, fibras colágenas y haces de fibras musculares lisas en la teca externa (De Pérez *et al.*, 1999). Uno de los eventos que inicia la vitelogénesis es la dispersión de los componentes del complejo de Balbiani en el ooplasma. Posteriormente se empieza la acumulación de vitelo con el transporte de precursores y su interacción con materiales en el interior del oocito (Guraya, 1989, Uribe *et al.*, 1995, 1996). En el ooplasma se evidencian vesículas cubiertas y mitocondrias elongadas cerca a la zona radiata, y se establece una relación estrecha entre las proyecciones de las células de la granulosa y formaciones digitiformes de la membrana plasmática del oocito (De Pérez *et al.*, 1999). Esta íntima asociación es una característica común en las especies de Vertebrata a través de numerosos procesos que interdigitán durante la fase de crecimiento, y todo el folículo está acoplado con complejos de unión tipo nexo (Anderson y Albertini, 1976; Gilula *et al.*, 1978; Browne *et al.*, 1979; Browne y Werner, 1984; Kessel *et al.*, 1985). En *C. c. fuscus* la membrana del oocito se invagina profundamente formando canalículos que terminan en pequeños bulbos y conjuntamente con las vesículas cubiertas del ooplasma participan en procesos de absorción y transporte

de nutrientes (De Pérez *et al.*, 1999); esta misma función se ha asignado a los denominados *lining bodies* en Testudines y Aves (Paulson y Rosenberg 1972, Guraya 1989, Kovács *et al.* 1992).

En *Caiman crocodilus fuscus* se detectan lípidos en las células de la granulosa en folículos en vitelogénesis temprana cuando ya se evidencian plaquetas vitelinas en la región periférica del ooplasma y de manera particular en algunos vasos linfáticos próximos a estos folículos, lo que indicaría que los linfáticos podrían estar implicados en el transporte de lípidos para su utilización en el ooplasma (De Pérez *et al.*, 1999). En otros Reptilia la absorción de estos compuestos y la síntesis de vitelo han mostrado tener una estrecha relación; específicamente en Aves se ha observado un incremento de fosfolípidos y triglicéridos en las células foliculares a medida que crece el oocito (Guraya, 1989). Se puede concluir que la estructura fina de las células de la granulosa y el ooplasma periférico en *Caiman crocodilus fuscus* sugiere un patrón de acumulación de vitelo que involucra un mecanismo de absorción bien desarrollado, descrito también para otros Reptilia lecitotróficos. Los lípidos en la granulosa y en células de la teca también podrían tener una función en la síntesis de esteroides. Las células de la granulosa en algunas Aves cuando el oocito tiene un diámetro preovulatorio (Guraya, 1989), y en las células de la teca en ciertas especies de Reptilia (Callard *et al.*, 1972; Guraya, 1978, 1989; Callebaut *et al.*, 1997) exhiben los organelos responsables de esta actividad. En el estudio realizado en *C. c. fuscus* la ultraestructura de las células no mostró ser especialmente rica en los organelos implicados de la síntesis de estas hormonas (De Pérez *et al.*, 1999); sin embargo nuestro estudio se realizó en folículos vitelogénicos tempranos, pudiendo quizás, como en Aves, desarrollarse sólo en los oocitos preovulatorios. Así mismo, Guraya (1978, 1989) y Lance (1989) encontraron que el epitelio de folículos en crecimiento de Squamata, Aves y en *Alligator mississippiensis* contienen enzimas que intervienen en la esteroidogénesis, pero carecen de los organelos requeridos para la síntesis de estas hormonas. Aunque los procesos de encapsulación por células somáticas y las interacciones continuas entre el oocito y las células foliculares son notablemente similares en diversos organismos, el conocimiento de los genes y las vías de señalización involucradas en el ensamblaje del folículo es incompleta para la mayoría de las especies y los mecanismos moleculares son aún un enigma; así, un estudio sistemático de la formación del folículo y el análisis de moléculas que participan es un campo importante de investigación futura (Matova y Cooley, 2000).

El componente muscular en la pared del ovario, en el estroma reticular, y en la teca externa de los folículos vitelogénicos es un rasgo que *C. crocodilus fuscus* también comparte con otros Reptilia (Jones 1987; Van Nassauw *et al.*, 1991) y especialmente con Aves (Guraya, 1989). Es probable que las terminaciones nerviosas de neuronas motoras del sistema autónomo en el tejido conectivo circundante observadas en *C. c. fuscus* evidencien un mecanismo de control extrínseco de la actividad contráctil durante la foliculogénesis y la ovulación (De Pérez *et al.*, 1999). El hallazgo en el estroma del ovario de *C. c. fuscus* de neuronas intrínsecas con axones provistos de gránulos secretores a lo largo de su longitud y en las terminaciones axónicas cerca de vasos

linfáticos, semejantes a los axones de las células neurose-cretoras del hipotálamo, constituyen al parecer una novedad no observada en otros Reptilia (De Pérez *et al.*, 1999). En Aves, redes de fibras colinérgicas y adrenérgicas (Gilbert, 1968) han sido relacionadas con la contracción muscular y la regulación del flujo sanguíneo (Guraya, 1989). Estudios recientes han mostrado que en adición a la inervación extrínseca, los ovarios de Primates no humanos y de una raza de *Ratus ratus* (Dees *et al.*, 1995), y en el ovario de *Homo sapiens* en desarrollo durante la gestación tardía y el primer año postnatal (Anessetti *et al.*, 2001), contienen una población discreta de neuronas intrínsecas cuya heterogeneidad fenotípica sugiere una mayor influencia de neurotransmisores diferentes a las catecolaminas sobre la función gonadal. La observación de neuronas intrínsecas en varias especies, puede representar un carácter evolutivo requerido en una regulación más refinada a nivel ovárico. En relación con el significado del tipo de neuronas neurosecretoras en el ovario de *C. c. fuscus*, debe ser dilucidado, y plantea interrogantes en relación con el tipo de moléculas sintetizadas y su influencia en la fisiología ovárica de la especie.

En los Crocodylia (Lance, 1989; Guillette *et al.*, 1995; De Pérez *et al.*, 1999) y las Aves (Saidapur, 1982; Guraya, 1989) estudiados hasta el momento, el cuerpo lúteo tiene una estructura común, formada por una teca externa gruesa y una teca interna delgada separadas por pequeños capilares, y algunas células luteínicas en la región central. La detección de la enzima 3 β -HSD en estas últimas (Lance 1989), y una correspondencia entre las características histológicas del cuerpo lúteo y los niveles de progesterona (Guillette *et al.*, 1995) en *Alligator mississippiensis* sugieren una actividad esteroidogénica, cuya relevancia durante la gravidez ha sido señalada en esta especie. En *C. c. fuscus* su participación en la síntesis de hormonas y su relación con la vitelogénesis -teniendo en cuenta que las hembras grávidas pueden continuar con este proceso (Guerrero *et al.*, 2003)- y el mantenimiento de los huevos en el oviducto, no están dilucidados.

En el ovario de *Caiman crocodilus fuscus* el crecimiento de algunos folículos se previene por procesos atrésicos. Esta regresión folicular es un tipo de atresia invasiva con pleogramiento de la granulosa y de la zona pelúcida, proliferación de células de la granulosa y la invasión del ooplasma por células de la teca, de la granulosa y de células sanguíneas (De Pérez *et al.*, 1999). Una interpretación posible de este proceso es su relación con un mecanismo de regulación del tamaño de la camada como ha sido observado en otros Reptilia (Guraya, 1989). De nuestro trabajo sobre la morfología ovárica a nivel histológico y citológico de *Caiman crocodilus fuscus* se puede concluir que la morfología y fisiología del ovario de esta especie es compartida en términos generales con otros Reptilia, y principalmente con Archosauria (*Alligator mississippiensis* y Aves) en aspectos particulares: 1. la foliculogénesis, incluyendo la morfología del cuerpo lúteo y folículos atrésicos, 2. un sistema cordolacunar con grandes vasos linfáticos que rodean los folículos en desarrollo, 3. presencia de oogonias en el ovario adulto, similar a *Alligator mississippiensis* y otros Reptilia, pero diferente de Aves. La similitud encontrada entre los Archosauria proporciona nuevos caracteres que sustentan su parentesco filogenético; sin embargo *Caiman crocodilus fuscus* y *Alligator mississippiensis* son especies emparentadas entre sí (dentro de la familia Alligatoridae) y se desconocen

estudios en otros miembros de Crocodylia que permitan comparar y determinar si éstas son características comunes dentro de este grupo. De otro lado muchas de las características descritas en esta especie y los demás Reptilia indican mecanismos fisiológicos que no se han dilucidado.

OVIDUCTO

En *Caiman crocodilus fuscus* el sistema reproductor tiene tractos pareados funcionales (Calderón, 1998; Bahamón, 2000), un patrón anatómico y morfológico común en especies de Vertebrata (Lombardi, 1998), entre los que naturalmente se incluyen otros Reptilia (Fox, 1977). Los oviductos son altamente contorneados, con tres regiones anatómicas bien definidas: anterior, media y posterior; la superficie interna revela pliegues que varían en orientación y complejidad en cada segmento, y según el estado fisiológico. El examen histológico permite establecer siete regiones denominadas infundíbulo anterior, infundíbulo posterior (región anterior), tubo, transición tubo-útero anterior (región media), útero posterior y vagina (región posterior) (Calderón, 1998; Bahamón, 2000), en coincidencia con la regionalización propuesta para otros Archosauria como *Alligator mississippiensis* (Palmer y Guillette, 1992), *Crocodylus intermedius* y Aves (*Gallus domesticus*, Taylor, 1970; Claver y Lawzewitzch, 1982). No obstante, en este grupo no hay una terminología uniforme de cada uno de estos segmentos por carencia de criterios histofisiológicos suficientemente claros.

De acuerdo con los trabajos de Calderón (1998) y Bahamón (2000) la pared del oviducto de *Caiman crocodilus fuscus* consta de una serosa representada por tejido epitelial cúbico bajo y tejido conjuntivo laxo, la muscular y la mucosa. El espesor de la capa muscular varía de acuerdo con la región, una capa externa de fibras orientadas longitudinalmente y una interna orientada circularmente. La microscopía óptica de alta resolución permitió determinar que en la superficie de la mucosa se encuentran cuatro tipos celulares: células ciliadas, columnares no ciliadas y dos tipos de células no ciliadas secretoras (Bahamón, 2000). La caracterización de los tipos celulares secretores mediante la aplicación de pruebas histoquímicas muestra que la mayoría de ellas son P.A.S. positivas y en menor proporción, azul de Alcian (pH 2,4) positivas (Bahamón, 2000). Resultados similares se han obtenido en Squamata (Hoffman y Wimsatt, 1972; Palmer y Guillette, 1988; Guillette, et al., 1989; Shanthakumari, 1992; Perkins y Palmer, 1996; Blackburn, 1998), Testudines (Abrams y Callard, 1991; Sarkar et al., 1995), Crocodylia (Palmer y Guillette, 1992) y en Aves (Draper et al., 1972; Solomon, 1975).

El estudio del ciclo anual reproductivo de *Caiman crocodilus fuscus* en condiciones de cautiverio evidenció los diferentes estados de actividad reproductiva en hembras y machos (Guerrero et al., 2003). Para ello se utilizaron las hembras de cada estado reproductivo encontrado, analizando la histología oviductal con base en cortes histológicos incluidos en parafina (Calderón, 1998) y cortes semifinos de material incluido en resinas epoxi para microscopía óptica de alta resolución. Se observó que el oviducto se modifica de manera significativa en los diferentes estados del ci-

clo reproductivo, particularmente durante la vitelogénesis y la gravidez, ya que se encuentra que hay hipertrofia generalizada de la mucosa, e incremento de la altura del epitelio luminal de todas las regiones. En vitelogénesis la secreción del contenido de los gránulos de las células epiteliales de la mucosa y de las glándulas es evidente; algunos de los cambios observados en este estado se conservan en la gravidez. En la lámina propia se alojan vasos sanguíneos, linfáticos y las glándulas encargadas de la secreción de las cubiertas del huevo, estas últimas particularmente desarrolladas durante la fase preovulatoria.

El infundíbulo anterior se considera una región de recepción y paso del ovocito recién ovulado. En previtelogénesis, la mucosa del extremo proximal (*ostium*) es plana y progresivamente desarrolla pliegues discretos de altura homogénea hacia la porción distal, en forma de vellosidades cortas con células epiteliales ciliadas y no ciliadas. En este estado, las células ciliadas se concentran en el ápice de las vellosidades. En vitelogénesis los pliegues adquieren mayor tamaño con predominio de células ciliadas e incremento de vascularización en la lámina propia (Calderón, 1998; Bahamón, 2000); eventos muy semejantes han sido descritos en otros Reptilia (*Lissemys punctata punctata*, Sarkar *et al.*, 1995; *Chrysemys picta*, Abrams y Callard, 1991) durante la etapa preovulatoria, mientras que un proceso inverso ocurre durante la fase de regresión postreproductiva. En las células ciliadas del epitelio luminal el citoplasma es poco electrodenso especialmente en hembras vitelogénicas y las membranas laterales tienden a ser rectas. En todos los estados contienen numerosas mitocondrias en la región apical cerca de los cuerpos basales (Bahamón, 2000) necesarias para proveer la energía para el movimiento ciliar, responsable del desplazamiento de los ovocitos, los espermatozoides (Fox, 1977), sustancias y bacterias Blackburn (1998). Con excepción del *ostium*, en hembras vitelogénicas, pero no en previtelogénicas, las células no ciliadas contienen un área supranuclear con un agregado de gránulos que tiñen intensamente con azul de toluidina, pero no muestran ninguna afinidad por P.A.S. ni con azul de Alcian (De Pérez, *comunicación personal*). En Aves, y en otras especies de Reptilia (Cuellar, 1966; Palmer y Guillette, 1988; Palmer y Guillette, 1990; Sarkar *et al.*, 1995; Palmer y Guillette, 1992) las células epiteliales (ciliadas y no ciliadas) del infundíbulo también son secretoras.

La ubicación, morfología e histología del infundíbulo posterior de *Caiman crocodilus fuscus* (Bahamón, 2000), concuerdan con el segmento del mismo nombre en *Alligator mississippiensis* (Palmer y Guillette, 1992) y la porción chalacifera de *Gallus domesticus*, anteriormente denominada infundíbulo posterior o cuello infundibular (Claver y Lawzewitzch, 1982). Es una región corta que corresponde al estrechamiento del embudo infundibular, con pliegues mucho más altos, anchos y convolutos -en espiral- que en el infundíbulo anterior y un espacio reducido entre ellos. La mayoría de células del epitelio luminal de este segmento son secretoras con abundantes gránulos que tiñen intensamente con P.A.S., y en menor cantidad células caliciformes azul de Alcian positivas en el ápice de los pliegues. Complejos de unión tipo zona ocludens mantienen en estrecha asociación las células del epitelio. En vitelogénesis la reacción P.A.S. es positiva en la mayoría de las células (Bahamón, 2000). Sin embargo no

forman unidades glandulares multicelulares “verdaderas” como lo han constatado otros autores en Aves y en *Alligator mississippiensis* (Wyburn et al., 1970; Palmer y Guillette, 1992, respectivamente). En vitelogénesis y durante gran parte de la gravidez, las células del epitelio luminal se hipertrofian.

En Aves, estas células -P.A.S. positivas- se encargan de sintetizar una membrana de textura frágil alrededor de la yema, que a su paso por el *magnum* (tubo en Crocodylia) se condensa y forma la chalaza encargada de dar soporte al vitelo (Wyburn et al., 1970; Claver y Lawzewitzch, 1982). En Crocodylia sin embargo, esta estructura no tiene equivalencia (Ferguson, 1982, Manolis et al., 1987). Bahamón (2000) sugirió que la ausencia de chalaza en Crocodylia puede ser compensada por la producción de una o más sustancias (glicoproteínas) de alta viscosidad en el infundíbulo posterior, región que se caracteriza por un marcado aumento de la superficie de la mucosa con invaginaciones profundas y un incremento sustancial de células secretoras, sugiriendo un aporte importante en la producción de componentes de la albúmina que es de gran viscosidad en esta especie. La reacción positiva con azul de Alcian de células del extremo anterior del *magnum* (tubo, en Crocodylia) en Aves (Wyburn et al., 1970) y del epitelio oviductal de otras especies de Reptilia se ha asociado con secreción de ovomucina (glicoproteína fibrosa con un 30% de carbohidratos), un componente de la albúmina “gruesa”, y con la síntesis de mucosubstancias (glucosaminoglucanos) semejantes a la avidina (Perkins y Palmer, 1996). A esta primera capa de albúmina (con ovomucina y avidina, entre otras) se le han asignado funciones muy diversas: 1. constituirse en una barrera física de defensa contra microorganismos, 2. facilitar al embrión en desarrollo la captura de vitaminas que se hallen dentro de la albúmina (biotina, entre algunas posibles) (Palmer y Guillette, 1991), 3. lubricar la pared del ovario (Perkins y Palmer, 1996) y finalmente 4. constituir parte de la albúmina del huevo (Bahamón, 2000). En *Caiman crocodilus fuscus*, las células del oviducto azul de Alcian positivas, que son fácilmente reconocibles por su mayor volumen y por el tamaño de sus gránulos, están en menor proporción en el epitelio luminal del infundíbulo posterior (Bahamón, 2000). Se requieren análisis cuidadosos de los componentes del huevo de esta especie complementados con estudios inmunohistoquímicos de esta región para confrontar estas hipótesis.

El tubo comparte características con el infundíbulo posterior y el útero anterior. En el tubo, los pliegues son profundos y bifurcados dando origen a segmentos diagonales ondulados en forma de espiral (Bahamón, 2000). Es una de las regiones del oviducto que presenta más controversia en su definición. En Squamata algunos autores no lo reconocen como un segmento evidente, intermedio entre el infundíbulo y el útero (Hoffman y Wimsatt, 1972; Adams y Cooper, 1988; Ramírez et al., 1989; Shantakumari et al., 1990, Shantakumari, 1992); otros establecen un segmento infundíbulo-útero con glándulas tubulo-alveolares en el extremo posterior (Guillette et al., 1989), y otros lo definen como una región independiente (Cuellar, 1966; Uribe et al., 1988; Perkins y Palmer, 1996). En el caso de Archosauria este segmento es evidente y se conoce como *magnum* en Aves y tubo en Crocodylia, respectivamente. En el epitelio luminal durante la previtelogénesis se reconocen células ciliadas, y en mayor proporción cé-

lulas columnares secretoras; en vitelogénesis los tipos celulares adquieren una apariencia más voluminosa por aumento del material secretor; mientras que en gravidez las células tienen áreas "vacías", que denotan pérdida del material secretor (Bahamón, 2000). El epitelio luminal secretor de *Caiman crocodilus fuscus* tiene la misma característica tintorial azul de Alcian positiva, pH 1.0 y pH 2.5 (Calderón, 1998) de Aves (Wyburn *et al.*, 1970; Claver y Lawzewitzch, 1982, Palmer y Guillette, 1992), si bien Bahamón, (2000) señala que la reacción de las células secretoras con azul de Alcian (pH 2.5) fue negativa.

La organización de las glándulas de la lámina propia, productoras de componentes de albúmina en Archosauria (Abrams y Callard, 1991; Sarkar *et al.*, 1995; Palmer y Guillette, 1992), varía de acinas ramificadas en *A. mississippiensis*, a tubulares simples o ramificadas contorneadas en Aves, y tubulares simples o acinas ramificadas - en previtelogénesis y vitelogénesis respectivamente- en *C. c. fuscus* (Bahamón, 2000). El tubo de *C. c. fuscus* se reconoce por la aparición de estas glándulas y el contenido eosinófilo de sus células secretoras; por el contrario los gránulos no muestran ninguna tinción con P.A.S. y azul de Alcian, resultados que concuerdan con las observaciones en *Alligator mississippiensis* (Palmer y Guillette, 1992). La complejidad de las unidades glandulares y la amplitud de los pliegues es gradual a partir del extremo anterior del tubo. En cada pliegue hay una estructura central de soporte constituida por un haz de fibras de colágeno paralelo a su eje vertical, ramificándose en finos haces que rodean y dan soporte a las múltiples unidades glandulares (Bahamón, 2000).

De las especies estudiadas de Archosauria, el tubo de *C. c. fuscus*, tiene la menor longitud (~7.3%, Calderón, 1998), comparado con el de *Alligator mississippiensis* (Palmer y Gillette, 1992) y el de Aves que aunque variable alcanza una extensión de ~50%. El infundíbulo posterior, el *magnum* (tubo) y en algún grado el istmo, son los encargados de producir el componente proteico de la clara del huevo o albúmina propiamente dicha (Wyburn *et al.*, 1970; 1973). Es importante señalar que la proporción de los constituyentes de la albúmina varía en diferentes especies: en Crocodylia contiene casi 95% de agua, 4% de proteína y 1% de material aún no identificado; en Aves el porcentaje de agua es menor (87%) y la proteína es algo más del doble (10.5%), acompañada de pequeñas cantidades de lípido (0.02%) (Manolis *et al.*, 1987). En Aves están presentes ovoalbúmina (54%), conalbúmina (13%), ovomucoide (11%), ovomucina (1.5%), lisozima (3.5%), ovotransferrina, avidina (0.05%) (Wyburn *et al.*, 1970) y (Palmer y Guillette, 1991) y glucosa (300 mg/ml) (Davidson y Draper, 1969). De acuerdo con Taylor (1970) el mayor porcentaje de agua de la albúmina de Aves es adquirida cuando el huevo se halla en la glándula del cascarón (útero); aunque se cree que también hay una alta liberación de agua en la región media del *magnum* (Wyburn *et al.*, 1970) y en el istmo posterior (región roja). La información anterior sugiere una participación diferencial de cada zona en la composición de la albúmina de los huevos en las diferentes especies, y su contenido puede reflejar el grado de desarrollo en cada caso, así como el tipo de producto sintetizado tanto por las células del epitelio como por las glándulas secretoras presentes en la lámina propia. En *Caiman crocodilus fuscus*, la secreción de las glándulas del tubo colo-

readas con P.A.S. y azul de Alcian tiene reacción negativa, como ocurre también en las glándulas del *magnum* de Aves (Wyburn *et al.*, 1970), en el que se ha comprobado la presencia de ovoalbúmina y conalbúmina y en menor cantidad ovomucoide y lisozimas en los gránulos de las células secretoras de las glándulas (Palmeter y Gutman, 1972; Palmeter y Schimke, 1973). La delimitación anatómica entre tubo y útero anterior en *Caiman crocodilus fuscus* se reconoce externamente por la presencia de un segmento translúcido de ~ 1 cm (Bahamón, 2000); en *Alligator mississippiensis*, y en Aves (1-2 mm) se ha denominado unión tubo-útero (Draper *et al.*, 1972; Palmer y Guillette, 1992). Esta zona tiene un epitelio luminal secretor altamente plegado (como el del infundíbulo posterior), pero carece de glándulas en el tejido conectivo (Draper *et al.*, 1972; Palmer y Guillette, 1992; Bahamón, 2000).

El útero es el encargado de la síntesis del componente proteico y calcáreo de las coberturas del huevo en especies ovíparas de Reptilia (Fox, 1977). En *Sphenodon punctata*, Testudines y Squamata se reconoce una sola región uterina, con excepción de *Crotaphytus collaris* y *Eumeces obsoletus*, en los que se define un útero anterior y un útero posterior (Guillette *et al.*, 1989), mientras que en Archosauria (Aves y en *Alligator mississippiensis*, Palmer y Guillette, 1992 y *Caiman crocodilus fuscus*, Calderón, 1998, Bahamón, 2000) se reconocen dos zonas funcional y morfológicamente diferenciadas: útero anterior y útero posterior. El útero de Aves se conoce como "glándula de la cáscara" (Claver y Lawzewitzch, 1982) en la región posterior uterina donde permanecen los huevos por más tiempo (Taylor, 1970) y son cubiertos por el componente mineral de la cáscara, mientras que la parte proteica la sintetiza la región uterina anterior o istmo en Aves (Draper *et al.*, 1972, Solomon, 1975; Claver y Lawzewitzch, 1982). Los estudios en *Caiman crocodilus fuscus* muestran que los tejidos de estas dos regiones uterinas se hipertrofian durante la vitelogénesis y la gravidez; en algunas hembras grávidas la mucosa del útero presenta frecuentes mastocitos (Bahamón, 1998) que pueden ser estimulados por el estradiol o un factor secundario relacionado con la vitelogénesis (p. e.: Ig E, o el sistema nervioso, Williams *et al.*, 1995), desarrollando edema, una condición funcional asociada con niveles altos de estrógenos en el oviducto de reptiles (Perkins y Palmer, 1996). El edema es acompañado por degradación de proteínas fibrosas como colágeno y de proteoglucanos y glucosaminoglucanos del tejido conectivo, probablemente por acción de las proteasas (quimeras) liberadas por los mastocitos (Williams *et al.*, 1995; Church y Levi-Schaffer, 1997).

Si bien la estructura histológica del útero anterior de *C. c. fuscus* (Calderón, 1998; Bahamón, 2000) es esencialmente la misma del útero de otras especies de Reptilia (Fox, 1977; Palmer y Guillette, 1992) y el istmo de Aves (Wyburn *et al.*, 1973; Claver y Lawzewitzch, 1982), carece de células epiteliales secretoras en ampolla (bleb) descritas en el útero de Testudines (*Chrysemys picta*, Abrams y Callard, 1991; *G. polyphemus*, Palmer y Guillette, 1988) y de células mitocondriales presentes en el epitelio del istmo de Aves (Draper *et al.*, 1972; Solomon, 1975). En Archosauria la mucosa del útero anterior tiene pliegues muy amplios en los que predominan células epiteliales secretoras no ciliadas, P.A.S. positivas y azul de Alcian negativas *C. c. fuscus*.

(Calderón, 1998; Bahamón, 2000), Aves (Draper *et al.*, 1972; Solomon, 1975). Las membranas laterales de las células epiteliales de la mucosa tienen interdigitaciones que podrían asociarse con transporte de líquidos y de iones. Los gránulos secretores tienen un delgado anillo electrodenso periférico con la región central moderadamente electrolúcida; se desconoce si esta distribución tiene un significado funcional (Bahamón, 2000). Se ha propuesto que entre los proteoglucanos y glucosa-minoglucanos se encuentran factores de crecimiento "capturados" que pueden ser liberados (Ruoslahti y Yamaguchi, 1991), estimulando la mitosis de células específicas. Esta hipótesis se basa en la evidencia experimental en hembras vitelogénicas de *Alligator mississippiensis* en las cuales se ha detectado inmunoreactividad de factores de crecimiento (IGF-I) en proximidad de la membrana plasmática de células glandulares del tubo, útero anterior (fibroso) y útero posterior (calcífero) de la mucosa oviductal (Cox y Guillette, 1993).

En *Caiman crocodilus fuscus* las glándulas del útero anterior alojadas en el tejido conectivo son tubulares compuestas, muy numerosas y desarrolladas; las células tienen gránulos eosinófilos que no reaccionan con P.A.S. ni azul de Alcian, y se hipertrofian en vitelogénesis, como sucede en las glándulas de la región distal del tubo (Calderón, 1998, Bahamón, 2000); también en Aves la secreción de las glándulas del istmo es eosinófila (Claver y Lawzewitzch, 1982) y las células de las glándulas del istmo son del mismo tipo A descrito en el *magnum* (Draper *et al.*, 1972). En los estudios realizados en *C. c. fuscus* no se diferencian subregiones dentro del útero anterior como ocurre en el istmo de Aves. La evidente hipertrofia e hiperplasia de la mucosa del útero anterior durante la vitelogénesis y la gravidez puede estar asociada con niveles altos de hormonas ováricas, principalmente estradiol, como se ha sugerido en otras especies de Reptilia. En *Caiman crocodilus fuscus* el inicio del útero posterior se determina por un ensanchamiento del oviducto y la formación de pliegues longitudinales; esta región es el segmento de mayor longitud, con paredes muy gruesas y luz amplia. Internamente, se destaca la complejidad de pliegues circulares con la parte superior ensanchada en forma de T, de modo que el extremo de un pliegue interdigita con el del pliegue adyacente (Bahamón, 2000). La histología del epitelio luminal de la mucosa del útero posterior es semejante a la de otros Reptilia. Las células ciliadas no secretoras son importantes en el desplazamiento de material dentro del oviducto y las células secretoras de menor altura y cantidad que en otras regiones, son P.A.S. y azul de Alcian positivas (Bahamón, 2000); se cree que en aves estas células probablemente contribuyen con productos del componente proteico de la cáscara y de la albúmina y, a su vez, lubrican la pared oviductal (Breen y De Bruyn, 1969). Las glándulas ubicadas en el tejido conjuntivo de la mucosa son más pequeñas y superficiales que las del útero anterior. En previtelogénesis y gravidez son tubulares simples, y en vitelogénesis tubulares ramificadas. Al microscopio de luz las células glandulares no muestran evidencia de actividad de síntesis o de secreción (Calderón, 1998). La ultraestructura de las células de estas glándulas en *C. c. fuscus* (Bahamón, 2000) es semejante a las características descritas en *A. mississippiensis* (Palmer y Guillette, 1992) y a ciertas células glandulares del istmo (Wyburn *et al.*, 1973) y de la glándula de la cáscara de Aves (Breen y De Bruyn, 1969; Wyburn *et al.*, 1973). Sin embargo, se encontró que las células tienen cisternas dilatadas de Retículo Endoplasmático Rugoso (RER) en la región infranuclear rodeadas

de agregados de material electrodenso finamente granular; en secciones histológicas este material es metacromático pero no tiene afinidad con P.A.S., lo que parece descartar que se trate de glucógeno. La naturaleza de este material granular no fue identificado con las pruebas histoquímicas utilizadas (Bahamón, 2000). Con base en las características de estructura fina de estas células glandulares en Aves, Breen y De Bruyn (1969) y Wyburn *et al.*, (1973) les han atribuido un papel activo en el transporte de iones y agua. El calcio es transportado rápidamente desde la sangre lo que implica que las células de esta región actúen como bombas impulsando el calcio hacia el espacio luminal del oviducto para incorporarse como componente de la cáscara; estos iones pueden pasar diluidos en un volumen de agua considerable. No obstante, se desconoce el mecanismo celular preciso involucrado en la secreción de calcio en la glándula de la cáscara (Taylor, 1970). Como ocurre en Aves es muy probable que en Crocodylia las glándulas de esta región sean las encargadas de producir el componente calcáreo del huevo ya que algunas características parecen sugerirlo: los pliegues interdigitados de la membrana lateral y la abundancia de mitocondrias observadas son caracteres comunes en células que realizan transporte de iones con una alta tasa de gasto energético (De Pérez *comunicación personal*). En contraste, en las especies de Reptilia no Archosauria (*Sphenodon punctatus*, *Squamata* y *Testudines*) el útero no presenta glándulas multicelulares especializadas en la producción exclusiva del componente mineral (calcio) de la cáscara. En *Crotaphytus collaris* se ha comprobado la presencia de calcio en células epiteliales del útero anterior; en esta misma especie y en *E. obsoletus* las células de las glándulas del útero contienen componentes semejantes a procolágenos (Guillette *et al.*, 1989). Se cree que las glándulas tubulares del útero de *Squamata* y *Testudines* participan en la formación de las fibras de la cáscara (Aitken y Solomon, 1976; Guillette *et al.*, 1989; Palmer, 1988; Ramírez *et al.*, 1989; Palmer y Guillette, 1990).

La **vagina** es la región más distal del oviducto encargada de recepción del esperma, expulsar el huevo ya formado y evitar la entrada de agentes extraños al oviducto. En *C. c. fuscus* la pared de este segmento alcanza el máximo espesor, si bien la mucosa es delgada y carece de glándulas en el conjuntivo, las capas musculares longitudinal y circular están más desarrolladas, principalmente esta última en la parte más posterior (Calderón, 1998). Los pliegues circulares de la mucosa son más profundos y simétricos que en el útero posterior con formación de vellosidades uniformes en diámetro y altura, y presencia de criptas con espermatozoides en la luz. En previtelogénesis el epitelio de la mucosa es columnar con tres tipos de células: dos tipos de células histoquímicamente diferenciables, secretoras Tipo I P.A.S. positivo, y caliciformes Tipo II azul de Alcian positivo, a pH 2,4, y células ciliadas. Las células presentan las uniones típicas de epitelios en la región yuxtaluminal -zona occludens y adherens- y desmosomas en las membranas laterales (Bahamón, 2000). Las células caliciformes comparten características de ultraestructura con las células de este mismo tipo en el epitelio de la mucosa del *magnum* distal de Aves, con gránulos de electrodensidad moderada, membranas laterales onduladas, y RER, distribuido en la teca (región periférica de la célula) y en la región basal; la síntesis y secreción de mucusubstancias en este segmento facilita la salida del huevo ya formado (Wyburn *et al.*, 1970). En vitelogénesis la altura de las células es ligeramente mayor que en previtelogénesis (Bahamón, 2000). Los cambios más notables en esta

región se evidencian durante la gravidez: hay un predominio de células ciliadas, y se observan algunas células caliciformes. En este estado los gránulos de secreción de las células caliciformes globosas son más abundantes y tienden a fusionarse entre sí con material finamente granular generando una masa voluminosa; el pequeño núcleo se desplaza hacia la región basal, por debajo de los gránulos de secreción (Bahamón, 2000). En algunas hembras se encontraron abundantes eosinófilos en el tejido conjuntivo de la vagina y en algunos casos se observaron en posición intraepitelial (Calderón, 1998). La presencia en hembras previtelogénicas de *C. c. fuscus* de estructuras en el extremo anterior de la vagina revestidas con células epiteliales -no ciliadas ni secretoras- con esperma en su interior podrían corresponder a reservorios temporales de espermatozoides (Calderón, 1998; Bahamón, 2000) equivalentes a receptáculos de esperma de otros Reptilia (Fox, 1963; Cuellar, 1966; Hoffman y Wimsatt, 1972; Gist y Jones, 1987; Adams y Cooper, 1988; Blackburn, 1998; Gist *et al.*, 2001; Sever y Hamlett, 2002) y a las criptas de los pliegues de la mucosa infundibular y glándulas de la zona útero-vaginal de Aves (Claver y Lawzewitzch, 1982; Holn y Riddrestrale, 2002; Baskt y Vinyard, 2002). El hallazgo de receptáculos seminales en *Caiman crocodilus fuscus* parece ser la primera evidencia en Crocodylia, si bien Davenport (1995) basado en el encuentro de huevos fértiles de hembras aisladas de machos por largos períodos de tiempo, sugirió el almacenamiento de esperma en *Paleosuchus palpebrosus*, aunque estos no fueron hallados por Ferguson (1985) en *Alligator mississippiensis* ni en *Crocodylus niloticus*. Sin embargo, además de nuestra observación en *C. c. fuscus*, su existencia no parece improbable, teniendo en cuenta que es un carácter común y convergente en los Amniota (Sever y Hamlett, 2002).

Los resultados obtenidos en el estudio realizado en oviductos en diferentes estados de actividad reproductiva de *Caiman crocodilus fuscus* muestran una similitud de la anatomía e histología con Archosauria (*Alligator mississippiensis*, *Crocodylus intermedius* y Aves) en particular con la regionalización morfofisiológica del oviducto como una vía especializada de ensamble de las diferentes cubiertas del huevo. No obstante, es evidente que aún permanecen muchos interrogantes en relación con la identificación de los tipos específicos de macromoléculas sintetizadas y secretadas en cada región, y si bien la histoquímica ha aportado un conocimiento básico importante a este respecto, es necesario avanzar en la investigación empleando otros métodos que permitan dilucidar aspectos funcionales que no son claros para esta especie y en general para Crocodylia.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Biología, al Laboratorio de Microscopía Electrónica, a la Dirección de Investigaciones (DIB) de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, y al Laboratorio de Biología Reproductiva y la Escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander. A Giovanni Ulloa y Sergio Medrano por la colaboración en la toma de las muestras, y a la empresa Monterrey Forestal por los animales cedidos para los estudios sobre la biología reproductiva del caimán.

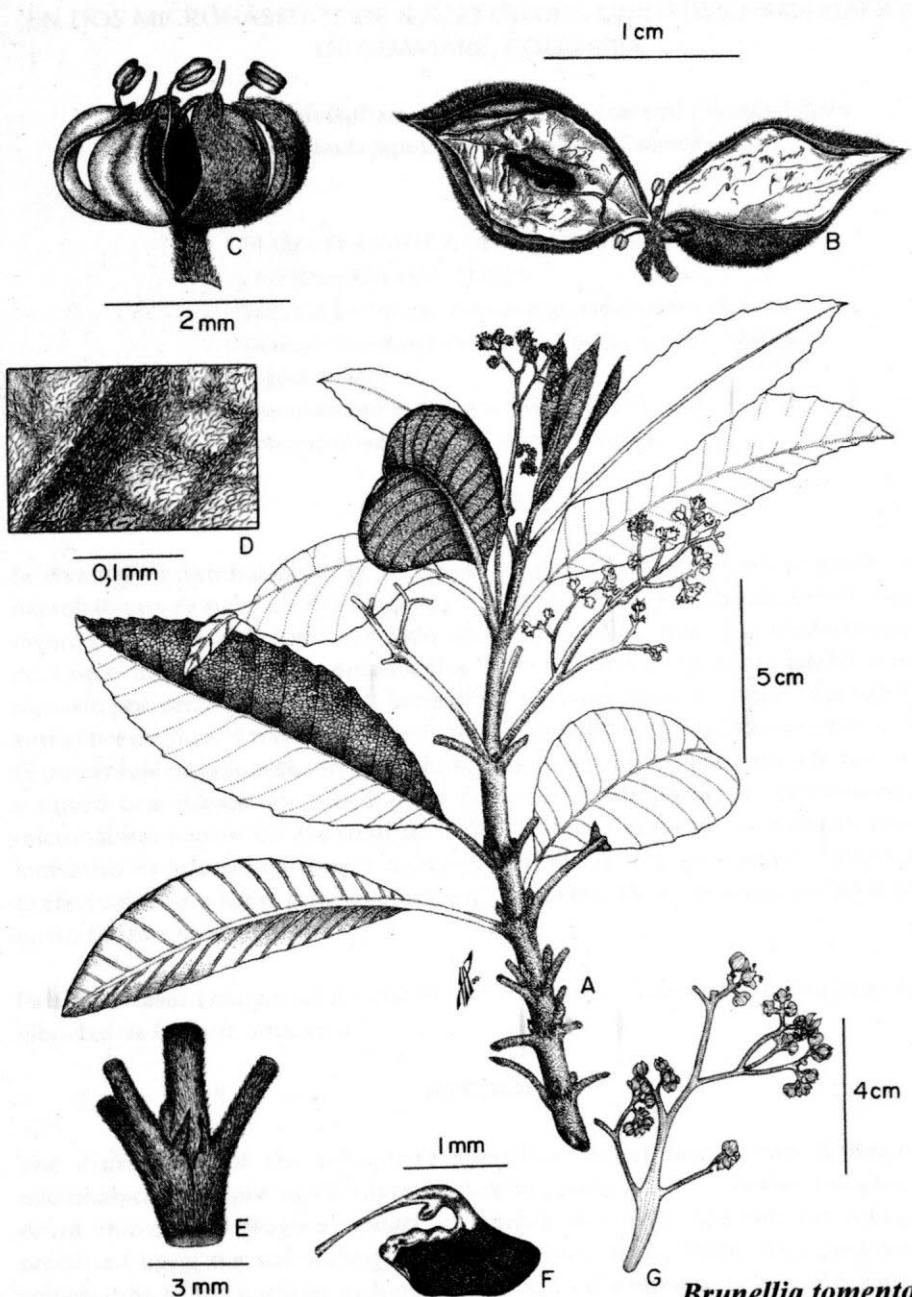
BIBLIOGRAFÍA

- ABRAMS V. & CALLARD I. P. 1991. Seasonal variations in oviductal morphology of the painted turtle, *Chrysemys picta*. J. Morphol. 207: 59-71.
- ADAMS C. S. & COOPER W. E. Jr. 1988. Oviductal morphology and sperm storage in the keeled earless lizard, *Holbroquia propinqua*. Herpetologica 44: 190-197.
- AITKEN R. N. C. & SOLOMON S. E. 1976. Observations on the ultrastructure of the oviduct of the Costa Rican Green Turtle (*Chelonia mydas* L.). J. Exp. Mar. Biol. and Ecol, 21: 75-90.
- ANDERSON R. & ALBERTINI D. F. 1976. Gap junctions between the oocyte and companion follicle cells in the mammalian ovary. J. Cell Biol. 71: 680-686.
- ANESSETTI G., LOMBIDE H., D'ALBORA P. H. & OJEDA S. R. 2001. Intrinsic neurons in the human ovary. Cell Tissue Res. 306: 231-237.
- BAHAMÓN R. E. 2000. Descripción histológica del oviducto de *Caiman crocodilus fuscus*. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- BAKST M. R. & VINYARD B. T. 2002. Oviductal sperm storage in turkeys: spatial distribution of sperm within the uterovaginal junction sperm-storage tubules. J. Exp. Zool. 292: 206-209.
- BLACKBURN D. G. 1998. Structure, function, and evolution of the oviducts of squamate reptiles, with special reference to viviparity and placentation. J. Exp. Zool. 282: 560-617.
- BREEN P. C. & DE BRUYN P. P. H. 1969. The fine structure of the secretory cells of the uterus (shell gland) of the chicken. J. Morphol. 128: 35-66.
- BROWNE C. L., WILEY H. S. & DUMONT J. N. 1979. Oocyte follicle gap junctions in *Xenopus laevis* and the effects of gonadotropin on their permeability. Science 203: 182-183.
- _____ & WERNER W. 1984. Intercellular junctions between the follicle cells and oocytes of *Xenopus laevis*. J. Exp. Zool. 230: 105-113.
- CALDERÓN M. L. 1998. Histología y morfología funcional del tracto reproductor femenino de *Caiman crocodilus fuscus* en los diferentes estados reproductivos. Trabajo de grado. Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander.
- CALLARD I. P., CHAN S. W. C. & POTTS M. A. 1972. The control of the reptilian gonad. Am. Zool. 12: 273-287.
- CALLEBAUT M. 1988. The ovarian chordolacunar system in birds. Arch. Biol. 99: 1-15.
- _____, VAN NASSAUW L. 1987. Demonstration by monoclonal antidesmin of a myoid tissue coat in the preovulatory ovarian tunica albuginea of the turtle *Pseudemys scripta elegans*. Med. Sci. Res. 15: 1129-1130.
- _____, VAN NASSAUW L. & HARRISSON F. 1997. Comparison between oogenesis and related ovarian structures in a reptile, *Pseudemys scripta elegans* (turtle) and in a bird *Coturnix coturnix japonica* (quail). Reprod. Nutr. Dev. 37: 233-252.
- CLAVER J. A. & VON LAWZEWITZCH I. 1982. Apuntes de histología veterinaria: Aparato reproductor de la gallina. Hemisferio Sur (ed.), Argentina.

- COX C. & GUILLETTE L. J. Jr. 1993. Localization of insulin-like growth factor-I-like immunoreactivity in the reproductive tract of the vitellogenic female american alligator, *Alligator mississippiensis*. Anat. Rec. 236: 635-640.
- CUELLAR O. 1966. Oviductal anatomy and sperm storage structures in lizards. J. Morphol. 119: 7-20.
- CHURCH M. K. & LEVI-SCHAFFER F. 1997. The human mast Cell. J. Allergy Clin. Inmunol. 99: 155-160.
- DAVENPORT M. 1995. Evidence of possible sperm storage in caiman, *Paleosuchus palpebrosus*. Herpetol. Rev. 26: 14-15.
- DAVIDSON M. F. & DRAPER M. H. 1969. The accumulation of the glucose in the white of the egg of the hen. J. Physiol. 202: 119-120.
- DEES W. L., HINEY J. K., SCHULTEA T. D., MAYERHOFER A., DANILCHIK M., DISSEN G. A. & OJEDA S. R. 1995. The primate ovary contains a populations of catecholaminergic neuron-like cells expressing nerve growth factor receptors. Endocrinology 136: 5760-5768.
- DE PÉREZ G., RAMÍREZ M. P. & CALDERÓN M. L. 1999. Estudio preliminar de la ultraestructura de la pared del ovario y de folículos previtelogénicos y vitelogénicos tempranos de *Caiman crocodilus fuscus*. (Reptilia, Crocodylidae). Rev. Acad. Colomb. Cienc. 23: 453-464.
- DRAPER M. H., DAVIDSON M., WYBURN G. & JOHNSTON H. 1972. The fine structure of the fibrous membrane forming region of the isthmus of the oviduct of *Gallus domesticus*. Q. J. Exp. Physiol. 57: 297-309.
- FERGUSON M. W. 1982. The structure and composition of the eggshell and embryonic membranes of *Alligator mississippiensis*. The Royal Society of London. Londres, pp. 105-148.
- _____. 1985. Reproductive biology and embryology of the Crocodilians. En C. Gans, F. Billett y P. Maderson (eds.), Biology of the Reptilia, 14: 329-489. Wiley and Sons, New York.
- FOX W., 1963. Special tubules for sperm storage in female lizards. Nature 198: 500-501.
- _____. 1977. The urogenital system of reptiles. En C. Gans y T. S. Parsons (eds.), Biology of the Reptilia. 6: 1-122. Academic Press, Nueva York.
- GILBERT A. B. 1968. Innervation of the avian ovary. J. Physiol. 196: 4-5.
- GILULA N. B., EPSTEIN M. L. & BEERS W. H. 1978. Cell-to-cell communication and ovulation. A study of the cumulus-oocyte complex. J. Cell Biol. 78: 58-75.
- GIST D. H. & JONES J. M. 1987. "Storage of sperm in the reptilian oviduct". Scanning Microscopy 1: 1839-1849.
- _____, DAWES S. M., TURNER T. W., SHELDON S. & CONGDON J. D. 2001. Sperm storage in turtles: a male perspective. J. Exp. Zool. 292: 180-186.
- GUERRERO S., CALDERÓN M., DE PÉREZ G. & RAMÍREZ-PINILLA M. P. 2003. Annual reproductive activity of *Caiman crocodilus fuscus* in captivity. Zoo Biology, 22.
- GUILLETTE J. L. Jr., FOX S. L & PALMER B. D. 1989. Oviductal morphology and egg shelling in the ovíparos lizards *Crotaphytus collaris* and *Eumeces obsoletus*. J. Morphol. 201: 145-159.
- _____, WOODWARD A. R., YOU-XIANG Q., COX M. C., MATTER J. M. & GROSS T. S. 1995. Formation and regression of the corpus luteum of the American alligator (*Alligator mississippiensis*). J. Morphol. 224: 97-110.

- GURAYA S. S. 1989. Ovarian follicles in reptiles and birds. Springer-Verlag, Berlin: 287 p.
- _____. 1978. Maturation of the follicular wall of nonmammalian vertebrates. En Jones E, (ed.) The vertebrate ovary. Plenum, New York pp 261-329.
- HOFFMAN L. & WIMSATT W. 1972. Histochemical and electron microscopic observations on the sperm receptacles in the garter snake oviduct. Amer. J. Anat. 134: 71-96.
- HOLN L. & RIDDERSTRALE Y. 2002. Development of sperm storage tubules in the quail during sexual maturation. J. Exp. Zool. 292: 200-205.
- JONES R. E. 1987. Ovulation: insights about the mechanisms based on a comparative approach. En D. O. Norris, R. E. Jones (eds.). Hormones and reproduction in fishes, amphibians and reptiles, 203-240. New York: Plenum Press.
- KESSEL R. G., TUNG H. N., ROBERTS R. & BEAMS H. W. 1985. The presence and distribution of gap junctions in the oocyte-follicle cell complex of the zebrafish, *Brachydanio rerio*. J. Submicrosc. Cytol. 17: 239-253.
- KLOSTERMAN L. L. 1983. The ultrastructure of germinal nests in the ovary of *Gerrhonotus coeruleus* (Reptilia: Anguidae). J. Morphol. 178: 247-265.
- KOVÁCS J., FORGÓ V. & PÉCZELY P. 1992. The fine structure of the follicular cells in growing and atretic ovarian follicles of the domestic goose. Cell Tissue Res. 267: 561-569.
- LANCE V. A. 1989. Reproductive cycle of the American alligator. Am. Zool. 29: 999-1018.
- LOMBARDI J. 1998. Comparative Vertebrate Reproduction. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- MANOLIS S., WEBB G. & DEMPSEY K. 1987. Crocodile egg chemistry. En Webb, Manolis & Whitehead (eds.), Wildlife management: Crocodiles and Alligators. Surrey Beatty & Sons Pty Limited. Camberra, Australia.
- MATOVA N. & COOLEY L. 2000 Review. Comparative aspects of animal oogenesis. Disponible en <http://www.idealibrary.com.on>
- PALMER B. D. 1988. Eggshell and albumen formation in Turtles. Amer. Zool. 28:49A.
- _____. & GUILLETTE L. J. Jr. 1988. Histology and functional morphology of the female reproductive tract of the tortoise *Gopherus polyphemus*. Am. J. Anat. 183: 200-211.
- _____. & GUILLETTE L. J. Jr. 1990. Morphological changes in the oviductal endometrium during the reproductive cycle of the tortoise, *Gopherus polyphemus*, J. Morphol. 204: 323-333.
- _____. & GUILLETTE L. J. Jr., 1991. Oviductal proteins and their influence on embryonic development in birds and reptiles. En Physical influences on embryonic development in birds and reptiles. Cambridge University Press. Cambridge U.K.
- _____. & GUILLETTE, L. J. Jr. 1992. Alligators provide evidence for evolution of an Archosaurian mode of oviparity. Biol. Reprod. 46: 39-47.
- PALMITER, R. D. & GUTMAN, G. A. 1972. Fluorescent antibody localization of ovalbumin, conalbumin, ovomucoid, and lysozyme in chick oviduct magnum. J. Bio. Chem. 247: 6459-6461.
- _____. & SCHIMKE R. T. 1973. Regulation of protein synthesis in chick oviduct; III. Mechanism of ovalbumin "superinduction" by actinomycin D. J. Biol. Chem. 248: 1502-1512.

- PERKINS M. J. & PALMER B. D. 1996. Histology and functional morphology of the oviduct of oviparous snake, *Diadophis punctatus*. *J. Morphol.* 221: 67-79.
- PAULSON J., & ROSENBERG M. D. 1972. The function and transposition of lining bodies in developing avian oocytes. *Ultrastr. Res.* 40: 25-43.
- RAMÍREZ M. P., DE PÉREZ G. & RAMÍREZ-PERILLA J. 1989. Histología del tracto reproductivo de la hembra del lagarto de la Sabana de Bogotá *Phenacosaurus heterodermus* (Reptilia: Sauria: Iguanidae). *Trianea* 3: 93-103.
- RUOSLAHTI E. & YAMAGUCHI Y. 1991. Proteoglycans as modulators of growth factor activities. *Cell* 64: 867-869.
- SAIDAPUR S. K. 1982. Structure and function of postovulatory follicles (Corpora Lutea) in the ovaries of non-mammalian vertebrates. *Inter. Rev. Citol.* 75: 243-285.
- SARKAR S., SARKAR N. K. & MAITI B. R. 1995. Histological and functional changes of oviductal endometrium during seasonal reproductive cycle of the soft-shelled turtle, *Lissemys punctata punctata*. *J. Morphol.* 224: 1-14.
- SEVER D. M. & HAMLETT W. C. 2002. Female Sperm Storage in Reptiles. *J. Exp. Zool.* 292: 187-199.
- SHANTHAKUMARI T. R., DEVARAJ H. B., SARKAR N. K. & SHIVANANDAPPA T. 1990. Histology and histochemistry of the oviductal sperm storage pockets of the agamid lizard *Calotes versicolor*. *J. Morphol.* 23: 97-106.
- _____. 1992. Histological, histochemical, and biochemical changes in the annual oviduct cycle of the Agamid, *Calotes versicolor*. *J. Morphol.* 211:295 - 306.
- SOLOMON S. E., 1975. Studies on the isthmus region of the domestic fowl. *Br. Poult. Sci.* 16: 255-258.
- TAYLOR T. G., 1970. How an eggshell is made? *Scientific American*, 222.
- URIBE M. C. A., VELASCO S. R., GUILLETTE L. J. Jr. & ESTRADA E. F. 1988. Oviduct histology of the Lizard *Ctenosaura pectinata*. *Copeia* 4: 1035-1042.
- _____, MÉNDEZ M. E., GONZÁLES J. E. & GUILLETTE L. J. Jr. 1995. Seasonal variation in ovarian histology of the viviparous lizard *Sceloporus torquatus torquatus*. *J. Morphol.* 226: 103-119.
- _____, PORTALES G. L. & GUILLETTE L. J. Jr. 1996. Ovarian folliculogenesis in the oviparous Mexican lizard *Ctenosaura pectinata*. *J. Morphol.* 230: 99-112.
- _____. & GUILLETTE L. J. Jr. 2000. Oogenesis and ovarian histology of the American alligator *Alligator mississippiensis*. *J. Morphol.* 245: 225-40.
- VAN NASSAUW L., HARRISON F. & CALLEBAUT M. 1991. Localization of smooth-muscle markers in the ovaries of some ectothermic vertebrates. *Anat. Rec.* 229: 439-446.
- WILLIAMS R., BIENENSTOCK J. & STEAD R. 1995. Mast cells: The neuroimmunoconnection. In Human Basophils and Mast cells: Biological aspects. *Chemm Immunol.* 61: 208-235.
- WYBURN G. M., JOHNSTON H. S., DRAPER M. H. & DAVIDSON M. F. 1970. The fine structure of the infundibulum and magnum of the oviduct of *Gallus domesticus*. *Q. J. Exp. Physiol.* 55: 213-232.
- _____. 1973. The ultrastructure of the shell forming region of the oviduct and the development of the shell of *Gallus domesticus*. *Quart. J. Exp. Phys.* 58: 143-151.



Brunellia tomentosa

Ilustración: Anónimo