

VARIACIÓN ESTACIONAL EN LA PROPORCIÓN RELATIVA DE LOS ESTADIOS DE LA OOGÉNESIS EN *BUFO ARENARUM* (ANURA: BUFONIDAE)

DINORAH D. ECHEVERRÍA * Y BEATRIZ N. GONZALEZ **

The Anova repeated measure design was used to compare the percentage of oocytes in female toads (*Bufo arenarum*) at stages 1 to 5 and at different physiological ovary periods (or phases: production, before ovulation, after ovulation). Individual comparisons among stages and between phases have been made with the minimum significant difference method at 0.05 probability level. The statistical analysis at percentage of oocytes showed that: a) Stages 1 and 2 have few variation. They are the permanent oocytes group. b) Stage 3 (late vitelogenesis oocytes) are absent previous to the breeding season. Their rate increases in summer and decreases in autumn. The development of oocytes 3 take place afterwards the ovulation. c) Stage 4 increases in autumn and disappears in late winter. d) Stage 5 sets up as the 18% of the ovulated oocytes. e). Stages 3, 4 and 5 are renewed every year; they are temporary ovarian oocytes.

Introducción

El desarrollo del ovario de los anuros ha sido motivo de diversos estudios encarados desde distintos aspectos. Desde el punto de vista microanatómico se destacan, en la mayoría de los casos, aquellos que establecen la morfología del ovario adulto durante el período reproductivo de la especie. Pueden ser mencionados, entre otros, los trabajos de Bouin (1901) en *Rana sylvatica*; King (1908) en *Bufo lentiginosus*; Allende (1938), Echeverría (1974, 1980) y Valdez Toledo y Pisanó (1980) en *Bufo arenarum*; Dumont (1972) en *Xenopus laevis*; Lamotte *et al.* (1973) en *Nectophrynoides occidentalis*.

En cambio, la morfología oocitaria en las hembras juveniles y preadultas ha sido poco estudiada. Puede mencionarse, por ejemplo, los trabajos de Iwasawa *et al.* (1987) en *Rana nigromaculata* y Echeverría (1988) en *Bufo arenarum*, que abarca desde el período de desarrollo embrionario hasta los dos o cuatro años de vida postmeta-mórfica respectivamente. Otros estudios llevaron a los autores a tratar de establecer los ciclos sexuales (generalmente masculinos) en la naturaleza y relacionarlos con ambientales (Burgos y Mancini, 1974; Caruso, 1949; Cei, 1949a, b y c).

Las investigaciones efectuadas en el orden fisiológico para establecer las fluctuaciones hormo-

nales estacionales y su acción sobre las gónadas femeninas involucran, entre otros, el estudio de la cronología del desarrollo morfológico del ovario. En otros aspectos, las investigaciones han sido numerosas abarcando, sobre todo, especies exóticas, entre las cuales se mencionan: *Rana nigromacula* (Iwasawa *et al.* 1987), *Rana catesbeiana* (Licht *et al.* 1983) y *Rana tigerina* (Varute, 1971). Es importante destacar los trabajos de Legname y Bühler (1978) y Petrino *et al.* (1983) en *Bufo arenarum*. Los autores han probado que el efecto metabólico de las hormonas pituitarias tiene una respuesta unicamente en los oocitos que han completado la vitelogénesis (oocitos maduros), sin afectar a los previtelogénicos.

El propósito de este trabajo es poner en evidencia la variación relativa anual de los tipos de oocito del ovario adulto.

Materiales y Métodos

Los ejemplares de *Bufo arenarum* (27 hembras adultas y 1 hembra juvenil) fueron capturados en Pilar, Del Viso, San Miguel, José C. Paz, Glew y Esteban Echeverría, todas localidades de la provincia de Buenos Aires. Siete hembras se mantuvieron en cautiverio, en un terrario individual de 1m², a temperatura ambiente (21 ± 2°C) durante un período no mayor de 90 días.

* Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). Laboratorio de Vertebrados, (1428) Buenos Aires, Argentina

** Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). Laboratorio de Biometría, (1428) Buenos Aires, Argentina

El alimento consistió en anélidos, insectos, crustáceos terrestres y miriápodos. Una vez por semana, se les suministró hígado crudo de vaca o pollo, que comían del suelo o de la pinza.

Para proceder a la extracción de un trozo de ovario, las hembras fueron previamente adormecidas con éter. Cuando fue necesario algunas se intervinieron quirúrgicamente para extraer muestras del ovario en distintas oportunidades (hembras 1 y 2, Tablas 4 y 5); para ello se sumergieron hasta el cuello en una solución acuosa de alcohol etílico 96° (al 20%) durante 10 o 15 minutos hasta que redujeron su actividad. Inmediatamente se procedió a abrir el lado ventral izquierdo (primero) o derecho (después) del abdomen para extraer un trozo de ovario. Los tejidos fueron bañados en una solución fisiológica 7% y se les suministró antibiótico (ampicilina, dosis pediátrica). Luego la musculatura y el tegumento fueron suturados por separado. Se las dejó en recuperación en un recipiente seco hasta que pudieron sostenerse con sus miembros anteriores en posición normal. Después, fueron trasladadas a otro recipiente con agua y 3 a 5 gotas de cloroxileno (Espadol 15% en solución acuosa), que alcanzaba a cubrir sólo los miembros posteriores.

Los trozos de ovario fueron observados en fresco y luego fijados.

La nomenclatura utilizada para la clasificación de los oocitos se basó en la efectuada por Echeverría (1988), que surge de una modificación de la aplicada por Valdez Toledo y Pisanó (1980) para *Bufo arenarum* provenientes de la provincia de Tucumán.

La fijación de los trozos de ovario se llevó a cabo en formol 10%, Ancel y Vitemberguer y líquido de Bouin.

La inclusión en parafina o paraplast, se efectuó según las técnicas aplicadas por Echeverría (1988).

Los cortes se realizaron con 4 ó 7 μ m de espesor y se utilizaron las siguientes técnicas de coloración:

	Producción	Preovulación	Postovulación
Oocito 1	57.37 \pm 14.34	52.88 \pm 2.78	59.39 \pm 14.79
Oocito 2	30.33 \pm 16.35	22.44 \pm 12.50	20.53 \pm 11.88
Oocito 3	3.01 \pm 5.96	0.65 \pm 1.13	17.83 \pm 11.62
Oocito 4	10.65 \pm 7.20	13.63 \pm 11.29	0
Oocito 5	4.30 \pm 5.30	13.56 \pm 9.46	0

Tabla 1. Grupo A: Proporción relativa de tipos de oocitos en hembras adultas (media \pm error estándar).

Fuente de Variación	GL	F	P
Fases ováricas	2	3.5769	0.0800
Sapos dentro de fases	12		
Estadios	4	49.4413	0.0000
Estadio x fase	8	4.8755	0.0279

Tabla 2. Grupo A: Tabla de Anova del modelo de medidas repetidas (prueba conservativa)

- 1.- Hematoxilina de Carazzi-eosina.
- 2.- Hematoxilina de Carazzi-Ponceau de xilidina-azul de anilina.
- 3.- Coloración de Altman.
- 4.- Coloración de Mann.

Para la observación y conteo de oocitos las hembras fueron reunidas en tres grupos que se denominaron A, B y C, según el tratamiento aplicado y/o el estado fisiológico del ovario.

Debido a que el canto nupcial de *B. arenarum* puede ser oído desde agosto hasta abril en lagunas y lagos (Gallardo, 1987) y, de acuerdo a su amplia distribución (Cei, 1980), se considera que el período de reproducción anual se iniciaría, para la zona que abarca la muestra, en los meses de primavera, desde setiembre a octubre, luego de la última ovulación.

Grupo A: Hembras salvajes. Consta de veinte hembras capturadas en la naturaleza durante los períodos otoño-invierno y primavera-verano. A medida que se las capturaba se les determinaba inmediatamente si el estado fisiológico del ovario o fase, distinguiéndose si estaba en *producción* de oocitos, en *preovulación* o en *postovulación*. (Tabla 1)

Grupo B: Hembras operadas. Consta de dos ejemplares. El primer ejemplar (hembra 1) fue operado en dos oportunidades para examinar sus ovarios, ambas previas a la ovulación, a los 49 y 34 días (Tabla 4). El segundo ejemplar (hembra 2) fue intervenido en tres oportunidades pero luego de la ovulación, a las veinticuatro horas, 34 días y 81 días (Tabla 5). Este grupo fue analizado a fin de detectar la posibilidad de alguna fluctuación individual en las proporciones relativas de los oocitos en el período previo a la oviposición y en el inmediato posterior durante la recuperación del ovario.

Grupo C: Hembras inducidas. Consta de seis

ejemplares. La ovulación fue inducida con hipófisis homóloga (según Echeverría y Fiorito de Lopez, 1981) y a posteriori se efectuó una observación de los ovarios (Tabla 6).

Los resultados se expresan en porcentaje medio de oocitos para cada estadio (o tipo de oocito) provenientes del conteo de oocitos de tres campos ópticos. Esto se efectuó a fin de disminuir el error de observación y el error que pudiera introducir cada animal en el número de oocitos presentes, puesto que se ha hallado en *Rana catesbeiana* que la cantidad de huevos por hembra depende del tamaño de la rana (Bruneau y Magnin, 1980).

Los datos de porcentaje de oocitos fueron analizados estadísticamente con un diseño de medidas repetidas (Greenhouse y Geisser, 1959). Los factores considerados fueron: Estado del ovario o fase ovárica (Producción, preovulación, postovulación), sapos dentro de fases ováricas y tipo de oocito o estadio, clasificados de 1 a 5; éste último es el factor de medidas repetidas. Se utilizó la transformación angular (arco seno de la raíz cuadrado del porcentaje dividido 100) para cumplimentar las suposiciones del modelo. Se realizaron pruebas de efectos simples para estudiar la significación de los factores principales (Winer, 1971) y comparaciones individuales entre pares de medias (Sokal y Rohlf, 1981) para estadios y para fases ováricas según el método de la mínima diferencia significativa ($P < 0.05$); (Tabla 3 a, b y c).

Resultados

Grupo A : Hembras salvajes.

Estudio Morfológico: En la Tabla 1 se muestran los resultados de la observación de los ovarios de las hembras agrupadas según las fases ováricas. En los meses de mayo y junio, durante la fase de producción de oocitos, fue notable la actividad mitótica observándose, a simple vista, al ovario como cubierto por una película blanca. En los meses siguientes, desde fines de junio en adelante hasta la fecha de ovulación, los oocitos 3 faltan en el ovario listo para la ovulación. Durante el otoño (desde marzo a junio) se pueden hallar oocitos 4 de 1200 μm . En el invierno aparecen los oocitos 5 que constituyen los oocitos ovulables.

Inmediatamente después de la oviposición, fase postovulatoria, los oocitos de tipo 2 (600 μm) aumentan de tamaño y pronto finalizan la incorporación de vitelo, estableciendo una primera camada de oocitos 3. Los primeros oocitos 3

(subtipo j) pueden hallarse en hembras capturadas a fines de noviembre y principios de diciembre. Estos continúan su desarrollo, llegando a los 1000 μm (oocitos subtipo k) al final de diciembre, mostrando una pigmentación negra levemente polarizada. La producción de oocitos k se mantiene en enero y febrero. Durante ese lapso no se observan en el ovario oocitos más desarrollados, aunque la distribución de pigmento es variable dentro del mismo estadio.

Análisis Estadístico: Del Anova de medidas repetidas (Tabla 2) resultó el efecto de la interacción estadio x fase ovárica significativo ($F=49.44$, $gl=4$ y 48 , $P=0.03$) por lo que se realizaron las pruebas de los efectos simples tanto para fases ováricas como para tipos de oocitos y luego comparaciones entre todos los pares de medias (método mds, con una significación de $P<0.05$), obteniéndose los siguientes resultados:

(1) El porcentaje de oocitos en cada fase ovárica resultó ser significativamente diferente para cada uno de los tipos de oocitos considerados (Tabla 3a) y de la aplicación del método de la mínima diferencia significativa entre tipo de oocitoa para cada una de las fases ováricas (Tabla 3b) surge que: (i) el porcentaje de oocitos 1 es significativamente mayor en todas las fases ováricas; dicho porcentaje es aproximadamente el mismo en cada fase y lo mismo sucede con los oocitos 2 pero en menor proporción y (ii) en la fase postovulatoria el porcentaje de oocitos 3 aumenta significativamente al tiempo que se nota la ausencia de oocitos 4 y 5. (Fig. 1).

(2) El porcentaje de oocitos de cada tipo resultó ser significativamente diferente en las fases ováricas consideradas para los oocitos 3 ($F=53.3695$ con 2 y 48 grados de libertad, $P=0$), 4 ($F=7.1176$ con 2 y 48 grados de libertad, $P=0.0021$) y 5 ($F=3.9838$ con 2 y 48 grados de libertad, $P=0.0246$) pero no para los oocitos 1 y 2. En la Tabla 3c se muestran los resultados de la aplicación del método de la mínima diferencia significativa entre fases ováricas para cada tipo de oocito y se representa en la figura 2.

Grupo B : Hembras operadas. El primer ejemplar (*hembra 1*) fue operado en dos oportunidades previas a la ovulación. Los resultados de sendos recuentos de oocitos se resumen en la Tabla 4. En la primera observación se hallaron oocitos 4 y 5 en cantidades apreciables, desde 1263 μm (oocitos 4) a 1368 μm (oocitos 5) de color negro, poco

polarizado. Ausencia de oocitos 3. Los oocitos 2, fueron representados por dos subtipos, *h* e *i*. Presentaron una escasa cantidad de oocitos *i* (3.8 %), blanco amarillento (471 μm) y ocre claro (557 μm) y gran cantidad de oocitos *h* (14.4 %) color blanco opalescente, entre los 283 y 440 μm de diámetro. Los oocitos 1 transparentes fueron numerosos (51 %). El color general del ovario fue negro. En la segunda muestra tomada 34 días antes de la ovulación, tanto los oocitos 4 como los 5 (entre 1160 y 1480 μm) presentaron una coloración polarizada bien marcada. Ausencia de oocitos 3. Entre los oocitos 2 se observó escasa cantidad (10%) de oocitos ocre (entre 471 y 557 μm , subtipo *i*); la proporción de los oocitos *h* de color blanco opalescente (220 a 440 μm) fue mayor (25%) que en la primera observación, lo que representa un total de oocitos 2 de 43%. Se observó una disminución de oocitos 1 transparentes. El aspecto externo del ovario se vió de color negro con puntuaciones blancas.

Del examen del ovario de la hembra 2, se obtuvieron los resultados que se resumen en la Tabla 5. A las veinticuatro horas posteriores a la ovulación se hallaron oocitos 1 y 2. Los poros de expulsión estaban abiertos y los folículos vacíos constituían, en este caso, un 18% del total (Fig.3). A los treinta y cuatro días posteriores se observó

la aparición de oocitos subtipo *j*, entre los 616 y 740 μm (15.5%); y a los ochenta y un días oocitos 3, subtipo *k* desde 860 a 900 μm de diámetro. No se hallaron oocitos del tipo 4 ni del 5.

Grupo C : Hembras inducidas.

Se indujo la ovulación en cuatro hembras fuera del período de reproducción natural de la especie (hembras I, II, III, V; Tabla 6), obteniéndose tres respuestas positivas y una negativa. Dos ejemplares fueron tratados durante el período natural de reproducción (hembras IV y VI) obteniéndose una respuesta positiva y una negativa. Las inducciones producidas en los meses de abril y mayo presentaron respuestas positivas.

En el caso de los ejemplares I, II y IV se constató la ausencia de oocitos 3. El examen de los ovarios indicó la existencia de oocitos 1, 2 y 4. Los oocitos 4, cuyo diámetro medio osciló entre los 1200 y 1230 μm , presentaban una coloración polarizada y otros, de menor tamaño (1078 μm) un color negro levemente polarizado, en el límite con el tipo 3. Además se notó la existencia de oocitos atrésicos (5.88%). En el ejemplar II se hallaron oocitos 5 en escaso porcentaje (2.41%). Estos presentaron un diámetro medio de 1330 μm y coloración polarizada.

En el ejemplar III la respuesta a la inducción

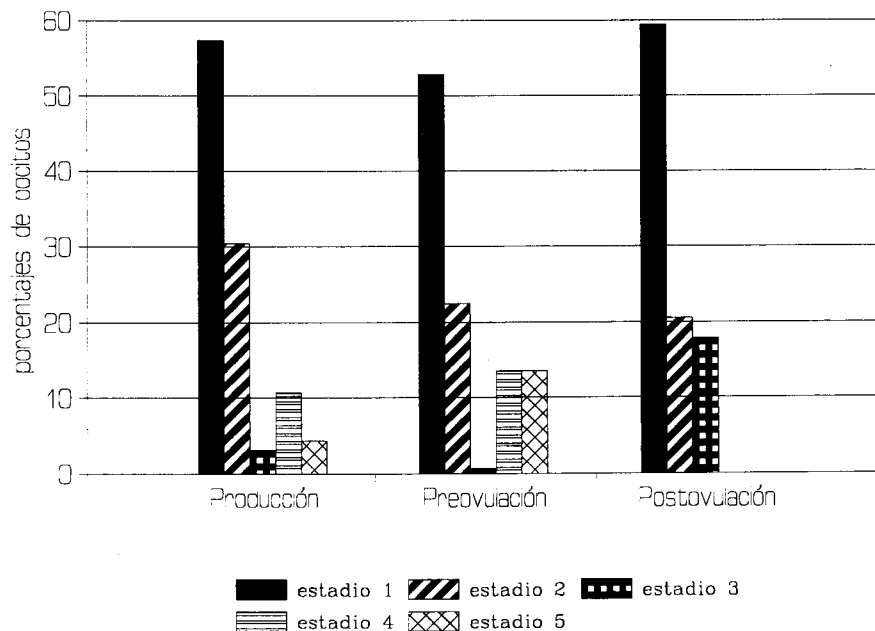


Figura 1. Distribución del porcentaje de oocitos de cada estadio en las fases ováricas

fue diferente; se hallaron oocitos 1, 2, 3 y 4. Los oocitos 3 en escasa cantidad (3.15%). Los oocitos 4 predominaron en el conjunto del ovario, dándole un color negro. Los oocitos 4 que quedaron en el ovario luego de la ovulación, presentaron un diámetro de 1170 a 1230 μm y una coloración polarizada.

En el ejemplar IV, que fuera inducido en época de reproducción natural, los oocitos 4 residuales presentaron un tamaño aproximado de 1078 μm y una coloración negra, levemente polarizada.

En el ejemplar V la inducción resultó negativa. El exámen del ovario luego de 72 hs. de tratado el animal, mostró la existencia de oocitos 1, 2, 4 y 5 estando los tipos 1 y 2 en cantidades aproximadamente similares; los oocitos 4, con un diámetro de 1266 μm mostraron una coloración negra, levemente polarizada. Además se hallaron oocitos 5 en número escaso, con un diámetro de 1325 a 1456 μm , y con coloración polarizada.

El ejemplar VI, por su condición de hembra juvenil, inmaduro sexualmente, respondió negativamente a la inducción.

Discusión y Conclusiones

El canto y el amplexo de las poblaciones de *B. arenarum* de la provincia de Buenos Aires se observan durante la primavera y el verano. Este período varía según la cercanía con la costa del Río de la Plata (Gallardo *com. per.*, 1987). Esto coincide con lo hallado en *Rana catesbeiana* cuya época de reproducción depende de la latitud en que se halle la población (Bury y Whelan, 1984). Entre los agentes que ejercerían gran influencia sobre el desarrollo de la oogénesis, podrían destacarse los factores hormonales, además del ya mencionado. Licht *et al.* (1983) han observado que, poco antes del período de liberación de las gametas, se hacen evidentes las ondas de liberación de gonadotrofinas en el plasma de *Rana catesbeiana*. Esto implica cambios en el comportamiento metabólico de los oocitos; la única célula blanca de la acción metabólica de las gonadotrofinas, es el oocito que ha completado la vitelogénesis, en *Bufo arenarum* (Petrino *et al.* 1983).

La muestra de los ejemplares que fueron operados (Grupo B), aunque pequeña, permitió seguir el desarrollo de la oogénesis en un mismo individuo evitando las influencias a que se ven sometidas las hembras que no recibieron tratamiento, como por ejemplo, la fecha individual de ovulación. Por esto se intentó repetir por lo menos una

ESTACION	GL	F	P
Producción	4	23.0919	0.0000
Preovulación	4	17.7163	0.0000
Postovulación	4	30.3343	0.0000

a) Prueba de Efectos simples

PRODUCCION

Estadio	3	5	4	2	1
Porcentaje medio	3.01	4.23	10.65	30.33	57.37
Significación	-----				

PREOVULACION

Estadio	3	5	4	2	1
Porcentaje medio	0.65	13.56	13.63	22.44	52.80
Significación	-----				

POSTOVULACION

Estadio	5	4	3	2	1
Porcentaje medio	0	0	17.83	20.53	59.39
Significación	-----		-----		

b) Comparaciones individuales entre los pares de estadios para cada una de las fases ováricas (método de mínima diferencia significativa, $P < 0.05$). ---- : no significativo

ESTADIO 3

Fase ovárica	Preovulatorio	Producción	Postovulatorio
Porcentaje medio	0.64	3.301	17.82
Significación	-----		

ESTADIO 4

Fase ovárica	Postovulatorio	Producción	Preovulatorio
Porcentaje medio	0	10.65	13.63
Significación	-----		

ESTADIO 5

Fase ovárica	Postovulatorio	Producción	Preovulatorio
Porcentaje medio	0	4.30	13.56
Significación	-----		

c) Comparaciones individuales entre fases ováricas para los estadios (método de mínima diferencia significativa, $P < 0.05$). Los porcentajes de oocitos de tipo 1 y 2 se mantienen constante. ---- : no significativo

Tabla 3. Grupo A: Evaluación de los porcentajes de oocitos en cada estadio para las distintas fases ováricas y en cada fase ovárica para los estadios.

vez el modelo de variación oocitaria que se desprende del grupo de hembras salvajes (Grupo A), y al mismo tiempo, reducir al mínimo las molestias que se les pudiera ocasionar a los animales involucrados en el experimento.

En los ejemplares a los cuales se les indujo la ovulación (Grupo C), la discrepancia entre el diámetro y la coloración de los oocitos 4 residuales, podría interpretarse como un efecto del fenómeno de exocitosis. Este fenómeno ha sido citado por Mariano de Bozzini y Pisanó (1987) en el estadio de auxocito durante el desarrollo de la oogénesis de *Bufo arenarum*.

Por otra parte, a juzgar por la presencia de los poros de expulsión, un 18% de los oocitos del ovario a término constituiría la camada anual de oocitos ovulables. Esa proporción de oocitos 5 está cercana al valor citado por Valdez Toledo y Pisanó (1980), cuando concluyen que la proporción de oocitos ovulables es del 15% de acuerdo con los folículos vacíos observados por ellos.

Del análisis morfológico y estadístico realizado pueden extraerse las siguientes conclusiones:

a) Una escasa proporción de los oocitos previtelogénicos desarrollaría una camada de

oocitos ovulables cuya proporción podría estimarse a través de los poros de expulsión o de los folículos vacíos

b) En el ovario adulto, la variación del porcentaje de oocitos 1 y 2 en las fases ováricas no es significativa, siendo en general los porcentajes de oocitos 1 mayores que los de oocitos 2. Estos son estadios permanentes, dado que fueron encontrados durante todo el año y cualquiera sea el estado fisiológico del ovario adulto. En forma indirecta aseguran el éxito a largo plazo de los próximos períodos reproductivos.

c) En el período previo a la ovulación, el porcentaje de oocitos 3 decrece hasta casi desaparecer al mismo tiempo que se observa un paulatino aumento de los oocitos 4 y 5. Esta variación sugiere que la mayoría de los oocitos que alcanzaron el estadio 3 durante el verano, continuarían el proceso de oogénesis durante el invierno para dar origen a los oocitos 5.

d) Inmediatamente después de la ovulación, en el período normal de reproducción, se encuentran ovarios con ausencia de oocitos 4 y 5, mientras que el desarrollo de oocitos 2 a 3 sólo se produce después de la ovulación.

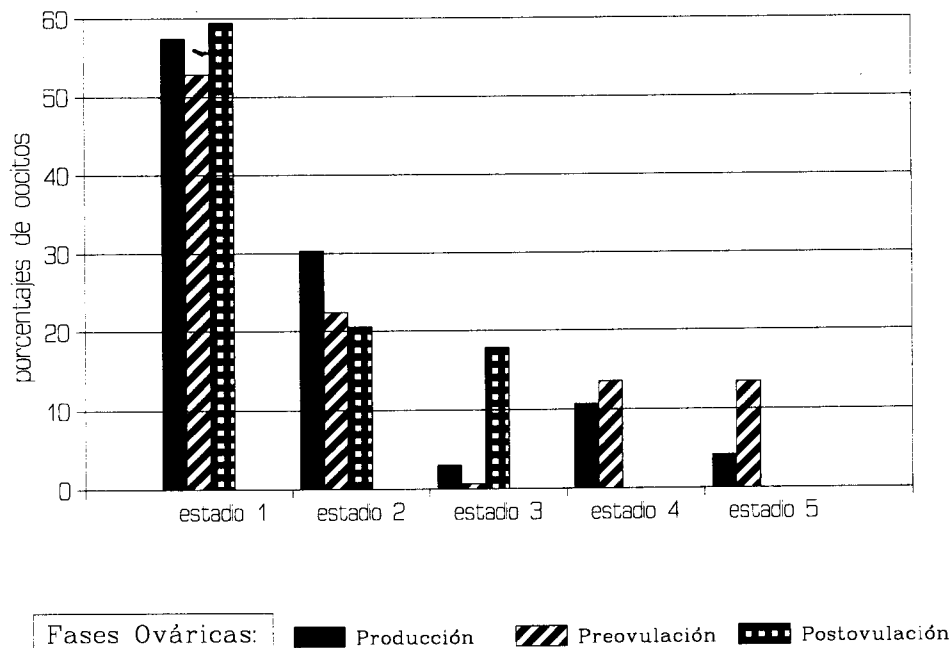


Figura 2. Distribución del porcentaje de oocitos en cada fase ovárica en los distintos estadios.

Fecha de observación	Oocitos				
	1	2	3	4	5
10/9 (49 días)	51.00	18.00	0.00	19.97	10.62
25/9 (34 días)	35.00	43.00	0.00	3.90	17.00

Tabla 4. Grupo B: Porcentaje relativo de oocitos hallados en la hembra 1 (período preovulatorio).

Fecha de observación	Oocitos		
	1	2	3
25/9 (24 horas)	66.78	33.22	0.00
28/10 (34 días)	73.40	11.20	15.50
19/12 (81 días)	55.20	10.60	35.00

Tabla 5. Grupo B: Porcentaje relativo de oocitos hallados en la hembra 2 (período postovulatorio).

e) Durante la época de producción (otoño-invierno) la cantidad de oocitos 4 y 5 aumenta. Los oocitos 3 faltan en el ovario listo para la ovulación. Esto sugiere que la producción de oocitos 3 y 4 sería temporaria debido a que se renuevan anualmente y tendría por objeto producir los oocitos 5, sin que luego queden remanentes viables de los mismos, de una temporada a otra. Contribuirían con la producción de oocitos

ovulables una vez por año, en la temporada de reproducción de la especie.

Valdez Toledo y Pisanó (1980) señalan que un 35% de los oocitos vitelogénicos permanecen en el ovario luego de la ovulación, sin aclarar su tipo. Esta afirmación involucra tanto a los oocitos 2 como a los oocitos 3. Del presente trabajo, se concluye que los oocitos en vitelogénesis tardía (oocitos 3) están ausentes en el ovario antes de la ovulación.

RESPUESTA	EJEMPLAR FECHA	OOCITOS					
		1	2	3	4	5	Atresia
positiva	I (Abril 4)	38.45	34.56	0.00	27.22	0.00	5.89
positiva	II (Mayo 17)	24.56	63.38	0.00	9.65	2.41	31.44
positiva	III (Mayo 28)	34.38	27.78	3.15	38.65	0.00	8.46
positiva	IV (Oct. 12)	47.30	49.50	0.00	3.30	0.00	23.20
negativa	V (Julio 29)	36.00	33.48	0.00	27.27	3.78	11.00
negativa	VI (Nov. 17)	43.34	55.08	1.50	0.00	0.00	9.80

Tabla 6. Grupo C: Porcentaje de oocitos hallados luego de la inducción de la ovulación (I a V: hembras adultas; VI: hembra juvenil).

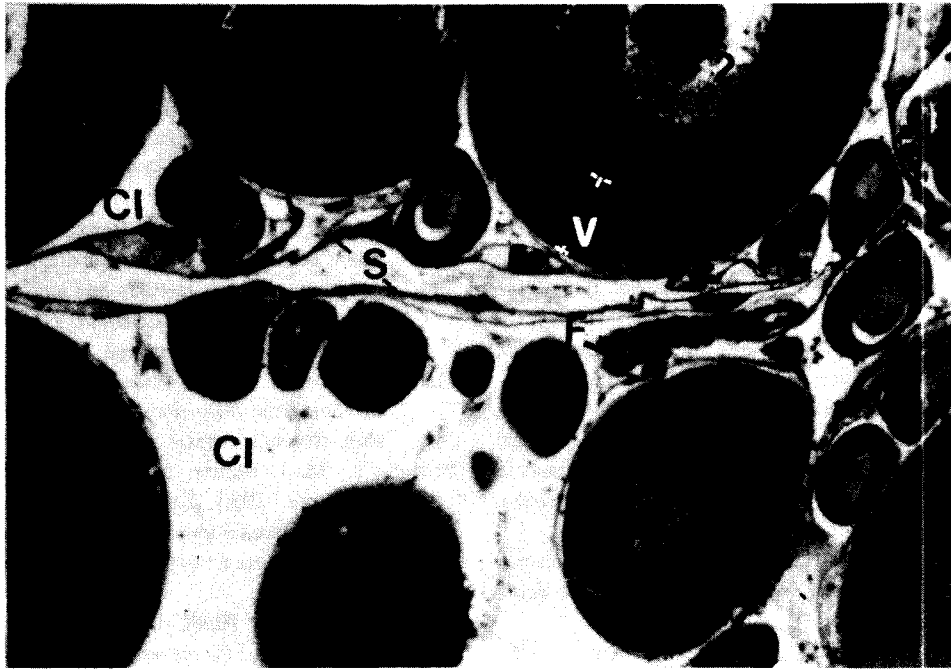


Figura 3. Ovario después de la ovulación. Oocitos 1 y 2 (subtipo h). CI: cavidad interna; F: Folículo vacío; S: superficie del ovario; V: vitelo. Escala: 300 μ m.

Referencias

- Allende, J. L. C. de. 1938. Ciclo sexual del *Bufo arenarum* hembra. *Rev. Soc. Arg. Biol.* Córdoba, 14:515-522.
- Bouin, M. 1901. Histogénesis de la glánde génitales femelle chez *Rana temporaria*. *Arch. de Biol.* Paris, 17:201-381.
- Bruneau, M. & E. Magnin. 1980. Croissance, nutrition et reproduction des ourons *Rana catesbeiana* Shaww (Amphibia, Anura) des Laurentides au nord de Montreal. *Can. J. Zool.* 58:175-183.
- Burgos, M. H. & R. Mancini. 1947. Estudio histológico del testículo de sapo "in vivo" e "in vitro". *Rev. Soc. Biol. Arg.*, 23:156-164.
- Bury, R. B. & J. A. Whelam. 1985. Ecology and Management of the Bullfrog Fish and Wold Service, N°155, 23 pgs.
- Caruso, M. A. 1949. Sobre el ciclo sexual anual de algunos Hylidae del norte Argentino (*Phyllomedusa sauvagii* e *Hyla raddiana*). *Acta Zool. Lilloana*, 8:83-103.
- Cei, J. M. 1980. Amphibians of Argentina. *Monitore Zool. Ital.* (NS). Monogr. 2, 609 pgs.
- Cei, J. M. 1949a. Factores genito- raciales que diferencian la regulación hormonal del ciclo sexual en *Leptodactylus ocellatus* (L.) de la Argentina. "Raza de temperatura" y sus relaciones con algunas características climáticas regionales. *Acta Zool. Lilloana*, 7:113-134.
- Cei, J. M. 1949b. Sobre la biología sexual de un batracio de grande altura de la región andina (*Telmatobius schreiteri* Vellard). *Acta Zool. Lilloana*, 7:467-491.
- Cei, J. M. 1949c. El ciclo sexual y el predominio de la espermatogénesis anual continúa en batracios chaqueños. *Acta Zool. Lilloana*, 7:527-550.
- Dumont, J. N. 1972. Oogenesis in *Xenopus laevis* (Daudin) I. Stages of oocytes development in the laboratory maintained animals. *J. Morph.*, 136:153-180.
- Echeverría, D. D. 1974. Morfología de la oogénesis en *Bufo arenarum*. *Biblioteca FCEN (UBA), Argentina*.
- Echeverría, D. D. 1980. Morfología de los nucleolos de los oocitos de *Bufo arenarum* (Anura). *Physis* (Buenos Aires) Secc c, 39(96):1-7.

- Echeverría, D. D. 1988. Oogénesis en las hembras juveniles de *Bufo arenarum* (Anura: Bufonidae). *Rev. Mus. Arg. Cs. Nat. Bernardino Rivadavia. Zoología*, 15(5):57-75.
- Echeverría, D. D. & L. E. Fiorito de López. 1981. Estadios de la metamorfosis en *Bufo arenarum* (Anura). *Physis* (Buenos Aires), Secc. B, 40 (98):15-23.
- Galgano, M. 1942. Influenza del clima sul ciclo sessuale annuale degli anfibi. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 17.
- Gallardo, J. M. 1974. Anfibios de los alrededores de Buenos Aires. *Editorial Eudeba*, 231 pgs.
- Gallardo, J. M. 1987. Anfibios argentinos. Guía para su identificación. *Biblioteca Mosaico*, 98 pgs.
- Greenhouse, S. W. & S. Geisser. 1959. On methods in the analysis of profile data. *Psychometrika*, 24(2):95-112.
- Howard, R. D. 1978. The evolution of mating strategies in bullfrogs, *Rana catesbeiana*. *J. Exp. Zool.*, 198:353-357.
- Iwasawa, H. T. Nakazawa & T. Kobayashi. 1987. Histological observations on the reproductive organs of growing *Rana nigromaculata* frogs. *Sci. Rep. Niigata Univ. Ser. D (Biology)*, 24:1-13.
- King, H. D. 1908. The oogenesis of *Bufo lentiginosus*. *J. Morph.*, 19:363-438.
- Lamotte, M.; R. Glacon & F. Xavier. 1975. Recherches sur developpement embryonnaire de *Nectophrynoides occidentalis* Angel amphibien anoure vivipare. II. Le développement des gonades. *Annales d'Embryologie et Morphogenése*, 6(3):271-296.
- Legname, A. H. & M. I. Bühler 1978. Metabolic behaviour and cleavage capacity in the amphibian egg. *J. Embryol exp. Morph.*, 47: 161-168.
- Licht, P.; B. R. Mc Greery; R. Barnes & R. Pang, 1983. Seasonal stress related changes in plasm gonadotropins, sex steroids and corticosterone in bullfrog, *Rana catesbeiana*. *General and Comparative Endocrinology*, 50:124-145.
- Mariano de Bozzini, M. & A. Pisanó. 1978. Exocytosis in vitelogenic *Bufo arenarum*'s oocytes. *Com Biol.* (Buenos Aires), 5(4):397-403.
- Petrino, T.; M. I. Bühler; M. S. Budeguer & H. Legname. 1983. Seasonal variations and metabolic behaviour during *Bufo arenarum* oogenesis. *Acta Embryol. Morphol. Exper. n.s.*, 4(1):17-26.
- Sokal, R. R. & F. J. Rohlf. 1981. *Biometry*. W. H. Freedman and Company, New York.
- Valdéz Toledo C. L. & A. Pisanó. 1980. Fases de la oogénesis en *Bufo arenarum*. *Reproducción*, 4:315-330.
- Varute, A. T. 1971. Histoenzymorphology of beta glucuronidas in the ovary of the frog *Rana tigerina* during seasonal breeding-hibernation cycle. *Acta Histochem*, 41(2):276-292.
- Winer, B. J. 1971. *Statisticals Principles in Experimental Desing*. Mc Graw-Hill Book Company, USA.